

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ЖЕНЩИН С ИДИОПАТИЧЕСКИМ ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ

Л. Н. Гуменюк , М. Д. Бордюгов, Е. В. Сарчук, С. В. Князева, В. А. Заставский, Д. В. Крицкая, Ш. Э. Сайтибрагимова, А. И. Куртвелиева
 Медицинский институт имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского), Симферополь, Россия

В настоящее время существенный интерес у исследователей вызывает сопряженность микробиоты кишечника и идиопатического привычного выкидыша (ИПВ). Целью работы было проанализировать изменения таксономического состава микробиоты кишечника и оценить на уровне родов их взаимосвязь с показателями в плазме крови кортизола, мелатонина, TNF α и IL17 у женщин с ИПВ. У 55 женщин с ИПВ и 60 женщин с физиологически протекающей беременностью изучали таксономический состав микробиоты кишечника, концентрацию в сыворотке крови кортизола, мелатонина, TNF α и IL17. Установлено, что у женщин с ИПВ изменения таксономического состава микробиоты кишечника характеризуются статистически значимым снижением α -разнообразия бактериального сообщества (индекс Chao1, $p = 0,014$), представленности *Bifidobacterium* ($p < 0,001$), *Lachnospira* ($p = 0,032$), *Roseburia* ($p = 0,003$), *Coprococcus* ($p = 0,012$) и увеличением представленности *Ruminococcus* ($p < 0,001$) и *Klebsiella* ($p = 0,002$). Продемонстрировано наличие статистически значимой взаимосвязи между значениями кортизола и представленностью бактерий *Lachnospira* ($r = -0,51$; $p = 0,002$), мелатонина и представленностью бактерий *Coprococcus* ($r = -0,49$; $p = 0,012$). Выявлена также взаимосвязь между концентрацией TNF α и IL17 и индексом Chao1 ($r = -0,51$; $p = 0,002$, $r = -0,54$; $p = 0,001$ соответственно), TNF α и представленностью бактерий *Ruminococcus* ($r = 0,51$; $p = 0,002$), IL17 и представленностью *Bifidobacterium* ($r = -0,52$; $p = 0,001$). Коррекция микробиоты кишечника может иметь потенциальную профилактическую и терапевтическую значимость для женщин с ИПВ.

Ключевые слова: идиопатический привычный выкидыш, микробиота кишечника, кортизол, мелатонин, TNF α , IL17

Вклад авторов: Л. Н. Гуменюк — идея и дизайн исследования; М. Д. Бордюгов, Е. В. Сарчук — сбор, анализ и интерпретация данных; С. В. Князева, В. А. Заставский — статистическая обработка данных; Д. В. Крицкая, Ш. Э. Сайтибрагимова, А. И. Куртвелиева — написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Медицинского института имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (протокол № 10 от 16 октября 2021 г.), спланировано и проведено в соответствии с Хельсинской декларацией. Все лица, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

 **Для корреспонденции:** Леся Николаевна Гуменюк
 бул. Ленина, 5/7, 295006, г. Симферополь, Республика Крым; lesya_gumenyuk@mail.ru

Статья получена: 04.01.2024 **Статья принята к печати:** 02.02.2024 **Опубликована онлайн:** 20.02.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.004

SPECIFICS OF GUT MICROBIOTA IN WOMEN WITH IDIOPATHIC RECURRENT MISCARRIAGE

Gumenyuk LN , Bordyugov MD, Sarchuk EV, Knyazeva SV, Zastavskii VA, Krickaya DV, Saitibragimova SE, Kurtvelieva AI

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

Currently, researchers show considerable interest in the link between gut microbiota and idiopathic recurrent miscarriage (IRM). This study aimed to analyze taxonomic changes of gut microbiota and assess its relationship with plasma levels of cortisol, melatonin, TNF α and IL17 in women with IRM. We invited 55 women with IRM and 60 women with normal pregnancy, studied their gut microbiota, and registered serum concentrations of cortisol, melatonin, TNF α and IL17. Women with IRM had changed gut microbiota: significantly decreased — diversity (Chao1 $p = 0,014$), significantly decreased abundance of *Bifidobacterium* ($p < 0,001$), *Lachnospira* ($p = 0,032$), *Roseburia* ($p = 0,003$), *Coprococcus* ($p = 0,012$), and significantly increased abundance of *Ruminococcus* ($p < 0,001$) and *Klebsiella* ($p = 0,002$). We have shown a statistically significant relationship between cortisol level and abundance of *Lachnospira* ($r = -0,51$; $p = 0,002$), melatonin level and abundance of *Coprococcus* ($r = -0,49$; $p = 0,012$), and identified connections between TNF and IL17 concentrations and Chao1 index ($r = -0,51$; $p = 0,002$, $r = -0,54$; $p = 0,001$, respectively), TNF concentration and abundance of *Ruminococcus* ($r = 0,51$; $p = 0,002$), IL17 concentration and abundance of *Bifidobacterium* ($r = -0,52$; $p = 0,001$). Modulation of gut microbiota may have preventive and therapeutic effects in women with IRM.

Keywords: idiopathic recurrent miscarriage, gut microbiota, cortisol, melatonin, TNF α , IL17

Author contribution: Gumenyuk LN — study idea and design; Bordyugov MD, Sarchuk EV — data collection, analysis and interpretation; Knyazeva SV, Zastavskii VA — statistical data processing; Krickaya DV, Saitibragimova SE, Kurtvelieva AI — article authoring.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky Crimean Federal University (Minutes № 10 of October 16, 2021); it was planned and conducted in compliance with the Declaration of Helsinki. All participants of the study signed the voluntary informed consent form.

 **Correspondence should be addressed:** Lesya N. Gumenyuk
 Bul'var Lenina, 5/7, 295006, Simferopol, Republic of Crimea; lesya_gumenyuk@mail.ru

Received: 04.01.2024 **Accepted:** 02.02.2024 **Published online:** 20.02.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.004

Привычный выкидыш (ПВ) — это гетерогенное состояние, определяемое как две и более клинические потери беременности в сроках до 22 недель гестации [1] и имеющее место у 2–5% беременных женщин [2]. После двух предыдущих выкидышей риск прерывания беременности возрастает более чем в два раза и достигает 36–38% [3].

Среди этиологических факторов ПВ выделяют такие, как хромосомные аномалии (2–6%), анатомические изменения матки (10–15%), инфекционно-воспалительные

(2–6%), эндокринные (17–20%), аутоиммунные (20%) заболевания [4], тромбофилические состояния (10%) [5]. Тем не менее, причины около 50% случаев ПВ являются необъяснимыми (идиопатическими) [6]. Идиопатический привычный выкидыш (ИПВ) остается актуальной проблемой репродуктивной медицины во всем мире [7].

В свете современных представлений одним из центральных звеньев патогенеза ИПВ является абберантное продуцирование провоспалительных цитокинов,

сопровождающееся дисрегуляцией иммунного ответа [8, 9]. В данном аспекте особый интерес представляют фактор некроза опухоли альфа (TNF α) [10] и интерлейкин IL17 [11], обладающие эмбриотоксической и антитрофобластной активностью [12]. Есть данные, что значительное повышение уровня TNF α в периферической крови характерно для женщин с ИПВ (на 40–70% по сравнению с контролем) [13], в том числе связано с инициированием апоптоза [14] и ингибированием инвазии трофобласта [15], активацией тромбокиназы [16] снижением экспрессии нуклеотид-связывающего домена олигомеризации [17] и усилением цитотоксичности клеток dNK [18], что, в свою очередь, приводит к недостаточному ремоделированию спиральной артерии [16], тромбозам, инфарктам трофобласта и его отслойки [16], нарушению функций децидуальных клеток [17], иммунологическому отторжению плода [18], и, как следствие, к выкидышу. Большинство исследователей считает, что уровень IL17 в сыворотке крови у женщин с ИПВ повышен [11] и служит независимым прогностическим фактором ИПВ [19]. Повышенный уровень IL17 обратно коррелирует с содержанием T_{reg}-клеток в периферической крови и децидуальной оболочке [20], снижение уровня которых потенцирует процессы отторжения эмбриона [21]; независимо связан с активацией экспрессии транскрипционного ядерного фактора NF-kB, сокращением уровня экспрессии рецепторов прогестерона и ослаблением его функциональной активности, что, приводит к децидуадисплазии, недостаточной нутриетивной поддержке эмбриона, стимуляции сократимости миомеритрии и, в конечном счете, к выкидышу [22].

Вместе с тем иммунная система тесно сопряжена с нейроэндокринной. В литературе активно обсуждается вовлеченность дисрегуляции эпифизарно-гипофизарно-надпочечниковой оси в повышении риска ИПВ, и при этом особое значение имеют изменения секреции мелатонина и кортизола [23, 24]. Оценка гормонального профиля крови у женщин с ИПВ позволила обнаружить повышенные уровни кортизола и сниженные уровни мелатонина [24, 25]. Кроме того, изменения уровня кортизола были связаны с важными этиологическими факторами ИПВ, такими как снижение фибринолитической активности сосудистой стенки, нарушение процессов полноценной инвазии и функций трофобласта [26, 27], индукция апоптоза [28], ингибирование секреции прогестерона [29]. В свою очередь снижение уровня мелатонина в крови ассоциировано с иммунологическим отторжением трофобласта (за счет ингибирования секреции прогестерона) и стимуляцией сократимости миомеритрии (путем усиления синтеза простагландинов) [30].

Современные исследования свидетельствуют о роли кишечной микробиоты в патофизиологии ИПВ, что объясняется ее ключевой ролью в формировании и модуляции нейро-иммунно-эндокринных реакций. Так, представлены убедительные данные о качественных изменениях микробного ландшафта у женщин с ИПВ [31]. В целом, у женщин с ИПВ зафиксирована тенденция к уменьшению видового разнообразия бактерий, истощению полезных комменсалов и обогащению патобионтами [32–33], однако информация о родовом составе фрагментарна и противоречива. Кроме того, в литературе имеются лишь единичные сообщения о сопряженности между микробиотой кишечника и воспалительными биохимическими маркерами у женщин с ИПВ. Отсутствуют работы, оценивающие взаимосвязь

представителей микробиоты кишечника с концентрацией кортизола и мелатонина при ИПВ.

Таким образом, проблема взаимосвязи микробиоты кишечника и ИПВ остается актуальной. Целью нашего исследования было изучить изменения таксономического состава микробиоты кишечника и оценить на уровне родов его взаимосвязь с показателями в сыворотке крови кортизола, мелатонина, TNF α и IL17 у женщин с ИПВ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе гинекологического отделения Структурного подразделения Перинатального центра ГБУЗ РКБ им. Н. А. Семашко (г. Симферополь). В проспективное сравнительное одномоментное исследование были включены 55 женщин с первичным ИПВ (медиана возраста — 31,6 [26,9; 33,9] года), которые составили основную группу (ОГ), и 60 женщин с физиологически протекающей беременностью (ФГБ) (медиана возраста — 30,3 [25,9; 33,2] года), обратившихся по поводу проведения аборта (контрольная группа, КГ).

Критерии включения в ОГ: подтвержденный диагноз ИПВ; возраст женщин — до 35 лет; нормальный кариотип пары.

Критерии невключения в ОГ: дефицит или избыточная масса тела; наличие генетических и анатомических причин ПВ; хронические инфекционные, воспалительные, эндокринные, аутоиммунные, тромбофилические, онкологические заболевания; синдром раздраженного кишечника; хронические заболевания пищеварительной и гепатобилиарной системы; бактериальные, вирусные и грибковые инфекционные заболевания; психическая патология; злоупотребление табакокурением; изменения стула (диарея/запоры) и прием средств, влияющих на стул в предшествующие 30 дней до включения в исследование; вакцинация за 60 дней до включения в исследование; прием антибактериальных, пробиотических, пребиотических, противовирусных, симбиотических или кислотоподавляющих средств в предшествующие 90 дней до включения в исследование.

Критерии включения в КГ: возраст — до 35 лет; физиологически протекающая беременность; неосложненный гинекологический и акушерский анамнез; наличие в анамнезе как минимум одной успешной беременности; отсутствие хронической экстрагенитальной патологии и аллергических реакций в анамнезе; отсутствие психической патологии в анамнезе; частота респираторных инфекций — не более трех раз в год; отсутствие инфекционных и острых заболеваний, изменений стула (диарея/запоры); прием средств, влияющих на стул, за 60 дней до включения в исследование; прием антибактериальных, пробиотических, пребиотических, противовирусных, симбиотических или кислотоподавляющих средств в предшествующие 90 дней до включения в исследование.

Критерии невключения в КГ: прегравидарный дефицит или избыточная масса тела; беременность, наступившая при помощи вспомогательных репродуктивных технологий; высокий риск выкидыша; повышение температуры тела более чем 36,9 °C.

Диагноз ПВ устанавливали по кодификационным критериям Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) [34].

У всех женщин с ИПВ и КГ был проведен анализ таксономического состава микробиоты кишечника.

Таблица 1. Характеристика пациенток с идиопатическим первичным выкидышем и здоровых женщин

Показатель	Женщины с ИПВ (n = 55)	Контрольная группа (n = 60)	p
Средний возраст, годы, медиана [25%; 75%]	31,6 [26,9; 33,9]	30,3 [25,9; 33,2]	0,122
Индекс массы тела, кг/м ² (m ± CD)	21,7 ± 0,4	20,6 ± 2,1	0,087
Количество выкидышей			
Два (n,%)	34 (61,8)	–	–
Три и более (n,%)	21 (38,2)	–	–

Примечание: ИПВ — идиопатический первичный выкидыш.

Образцы кала брали в день госпитализации, в утренние часы (8.00–11.00), после чего замораживали и хранили в пластиковых емкостях при температуре -80°C до момента выполнения метагеномного анализа. Для выделения тотальной ДНК использовали метод фенольной экстракции. Библиотеки ДНК фрагментов генов 16S рРНК готовили по стандартному протоколу, рекомендованному производителем секвенатора MiSeq SOLiD5500 Wildfire (AppliedBiosystems; США) с использованием праймеров на переменные регионы V3 и V4 гена 16S рРНК [35]. Фильтрацию качества прочтений и их таксономическую классификацию проводили с использованием программного обеспечения QIIME версии 1.9.1 [36]. Идентификацию таксономической принадлежности прочтений осуществляли в два этапа: на первом этапе подбирали референсный набор операционных таксономических единиц (ОТЕ) бактерий на основе сравнения полученных нами прочтений генов 16S рРНК с базой данных GreenGenes версии 13.5 [37]; на втором этапе идентифицировали таксономическую принадлежность данных ОТЕ с помощью алгоритма RDP на основании

специализированной базы данных кишечной микробиоты человека HiTdb [38].

Оценку качественного и количественного состава микробиоты кишечника осуществляли на основе идентификации видов, родов и фил микроорганизмов. При этом α -разнообразие сообщества оценивали с помощью вычисления индекса Chao1, показатель числа обнаруженных таксонов (Sobs) и показатель, отражающий реальное количество таксонов (ACE), — с помощью программы Mothur v.1.22.0 (<https://www.mothur.org>).

Концентрацию кортизола, мелатонина, $\text{TNF}\alpha$ и IL17 в сыворотке крови определяли посредством твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирм «Вектор-Бест» (Россия) и «Immuno Biological Laboratories» (Германия). Забор крови осуществляли пункцией кубитальной вены утром (7.00–10.00), натощак в состоянии покоя (как минимум 15 мин).

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft.Inc.; США). Количественные показатели представлены в виде среднего значения

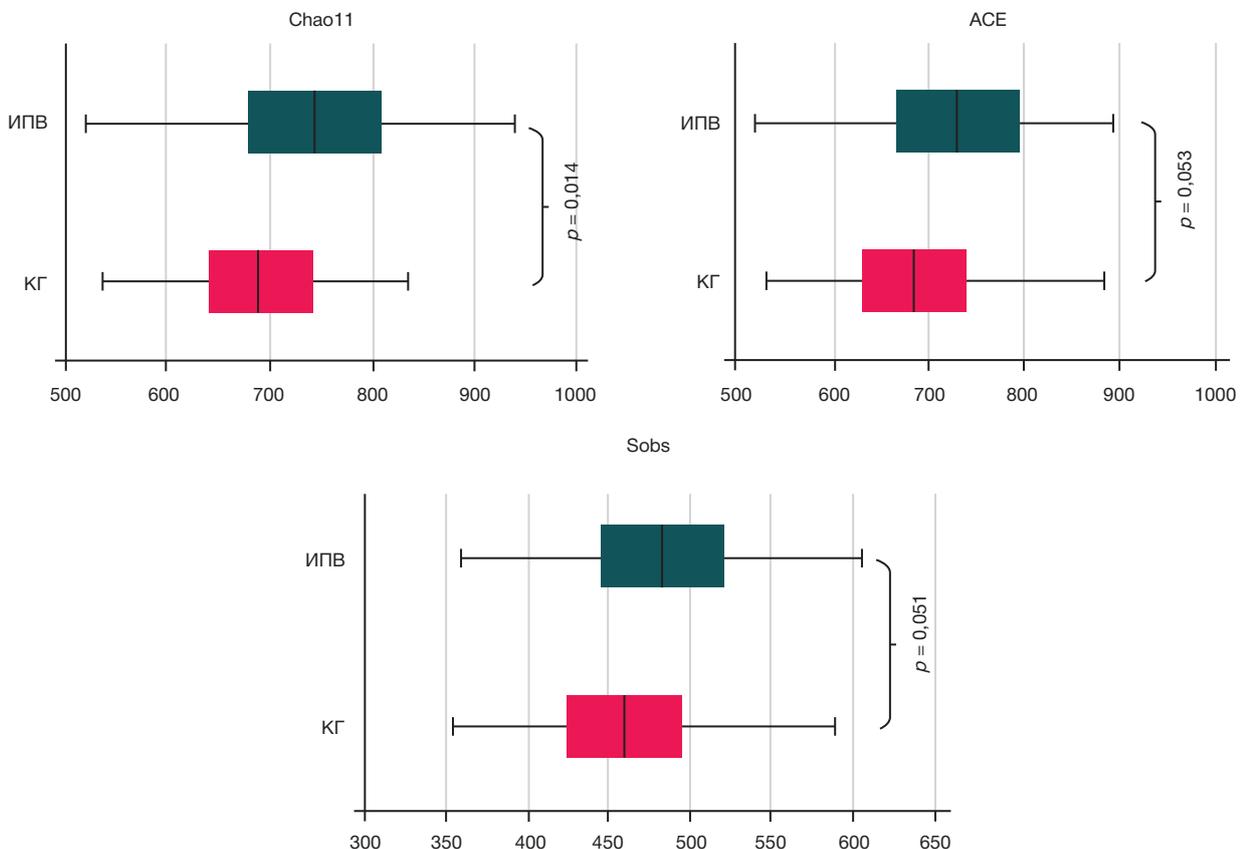


Рис. 1. Филогенетический состав микробиоты кишечника у пациенток с идиопатическим первичным выкидышем и здоровых женщин. ИПВ — идиопатический первичный выкидыш, КГ — контрольная группа

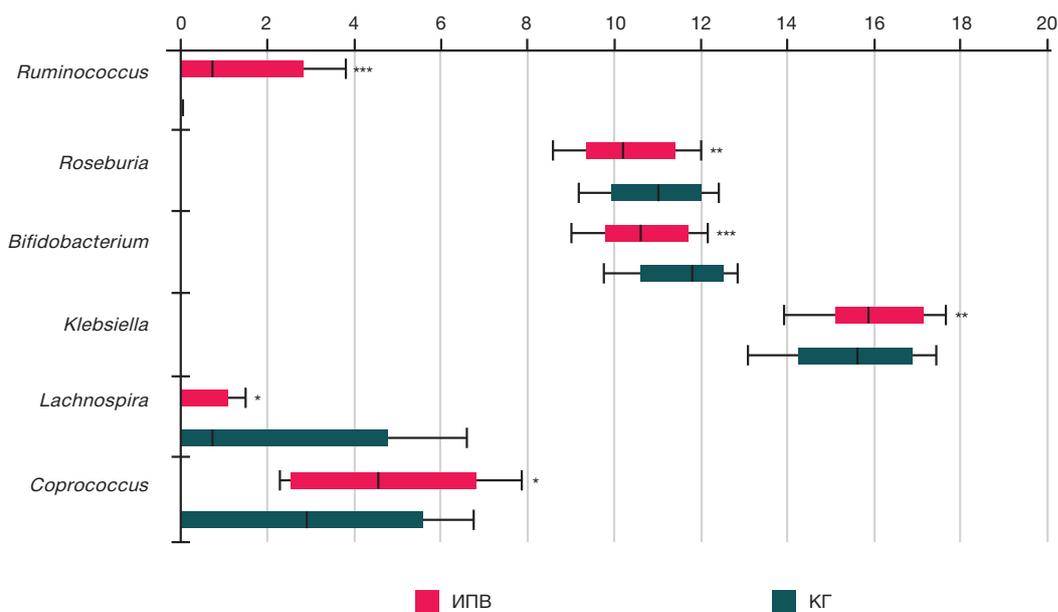


Рис. 2. Сравнительный анализ родового состава микробиоты кишечника у пациенток с идиопатическим первичным выкидышем и здоровых женщин. ИПВ — идиопатический первичный выкидыш, КГ — контрольная группа

и стандартного отклонения (при нормальном распределении признака) и в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентилей (при распределении признака, отличном от нормального). Качественные признаки описывали с помощью абсолютного количества значений и процентных долей. Сравнение между группами по количественным показателям осуществляли с использованием параметрического t -критерия Стьюдента и U -критерия Манна-Уитни, по качественным — с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат). Направление и тесноту взаимосвязи между показателями оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика женщин с ИПВ и КГ представлена в табл. 1. Группы были сопоставимы по возрасту ($p = 0,122$) и индексу массы тела ($p = 0,087$).

Анализ таксономического состава микробиоты кишечника позволил выявить в группе женщин с ИПВ в сравнении с женщинами КГ статистически значимое снижение α -разнообразия бактериального сообщества (индекс Chao1, $p = 0,014$) и тенденцию к снижению индексов ACE и Sobs ($p = 0,053$ и $p = 0,051$ соответственно) (рис. 1).

Изменения родового состава кишечной микробиоты в группе женщин с ИПВ в сравнении с группой женщин КГ характеризовались статистически значимым снижением

представленности *Bifidobacterium* ($p < 0,001$), *Lachnospira* ($p = 0,032$), *Roseburia* ($p = 0,003$), *Coprococcus* ($p = 0,012$) и повышением представленности *Ruminococcus* ($p < 0,001$) и *Klebsiella* ($p = 0,002$) (рис. 2).

У женщин с ИПВ в сравнении с женщинами КГ плазменные значения кортизола, TNF α и IL17 были статистически значимо выше, а уровень мелатонина статистически значимо ниже (табл. 2).

Установлены статистически значимые корреляционные связи значений кортизола с представленностью бактерий *Lachnospira* ($r = -0,51$, $p = 0,002$). Так же удалось установить связь между значением мелатонина и представленностью бактерий *Coprococcus* ($r = -0,49$, $p = 0,012$). Выявлены взаимосвязи концентрации TNF α и IL17 с индексом Chao1 ($r = -0,51$, $p = 0,002$; $r = -0,54$, $p = 0,001$ соответственно). Концентрация TNF α положительно коррелировала с представленностью бактерий *Ruminococcus* ($r = 0,51$; $p = 0,002$), а концентрация IL17 имела обратную корреляционную связь с представленностью бактерий *Bifidobacterium* ($r = -0,52$, $p = 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данном исследовании уточнены изменения таксономического состава микробиоты кишечника и изучена на уровне родов их связь с плазменными концентрациями кортизола, мелатонина, TNF α и IL17 в группе женщин с ИПВ.

В ряде ранее выполненных работ сообщается об изменении состава микробиоты кишечника у женщин

Таблица 2. Сравнительный анализ показателей кортизола, мелатонина, TNF α и IL17 в сыворотке крови у пациенток с идиопатическим первичным выкидышем и здоровых женщин

Показатель	Женщины с ИПВ (n = 55)	Контрольная группа (n = 60)	p
Кортизол, нмоль/л	627,1 ± 15,4	321,4 ± 33,2	< 0,001
Мелатонин, пг/мл	18,1 ± 5,3	31,6 ± 8,4	0,002
TNF α , пг/мл	12,3 ± 2,3	6,1 ± 1,4	0,001
IL17, пг/мл	5,2 ± 1,2	2,6 ± 1,3	0,011

Примечание: ИПВ — идиопатический первичный выкидыш.

с ИПВ [31–33]. Результаты данного исследования также показали, что состав микробиоты кишечника у женщин с ИПВ значительно отличается от такового у женщин с физиологически протекающей беременностью. По нашим данным, у женщин с ИПВ в сравнении с женщинами с физиологически протекающей беременностью наблюдается более низкое бактериальное α -разнообразие, что подтверждалось статистически более низким индексом Chao1 и согласуется с результатами ранее выполненных исследований [33, 39]. Кроме того, у женщин с ИПВ дисбиотические изменения кишечника характеризовались снижением представленности бактерий с иммуномодулирующим потенциалом, а именно представителей родов *Bifidobacterium*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Coprococcus* и *Prevotella*, являющихся, как известно, продуцентами короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) бутирата и пропионата. Понижение содержания последних сопровождается активацией гистондеацетилазы и ингибированием G-белковых рецепторов GPR41, GPR43 и GPR109A, и, как следствие — развитием хронического воспаления [40]. В то же время нами обнаружена повышенная представленность потенциальных патобионтов, а именно бактерий рода *Ruminococcus* и *Klebsiella*. Представленные нами результаты отчасти согласуются с данными других авторов. Так, для женщин с ИПВ было характерно снижение представленности бактерий *Prevotella*, *Roseburia*, *Lachnospira* и повышение представленности бактерий *Ruminococcus*, *Klebsiella* [32]. В других работах показано снижение численности *Lachnospira*, *Roseburia*, *Prevotella* [33] и снижение представленности *Prevotella* [31]. Противоречивость данных во многом может определяться тем фактом, что работы выполняли в разных географических областях, а также различиями в методологии включения обследованных в исследование. Мы не включали в настоящее исследование женщин с отягощенным гинекологическим анамнезом и коморбидной экстрагенитальной патологией, а также принимавших пробиотики, пребиотики, симбиотические средства в предшествующие три месяца до проведения исследования, чтобы исключить их влияние на результаты исследования. Также важно отметить малый размер выборки в ранее описанных исследованиях [32, 33].

Как уже указывалось, у женщин с ИПВ обнаруживаются в крови высокие концентрации кортизола, TNF α , IL17 и снижение концентрации мелатонина, роль которых в патогенезе ИПВ подтверждена [13, 11, 23, 24]. Полученные нами результаты сопоставимы с данными литературы: у женщин с ИПВ в сравнении с женщинами с физиологически протекающей беременностью зафиксированы статистически значимые различия по плазменным концентрациям кортизола, мелатонина, TNF α и IL17. Принципиально, что некоторые представители микробиоты кишечника у женщин с ИПВ сопряжены с плазменными концентрациями исследованных биомаркеров; этот факт может указывать на существование связи между составом, численностью микробиоты кишечника и ИПВ. Отрицательный характер корреляции с плазменной концентрацией кортизола был показан для рода *Lachnospira*, что свидетельствует о возможном активном участии этих бактерий в нарушении регуляции активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО) при ИПВ. Мы не обнаружили работ, в которых бы изучали связь между микробиотой кишечника и кортизолом у женщин с ИПВ. Вместе с тем показано, что

у больных с синдромом Кушинга *Lachnospira* отрицательно коррелировала с экспрессией кортизола [41]. Подобная закономерность представлена в другом исследовании: сокращение представленности бактерий *Lachnospira* было тесно ассоциировано с более высокой концентрацией кортизола у здоровых детей в возрасте 8–16 лет [42]. В литературе нами была найдена вероятная интерпретация этой корреляции. Известно, что *Lachnospira* является одной из основных бактерий, продуцирующих бутират. Поскольку КЦЖК способны пересекать гематоэнцефалический барьер (через циркумвентрикулярные структуры), можно обсуждать их участие в модуляции активности ГГНО путем непосредственного влияния на секреторный тонус в гипофизарных нейронах медиального паравентрикулярного ядра [43]. Указания на то, что КЦЖК обладают способностью воздействовать на экспрессию, кортизола были получены в экспериментальных и клинических исследованиях. Так, показано, что применение КЦЖК (67,5 мМ ацетата + 25 мМ пропионата + 25 мМ бутирата) на протяжении семи дней у мышей сопровождалось ингибированием потенцированной острым стрессом секреции кортикостерона [44]. В свою очередь семидневное введение физиологических доз КЦЖК непосредственно в толстую кишку обеспечивало увеличение их концентрации в системном кровотоке и ослабление интенсивности реакции кортизола на острый психо-социальный стресс у здоровых лиц [45].

Обнаружена корреляция показателя мелатонина с представленностью бактерий *Coprococcus*, что может быть опосредовано блокировкой сигналов в системе p-CREB-связывающего белка — арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы за счет ингибирования триптофана [46], являющегося предшественником серотонина, из которого в последующем синтезируется мелатонин. В литературе описаны схожие ассоциации у больных ювенильным идиопатическим артритом [47] и сахарным диабетом 2-го типа [48], что подтверждалось прямыми тесными корреляциями представленности *Coprococcus* с уровнями метаболитов триптофана [48] и плазменного мелатонина [47, 48].

Обсуждая полученные нами результаты в отношении связи микробиоты кишечника с показателями в крови TNF α и IL17 в группе женщин с ИПВ, важно отметить, что только некоторые из них согласуются с данными литературы. Ранее уже была оценена взаимосвязь между микробиотой кишечника и провоспалительными цитокинами [33]. Было выявлено, что у пациенток с ИПВ уменьшение бактериального разнообразия ассоциировалось с повышением в крови концентрации TNF α и IL17 [33]. Полученные нами данные также не противоречат результатам приведенных исследований. Этот факт может указывать на то, что у пациенток с ИПВ провоспалительные эффекты микробиома, вероятно, вызваны целостным дисбиозом кишечника. Кроме того, в своем исследовании мы обнаружили прямую связь между уровнем в крови TNF α и представленностью *Ruminococcus*. Как известно, бактерии *Ruminococcus* синтезируют воспалительный липополисахарид глюкорамнан, который посредством активации TLR4-опосредованных реакций индуцирует выработку дендритными клетками костного мозга провоспалительных цитокинов, включая TNF α [49]. К настоящему времени накоплен достаточный пул исследований, указывающих на то, что *Bifidobacterium* способны влиять на выраженность воспалительных реакций [50–54]. Так, снижение численности *Bifidobacterium* сопряжено с развитием преэклампсии [51], сокращением сроков жизни аллотрансплантата

сердца [50] повышенным риском развития аутоиммунных состояний [52] и воспалительных заболеваний кишечника [53]. Как известно, снижение представленности бактерий рода *Bifidobacterium* сопряжено с активацией ацетилирования гистонов и подавлением метилирования ДНК, что, в свою очередь, приводит к усилению активации транскрипции, опосредованной NF-κB и интенсификации экспрессии IL17 [50]. Отрицательная корреляция между концентрацией в крови IL17 и численностью *Bifidobacterium*, обнаруженная в нашем исследовании, является дополнительным доказательством этой ассоциации. Вместе с тем, полученные нами результаты не согласуются с данными исследования [33], в котором была установлена отрицательная связь между концентрацией в крови IL17 и представленностью *Prevotella* у женщин с ИПВ. Несогласованность полученных нами результатов с данными сопоставляемой работы, как указывалось ранее, скорее всего, является следствием различий в дизайне исследования, а именно, включением женщин с ИПВ без гинекологической патологии и метаболических нарушений. В то время как в исследовании [33] наличие синдрома поликистозных яичников и инсулинорезистентности у участниц не являлись факторами исключения. Этот

факт мог повлиять на отличия ассоциаций TNFα и IL17 с представителями микробиоты кишечника у женщин с ИПВ от имеющихся в литературе. Тем не менее, ранее опубликованные данные [33] и результаты настоящего исследования позволяют предположить значимую роль микробиоты кишечника в иммуногенезе ИПВ. По-видимому, причинно-следственные связи между микробиотой кишечника и уровнем провоспалительных цитокинов в крови при ИПВ требуют более детальной проработки и продолжения исследований в этом направлении.

ВЫВОДЫ

У женщин с ИПВ установлены выраженные нарушения представленности и таксономического состава микробиоты кишечника. Обнаруженные статистически значимые корреляционные связи между некоторыми представителями микробиоты и гормональными и воспалительными маркерами подтверждают постулат о сопряженности представленности и состава микробиоты кишечника с ИПВ. Коррекция микробиоты кишечника может иметь потенциальную профилактическую и терапевтическую значимость для женщин с ИПВ.

Литература

1. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013; 99 (1): 63.
2. El Hachem H, Crepaux V, May-Panloup P, et al. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Women's Health*. 2017; 9: 31–45.
3. Lund M, Kamper-Jørgensen M, Nielsen HS, et al. Prognosis for live birth in women with recurrent miscarriage: what is the best measure of success? *Obstet Gynecol*. 2012; 119 (1): 37–43.
4. Jevc YB, Davies W. Evidence-based management of recurrent miscarriages. *J Hum Reprod Sci*. 2014; 7: 159–69.
5. Abu-Hejja A. Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss: Is heparin still the drug of choice? *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2014; 14 (1): e26–36.
6. Zejnnullahu VA, Zejnnullahu VA, Kosumi E. The role of oxidative stress in patients with recurrent pregnancy loss: a review. *Reprod Health*. 2021; 16; 18 (1): 207.
7. Kniotek M, Zych M, Roszczyk A, et al. Decreased Production of TNFα and IL6 Inflammatory Cytokines in Non-Pregnant Idiopathic RPL Women Immunomodulatory Effect of Sildenafil Citrate on the Cellular Response of Idiopathic RPL Women. *J Clin Med*. 2021; 15; 10 (14): 3115.
8. Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17 (8): 469–82.
9. Yang X, Tian Y, Zheng L, et al. The Update Immune-Regulatory Role of Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in Recurrent Pregnancy Losses. *Int J Mol Sci*. 2023; 21; 24 (1): 132.
10. Dai FF, Hu M, Zhang YW, et al. TNFα/anti-TNFα drugs and its effect on pregnancy outcomes. *Expert Rev Mol Med*. 2022; 10: 24–26.
11. Saifi B, Rezaee SA, Tajik N, et al. Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window. *Reprod Biomed Online*. 2014; 29: 481–9.
12. Piccinni MP, Raghupathy R, Saito S, Szekeres-Bartho J. Cytokines, Hormones and Cellular Regulatory Mechanisms Favoring Successful Reproduction. *Front Immunol*. 2021; 28; 12: 717808.
13. Shaarawy M, Nagui AR. Enhanced expression of cytokines may play a fundamental role in the mechanisms of immunologically mediated recurrent spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1997; 76: 205–11.
14. Kilani RT, Mackova M, Davidge ST et al. Endogenous tumor necrosis factor — mediates enhanced apoptosis of cultured villous trophoblasts from intrauterine growth-restricted placentae. *Reproduction*. 2007; 133: 257–64.
15. Salama KM, Alloush MK, Hussini RM. Are the cytokines TNF alpha and IL 1Beta early predictors of embryo implantation? Cross sectional study. *J Reprod Immunol*. 2020; 137: 102618.
16. Azizieh FY, Raghupathy RG. Tumor necrosis factor-α and pregnancy complications: a prospective study. *Med Princ Pract*. 2015; 24 (2): 165–70.
17. Zhang Y, Zhang Y, Li H, et al. NOD1 modulates decidual stromal cell function to maintain pregnancy in the early trimester. *Cell Biochemistry and Function* 2019; 37: 464–73.
18. Yang SL, Tan HX, Niu TT, et al. Kynurenine promotes the cytotoxicity of NK cells through aryl hydrocarbon receptor in early pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2021; 143: 103270.
19. Najafi S, Hadinedoushan H, Eslami G, Aflatoonian A. Association of IL17A and IL17 F gene polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J Assist Reprod Genet*. 2014; 31 (11): 1491–6.
20. Buzzaccarini G, Vitagliano A, Andrisani A, et al. Chronic Endometritis and Altered Embryo Implantation: A Unified Pathophysiological Theory from a Literature Systematic Review. *J Assist Reprod Genet*. 2020; 37: 2897–2911.
21. Lee SK, Kim JY, Lee M, et al. Th17 and regulatory T cells in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2012; 67: 311–8.
22. Sha J, Liu F, Zhai J, et al. Alteration of Th17 and Foxp3+regulatory T cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after the therapy of hCG combined with immunoglobulin. *Exp Ther Med*. 2017; 14: 1114–8.
23. McCarthy R, Jungheim ES, Fay JC, et al. Riding the rhythm of melatonin through pregnancy to deliver on time. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 13 (10): 616.
24. Nepomnaschy PA, Welch KB, McConnell DS, et al. Cortisol levels and very early pregnancy loss in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 3938–42.
25. Palmer KT, Bonzini M, Harris EC, et al. Europe PMC Funders Group Work activities and risk of prematurity, low birthweight and preeclampsia: an updated review with meta-analysis. *Occup Environ Med*. 2013; 70: 213–22.

26. Kisanga EP, Tang Z, Guller S, Whirledge S. Glucocorticoid signaling regulates cell invasion and migration in the human first-trimester trophoblast cell line Sw.71. *Am J Reprod Immunol*. 2018; 80: e12974.
27. Húngaro TGR, Gregnani MF, Alves-Silva T, et al. Cortisol dose-dependently impairs migration and tube-like formation in a trophoblast cell line and modulates inflammatory and angiogenic genes. *Biomedicines*. 2021; 9 (8): 980.
28. Michael AE, Papageorghiou AT. Potential significance of physiological and pharmacological glucocorticoids in early pregnancy. *Hum Reprod Update*. 2008; 14 (5): 497–517.
29. Magiakou MA, Mastorakos G, Webster E. The Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system, annals of the new. 1997; 17 (816): 42–56.
30. Sandyk R, Anastasiadis PG, Anninos PA, Tsagas N. The pineal gland and spontaneous abortions: Implications for therapy with melatonin and magnetic field. *Int J Neurosci*. 1992; 62 (3–4): 243–50.
31. Jin M, Li D, Ji R, et al. Changes in Gut Microorganism in Patients with Positive Immune Antibody-Associated Recurrent Abortion. *Biomed Res Int*. 2020; 18: 4673250.
32. Cui Y, Zou L, Ye Q, et al. Gut microbiota composition and functional prediction in recurrent spontaneous abortion. *Research Square*; 2021.
33. Liu Y, Chen H, Feng L, Zhang J. Interactions between gut microbiota and metabolites modulate cytokine network imbalances in women with unexplained miscarriage. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2021; 17; 7 (1): 24.
34. ESHRE Guideline Group on RPL. Bender Atik R, Christiansen OB, Elson J, et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss: an update in 2022. *Hum Reprod Open*. 2023; 2023 (1): hoad002.
35. Mitra S, Forster-Fromme K, Damms-Machado A, et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14 (5): 16.
36. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; 7 (5): 335–6.
37. DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 5069–72.
38. Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1056.
39. Guang Y, Shen X, Tan Y, et al. Systematic analysis of microbiota in pregnant Chinese women and its association with miscarriage. *Ann Transl Med*. 2022; 10 (20): 1099.
40. Vinolo MAR, Rodrigues HG, Nachbar RT, Curi R. Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients*. 2011; 3 (10): 858–76.
41. Zhang Q, Hu WM, Deng YL, et al. Dysbiosis of gut microbiota and decreased propionic acid associated with metabolic abnormality in Cushing's syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 13: 1095438.
42. Michels N, Van de Wiele T, Fouhy F, et al. Gut microbiome patterns depending on children's psychosocial stress: Reports versus biomarkers. *Brain Behav Immun*. 2019; 80: 751–62.
43. Ziegler DR, Herman JP. Neurocircuitry of stress integration: anatomical pathways regulating the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat1. *Integr Comp Biol*. 2002; 42: 541–51.
44. Van de Wouw M, Boehme M, Lyte JM, et al. Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations. *J Appl Physiol*. 2018; 596: 4923–44.
45. Daille B, Vervliet B, Bergonzelli G, et al. Colon-delivered shortchain fatty acids attenuate the cortisol response to psychosocial stress in healthy men: a randomized, placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacol*. 2020; 45: 2257–66.
46. Song L, He M, Sun Q, et al. Roseburia hominis Increases Intestinal Melatonin Level by Activating p-CREB-AANAT Pathway. *Nutrients*. 2022; 14: 117.
47. Поросяк М. В., Клементьев Д. Д., Ходов Н. А., и др. Изменения микробиоты кишечника у больных ювенильным идиопатическим артритом. *Вестник РГМУ*. 2022; (6): 13–9.
48. Huang X, Qiu Y, Gao Y, et al. Gut microbiota mediate melatonin signalling in association with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2022; 65 (10): 1627–41.
49. Henke MT, Kenny DJ, Cassilly CD, et al. Ruminococcus gnavus, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci*. 2019; 116: 12672–7.
50. Bromberg JS, Hittle L, Xiong Y, et al. Gut microbiota-dependent modulation of innate immunity and lymph node remodeling affects cardiac allograft outcomes. *JCI Insight [Internet]*. 2018; 3 (19): e121045.
51. Miao T, Yu Y, Sun J, et al. Decrease in abundance of bacteria of the genus Bifidobacterium in gut microbiota may be related to pre-eclampsia progression in women from East China. *Food Nutr Res*. 2021; 28; 65.
52. Vatanen T, Kostic AD, d'Hennezel E, et al. DIABIMMUNE Study Group Variation in microbiome LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell*. 2016; 165: 842–53.
53. Henrick BM, Chew S, Casaburi G, et al. Colonization by B. infantis EVC001 modulates enteric inflammation in exclusively breastfed infants. *Pediatr Res*. 2019; 86: 749–57.
54. Feng Y, Duan Y, Xu Z, et al. An examination of data from the American Gut Project reveals that the dominance of the genus Bifidobacterium is associated with the diversity and robustness of the gut microbiota. *Microbiologyopen*. 2019; 8 (12): e939.

References

1. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013; 99 (1): 63.
2. El Hachem H, Crepau V, May-Panloup P, et al. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Women's Health*. 2017; 9: 31–45.
3. Lund M, Kamper-Jørgensen M, Nielsen HS, et al. Prognosis for live birth in women with recurrent miscarriage: what is the best measure of success? *Obstet Gynecol*. 2012; 119 (1): 37–43.
4. Jevc YB, Davies W. Evidence-based management of recurrent miscarriages. *J Hum Reprod Sci*. 2014; 7: 159–69.
5. Abu-Hejja A. Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss: Is heparin still the drug of choice? *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2014; 14 (1): e26–36.
6. Zejnnullahu VA, Zejnnullahu VA, Kosumi E. The role of oxidative stress in patients with recurrent pregnancy loss: a review. *Reprod Health*. 2021; 16; 18 (1): 207.
7. Kniotek M, Zych M, Roszczyk A, et al. Decreased Production of TNF α and IL6 Inflammatory Cytokines in Non-Pregnant Idiopathic RPL Women Immunomodulatory Effect of Sildenafil Citrate on the Cellular Response of Idiopathic RPL Women. *J Clin Med*. 2021; 15; 10 (14): 3115.
8. Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17 (8): 469–82.
9. Yang X, Tian Y, Zheng L, et al. The Update Immune-Regulatory Role of Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in Recurrent Pregnancy Losses. *Int J Mol Sci*. 2023; 21; 24 (1): 132.
10. Dai FF, Hu M, Zhang YW, et al. TNF α /anti-TNF α drugs and its effect on pregnancy outcomes. *Expert Rev Mol Med*. 2022; 10: 24–26.
11. Saifi B, Rezaee SA, Tajik N, et al. Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window. *Reprod Biomed Online*. 2014; 29: 481–9.
12. Piccinni MP, Raghupathy R, Saito S, Szekeres-Bartho J. Cytokines, Hormones and Cellular Regulatory Mechanisms Favoring Successful Reproduction. *Front Immunol*. 2021; 28; 12: 717808.
13. Shaarawy M, Nagui AR. Enhanced expression of cytokines may play a fundamental role in the mechanisms of immunologically mediated recurrent spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol*

- Scand. 1997; 76: 205–11.
14. Kilani RT, Mackova M, Davidge ST et al. Endogenous tumor necrosis factor — mediates enhanced apoptosis of cultured villous trophoblasts from intrauterine growth-restricted placentae. *Reproduction*. 2007; 133: 257–64.
 15. Salama KM, Alloush MK, Hussini RM. Are the cytokines TNF alpha and IL 1Beta early predictors of embryo implantation? Cross sectional study. *J Reprod Immunol*. 2020; 137: 102618.
 16. Azizieh FY, Raghupathy RG. Tumor necrosis factor- α and pregnancy complications: a prospective study. *Med Princ Pract*. 2015; 24 (2): 165–70.
 17. Zhang Y, Zhang Y, Li H, et al. NOD1 modulates decidual stromal cell function to maintain pregnancy in the early trimester. *Cell Biochemistry and Function* 2019; 37: 464–73.
 18. Yang SL, Tan HX, Niu TT, et al. Kynurenine promotes the cytotoxicity of NK cells through aryl hydrocarbon receptor in early pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2021; 143: 103270.
 19. Najafi S, Hadinedoushan H, Eslami G, Aflatoonian A. Association of IL17A and IL17 F gene polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J Assist Reprod Genet*. 2014; 31 (11): 1491–6.
 20. Buzzaccarini G, Vitagliano A, Andrisani A, et al. Chronic Endometritis and Altered Embryo Implantation: A Unified Pathophysiological Theory from a Literature Systematic Review. *J Assist Reprod Genet*. 2020; 37: 2897–2911.
 21. Lee SK, Kim JY, Lee M, et al. Th17 and regulatory T cells in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2012; 67: 311–8.
 22. Sha J, Liu F, Zhai J, et al. Alteration of Th17 and Foxp3+regulatory T cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after the therapy of hCG combined with immunoglobulin. *Exp Ther Med*. 2017; 14: 1114–8.
 23. McCarthy R, Jungheim ES, Fay JC, et al. Riding the rhythm of melatonin through pregnancy to deliver on time. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 13 (10): 616.
 24. Nepomnaschy PA, Welch KB, McConnell DS. et al. Cortisol levels and very early pregnancy loss in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 3938–42.
 25. Palmer KT, Bonzini M, Harris EC, et al. Europe PMC Funders Group Work activities and risk of prematurity, low birthweight and preeclampsia: an updated review with meta-analysis. *Occup Environ Med*. 2013; 70: 213–22.
 26. Kisanga EP, Tang Z, Guller S, Whirlledge S. Glucocorticoid signaling regulates cell invasion and migration in the human first-trimester trophoblast cell line Sw.71. *Am J Reprod Immunol*. 2018; 80: e12974.
 27. Húngaro TGR, Gregnani MF, Alves-Silva T, et al. Cortisol dose-dependently impairs migration and tube-like formation in a trophoblast cell line and modulates inflammatory and angiogenic genes. *Biomedicines*. 2021; 9 (8): 980.
 28. Michael AE, Papageorghiou AT. Potential significance of physiological and pharmacological glucocorticoids in early pregnancy. *Hum Reprod Update*. 2008; 14 (5): 497–517.
 29. Magiakou MA, Mastorakos G, Webster E. The Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system, annals of the new. 1997; 17 (816): 42–56.
 30. Sandyk R, Anastasiadis PG, Anninos PA, Tsagas N. The pineal gland and spontaneous abortions: Implications for therapy with melatonin and magnetic field. *Int J Neurosci*. 1992; 62 (3–4): 243–50.
 31. Jin M, Li D, Ji R, et al. Changes in Gut Microorganism in Patients with Positive Immune Antibody-Associated Recurrent Abortion. *Biomed Res Int*. 2020; 18: 4673250.
 32. Cui Y, Zou L, Ye Q, et al. Gut microbiota composition and functional prediction in recurrent spontaneous abortion. *Research Square*; 2021.
 33. Liu Y, Chen H, Feng L, Zhang J. Interactions between gut microbiota and metabolites modulate cytokine network imbalances in women with unexplained miscarriage. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2021; 17; 7 (1): 24.
 34. ESHRE Guideline Group on RPL. Bender Atik R, Christiansen OB, Elson J, et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss: an update in 2022. *Hum Reprod Open*. 2023; 2023 (1): hoad002.
 35. Mitra S, Forster-Fromme K, Damms-Machado A, et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14 (5): 16.
 36. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; 7 (5): 335–6.
 37. DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 5069–72.
 38. Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1056.
 39. Guang Y, Shen X, Tan Y, et al. Systematic analysis of microbiota in pregnant Chinese women and its association with miscarriage. *Ann Transl Med*. 2022; 10 (20): 1099.
 40. Vinolo MAR, Rodrigues HG, Nachbar RT, Curi R. Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients*. 2011; 3 (10): 858–76.
 41. Zhang Q, Hu WM, Deng YL, et al. Dysbiosis of gut microbiota and decreased propionic acid associated with metabolic abnormality in Cushing's syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 13: 1095438.
 42. Michels N, Van de Wiele T, Fouhy F, et al. Gut microbiome patterns depending on children's psychosocial stress: Reports versus biomarkers. *Brain Behav Immun*. 2019; 80: 751–62.
 43. Ziegler DR, Herman JP. Neurocircuitry of stress integration: anatomical pathways regulating the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat1. *Integr Comp Biol*. 2002; 42: 541–51.
 44. Van de Wouw M, Boehme M, Lyte JM, et al. Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations. *J Appl Physiol*. 2018; 596: 4923–44.
 45. Dalile B, Vervliet B, Bergonzelli G, et al. Colon-delivered shortchain fatty acids attenuate the cortisol response to psychosocial stress in healthy men: a randomized, placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacol*. 2020; 45: 2257–66.
 46. Song L, He M, Sun Q, et al. Roseburia hominis Increases Intestinal Melatonin Level by Activating p-CREB-AANAT Pathway. *Nutrients*. 2022; 14: 117.
 47. Porosjuk MV, Klementev DD, Hodov NA, i dr. Izmeneniya mikrobioty kishhechnika u bol'nyh juvenil'nym idiopatcheskim artritom. *Vestnik RGMU*. 2022; (6): 13–9. Russian.
 48. Huang X, Qiu Y, Gao Y, et al. Gut microbiota mediate melatonin signalling in association with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2022; 65 (10): 1627–41.
 49. Henke MT, Kenny DJ, Cassilly CD, et al. Ruminococcus gnavus, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci*. 2019; 116: 12672–7.
 50. Bromberg JS, Hittle L, Xiong Y, et al. Gut microbiota-dependent modulation of innate immunity and lymph node remodeling affects cardiac allograft outcomes. *JCI Insight [Internet]*. 2018; 3 (19): e121045.
 51. Miao T, Yu Y, Sun J, et al. Decrease in abundance of bacteria of the genus Bifidobacterium in gut microbiota may be related to pre-eclampsia progression in women from East China. *Food Nutr Res*. 2021; 28: 65.
 52. Vatanen T, Kostic AD, d'Hennezel E, et al. DIABIMMUNE Study Group Variation in microbiome LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans *Cell*. 2016; 165: 842–53.
 53. Henrick BM, Chew S, Casaburi G, et al. Colonization by B. infantis EVC001 modulates enteric inflammation in exclusively breastfed infants *Pediatr. Res*. 2019; 86: 749–57.
 54. Feng Y, Duan Y, Xu Z, et al. An examination of data from the American Gut Project reveals that the dominance of the genus Bifidobacterium is associated with the diversity and robustness of the gut microbiota. *Microbiologyopen*. 2019; 8 (12): e939.