

Moterų lytinių takų mikrobiotos sąsajos su moterų nevaisingumu

Danielė Arlickaitė¹, Gabija Didžiokaitė^{1,2}

¹ Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas

Faculty of Medicine, Vilnius University

² Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Patologijos ir teismo medicinos katedra

Vilnius University, Faculty of Medicine, Institute of Biomedical Science, Department of Pathology and Forensic Medicine

El. paštas: daniela.arlickaite@mf.stud.vu.lt

Santrauka

Moters reprodukciniėje sistemoje aptinkama 9 % viso žmogaus mikrobiomo. Mikrobiota egzistuoja tiek apatiniuose, tiek viršutiniuose lytiniuose takuose ir yra svarbi moters reprodukcinės sistemos homeostazei.

Darbo tikslas. Apibendrinti naujausią literatūrą apie moterų lytinių takų mikrobiotos sąsajas su nevaisingumu, apžvelgti reprodukcinės sistemos mikrobiotos įtaką pagalbinio apvaisinimo procedūrų rezultatams ir išanalizuoti mikrobiotos ištyrimo perspektyvas nevaisingumo diagnostikos ir gydymo srityje.

Darbo metodai. Tinkamos literatūros paieška pagal reikšminius žodžius atlikta *Pubmed* duomenų bazėje bei specializuotoje paieškos sistemoje *Google Scholar*.

Literatūros apžvalga. Moterų reprodukciniuose takuose egzistuoja sudėtinga ekosistema, sudaryta iš šeiminko ląstelių, imuninių komponentų, mikroorganizmų ir

metabolitų. Mokslinių tyrimų duomenimis, sveikų moterų lytinių takų mikrobiotoje dominuoja *Lactobacillus* genties bakterijos, anaerobinės fermentacijos būdu sintetinančios pieno rūgštį, kuri sukuria švelniai rūgštinę terpę ir slopina patogeninių bakterijų augimą, ir vandenilio peroksidą, kuris stabdo lytinių takų kolonizaciją patogeninėmis bakterijomis. Atsiradus disbiozei prarandamas *Lactobacillus* genties bakterijų dominavimas, padidėja mikroorganizmų įvairovė, sutrinka reprodukcinės sistemos mikrobiotos bakterijų ir imuninės sistemos ląstelių homeostazė. Nevaisingų moterų reprodukciniėje sistemoje sumažėja *Lactobacillus* genties bakterijų ir aptinkamos patogeninių genčių bakterijos. Dabartiniu laikotarpiu vis labiau tiriamos moterų lytinių takų mikrobiotos rūšinės sudėties sąsajos su pagalbinio apvaisinimo procedūrų sėkmingumu. Nustatyta, kad *Lactobacillus* genties bakterijos endometriume yra reikšmingai susijusios su sėkminga nėštumo baigtimi po pagalbinio apvaisinimo procedūros. Mokslinėje literatūroje keliama prielaida, kad moters reprodukcinės sistemos mikrobiota gali tapti perspektyviu nevaisingumo diagnostikos įrankiu ir terapiniu taikiniu gydant nevaisingumą.

Išvada. Moterų lytinių takų mikrobiota yra neabejotinai susijusi su moterų nevaisingumu. Išsamesni tyrimai šioje srityje suteiktų galimybę kurti naujus nevaisingumo diagnostikos ir gydymo metodus.

Reikšminiai žodžiai: mikrobiota, vaisingumas, *Lactobacillus*, disbiozė, pagalbinio apvaisinimo procedūros.

IVADAS

Žmonės, kaip holobiontai, evoliucionavo kartu su mikroorganizmais [1]. Tyrimų duomenimis, žmogaus organizme gyvena apie 4×10^{13} bakterijų – tūkstančiai skirtingų bakterijų rūšių. Kiekviena organizmo sistema turi savo unikalų mikroorganizmų (bakterijų, archėjų, grybų ir protistų) rinkinį – mikrobiotą [2, 3]. Mikrobiota ir jai priklausančių mikroorganizmų struktūriniai elementai, metabolitai, signalinės molekulės ir aplinkos sąlygos sudaro mikrobiomą [3]. Žmogaus genomo projektas atskleidė, kad 9 % žmogaus mikrobiomo aptinkama moters reprodukciniėje sistemoje [1].

Moters lytinių organų mikrobiotą sudaro daugybė mikroorganizmų, kurių sudėčiai įtakos turi etninė kilmė, gyvenimo būdas, amžius, buvę nėštumai, lytinis aktyvumas, rūkymas, egzogeniniai hormonai ir antibiotikų vartojimas [4, 5]. Dauguma dabartinių žinių apie moters reprodukcinių

takų mikrobiotą apima makšties mikrobiotą – bakterijas, randamas makšties epitelyje ir sudarančias simbiotinius ryšius su šeiminko organizmu [2]. Beveik šimtmetį buvo manoma, kad gimdos ertmė yra sterili [2, 6–8]. Ankstyvuosiuose tyrimuose, publikuotuose 1966–1967 m., buvo teigiama, kad gimdos ertmė yra sterili dėl gimdos kaklelio gleivių kamščio [7, 9, 10], tačiau viršutinių lytinių takų sterilumo prielaida buvo paneigta 2013 m., kai Hansen ir kt., atlikę tyrimą, pateikė išvadą, kad gimdos kaklelio gleivių kamštis yra tik iš dalies nepralaidus bakterijoms iš makšties [2, 18], o 2017 m. Miles ir kt. publikuotame bandomajame tyrime pirmą kartą buvo nustatyta, kad mikrobiota egzistuoja visuose moters lytiniuose takuose sudarančiuose organuose – makštyje, gimdos kaklelyje, gimdoje, kiaušintakiuose ir kiaušidėse [11]. Chen ir kt., atlikę perspektyvų kohortinį tyrimą, įrodė, kad moters lytiniai takai yra atvira sistema, kurioje

mikrobiota palaipsniui keičiasi – nuo išorinių iki vidinių lytinių organų bakterijų gausumas mažėja, o įvairovė didėja [12]. Šių studijų rezultatus patvirtina ir 2019 m. Koedooder ir kt. bei Peric ir kt. publikuotos literatūros apžvalgos [13, 14].

Per pastaruosius 10 metų moters lytinių takų mikrobiota tapo svarbia mokslinių tyrimų dalimi. Jau yra įrodyta, kad mikrobiota egzistuoja tiek apatiniuose, tiek viršutiniuose lytiniuose takuose ir yra labai svarbi moters reprodukcinės sistemos homeostazei [2, 15]. 2022 m. Venneri ir kt. publikuotame straipsnyje teigiama, kad makšties, gimdos gleivinės, endometriumo, placentos disbiozė gali turėti įtakos vaisingumui, moterims gimusių naujagimių ligų išsivystymui bei didinti priešlaikinio gimdymo riziką [16]. Šiuo metu ypač daug mokslininkų dėmesio sulaukia moters reprodukcinės sistemos mikrobiotos sąsajos su nevaisingumu ir pagalbinio apvaisinimo procedūrų sėkmingumu. Taip pat vis dažniau keliama prielaida, kad moters reprodukcinės sistemos mikrobiota gali tapti perspektyviu nevaisingumo diagnostikos įrankiu ir terapiniu taikiniu gydant nevaisingumą.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Mokslinių literatūros šaltinių paieška vykdyta *Pubmed* duomenų bazėje ir specializuotoje paieškos sistemoje *Google Scholar*. Apžvalgai buvo naudoti ne senesni nei dešimties metų straipsniai (išskyrus istoriškai reikšmingas senesnes publikacijas), publikuoti anglų kalba. Mokslinių straipsnių paieška atlikta 2023 m. lapkričio – 2024 m. rugpjūčio mėnesiais. Pasirinkti apžvalgos temą atitinkantys reikšminiai žodžiai anglų kalba: *infertility; female infertility; female reproductive tract; microbiota*, jų deriniai ir MeSH terminai: *infertility; infertility, female; microbiota*.

Mokslinės literatūros analizei tinkamos publikacijos buvo atrinktos pagal šiuos pasirinktus kriterijus:

- Pirminiai kriterijai:
 - straipsniai, publikuoti per pastaruosius dešimt metų (nuo 2014 m. iki 2024 m.), išskyrus istorinės reikšmės tekstus;
 - publikacijos anglų kalba.
- Antriniai kriterijai (straipsnių atmetimo kriterijai):
 - publikacijos laikytos netinkamomis, jeigu jose nagrinėjamos kitos, su tema nesusijusios ligos, operacijos, procedūros ar gydymo metodai.

Mokslinės literatūros atranka vykdyta keliais etapais: pirmame etape ieškota visų straipsnių, kurių pavadinimai ar santraukos atitinka nurodytus pirminius kriterijus; antrame etape atrinkti straipsniai, kuriuose yra suteikta prieiga prie viso straipsnio teksto; trečiame – įvertintas visas publikacijos tekstas ir remiantis straipsnių atmetimo kriterijais atsakyta netinkamų publikacijų. Galutiniame etape atrinktos publikacijos įtrauktos į literatūros apžvalgą. Straipsnių atmetimas vykdytas rankiniu būdu.

LITERATŪROS APŽVALGA

Moterų lytinių takų mikrobiota

Moterų reprodukcinuose takuose egzistuoja sudėtinga ekosistema, sudaryta iš šeimininko ląstelių, imuninių komponentų, mikroorganizmų ir metabolitų [2]. Moterų

lytinius takus sudaro tarpusavyje besijungiantys audiniai ir organai – makštis, gimdos kaklelis, gimda, du kiaušintakiai ir dvi kiaušidės. Šie organai yra skirstomi į viršutinius ir apatinius lytinius takus. Apatinius lytinius takus sudaro makštis ir egzocerviksas, viršutinius – endocerviksas, gimda, kiaušintakiai ir kiaušidės [2].

Makšties mikrobiotą daugiausia formuoja iš tiesiosios žarnos patekusios bakterijos [17]. Makštyje tarpstančių bakterijų biomasė yra didžiausia, lyginant su kituose moters reprodukcinėse takų organuose ir audiniuose gyvenančių bakterijų biomasė – makštyje yra $\sim 10^{10}$ – 10^{11} bakterijų [2]. Mikrobiotos egzistavimas gimdos kaklelyje, gimdoje, kiaušintakiuose ir kiaušidėse daugelį metų buvo kvestionuojamas, tačiau viršutinių lytinių takų sterilumo prielaida buvo paneigta 2013 m., kai Hansen ir kt. publikuotame tyrime buvo pateikta išvada, kad gimdos kaklelio gleivių kamštis yra tik iš dalies nepralaidus bakterijoms iš makšties, todėl kai kurios makšties bakterijos gali patekti į viršutinius lytinius takus ir juos kolonizuoti [2, 18]. Moters lytinių takų kolonizacijai bakterijomis įtakos turi ir lytiniai hormonai [16]. Pavyzdžiui, geltonkūnio išskiriamas progesteronas vaisingų moterų organizme skatina subnuklearinių vakuolių gamybą, dėl kurios endometriume padaugėja glikogeno, o čia esančios epitelinio glikogeno sankaupos sudaro palankias sąlygas bakterijoms kolonizuoti endometriumą [7].

Sveikų moterų reprodukcinės sistemos mikrobiotos sudėtis

Sveikų moterų makšties mikrobiota nuolat yra dinamiškos pusiausvyros būsenos [16, 19]. Joje dominuoja *Lactobacillus* genties bakterijos, sudarančios 90–95 % makšties mikrobiotos. *Lactobacillus* genties bakterijos yra gramteigiamos, nejudrios, nesudarančios sporų, neinkapsuliuotos, mikroaerofilinės arba anaerobinės, polimorfiškos. Be moters reprodukcinės sistemos, jų taip pat randama žarnyno ir kiek mažiau – burnos mikrobiotoje [20]. Makštyje dažniausiai aptinkamos *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii* ir *Lactobacillus gasseri* rūšys [16]. *Lactobacillus* genties bakterijų kiekis kinta priklausomai nuo menstruacinio ciklo fazės, amžiaus, nėštumo, lytinės elgsenos, aplinkos ir kitų veiksnių [16, 19]. *Lactobacillus* genties bakterijų svarba siejama su jų gebėjimu anaerobinės fermentacijos būdu sintetinti pieno rūgštį (2-hidroksipropano rūgštį), gaminamą iš makšties epitelio ląstelių. Kiaušidės grūdėtųjų ląstelių gaminamas estradiolis (E2) reguliuoja pieno rūgšties gamybą, o ši palaiko makšties terpės rūgštingumą (pH 3,0–4,5), reikalingą *Lactobacillus* genties bakterijoms augti, daugintis ir dominuoti gimdos kaklelio ir makšties mikroaplinkoje. Pieno rūgštis sukuria švelniai rūgštinę terpę makštyje ir slopina patogeninių bakterijų augimą, todėl laktobacilos yra laikomos sveikos makšties mikrobiotos rodikliu [7, 16]. *Lactobacillus* genties bakterijos, gaminamos pieno rūgštį, slopina ciklinį adenosino monofosfatą (cAMP) ir skatina autofagijos procesą, taip paskatindamos patogeninių bakterijų šalinimą. Taip pat *Lactobacillus* genties bakterijos palaiko optimalią urogenitalinės sistemos būklę sintetindamos vandenilio peroksidą ir bakteriocidinius

bei bakteriostatinius junginius, kurie sunaikina egzogenines bakterijas ir stabdo makšties kolonizaciją patogeninėmis bakterijomis [2, 5, 16].

Viršutiniuose moters lytiniuose takuose (gimdos kaklelyje, gimdoje, kiaušintakiuose ir kiaušidėse) aptinkamos mikrobiotos savo sudėtimi skiriasi nuo makšties mikrobiotos ir yra mažesnės biomasės [2]. Gimdos kaklelio mikrobiota atlieka reikšmingą vaidmenį užtikrindama svarbius metabolinius kelius ir fermentinius mechanizmus, padedančius apdoroti vitaminus, pašalinti toksinius junginius, sunaikinti patogenus, stiprinti moters lytinių takų epitelį ir reguliuoti imuninį atsaką [2, 21]. Daugėja įrodymų, kad gimdos kaklelio mikrobiota gali dalyvauti ir gimdos kaklelio kancerogenezės procesuose, todėl manoma, kad ji galėtų tapti taikiniu kuriant naujus gydymo metodus. Tango ir kt., atlikę retrospektyvų tyrimą, kuriame lygino sveikų tiriamųjų gimdos kaklelio mikrobiotą ir aukšto laipsnio intraepitelinę neoplaziją bei gimdos kaklelio vėžiu (CIN2/3-CC) sergančių moterų gimdos kaklelio mikrobiotą, nustatė, kad gimdos kaklelio mikrobiotos pokyčiai gali paskatinti gimdos kaklelio kancerogenezės progresavimą. Septynių tipų (*Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Tenericutes* ir *Saccharibacteria_TM7*) bakterijų buvo gausu abiejose tiriamųjų grupėse, tačiau *Saccharibacteria_TM7* tipo bakterijų gimdos kaklelio vėžiu (CIN2/3-CC) sergančių tiriamųjų grupėje buvo nustatyta statistiškai reikšmingai mažiau nei kontrolinėje grupėje [21]. Taip pat 2022 m. Ghohiof ir kt. pasklebtame straipsnyje teigiama, kad gimdos kaklelio patologiniai pokyčiai yra susiję su *Lactobacillus* genties bakterijų kiekio sumažėjimu ir anaerobinių bakterijų kiekio padidėjimu [2].

Endometriumo mikrobiotos sudėties nustatymas yra vertinamas prieštarai dėl ėminių užterštumo galimybės, o šio tyrimo rezultatų vertinimas kol kas nėra vienareikšmis [16]. Vienoje iš ankstyvųjų studijų – 1966 m. publikuotame Mishell ir kt. tyrime – endometriume buvo aptiktos tik patogeninių genčių bakterijos (*Enterobacter*, *Gardnerella* ir *Streptococcus*), tačiau pastaruoju metu naudojant pažangiausius tyrimo metodus (polimerazės grandininę reakciją, 16S rRNR amplifikaciją ir naujos kartos sekoskaitą) nustatoma, kad histerektomijos būdu pašalintoje gimdoje santykinai gausiausios yra *Firmicutes* tipo bei *Lactobacillus* ir *Prevotella* genčių bakterijos [11, 16, 22].

Nors kiaušintakių mikrobiota dar tik pradedama tirti, jau yra duomenų, pateiktų analizuojant abipusės salpingektomijos chirurginius ėminius. 2018 m. Pelzer ir kt. publikavo tyrimą, kuriame tiek vaisingo amžiaus moterų, tiek moterų po menopauzės kiaušintakiuose buvo rasta santykinai daugiausia *Proteobacteria*, *Actinobacteria* ir *Bacteroidetes* tipų bei *Staphylococcus*, *Enterococcus* ir *Lactobacillus* genčių bakterijų. Taip pat buvo nustatyta, kad dešiniojo kiaušintakio mikrobiotos sudėtis skyrėsi nuo kairiojo (tik dešiniajame kiaušintakyje aptikta *Staphylococcus* gentis, tik kairiajame kiaušintakyje – *Lactobacillus*, *Enterococcus* ir *Prevotella* gentys) [23]. Venneri ir kt. 2022 m. paskelbtoje literatūros apžvalgoje keliama hipotezė, kad kiaušintakių mikrobiotos sudėties skirtumai rodo galimą hormonų įtaką kiaušintakių mikrobiotos sudėčiai [16].

Miles ir bendraautorai, 16S rRNR amplifikacijos ir naujos kartos sekoskaitos metodais ištyrė pacienčių, kurioms atlikta histerektomija ir abipusė salpingoovarektomija, viršutinius lytinius takus, aptiko mikrobiotą ir kiaušidėse. Manoma, kad kiaušidžių mikrobiota gali turėti įtakos folikulų vystymuisi, policistinių kiaušidžių sindromo vystymuisi, klimakterinio laikotarpio simptomų intensyvumui bei priešlaikiniam kiaušidžių nepakankamumui [11].

Disbiozės atsiradimo mechanizmai

Homeostazės metu tarp reprodukcinių takų mikrobiotos bakterijų ir imuninės sistemos ląstelių yra pusiausvyrą, vadinama eubioze. Bakterijų kolonizacijos, imuninės sistemos arba vietinės aplinkos pokyčiai (pavyzdžiui, stresas, infekcija, antibiotikų terapija, gyvenimo būdo pokyčiai) gali sukelti disbiozę – būklę, kai vietoje endogeninių bakterijų ima dominuoti patogeninės bakterijos [2, 7]. Atsiradus disbiozei dėl uždegimą skatinančių citokinų ir chemokinų gamybos, imuninių ląstelių aktyvinimo, gimdos kaklelio ir makšties skysčio klampumo sumažėjimo pamažu prarandamas *Lactobacillus* genties bakterijų dominavimas, padidėja mikroorganizmų įvairovė, sutrinka imuninės sistemos ir makšties epitelio homeostazė. Vis dar nežinoma, kuria kryptimi inicijuojama disbiozė – ar dėl įvairių perturbacijų įvykę bakterijų sudėties pokyčiai sukelia disbiozę, ar imuninis atsakas pakeičia mikrobiotos sudėtį ir reaguodamas į aplinkos pokyčius sukelia disbiozę. Manoma, kad abu mechanizmai yra galimi [2]. Taigi, optimali moters reprodukcinių takų mikrobiota yra svarbi moters vaisingumui, o disbiozė yra siejama su nesėkmingomis nėštumo baigtimis, priešlaikiniu gimdymu, savaiminiu persileidimu bei nevaisingumu [2, 16].

Nevaisingų moterų reprodukcinės sistemos mikrobiotos sudėtis

Sezer ir kt. 2022 m. paskelbė tyrimą, kuriame buvo vertinama moterų, kurioms buvo diagnozuotas neaiškus kilmės nevaisingumas, makšties mikrobiotos sudėtis. Nevaisingų moterų makšties mikrobiotos mėginiuose pastebėtas *Lactobacillus* genties bakterijų sumažėjimas ir reikšmingas laktobacilų masės bei bendros bakterijų masės santykio sumažėjimas. Nevaisingų tiriamųjų makšties mėginiuose buvo nustatyta daugiau *Staphylococcus* ir *Peptostreptococcus* genčių bakterijų bei *Atopobium vaginae* rūšies bakterijų lyginant su kontroline grupe [20].

Zhao ir kt. 2020 m. publikuotame tyrime buvo aprašoma nevaisingų moterų, kurioms buvo atlikta *in vitro* apvaisinimo procedūra, makšties mikrobiotos sudėtis bei jos ryšys su atsaku į stimuliaciją hormonais. Nustatyta, kad nevaisingų moterų makšties mikrobiotos sudėtyje buvo daugiau *Atopobium*, *Aerococcus* ir *Bifidobacterium* genčių bakterijų ir mažiau *Lactobacillus* bei *Leuconostoc* genčių bakterijų nei sveikų kontrolinės grupės moterų makšties mikrobiotoje. Tyrimo autorių teigimu, makšties mikrobiotos sudėčiai didelę įtaką turi įprastiniai cikliniai estrogenų kiekio svyravimai vaisingo amžiaus moterų organizme, kur aukščiausią lygį estrogeno koncentracija pasiekia ovuliacijos metu [24]. Kaip minėta, estrogenai skatina makšties epitelio

proliferaciją ir didina glikogeno kiekį makštyje, o šis sudaro palankias sąlygas *Lactobacillus* genties bakterijoms dominuoti makšties mikrobiotoje [2, 24]. Zhao ir kt. tyrime buvo nustatyta, kad nevaisingų moterų makšties mikrobiotos sudėtis reikšmingai nepasikeitė net GnRH injekcijomis sukeltos ovuliacijos sąlygomis. Tyrimo autoriai kelia hipotezę, kad hormonų pokyčiams nejautri makšties mikrobiota gali būti vienas iš nevaisingumą lemiančių veiksnių [24].

Chen ir kt. 2021 m. publikuotame tyrime, kuriame buvo analizuojami nevaisingų *Chlamydia trachomatis* infekcija sergančių moterų makšties mikrobiotos pokyčiai, buvo nustatyta, kad nevaisingumo ir *Chlamydia trachomatis* infekcijos atveju makšties mikrobiotoje dominavo *Lactobacillus iners* rūšies bakterijos ir buvo sumažėję kitų *Lactobacillus* genties bakterijų, *Bifidobacterium*, *Enterobacter*, *Atopobium* ir *Streptococcus* genčių bakterijų kiekiai [5].

Wee ir kt. 2018 m. publikuotame tyrime, kuriame buvo analizuojamos makšties ir gimdos kaklelio mikrobiotos sąsajos su nevaisingumu, buvo pastebėta tendencija, kad nevaisingų moterų makšties mikrobiotos sudėtyje buvo dažniau aptinkamos *Ureaplasma* genties bakterijos, o gimdos kaklelyje – *Gardnerella* genties bakterijos [4].

Ichiyama ir kt. 2021 m. publikuotame tyrime, kuriame buvo analizuojamos makšties ir endometriumo mikrobiotos sudėties sąsajos su pasikartojančia nesėkminga implantacija (angl. *repeated implantation failure* – RIF), buvo nustatyta, kad su pasikartojančia nesėkminga implantacija buvo susijusios *Atopobium*, *Megasphaera*, *Gardnerella* ir *Prevotella* genčių patogeninės bakterijos, dalyvaujančios bakterinės vaginozės patogenezėje. Taip pat pastebėta, kad nevaisingų moterų grupės makšties mikrobiotoje buvo statistiškai reikšmingai sumažėjęs *Lactobacillus* genties bakterijų kiekis, tačiau endometriumo mikrobiotoje *Lactobacillus* genties bakterijų kiekis nesiskyrė tarp vaisingų ir nevaisingų moterų [7].

Moreno ir kt. 2021 m. atliko tyrimą, kuriame analizavo endometriumo mikrobiotos sudėties sąsajas su nevaisingumu. Šiame tyrime buvo nustatyta, kad su sutrikusiomis reprodukcinėmis funkcijomis susijęs disbiotinis endometriumo mikrobiotos profilis buvo sudarytas iš patogeninių bakterijų genčių: *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Chryseobacterium*, *Gardnerella*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Staphylococcus* ir *Streptococcus* [1].

Moterų lytinių takų ir žarnyno mikrobiotos sąsajos

Moterų lytinių takų mikrobiota yra glaudžiai susijusi su žarnyno mikrobiota. Šiuos takus kolonizuojantys mikroorganizmai yra kilę iš tiesiosios žarnos, kuri yra kaip mikroorganizmų rezervuaras [25]. Nors tiek makštį, tiek žarnyną iškloja gleivinė, mikrobiotos šių gleivinių paviršiuose skiriasi. Sveiko žarnyno mikrobiotai būdinga didelė mikroorganizmų įvairovė, kuri disbiozės atveju yra prarandama, o sveikos makšties mikrobiotoje dominuoja *Lactobacillus* genties bakterijos ir mikroorganizmų įvairovė yra maža. Disbiozės atveju makštyje mikroorganizmų įvairovė padidėja, o žarnyne – sumažėja [2].

Azpiroz ir kt. 2021 m. paskelbė makšties ir tiesiosios žarnos mikrobiotų disbalanso ryšio su nevaisingumu tyrimo rezultatus. Šių autorių duomenimis, nevaisingų tiriamųjų tiesiojoje žarnoje bakterijų įvairovė buvo mažesnė bei *Lactobacillus brevis* ir *Lactobacillus iners* santykis makšties ėminiuose padidėjęs [26]. Patel ir kt., išanalizavę nevaisingų moterų žarnyno ir makšties mikrobiotą, nustatė, kad nevaisingų moterų grupėje žarnyno disbiozė buvo dažnesnė negu kontrolinėje grupėje [27].

Žarnyno mikrobiota taip pat gali veikti moterų reprodukcinę sistemą. Li ir kt. 2023 m. publikuotame straipsnyje teigiama, kad tam tikros žarnyno patogeninės bakterijos, pavyzdžiui, *Pseudomonas*, *Streptococcus* ir *Staphylococcus*, gamina lipopolisacharidą, kuris didina žarnyno sienelių pralaidumą. Lipopolisacharidas patenka į kraujotaką, aktyvuoja imuninę sistemą ir sukelia sisteminį uždegimą. Nevaisingų moterų kraujo serume yra nustatoma daugiau lipopolisacharidą prijungiančio baltymo, o jo koncentracija yra tiesiogiai proporcinga C reaktyviojo baltymo ir IL-6 gamybai folikulų skystyje ir atvirkščiai proporcinga progesterono gamybai [28]. Progesteronas yra svarbus embriono implantacijos procesui endometriume ir nėštumo palaikymui [29]. Taigi, esant dideliame žarnyno sienelių pralaidumui, lipopolisacharidas gali sukelti kiaušidžių uždegimą, sumažinti progesterono gamybą ir neigiamai paveikti moters organizme vykstančius reprodukcinius funkcijos svarbius procesus [28].

Reprodukcinės sistemos mikrobiotos reikšmė pagalbinio apvaisinimo procedūroms

Moters reprodukcinės sistemos mikrobiota yra labai svarbi pagalbinio apvaisinimo procedūrų sėkmei [30–32]. Endometriumo mikrobiotos sudėtis yra susijusi su implantacijos sėkmingumu [1, 33]. Yra žinoma, kad endometriumą kolonizuojančios bakterijos ir virusai gali keisti endometriumo funkcijas, taip pat ir „imlumą“ embriono implantacijai. Mikroorganizmų sukeltas gimdos ertmės uždegimas lemia pakitusią citokinų raišką, kuri yra būtina sėkmingai embriono implantacijai [8]. Pasaulio mokslininkų bendruomenėje vis dažniau keliama prielaida, kad endometriumo mikrobiota gali būti svarbi neaiškos kilmės nevaisingumo, nesėkmingos implantacijos, savaiminio persileidimo ar nesėkmingų pagalbinio apvaisinimo procedūrų priežastis [1, 4]. 2017–2019 m. Europoje, Amerikoje ir Azijoje vykdyto daugiacentrio perspektyviojo stebėjimo tyrimo rezultatai parodė, kad endometriumo mikrobiotos sudėtis yra reikšmingai susijusi su nesėkminga implantacija ir/arba savaiminiu persileidimu. Taip pat buvo pastebėta, kad endometriumo mikrobiotos sudėties nustatymas prieš embrionų perkėlimą yra vertingas tyrimas siekiant prognozuoti reprodukcijos sėkmę [1]. Kyono ir kt., atlikę bandomąjį tyrimą, kuriame analizavo 102 nevaisingų Japonijos moterų endometriumo ir makšties mikrobiotą, nustatė, kad nevaisingų moterų grupėje *Lactobacillus* genties bakterijos sudarė mažesnę mikrobiotos dalį tiek endometriumo (38 %), tiek makšties mėginiuose (44,3 %), palyginti su sveikomis savanorėmis (73,9 % endometriumo mėginiuose ir 73,9 % makšties mėginiuose). Tyrimo autorių nuomone, endometriumo mikrobiotos

sudėties pasikeitimas gali būti susijęs su neaiškios kilmės pasikartojančia nesėkminga implantacija [34]. Šios pastarųjų 7 metų publikacijos svariai prisideda patvirtinant keliamą prielaidą, kad endometriumo mikrobiota gali būti svarbi neaiškios kilmės nevaisingumo, nesėkmingos implantacijos, savaiminio persileidimo ar nesėkmingų pagalbinio apvaisinimo procedūrų priežastis.

Pastaruoju metu vis labiau tiriama moters lytinių takų mikrobiotos rūšinės sudėties sąsajos su pagalbinio apvaisinimo procedūromis. Moreno ir kt. 2022 m. publikuotame straipsnyje, kuriame analizuojamos endometriumo mikrobiotos sąsajos su nevaisingumo gydymo efektyvumu, teigiama, kad *Lactobacillus* genties bakterijų nustatymas endometriume yra reikšmingai susijęs su sėkminga nėštumo baigtimi po pagalbinio apvaisinimo procedūros [1]. Bui ir kt. 2023 m. publikuotas tyrimas rodo sąsają tarp *Lactobacillus crispatus* rūšies bakterijų nustatymo endometriume ir sėkmingos pagalbinio apvaisinimo procedūros [33].

Mikrobiotos ištyrimas ir nevaisingumo diagnostika

Moters reprodukcinės sistemos mikrobiota gali tapti perspektyviu nevaisingumo diagnostikos įrankiu. Sezer ir kt. 2022 m. publikavo tyrimą, kuriame tikro laiko PGR metodu buvo vertinama neaiškios kilmės nevaisingumu sergančių moterų makšties ir endometriumo mikrobiotos sudėtis. Bendrai bakterijų masei ir mikroorganizmų sudėčiai nustatyti buvo naudojamas Femoflor-16 tikro laiko PGR rinkinys – kiekybinis *in vitro* nukleorūgščių testas, pagrįstas tikslinės DNR sekos amplifikacija. Pastebėta, kad neaiškios kilmės nevaisingumu sergančių moterų makšties mikrobiotos ėminiuose vidutinis laktobacilų ir bendros bakterijų masės santykis buvo statistiškai reikšmingai mažesnis, palyginti su kontroline grupe (38,2 % vs. 76,3 %; $p = 0,001$). Tyrimo autorių manymu, kiekybinis laktobacilų ir bendros bakterijų masės santykio nustatymas PGR metodu makšties mėginiuose galėtų būti naudojamas kaip mažai invazyvus ir lengvai prieinamas diagnostinis testas neaiškios kilmės nevaisingumo atveju [20].

Jau minėto Ichiyama ir kt. atlikto tyrimo duomenimis, nevaisingų moterų makšties mikrobiotos sudėtyje buvo nustatytas statistiškai reikšmingai sumažėjęs *Lactobacillus* genties bakterijų kiekis, todėl tyrimo autoriai teikia prielaidą, kad *Lactobacillus* genties bakterijų kiekis makštyje galėtų būti naudojamas kaip pasikartojančios nesėkmingos implantacijos (angl. *repeated implantation failure* – RIF) biožymuo [7].

Wang ir kt., išanalizavę makšties mikrobiotos pokyčių sąsajas su pirminiu kiaušidžių nepakankamumu, nustatė 34 bakterijų gentis, kurias aptikus makšties mikrobiotos mėginiuose galima įtarti dar vieną iš reikšmingų nevaisingumą galinčių sukelti veiksnių – pirminį kiaušidžių nepakankamumą [35].

Tapilskaya ir kt. 2023 m. publikuotame tyrime buvo vertinama makšties ir gimdos gleivinės mikrobiotos sudėtis ir jos ryšys su endometriumo gaminamų citokinų kiekiu. Tyrime dalyvavo 65 reprodukcinio amžiaus moterys, susiduriančios su neaiškios kilmės antriniu nevaisingumu.

Makšties ir endometriumo mikrobiotos sudėtis buvo tirama tikro laiko PGR metodu, o endometriumo α -defenzino (DEFa1), transformuojančio augimo faktoriaus (TGF β 1) ir pagrindinio fibroblastų augimo faktoriaus (bFGF2) kiekybinė analizė buvo atlikta ELISA metodu tiriant endometriumo biopsijos medžiagą. Neaiškios kilmės nevaisingumu sergančių moterų organizme buvo statistiškai reikšmingai sumažėjęs transformuojančio augimo faktoriaus (TGF β 1) ir pagrindinio fibroblastų augimo faktoriaus (bFGF2) kiekis bei padidėjęs endometriumo α -defenzino (DEFa1) kiekis lyginant su kontroline vaisingų moterų grupe. Tyrimo autoriai pabrėžia vietinių imuninių biožymenų nustatymo svarbą analizuojant galimą bakterijų reikšmę nevaisingumo patogenezėje [8].

Disbiozės korekcija ir nevaisingumo gydymas

Lytinių takų mikrobiotos pokyčiai veikia reprodukcinę sistemą, todėl mokslininkų bendruomenėje vis dažniau keliama prielaida, kad disbiozės korekcija gali padidinti sėkmingos reprodukcijos tikimybę [16]. Vienas iš būdų moters lytinių takų mikrobiotos sudėčiai modifikuoti – probiotikų skyrimas [2]. Tanha ir kt. tyrė 103 jaunesnes nei 40 metų pacientes, kurioms pirmą arba antrą kartą buvo atliekama pagalbinio apvaisinimo procedūra dėl bet kurio tipo nevaisingumo. Eksperimentinės grupės tiriamosioms 2 savičių laikotarpiui buvo paskirtos *Lactovag* makšties ovulės, kurių sudėtyje yra *Lactobacillus rhamnosus* padermės bakterijų ir probiotiko inulino. Klinikinio nėštumo dažnis eksperimentinėje grupėje buvo didesnis nei kontrolinėje grupėje – atitinkamai 28,6 % ir 17,8 %. Taip pat savaiminio persileidimo dažnis kontrolinėje grupėje buvo penkis kartus didesnis nei *Lactovag* makšties ovules naudojusią moterų grupėje. Tyrimo autorių teigimu, makšties disbiozės korekcija probiotikais gali pagerinti nevaisingų moterų nėštumo baigtis po pagalbinio apvaisinimo procedūrų [36].

APIBENDRINIMAS

Per pastarąjį dešimtmetį atlikti moksliniai tyrimai suteikė naujų žinių apie moterų lytinių takų mikrobiotos svarbą reprodukcinės sistemos homeostazei. Nustatyta, kad optimali lytinių takų mikrobiota yra svarbi vaisingumui, o disbiozė gali lemti nesėkmingas nėštumo baigtis, priešlaikinį gimdymą, savaiminį persileidimą bei nevaisingumą.

Mokslinių tyrimų duomenimis, sveikų moterų lytinių takų mikrobiotoje dominuoja *Lactobacillus* genties bakterijos, anaerobinės fermentacijos būdu sintetinančios pieno rūgštį, kuri sukuria švelniai rūgštinę terpę ir slopina patogeninių bakterijų augimą, ir vandenilio peroksidą, kuris stabdo lytinių takų kolonizaciją patogeninėmis bakterijomis. Atsiradus disbiozei prarandamas *Lactobacillus* genties bakterijų dominavimas, padidėja mikroorganizmų įvairovė, sutrinka reprodukcinės sistemos mikrobiotos bakterijų ir imuninės sistemos ląstelių homeostazė. Pastebima, kad nevaisingų moterų reprodukcinėje sistemoje sumažėja *Lactobacillus* genties bakterijų ir aptinkamos patogeninių genčių bakterijos.

Šiandien vis labiau tiriama moterų lytinių takų mikrobiotos rūšinės sudėties sąsajos su pagalbinio apvaisinimo procedūrų sėkmingumu. Nustatyta, kad *Lactobacillus* genties bakterijos endometriume yra reikšmingai susijusios su sėkmingomis nėštumo baigtimis po pagalbinio apvaisinimo procedūros.

Mokslinėje literatūroje keliama prielaida, kad moters reprodukcinės sistemos mikrobiota gali tapti perspektyviu nevaisingumo diagnostikos įrankiu ir terapiniu taikiniu gydant nevaisingumą. Taigi, moterų lytinių takų mikrobiota yra neabejotinai susijusi su moterų nevaisingumu. Tolesni ir išsamesni tyrimai šioje srityje suteiktų galimybę kurti naujus nevaisingumo diagnostikos ir gydymo metodus.

Gauta: 2024 09 14

Priimta: 2024 09 17

Summary

ASSOCIATIONS OF FEMALE GENITAL TRACT MICROBIOTA WITH FEMALE INFERTILITY

Danielė Arlickaitė, Gabija Didžiokaitė

The female reproductive tract hosts 9% of the total human microbiome. Microbiota is present in both the lower and upper genital tract and is essential in maintaining reproductive tract homeostasis.

Objective. To provide an overview of the latest research on the links between female genital tract microbiota and infertility, explore the role of microbiota in the success of assisted reproductive technologies, and assess its potential as a diagnostic and therapeutic tool in infertility treatment.

Methods. The search of relevant literature sources was conducted in the "Pubmed" medical database and in the specialized search engine "Google Scholar".

Literature review. The female reproductive tract is a complex ecosystem composed of host cells, immune components, microorganisms, and metabolites. Studies have shown that in healthy women, the reproductive tract's microbiota is predominantly composed of bacteria from the genus *Lactobacillus*. These bacteria produce lactic acid through anaerobic fermentation, which maintains a mildly acidic environment and inhibits the growth of pathogenic bacteria. They also produce hydrogen peroxide, which helps prevent the colonization of the reproductive tract by harmful microbes. When dysbiosis occurs, the dominance of *Lactobacillus* diminishes, leading to increased microbial diversity and disrupting the balance between the reproductive tract's microbiota and immune system cells. In infertile women, this imbalance is marked by a decrease in *Lactobacillus* populations and the presence of pathogenic bacteria in the reproductive system. Recent research

has increasingly focused on the connection between the microbiota composition of the female reproductive tract and the success of assisted reproductive technologies. Findings suggest that a higher presence of *Lactobacillus* in the endometrium is strongly linked to successful pregnancy outcomes following these procedures. The scientific literature indicates that the microbiota of the female reproductive system may hold promise as both a diagnostic tool and a therapeutic target for infertility treatment.

Conclusion. The microbiota of the female reproductive tract is strongly associated with infertility. Advancing research in this area could lead to the development of new diagnostic tools and treatment options for infertility.

Keywords: microbiota, fertility, *Lactobacillus*, dysbiosis, assisted reproductive technologies.

LITERATŪRA

1. Moreno I, Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Bahçeci M, Barrionuevo MJ, et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome* 2022 Dec; 10(1): 1.
2. Gholiof M, Adamson-De Luca E, Wessels JM. The female reproductive tract microbiotas, inflammation, and gynecological conditions. *Front Reprod Health* 2022 Aug 9; 4: 963752.
3. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MCC, Charles T, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 2020 Dec; 8(1): 103.
4. Wee BA, Thomas M, Sweeney EL, Frentiu FD, Samios M, Ravel J, et al. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women. *Aust NZ J Obst Gynaecol* 2018 Jun; 58(3): 341–8.
5. Chen H, Wang L, Zhao L, Luo L, Min S, Wen Y, et al. Alterations of Vaginal Microbiota in Women With Infertility and Chlamydia trachomatis Infection. *Front Cell Infect Microbiol* 2021 Aug 3; 11: 698840.
6. Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Front Cell Infect Microbiol* 2020 Jul 14; 10: 350.
7. Ichijama T, Kuroda K, Nagai Y, Urushiyama D, Ohno M, Yamaguchi T, et al. Analysis of vaginal and endometrial microbiota communities in infertile women with a history of repeated implantation failure. *Reprod Med Biol* 2021 Jul; 20(3): 334–44.
8. Tapilskaya NI, Savicheva AM, Shalepo KV, Budilovskaya OV, Gzgzyan AM, Bepalova ON, et al. Local Immune Biomarker Expression Depending on the Uterine Microbiota in Patients with Idiopathic Infertility. *IJMS* 2023 Apr 20; 24(8): 7572.
9. Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA. Sterility of the uterine cavity. *American Journal of Obstet Gynecol* 1967 Oct 1; 99(3): 394–6.

10. Mishell DR, Bell JH, Good RG, Moyer DL. The intra-uterine device: A bacteriologic study of the endometrial cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1966 Sep 1; 96(1): 119–26.
11. Miles SM, Hardy BL, Merrell DS. Investigation of the microbiota of the reproductive tract in women undergoing a total hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. *Fertil Steril* 2017 Mar; 107(3): 813–820.e1.
12. Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun* 2017 Oct 17; 8(1): 875.
13. Koedooder R, Mackens S, Budding A, Fares D, Blockeel C, Laven J, et al. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Hum Reprod Update* 2019 May 1; 25(3): 298–325.
14. Peric A, Weiss J, Vulliemoz N, Baud D, Stojanov M. Bacterial Colonization of the Female Upper Genital Tract. *IJMS* 2019 Jul 11; 20(14): 3405.
15. Li H, Zang Y, Wang C, Li H, Fan A, Han C, et al. The Interaction Between Microorganisms, Metabolites, and Immune System in the Female Genital Tract Microenvironment. *Front Cell Infect Microbiol* 2020 Dec 23; 10: 609488.
16. Venneri MA, Franceschini E, Sciarra F, Rosato E, D’Ettore G, Lenzi A. Human genital tracts microbiota: dysbiosis crucial for infertility. *J Endocrinol Invest* 2022 Jun; 45(6): 1151–60.
17. Barrientos-Durán A, Fuentes-López A, De Salazar A, Plaza-Díaz J, García F. Reviewing the Composition of Vaginal Microbiota: Inclusion of Nutrition and Probiotic Factors in the Maintenance of Eubiosis. *Nutrients* 2020 Feb 6; 12(2): 419.
18. Hansen LK, Becher N, Bastholm S, Glavind J, Ramsing M, Kim CJ, et al. The cervical mucus plug inhibits, but does not block, the passage of ascending bacteria from the vagina during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2014 Jan; 93(1): 102–8.
19. Liang J, Li M, Zhang L, Yang Y, Jin X, Zhang Q, et al. Analysis of the microbiota composition in the genital tract of infertile patients with chronic endometritis or endometrial polyps. *Front Cell Infect Microbiol* 2023 May 22; 13: 1125640.
20. Sezer O, Soyer Çalışkan C, Celik S, Kilic SS, Kuruoglu T, Unluguzel Ustun G, et al. Assessment of vaginal and endometrial microbiota by real-time PCR in women with unexplained infertility. *J Obstet Gynaecol* 2022 Jan; 48(1): 129–39.
21. Tango CN, Seo SS, Kwon M, Lee DO, Chang HK, Kim MK. Taxonomic and Functional Differences in Cervical Microbiome Associated with Cervical Cancer Development. *Sci Rep* 2020 Jun 16; 10(1): 9720.
22. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2015 May; 212(5): 611.e1–611.e9.
23. Pelzer ES, Willner D, Huygens F, Hafner LM, Lourie R, Buttini M. Fallopian Tube Microbiota: Evidence Beyond DNA. *Future Microbiol* 2018 Sep; 13(12): 1355–61.
24. Zhao C, Wei Z, Yang J, Zhang J, Yu C, Yang A, et al. Characterization of the Vaginal Microbiome in Women with Infertility and Its Potential Correlation with Hormone Stimulation during In Vitro Fertilization Surgery. Baranzini S, editor. *mSystems*. 2020 Aug 25; 5(4): e00450-20.
25. Amabebe E, Anumba DOC. Female Gut and Genital Tract Microbiota-Induced Crosstalk and Differential Effects of Short-Chain Fatty Acids on Immune Sequelae. *Front Immunol* 2020 Sep 10; 11: 2184.
26. Azpiroz MA, Orguilla L, Palacio MI, Malpartida A, Mayol S, Mor G, et al. Potential biomarkers of infertility associated with microbiome imbalances. *Am J Rep Immunol* 2021 Oct; 86(4): e13438.
27. Patel N, Patel N, Pal S, Nathani N, Pandit R, Patel M, et al. Distinct gut and vaginal microbiota profile in women with recurrent implantation failure and unexplained infertility. *BMC Women’s Health*. 2022 Dec; 22(1): 113.
28. Li T, Shao W, Wang Y, Zhou R, Yun Z, He Y, et al. A two-sample mendelian randomization analysis investigates associations between gut microbiota and infertility. *Sci Rep* 2023 Jul 15; 13(1): 11426.
29. Bulletti C, Bulletti FM, Sciorio R, Guido M. Progesterone: The Key Factor of the Beginning of Life. *IJMS* 2022 Nov 16; 23(22): 14138.
30. Hao X, Li P, Wu S, Tan J. Association of the Cervical Microbiota With Pregnancy Outcome in a Subfertile Population Undergoing In Vitro Fertilization: A Case-Control Study. *Front Cell Infect Microbiol* 2021 Sep 23; 11: 654202.
31. Vitale SG, Ferrari F, Ciebia M, Zgliczyńska M, Rapisarda AMC, Vecchio GM, et al. The Role of Genital Tract Microbiome in Fertility: A Systematic Review. *IJMS* 2021 Dec 24; 23(1): 180.
32. Bhattacharya K, Dutta S, Sengupta P, Bagchi S. Reproductive tract microbiome and therapeutics of infertility. *Middle East Fertil Soc J* 2023 Apr 25; 28(1): 11.
33. Bui BN, Van Hoogenhuijze N, Viven M, Mol F, Teklenburg G, De Bruin JP, et al. The endometrial microbiota of women with or without a live birth within 12 months after a first failed IVF/ICSI cycle. *Sci Rep* 2023 Mar 1; 13(1): 3444.
34. Kyono K, Hashimoto T, Nagai Y, Sakuraba Y. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod Med Biol* 2018 Jul; 17(3): 297–306.
35. Wang J, Xu J, Han Q, Chu W, Lu G, Chan WY, et al. Changes in the vaginal microbiota associated with primary ovarian failure. *BMC Microbiol* 2020 Dec; 20(1): 230.
36. Tanha FD, Rahmani Z, Rezaei Z, Asbagh FA, Ebrahimi M, Quchani SH, et al. The effect of normalizing vaginal microbiome using Lactovag in improving pregnancy outcomes in frozen embryo transfer cycles: a randomized clinical trial. *Arch Gynecol Obstet* 2023 Aug 18; 308(5): 1587–92.