



Medsebojni vpliv estrogenov in mikrobioma prebavil in rodil

Interaction of estrogens and the microbiome of the gastrointestinal and female reproductive tract

Nika Troha,^{1,2} Tea Lanišnik Rižner³

Izvleček

Mikroorganizmi v prebavilih imajo glede na izsledke nedavnih raziskav vlogo pri uravnavanju fizioloških presnovnih procesov, energijskega ravnovesja, imunskega odgovora in ohranjanju celovitosti črevesnega epitela. Združbe mikroorganizmov, ki naseljujejo neko okolje oziroma ekološko nišo, imenujemo mikrobiom. S pomočjo estroboloma – bakterijskih genov, ki imajo sposobnost metaboliziranja konjugiranih estrogenov, ima mikrobiom črevesja zmožnost uravnavati ravni estrogenov v sistemskem krvnem obtoku. Estrogeni in drugi steroidni hormoni imajo pomembno vlogo pri uravnavanju sestave in funkcije mikroorganizmov, ki kolonizirajo rodila. Dosedanjim raziskavam je skupna ugotovitev, da je prevlada laktobacilov v ženskih rodilih povezana z ugodnim reproduktivnim in perinatološkim izidom. Motnje mikrobioma rodil kot tudi mikrobioma prebavil lahko tako preko delovanja estroboloma vplivajo na razvoj kroničnih vnetnih (endometrioza) kot tudi malignih ginekoloških bolezni (rak endometrija).

Abstract

According to recent findings, gut microorganisms play a role in physiologic processes such as regulating metabolism, energy homeostasis, immune response, and maintaining intestinal integrity. Microbial communities that inhabit a particular environment, an ecological niche, are defined as microbiome. With the help of the oestrobolome, i.e., bacterial genes that can metabolize conjugated oestrogens, the gut microbiome can regulate oestrogen levels in the systemic circulation. Oestrogens and other steroid hormones play an important role in regulating the composition and function of microorganisms that colonize the female reproductive tract. The dominance of *Lactobacillus* genus in the female reproductive tract is consistently associated with favourable reproductive and perinatal outcomes. Disturbances of both microbiomes and dysregulation of oestrobolome can lead to the development of chronic inflammatory (endometriosis) as well as malignant gynaecological diseases (endometrial cancer).

¹ Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

² Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

³ Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Korespondenca / Correspondence: Nika Troha, e: nika0troha@gmail.com

Ključne besede: estrobolom; estrogeni; β -glukuronidaza; mikrobiota; disbioza; endometrioza

Key words: estrobolome; estrogens; β -glucuronidase; mikrobiota; dysbiosis; endometriosis

Prispelo / Received: 28. 7. 2022 | **Sprejeto / Accepted:** 28. 3. 2023

Citirajte kot/Cite as: Troha N, Lanišnik Rižner T. Medsebojni vpliv estrogenov in mikrobioma prebavil in rodil. Zdrav Vestn. 2023;92(7–8):335–44. **DOI:** <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.3382>



Avtorske pravice (c) 2023 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

1 Uvod

S preučevanjem mikroorganizmov človeškega telesa, njihove fiziološke in patofiziološke vloge se v zadnjih letih ukvarjajo tako rekoč vsa področja medicine. Mikrobiom so združbe mikroorganizmov in njihovega okolja, vključno z njihovimi metaboliti, signalnimi molekulami in okoljskimi ter mikrobnimi strukturnimi elementi. Mikrobiota so bakterije, virusi, kvasovke, glive, arheje in praživali, ki predstavljajo živi del mikrobioma (1). V nedavnih letih so raziskovalci intenzivno preučevali mikrobiom prebavil (gastrointestinalnega trakta, GIT), pri čemer so dokazali njegovo presnovno, prebavno in imunsko funkcijo (2,3). Na mikrobiom GIT vplivajo prehranski dejavniki, uporaba zdravil, predvsem antibiotikov, zunanji patogeni, imunski in endokrini dejavniki, med njimi tudi spolni hormoni (2,4). Hkrati pa mikrobiom GIT z delovanjem t.i. estroboloma pomembno uravnava proliferativne in vnetne procese, povezane z estrogeni. Estrobolom sestavlja skupek bakterijskih genov, katerih produkti so sposobni presnavljati estrogene (2). Gre za bakterije, ki imajo encim β -glukuronidazo, ki katalizira hidrolizo konjugiranih estrogenov v njihovo aktivno obliko, posledično pa omogočajo njihovo reabsorpcijo v sistemski krvni obtok (5). Glede na izsledke nedavnih raziskav tudi mikrobiomu prebavil (reproduktivnega trakta, RT) pripisujejo vlogo pri zaščiti pred okužbo s patogenimi bakterijami ter preprečevanju reproduktivnih in perinatalnih zapletov (6). Neravnovesje mikroorganizmov v GIT kot tudi v mikrobiomu ženskega RT je povezano s slabšimi izidi nosečnosti, metabolnimi zapleti, endometriozo in malignimi boleznimi, čeprav mehanizmi medsebojnega delovanja teh dejavnikov zaenkrat še niso povsem poznani (2,4).

2 Estrobolom in njegova vloga v mikrobiomu prebavil in rodil

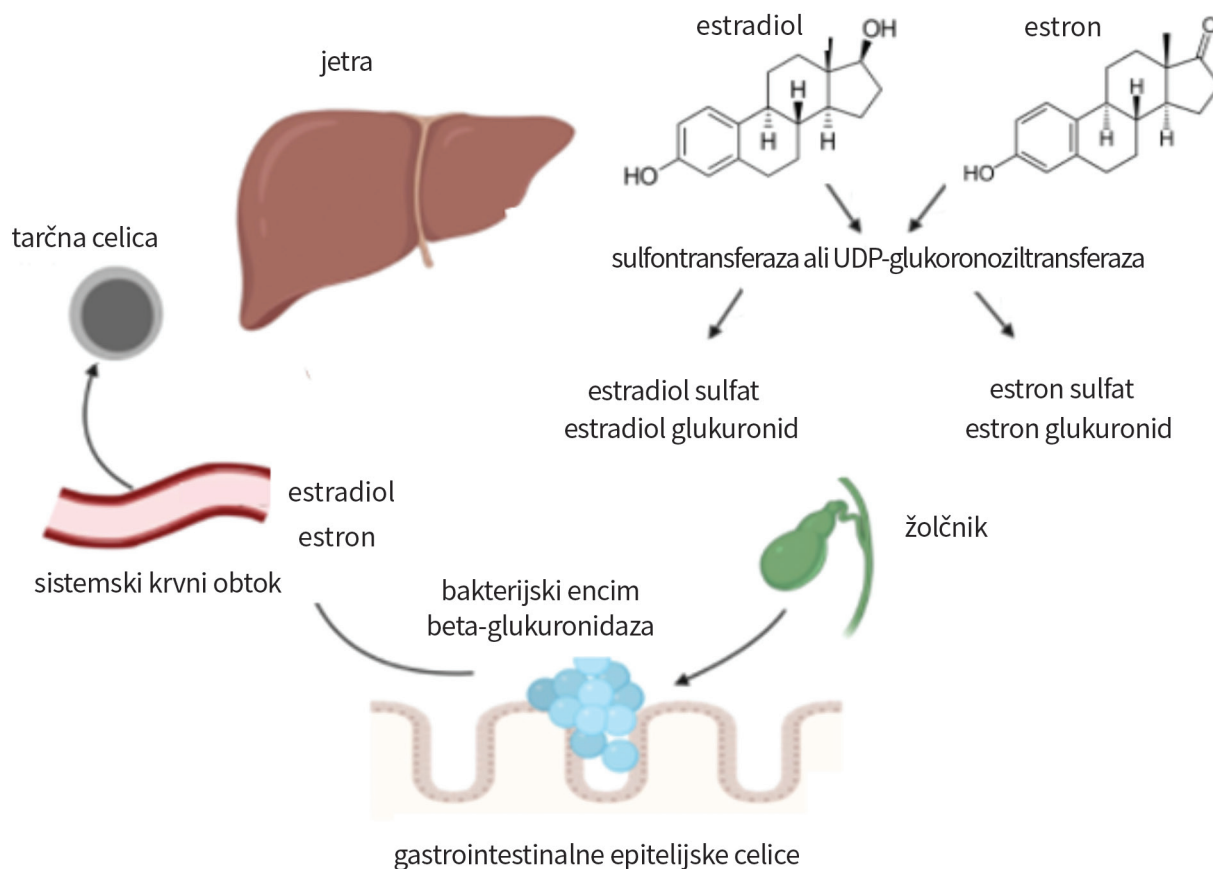
2.1 Mikrobiom prebavil

Mikrobiom GIT je največji ekosistem v človeškem telesu, ki vsebuje več kot 500 različnih bakterijskih vrst in 150-krat več genov, kot jih ima celotno človeško telo (7,8). Črevesno epitelno pregrado vzdržuje zdrav in raznolik mikrobiom, v katerem prevladujejo bakterije debel *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* in *Proteobacteria* (9). Zdrav mikrobiom GIT pomeni prevlado bakterij iz debel *Bacteroidetes* in *Firmicutes*, pri čemer je povedno tudi razmerje teh bakterijskih debel

(razmerje *Firmicutes*/*Bacteroidetes*, t.i. razmerje F/B). Ljudje s čezmerno telesno težo imajo višje razmerje F/B (2). Ker v GIT poleg prebave ogljikovih hidratov poteka tudi njihovo fermentiranje, je za črevesni mikrobiom ugodna prisotnost bakterij, ki so sposobne presnavljanja metabolitov teh procesov. Pri tem s pomočjo omejenih bakterij nastajajo kratkoverižne maščobne kisline, kot je butirat, ki prispeva k vzdrževanju pregradne funkcije črevesja in izraža imunomodulacijske ter protivnetne lastnosti (10). V metabolnem profilu mikrobioma GIT (t. i. metabolomu) so torej kratkoverižne maščobne kisline, predvsem butirat, kazalnik ugodne mikrobiote. Neravnovesje mikroorganizmov nekega področja imenujemo disbioza, ki jo v primeru GIT lahko razumemo kot povečano rast morebitnih patogenih mikroorganizmov in izgubo celokupne mikrobne raznolikosti. Kazalnik disbioze GIT je povišano razmerje F/B, ki vodi v vnetni odgovor in spremembo metabolnega profila GIT (9,11). Bakterije debel *Firmicutes* naj bi bile glede na izsledke raziskav učinkovitejše pri pridobivanju energije iz hrane kot debel *Bacteroidetes*, s čimer omogočajo učinkovitejšo absorpcijo kalorij in povečanje telesne mase (12). Disbioza črevesja je povezana tudi z zmanjšanjem povezav med celicami, kar vodi v povečano prepustnost črevesne pregrade in s tem bakterijsko translokacijo (9). Bakterijska translokacija, ki je prehod viabilnih bakterij iz črevesja v mezenterične limfne vode, vranico, jetra ali sistemski obtok, lahko vodi v razvoj sistemskih vnetnih stanj. Neravnovesje mikrobioma GIT je tako povezano z višjim tveganjem za razvoj vnetnih, avtoimunih in malignih bolezni (5,13). V nedavnih raziskavah so ugotovili, da se raznolikost mikrobioma GIT lahko povrne s presaditvijo fekalnega mikroboma po bariatričnih operacijah, saj so ti ukrepi zmanjšali vnetni odziv in spremenili lokalni metabolni profil (11,14).

2.2 Estrobolom

Z dokazom o prisotnosti metabolitov steroidnih hormonov in molekul imunskega sistema v mikrobiomu GIT so ugotovili njegovo pomembno imunomodulacijsko in presnovno vlogo. Estrogeni nastajajo v jajčnikih, nadledvičnici in maščobnem tkivu ter so v krvnem obtoku v veliki večini vezani na serumski globulin, ki ga za vezavo spolnih hormonov (SHBG) tvorijo jetra. Le manjši delež estrogenov se nahaja v prosti, tj. nezvezani obliki (5). Najpomembnejše oblike endogenih



Slika 1: Shematski prikaz delovanja estroboloma. Povzeto po Borella F, et al., 2021 (49).

estrogenov pri ženskah so estradiol (E2, najpogostejša oblika pri ženskah pred menopavzo), estron (E1, ki prevladuje v pomenopavznem obdobju), estriol (E3, ki prevladuje med nosečnostjo) in estetrol (E4, ki se tvori le v jetrih ploda med nosečnostjo) (15). V jetrih poteka encimsko katalizirana konjugacija estrogenov in njihovih metabolitov s sulfatom ali glukuronsko kislino v vodotopne molekule, ki se izločajo z urinom ali žolčem v blato. Konjugirani estrogeni, ki se izločajo z žolčem, se lahko hidrolizirajo s pomočjo encima β -glukuronidaza, ki ga vsebujejo nekatere bakterije v GIT. S hidrolizo se odstrani glukuronska kislina, tako da se estrogeni lahko ponovno absorbirajo v sistemski obtok, prosti estrogeni pa lahko ponovno delujejo na tarčna tkiva z vezavo na jedrne receptorje za estrogene alfa in beta in tudi membranske receptorje, ki se nahajajo v maternici, jajčnikih, dojkah, v GIT, možganih, maščobnem tkivu, kosteh in vrsti drugih tkiv (16,17). Estrobolom tako vpliva na kroženje estrogenov v sistemskem krvnem obtoku (Slika 1). Sestava mikrobioma GIT je odvisna od prehrane, načina življenja in uporabe antibiotikov, kar vpliva tudi na delovanje estroboloma (5). Pri disbiozi so ti fiziološki odzivi

spremenjeni, kar lahko vpliva na razvoj srčno-žilnih bolezni, metabolnega sindroma in debelosti ter na razvoj od estrogenov odvisnih bolezni, kot so endometrijoza, hiperplazija endometrija, rak dojke in endometrija (9). V ženskih rodilih je vloga estrogenov dobro raziskana. V maternični votlini v proliferativni fazi menstruacijskega cikla spodbujajo proliferacijo endometrija in sintezo receptorjev za progesteron, kar pripravi endometrij na naslednjo sekrecijsko fazo. Homeostazo nožnice estrogeni uravnavajo preko povečanja epitelne debeline, višanja koncentracije glikogena, povečanega izločanja sluzi in posredno preko ugodnega učinka na vsebnost laktobacilov z zniževanjem nožničnega pH (18). Podobno delujejo tudi v GIT, kjer delujejo zaščitno na celovitost epitela in na njegovo pregradno funkcijo. Nasprotno pa so ugotovili, da lahko povečana koncentracija estradiola preko spodbujanja diferenciacije dendritičnih celic aktivira vnetne citokine IL-6 in IL-8 ter povzroči polarizacijo celic T pomagalk v vnetne celične podvrste. Opisano imunsko stanje povzroča povečano permeabilnost črevesne pregrade in povzroča translokacijo bakterij, ki mu sledi lokalno ali sistemsko vnetje (19).

O medsebojnem vplivu mikrobioma GIT na raven estrogenov v telesu in obratno v literaturi obstaja vedno več dokazov, ki so podprti tudi z raziskavami pri človeku (Tabela 1). Nedavni izsledki Ervina in sodelavcev so potrdili predpostavljeno delovanje estroboloma (5,9). Iz človeškega GIT so analizirali 35 bakterijskih β -glukuronidaz in *in vitro* dokazali sposobnost reaktiviranja 2 konjugatov estrogenov, estron-3-glukuronida in estradiol-17-glukuronida v estron oz. estradiol (8). Predhodne raziskave so ugotovljale delovanje estrogenov na mikrobiom GIT na posredni način. V raziskavi Korena in sodelavcev so ugotovili statistično značilno spremembo mikrobioma GIT v nosečnosti, predvsem v 3. trimesečju, ko estrogeni dosežejo najvišje ravni (20).

Več raziskav je pokazalo, da je mikrobiom GIT žensk po menopavzi zelo podoben mikrobiomu GIT moških (21-23). Ena starejših raziskav pa je še ugotovila, da so imeli v primerjavi z ženskami pred menopavzo moški večjo vsebnost bakterijskih rodov *Bacteriodes-Prevotella*, kar kaže na hormonsko uravnavanje in morebitno spolno različnost mikrobioma (24). Flores in sodelavci so ugotovili, da so ravni estrogenov v urinu (pri moških in ženskah) močno povezane z bogatostjo in raznolikostjo znotraj vzorca fekalnega mikrobioma. V omenjeni raziskavi so ugotovili statistično značilno povezavo med ravnijo estrona in aktivnostjo β -glukuronidaze v blatu preiskovancev, kar je potrjevalo hormonsko uravnavanje mikrobioma GIT (25).

Tabela 1: Pregled pomembnejših dosedanjih raziskav o vplivu estrogenov na mikrobioto gastrointestinalnega trakta (GIT) pri človeku.

Avtor, leto	Vzorec	Metoda	Glavne ugotovitve
Mueller, 2006	n=230 preiskovancev in preiskovank iz 4 evropskih držav – Francije, Nemčije, Italije in Švedske.	Pretočna citometrija in fluorescenčna hibridizacija <i>in situ</i> .	Mikrobiom GIT pri moških je pogostejše kot pri ženskah vseboval bakterije rodov <i>Bacteroides</i> in <i>Prevotella</i> . S starostjo je naraščala številčnost družine Enterobakterij v mikrobiomu GIT.
Koren, 2012	n=91 nosečnic različnih indeksov telesne mase, z ali brez gestacijskega diabetesa (vključeni tudi njihovi otroci)	Sekvenciranje 16S rRNK vzorcev blata matere v prvem, tretjem trimesečju in en mesec po porodu ter vzorcev otrok do starosti 4 let.	Opisana je bila statistično značilna sprememba mikrobioma GIT iz 1. v 3. trimesečje; z naraščanjem ravni serumskih estrogenov je bila povezana večja mikrobna raznolikost mikrobioma GIT med preiskovankami (raznolikost beta) in večja pojavnost Proteobakterij in Aktinobakterij. Večja raznolikost bakterij v blatu je obstajala še mesec dni po porodu pri materi in do starosti 6. mesecev pri otroku (nato je bil mikrobiom manj raznolik, podoben materinemu v 1. trimesečju).
Flores, 2012	n=19 žensk pred menopavzo n=7 žensk po menopavzi n=25 moških	Sekvenciranje 16S rRNK Estrogene in njihove metabolite v urinu in blatu so kvantificirani s tekočinsko kromatografijo v povezavi s tandemsko masno spektrometrijo.	Ravni celokupnih estrogenov v urinu moških in žensk v pomenopavznem obdobju so bile povezane z večjo mikrobno raznolikostjo znotraj preiskovancev (raznolikost alfa) ter večjo bogatostjo (številkom bakterijskih vrst) mikrobioma GIT. Višja raven estrona v urinu je bila pri moških in ženskah v menopavzi povezana z večjo aktivnostjo fekalne β -glukuronidaze. S celokupnimi estrogeni v urinu so bili povezani nekateri taksoni razreda <i>Clostridia</i> . Fekalna β -glukuronidaza je obratno korelirala s celokupnimi fekalnimi estrogeni.
Santos-Marcos, 2018	n=17 žensk pred menopavzo n=20 žensk po menopavzi n=39 moških	16S rRNK sekvenciranje.	Mikrobiom GIT žensk v menopavzi je bil v primerjavi z ženskami pred menopavzo bolj podoben moškemu mikrobiomu. Opisana je bila statistično značilna razlika v raznolikosti beta mikrobiomov GIT preiskovanih skupin. Višje ravni estradiola v plazmi preiskovank so bile povezane z večjo pojavnostjo razreda Gammaproteobakterij in redu <i>Micrococcales</i> ter z nižjo pojavnostjo družine <i>Prevotellaceae</i> .

Avtor, leto	Vzorec	Metoda	Glavne ugotovitve
Ervin, 2019	Baza podatkov iz projekta Človeški mikrobiom	Z uporabo aminokislinskih zaporedij za encime β -glukuronidaz, pridobljenih iz projekta Človeški mikrobiom, so avtorji ustvarili mrežo podobnih zaporedij (angl. sequence similarity network, SSN). Nastali SSN je obsegal 279 edinstvenih proteinskih zaporedij oziroma β -glukuronidaz, od katerih so jih 35 uporabili za in vitro preizkus njihovega delovanja.	17 od 35 preizkušenih encimov je kataliziralo odcep glukuronidnega ostanka z estron-glukuronida in 15 cepitve glukuronidnega ostanka z estradiol-glukuronida.
Mayneris-Perxachs, 2020	n=44 žensk pred menopavzo n=45 žensk po menopavzi n=42 moških	16S rRNK sekvenciranje.	Mikrobiom GIT žensk v menopavzi je bil v primerjavi z ženskami pred menopavzo bolj podoben moškemu mikrobiomu. Ni bilo statistično značilnih razlik v raznolikosti znotraj vzorcev ene preiskovanke ali med preiskovankami.
Peters, 2022	n=295 žensk pred menopavzo n=1027 žensk po menopavzi n=978 moških	»Shotgun« metagenomsko sekvenciranje.	Mikrobiom GIT žensk v menopavzi je bil manj raznolik in bolj podoben moškemu mikrobiomu. Ženske v pomenopavznem obdobju so imele večjo številčnost mikroorganizmov s sposobnostjo vnosa sulfatov (sulfatnega prevoznega sistema) in zmanjšano številčnost mikrobne β -glukuronidaze.

Legenda: n – število preiskovancev ali preiskovank; GIT – gastrointestinalni trakt.

3 Vpliv estrogenov na mikrobiom rodil

3.1 Mikrobiom nožnice

V zadnjih desetletjih so številni raziskovalci preučevali sestavo mikrobiote v različnih predelih rodil. Najbolj raziskana je sluznica nožnice, vendar izsledki nedavnih raziskav kažejo, da so tudi druga področja, ki so doslej veljala za sterilna (npr. maternična votlina in zgornji del rodil), poseljena s številnimi mikroorganizmi (26,27). Bakterije so namreč dokazali v jajcevodih in folikularni tekočini tudi pri ženskah brez prej znane patologije jajcevodov, sterilna pa naj ne bi bila niti posteljica (28,29). Bakterijska raznolikost je ključna za homeostazo posameznega področja. Mikrobiom nožnice lahko glede na prisotnost prepoznanih bakterij razdelimo v 5 razredov bakterij oziroma bakterijskih stanj (angl. community state types, CST), ki jih označujemo z rimskimi številkami. V skupini CST I prevladuje *Lactobacillus crispatus*, v CST II *Lactobacillus gasseri*, CST III *Lactobacillus iners*, CST V *Lactobacillus jensenii*, skupina IV pa vsebuje več anaerobov, kot so *Prevotella*, *Megasphaera*, *Atoponium* in *Dialister*, ki porastejo na račun laktobacilov (29).

Spolni hormoni neposredno vplivajo na imunski

sistem in na mikrobno raznolikost rodil. Estrogeni pri tem spodbujajo proliferacijo in diferenciacijo vaginalnih epitelnih celic. Glikogen, ki se pri tem izloča iz epitelnih celic, se s pomočjo laktobacilov nožnice pretvarja v mlečno kislino. Le-ta niža lokalni pH in preprečuje razrast patogenih bakterij. Nekateri laktobacili so sposobni izločati specifične proteine, imenovane bakteriocini, ki delujejo neposredno protivotnetno in antibakterijsko (18). Z glikogenom obogateno okolje neposredno spodbuja rast in prevlado laktobacilov. Dosedanjim raziskavam je skupna ugotovitev pomembnosti zaščitne vloge laktobacilov v vseh anatomskih delih rodil. Prevlada laktobacilov je namreč povezana z ugodnim reproduktivnim in perinatološkim izidom (26,30). Višja raven estrogenov je povezana z debelejšo epitelno pregrado in njeno večjo prožnostjo. Sinergistični učinek prisotnosti laktobacilov v sodelovanju z estrogeni prispeva k zaščitni vlogi nožnice, k zaščiti zgornjih rodil pred spolno prenosljivimi boleznimi in drugimi okužbami. S tem pa pomaga preprečevati zaplete v nosečnosti ter celo štiti pred razvojem raka materničnega vratu in endometrija (31).

Mikrobiom nožnice je v življenju ženske pod vplivom fizioloških hormonskih sprememb, pomembno vlogo pa imajo tudi eksogeni spolni hormoni. Pred menarho

mikrobioto nožnice sestavljajo mikroorganizmi, podobni kožni in črevesni mikrobioti. Pojavljata se tako aerobna in anaerobna flora, najpogosteje *Prevotella*, Enterobakterije (predvsem *Escherichia coli*), Streptokoki in *Staphylococcus spp.* (30). Prevlada laktobacilov nastopi po puberteti zaradi delovanja estrogenov in progesterona (32). Estrogeni spodbujajo proliferacijo nožničnega epitela, tvorbo znotraj epitelnega glikogena, povišana koncentracija glikogena pa ustreza mikroorganizmom, ki fermentirajo glukozo, kot so laktobacili (18). Za začetek menstruacijskega cikla je značilna velika mikrobna raznolikost. Mikrobiom pa se nato stabilizira ob naraščanju serumskega estradiola. Za proliferativno fazo menstruacijskega cikla je tako značilna nižja bakterijska raznolikost, vzpostavi pa se namreč prevlada laktobacilov, ki je povezana z razgradnjo nakopičenega glikogena in nastajanjem mlečne kisline, ki z nižanjem nožničnega pH preprečuje razrast patogenih bakterij (31). V menopavzi je upad estrogenov povezan z upadom laktobacilov v nožnici, mikrobna raznolikost pa je v tem obdobju višja kot v pred- in obmenopavzi. Nadomestno hormonsko zdravljenje v tem obdobju povrne kolonizacijo laktobacilov in tako zniža možnost razrasta patogenih bakterij (31,33).

Spremembe mikrobne raznolikosti v nožnici so značilne tudi za obdobje nosečnosti. Stanje disbioze oziroma spremenjeni mikrobiom nožnice, maternice ali posteljice lahko preko delovanja citokinov in kemokinov vpliva na proces ugnezditve in na potek nosečnosti (34,35). Tudi v nosečnosti v mikrobiomu nožnice prevladujejo laktobacili. Ravni progesterona, estradiola in estriola so v nosečnosti dvakrat višje kot sicer ravni estrogenov med menstruacijskim ciklom (31). S trajanjem nosečnosti mikrobna sestava nožnice postaja vedno stabilnejša, tako da je ob roku poroda raznolikost mikroorganizmov najnižja. Mikrobiom nožnice se v nosečnosti spreminja predvsem s premiki med bakterijskimi skupinami (CST), kjer prevladujejo *L. vaginalis*, *L. jensenii*, *L. crispatus* in *L. gasseri*. Premiki se dogajajo med bakterijskimi skupinami CST I, II in III, le redko se ob terminu v nosečnosti pojavljata CST IV-A in IV-B, ki sta skupini, kjer se nahajajo bakterije, povezane z bakterijsko vaginozo (35). Povečana stabilnost mikrobioma nožnice v nosečnosti deluje zaščitno pred bakterijsko vaginozo in ascendentno okužbo rodil, ki sta dejavnik tveganja za prezgodnji porod, insuficienco cerviksa, horioamnionitis ter prezgodnji razpok plodovih ovojev (36,37).

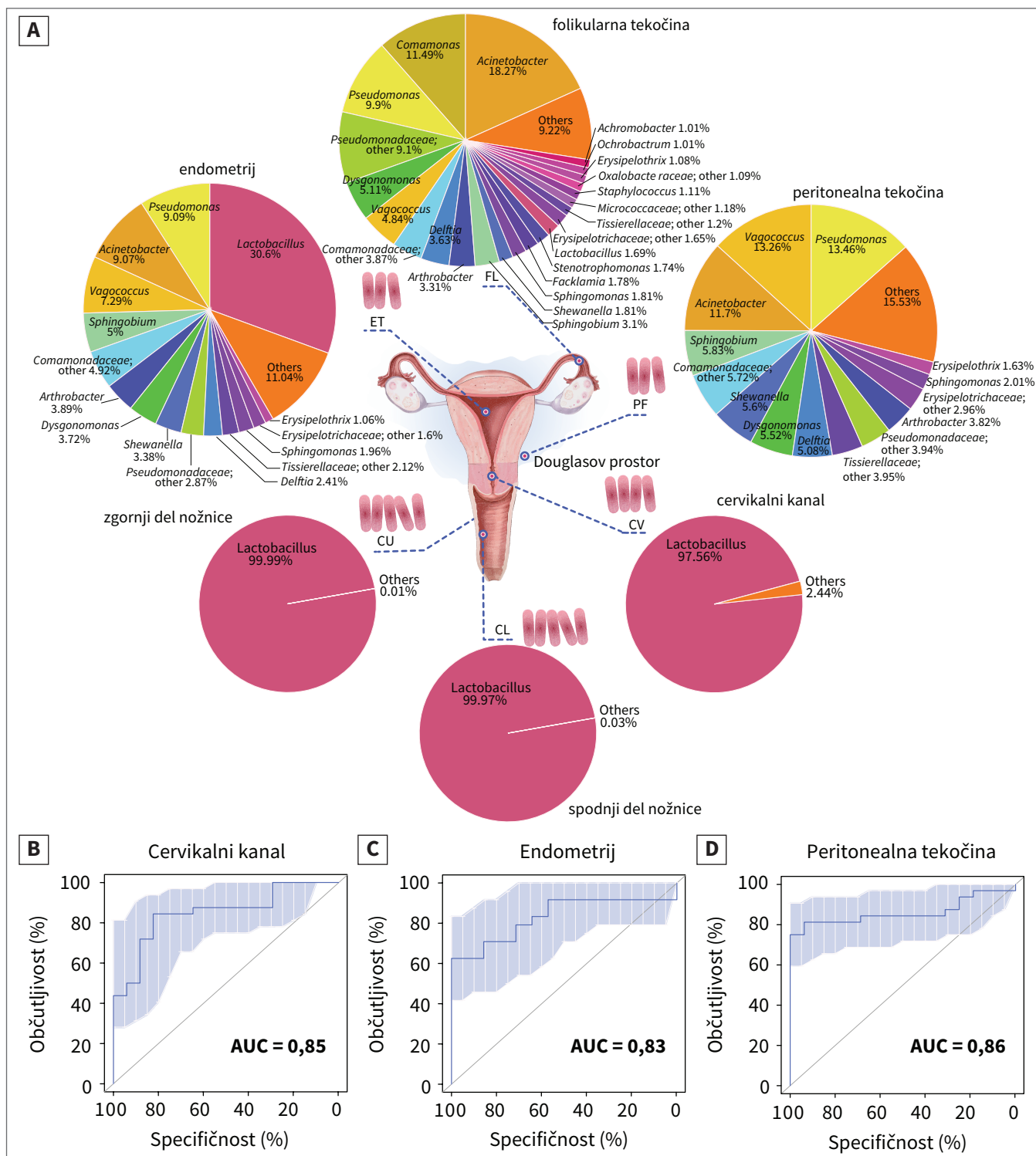
3.2 Mikrobiom maternične votline

Glede hormonskega uravnavanja mikrobiote endometrija še ni enotnega mnenja, saj si izsledki raziskav

pogosto nasprotujejo. Zato še ni povsem znano, ali spolni hormoni enako vplivajo na maternično mikrobioto, kot na mikrobioto v nožnici (38). Moreno in sodelavci (2016) so preučevali morebitni vpliv hormonov na mikrobiom endometrija v postopkih zunajtelesne oploditve. Endometrijske vzorce (aspirate endometrijske tekočine med prenosom zarodkov) so analizirali v preceptivni fazi – dva dni po vrhu luteinizirajočega hormona (LH) – in v receptivni fazi – sedem dni po LH vrhu istega menstruacijskega cikla. Dokazali so, da je mikrobiom endometrija v obeh fazah izredno stabilen, bakterijska raznolikost endometrijske tekočine se namreč pri več kot 80 % preiskovank med fazama ni spreminjala. Zaključili so, da mikrobiom endometrija kljub znanemu vplivu hormonov na celice endometrija najverjetneje ni hormonsko nadzorovan med menstruacijskim ciklom oziroma v času endometrijske receptivnosti (39). Po drugi strani pa so Chen in sodelavci dokazali večji porast bakterij v nožnici in v maternični votlini v proliferativni fazi menstruacijskega cikla, saj so ugotovili povečano številčnost biokemijskih metabolnih poti za presnovo pirimidinov in purinov, biosintezo aminoacil-tRNA in peptidoglikanov. V sekrecijski fazi naj bi prevladoval metabolizem porfirina, arginina in prolina (26). To ugotovitev podpirajo tudi rezultati raziskave Khana in sodelavcev, ki so pokazali povečano število bakterijskih kolonij ob uporabi agonistov gonadotropin sproščujočega hormona (*angl.* gonadotropin-releasing hormone, GnRH), ki spremenijo hormonsko stanje endometrija. Delovanje GnRH vzpostavlja t.i. hipoestrogeno okolje, ki je bilo v tej raziskavi povezano z večjo mikrobno raznolikostjo (40). Rezultati pričajo o morebitnih cikličnih spremembah materničnega mikrobioma in morebitnem vplivu estrogenov nanj (26).

4 Povezava med mikrobiomom prebavil in rodil pri boleznih, odvisnih od estrogenov (primer endometrioze)

Endometrioza je od estrogenov odvisna bolezen, pri kateri se tkivo, podobno endometrijskim žlezam in stromi, pojavi tudi zunaj maternice (41). Patogeneza endometrioze je najverjetneje multifaktorska, v literaturi pa se je nedavno uveljavila t. i. »hipoteza bakterijske kontaminacije«, ki med možne vzročne dejavnike za razvoj endometrioze vključuje mikroorganizme, ki kolonizirajo rodila (42). Pri bolnicah z endometriozo so namreč ugotovili, da je mikrobiom njihovih rodil bolj raznolik od kontrolne skupine, ugotovljena je bila tudi večja prevalenca disbioze na različnih predelih rodil (Slika 2) (26). V menstruacijski krvi bolnic z endometriozo so



Slika 2: Shematski prikaz mikrobne raznolikosti različnih delov rodil in diagnostične značilnosti mikrobioma pri neplodnih bolnicah z endometrijo v primerjavi z bolnicami brez endometrije (A). Prikazane so krivulje ROC (*angl.* Receiver Operating Characteristics), ki prikazujejo diagnostične značilnosti mikrobioma nožnice (B), endometrija (C) in peritonealne tekočine (D). Povzeto po Chen et al., 2017 (26).

Vzorci so pridobljeni iz kohorte 95 žensk v rodni dobi. Tortni diagram prikazuje mikrobne rodove v primerjavi z mediano relativno razširjenostjo rodov. Rodovi, ki predstavljajo manj kot 1 % mikrobiote, so označeni z »drugo« (*angl.* »other«). Rožnata paličica predstavlja 10^2 kopij v vzorcu glede na rezultate qPCR.

Legenda: CL – spodnja tretjina nožnice; CU – posteriorni forniks nožnice; CV – cervikalni kanal; PF – peritonealna tekočina iz Douglasovega prostora; ET – endometrij; FLL in FRL – folikularna tekočina iz levega in desnega jajceveda; AUC – površina pod krivuljo (*angl.* Area Under the Curve).

dokazali višjo vsebnost *Escherichie coli* v primerjavi z osebami kontrolne skupine. Lipopolisaharidi ali endotoksini, ki se nahajajo v membrani po Gramu negativnih bakterij z vezavo na t.i. tollu podobne receptorje (*angl.* Toll-like receptors) sprožijo aktiviranje celic prirojenega in pridobljenega imunskega sistema in s tem prispevajo k stanju kroničnega vnetja (42). Zaradi ugotovljenih specifičnih bakterijskih skupin, ki se pogosteje pojavljajo v mikrobioti bolnic z endometriozo, je bila postavljena predpostavka o morebitnem mikrobiološkem kazalniku bolezni in diagnostični vrednosti ocene mikrobioma rodil (26,43). Poleg klinične pomembnosti bakterijske kolonizacije pri bolnicah z endometriozo je pomemben tudi vpliv zdravljenja z agonisti (GnRHa), ki povzročajo hipoestrogeno stanje. Slednje je kazalnik morebitnega hormonskega uravnavanja mikrobioma maternične votline. Pri ženskah z endometriozo, zdravljenih z agonisti GnRHa, so namreč v endometriju ugotovili pomembno znižan delež laktobacilov in zvišan delež streptokokov, stafilokokov in enterobakterij (40). Zdravljenje z GnRHa s posledično nižjo ravnijo koncentracije estrogenov je po teh ugotovitvah dejavnik tveganja za subklinično bakterijsko okužbo, za katero pa so bolj dovzetne bolnice z endometriozo.

Medsebojna povezava mikrobiomov v prebavilih in rodilih se zaradi vpliva mikroorganizmov črevesja na delež prostih estrogenov v telesu ženske kaže predvsem v boleznih in stanjih, odvisnih od estrogenov. Z uravnavanjem ravni estrogenov s pomočjo črevesnih mikroorganizmov je tako njihova vloga v patogenezi endometrioze možna. Po odcepu glukuronske kisline estrogeni v črevesju lahko preidejo v sistemski obtok in se prenesejo na distalna, od estrogenov odvisna mesta, kot so endometriji in endometriotična žarišča. Črevesni mikroorganizmi imajo na ta način sposobnost uravnavati homeostazo in hormonsko stanje tako v GIT kot v rodilih (44). Slednje so dokazali v študiji primatov s klinično ugotovljeno (spontano) endometriozo, pri katerih so ugotovili spremenjeni profil mikrobioma GIT, z večjim deležem vnetja črevesja in spremembo mikrobioma rodil, z nižjim deležem laktobacilov ter višjo koncentracijo po Gramu negativnih bakterij (45). V raziskavi na miših, ki so jim v prepono vbrizgali mišje endometrijsko tkivo in s tem sprožili razvoj endometrioze, so po 42 dneh vztrajanja endometriotičnih sprememb ugotovili spremenjeno sestavo mikrobioma GIT glede na prejšnje stanje. V tej skupini miši se je razmerje Firmicutes/Bacteroidetes skoraj podvojilo (45,46). V raziskavi, v kateri so miši po kirurški indukciji endometrioze in zdravljenju z antibiotiki (spremembe so se zmanjšale), prejele fekalno presaditev mikrobiote drugih miši z endometriozo, je

bil opazen porast endometriotičnih sprememb in povečan vnetni odziv (46,47). Spremembe v koncentraciji razpoložljivih estrogenov kot posledica delovanja estroboloma ob sočasni sprožitvi encimov za sintezo estrogenov in spremembah v izražanju receptorjev za estrogene, ki so značilne za endometriozo, lahko vodijo v disbiozo rodil. Le-ta pa je povezana tudi z boleznimi, kot sta bakterijska vaginoza ali okužba s povzročitelji spolno prenosljivih bolezni, ki znano vplivajo na vnetni citokinski odgovor in spremembo prepustnosti sluznic (4,48). Ob tem so pri disbiozi GIT značilne spremembe v tamkajšnjem metabolnem profilu, npr. s povišanimi ravni nevroaktivnih metabolitov, kot so serotonin, glutamat, že omenjene kratkoverižne maščobne kisline in gamaaminobutirične kisline. Ti metaboliti spodbujajo receptorje nevronov, vključno z nevroni GnRH, kar lahko pojasni povišano izločanje estrogenov v tem stanju disbioze (44). Za trdnejši dokaz povezav med tema mikrobiomoma pa so potrebne nadaljnje raziskave.

5 Zaključek

Mikrobiom GIT igra pomembno vlogo pri uravnavanju imunskega, hormonskega in reproduktivnega sistema ženske, pri čemer je ključno delovanje estrogenov. Ti zaradi delovanja estroboloma črevesnih mikroorganizmov vplivajo na mikrobiom rodil, katerega sestava je pomembna za ugoden reproduktivni in perinatalni izid. Zaščitni dejavnik rodil so prevladujoči laktobacili in s tem nizka raznolikost mikrobioma. Disbioza GIT kot tudi rodil je povezana s povečanim tveganjem za razvoj vnetnih bolezni in celo malignomov, povezana pa je tudi z večjo dovzetnostjo za bakterijsko vaginozo, okužbo s spolno prenosljivimi boleznimi in zato neplodnostjo. Višje koncentracije krožečih estrogenov so lahko povezane s spremenjeno sestavo mikrobioma GIT, kar vidimo pri endometriozni (25). Obenem pa so estrogene pomembni imunomodulatorji, ki krepijo pregradno funkcijo črevesnega epitela in spodbujajo rast zaščitnih laktobacilov. Pri vzpostavitvi hipoestrogenega stanja npr. pri zdravljenju endometrioze z agonisti GnRH se na račun laktobacilov namreč poveča raznolikost mikroorganizmov znotraj maternice (40). Kljub naraščajočemu številu dokazov o povezavi med mikrobiomom GIT in mikrobiomom rodil so za obrazložitev morebitnih mehanizmov hormonskega součinkovanja in medsebojne odvisnosti potrebne nadaljnje raziskave.

Izjava o navzkrižju interesov

Avtorici nimava navzkrižja interesov.

Literatura

- Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MC, Charles T, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020;8(1).
- He S, Li H, Yu Z, Zhang F, Liang S, Liu H, et al. The gut microbiome and sex hormone-related diseases. *Front Microbiol*. 2021;12:711137. DOI: [10.3389/fmicb.2021.711137](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711137) PMID: 34650525
- Blumberg R, Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey. *Sci Transl Med*. 2012;4(137). DOI: [10.1126/scitranslmed.3004184](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004184) PMID: 22674557
- Qi X, Yun C, Pang Y, Qiao J. The impact of the gut microbiota on the reproductive and metabolic endocrine system. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-21. DOI: [10.1080/19490976.2021.1894070](https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1894070) PMID: 33722164
- Plottel CS, Blaser MJ. Microbiome and malignancy. *Cell Host Microbe*. 2011;10(4):324-35. DOI: [10.1016/j.chom.2011.10.003](https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.003) PMID: 22018233
- Plesniarski A, Siddik AB, Su RC. The microbiome as a key regulator of female genital tract barrier function. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:790627. DOI: [10.3389/fcimb.2021.790627](https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.790627) PMID: 34976864
- Kwa M, Plottel CS, Blaser MJ, Adams S. The Intestinal Microbiome and Estrogen Receptor-Positive Female Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108(8). PMID: 27107051
- Ervin SM, Li H, Lim L, Roberts LR, Liang X, Mani S, et al. Gut microbial β -glucuronidases reactivate estrogens as components of the estrobolome that reactivate estrogens. *J Biol Chem*. 2019;294(49):18586-99. DOI: [10.1074/jbc.RA119.010950](https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010950) PMID: 31636122
- Baker JM, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz MM. Estrogen-gut microbiome axis: physiological and clinical implications. *Maturitas*. 2017;103:45-53. DOI: [10.1016/j.maturitas.2017.06.025](https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.06.025) PMID: 28778332
- Rivière A, Selak M, Lantin D, Leroy F, De Vuyst L. Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: importance and strategies for their stimulation in the human gut. *Front Microbiol*. 2016;7:979. DOI: [10.3389/fmicb.2016.00979](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00979) PMID: 27446020
- Markle JG, Frank DN, Mortin-Toth S, Robertson CE, Feazel LM, U. Rolfe-Kampczyk, M. von Bergen, K.D. McCoy, A.J. Macpherson, J.S. Danska, Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science*. 2013;339(6123):1084-8. DOI: [10.1126/science.1233521](https://doi.org/10.1126/science.1233521) PMID: 23328391
- Krajmalnik-Brown R, Ilhan ZE, Kang DW, DiBaise JK. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutr Clin Pract*. 2012;27(2):201-14. DOI: [10.1177/0884533611436116](https://doi.org/10.1177/0884533611436116) PMID: 22367888
- Francescone R, Hou V, Grivnenkov SI. Microbiome, inflammation, and cancer. *Cancer J*. 2014;20(3):181-9. DOI: [10.1097/PPO.000000000000048](https://doi.org/10.1097/PPO.000000000000048) PMID: 24855005
- Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol*. 2012;107(10):1452-9. DOI: [10.1038/ajg.2012.93](https://doi.org/10.1038/ajg.2012.93) PMID: 23034604
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002;346(5):340-52. DOI: [10.1056/NEJMr000471](https://doi.org/10.1056/NEJMr000471) PMID: 11821512
- Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen JA, Minutolo F. Estrogen receptors alpha (ER α) and beta (ER β): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*. 2014;90:13-29. DOI: [10.1016/j.steroids.2014.06.012](https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.06.012) PMID: 24971815
- Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(12):715-26. DOI: [10.1038/nrendo.2011.122](https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.122) PMID: 21844907
- Amabebe E, Anumba DO. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:181. DOI: [10.3389/fmed.2018.00181](https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00181) PMID: 29951482
- Gomez A, Luckey D, Taneja V. The gut microbiome in autoimmunity: sex matters. *Clin Immunol*. 2015;159(2):154-62. DOI: [10.1016/j.clim.2015.04.016](https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.04.016) PMID: 25956531
- Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*. 2012;150(3):470-80. DOI: [10.1016/j.cell.2012.07.008](https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.07.008) PMID: 22863002
- Peters BA, Lin J, Qi Q, Usyk M, Isasi CR, Mossavar-Rahmani Y, et al. Menopause is associated with an altered gut microbiome and estrobolome, with implications for adverse cardiometabolic risk in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *mSystems*. 2022;7(3):e0027322. DOI: [10.1128/msystems.00273-22](https://doi.org/10.1128/msystems.00273-22) PMID: 35675542
- Santos-Marcos JA, Rangel-Zuñiga OA, Jimenez-Lucena R, Quintana-Navarro GM, Garcia-Carpintero S, Malagon MM, et al. Influence of gender and menopausal status on gut microbiota. *Maturitas*. 2018;116:43-53. DOI: [10.1016/j.maturitas.2018.07.008](https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2018.07.008) PMID: 30244778
- Mayneris-Perxachs J, Arnoriaga-Rodríguez M, Luque-Córdoba D, Priego-Capote F, Pérez-Brocal V, Moya A, et al. Gut microbiota steroid sexual dimorphism and its impact on gonadal steroids: influences of obesity and menopausal status. *Microbiome*. 2020;8(1):136. DOI: [10.1186/s40168-020-00913-x](https://doi.org/10.1186/s40168-020-00913-x) PMID: 32951609
- Mueller S, Saunier K, Hanisch C, Norin E, Alm L, Midtvedt T, et al. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(2):1027-33. DOI: [10.1128/AEM.72.2.1027-1033.2006](https://doi.org/10.1128/AEM.72.2.1027-1033.2006) PMID: 16461645
- Flores R, Shi J, Fuhrman B, Xu X, Veenstra TD, Gail MH, et al. Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: a cross-sectional study. *J Transl Med*. 2012;10(1):253. DOI: [10.1186/1479-5876-10-253](https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-253) PMID: 23259758
- 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;8(1):875. DOI: [10.1038/s41467-017-00901-0](https://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0) PMID: 29042534
- 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;25(3):298-325. DOI: [10.1093/humupd/dmy048](https://doi.org/10.1093/humupd/dmy048) PMID: 30938752
- Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237). DOI: [10.1126/scitranslmed.3008599](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599) PMID: 24848255
- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(Suppl 1):4680-7. DOI: [10.1073/pnas.1002611107](https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107) PMID: 20534435
- Franasiak JM, Scott RT. Endometrial microbiome. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017;29(3):146-52. DOI: [10.1097/GCO.0000000000000357](https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000357) PMID: 28266933
- Kaur H, Merchant M, Haque MM, Mande SS. Crosstalk between female gonadal hormones and vaginal microbiota across various phases of women's gynecological lifecycle. *Front Microbiol*. 2020;11:551. DOI: [10.3389/fmicb.2020.00551](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00551) PMID: 32296412
- Huang B. The changing landscape of the vaginal microbiome. *Biodiversity (Nepean)*. 2015;9(5):965-76.
- Vitali D, Wessels JM, Kaushic C. Role of sex hormones and the vaginal microbiome in susceptibility and mucosal immunity to HIV-1 in the female genital tract. *AIDS Res Ther*. 2017;14(1):39. DOI: [10.1186/s12981-017-0169-4](https://doi.org/10.1186/s12981-017-0169-4) PMID: 28893284

34. Bardos J, Fiorentino D, Longman RE, Paidas M. Immunological role of the maternal uterine microbiome in pregnancy: pregnancies pathologies and altered microbiota. *Front Immunol.* 2010;10:2823. DOI: [10.3389/fimmu.2019.02823](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02823) PMID: 31969875
35. Romero R, Hassan SS, Gajer P, Tarca AL, Fadrosch DW, Nikita L, et al. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome.* 2014;2(1):4. DOI: [10.1186/2049-2618-2-4](https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-4) PMID: 24484853
36. Solt I. The human microbiome and the great obstetrical syndromes: a new frontier in maternal-fetal medicine. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015;29(2):165-75. DOI: [10.1016/j.bpobgyn.2014.04.024](https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.04.024) PMID: 25242582
37. Peelen MJ, Luef BM, Lamont RF, de Milliano I, Jensen JS, Limpens J, et al.; PREBIC Biomarker Working Group 2014–2018. The influence of the vaginal microbiota on preterm birth: A systematic review and recommendations for a minimum dataset for future research. *Placenta.* 2019;79:30-9. DOI: [10.1016/j.placenta.2019.03.011](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.03.011) PMID: 31047708
38. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front Immunol.* 2018;9:208. DOI: [10.3389/fimmu.2018.00208](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00208) PMID: 29552006
39. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martínez-Blanch JF, Jiménez-Almazán J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(6):684-703. DOI: [10.1016/j.ajog.2016.09.075](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.075) PMID: 27717732
40. Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;199:69-75. DOI: [10.1016/j.ejogrb.2016.01.040](https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.01.040) PMID: 26901400
41. Rižner TL. Estrogen metabolism and action in endometriosis. *Mol Cell Endocrinol.* 2009;307(1-2):8-18. DOI: [10.1016/j.mce.2009.03.022](https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.03.022) PMID: 19524121
42. Khan KN, Fujishita A, Hiraki K, Kitajima M, Nakashima M, Fushiki S, et al. Bacterial contamination hypothesis: a new concept in endometriosis. *Reprod Med Biol.* 2018;17(2):125-33. DOI: [10.1002/rmb2.12083](https://doi.org/10.1002/rmb2.12083) PMID: 29692669
43. Leonardi M, Hicks C, El-Assaad F, El-Omar E, Condous G. Endometriosis and the microbiome: a systematic review. *BJOG.* 2020;127(2):239-49. DOI: [10.1111/1471-0528.15916](https://doi.org/10.1111/1471-0528.15916) PMID: 31454452
44. Jiang I, Yong PJ, Allaire C, Bedaiwy MA. Intricate Connections between the Microbiota and Endometriosis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5644. DOI: [10.3390/ijms22115644](https://doi.org/10.3390/ijms22115644) PMID: 34073257
45. Bailey MT, Coe CL. Endometriosis is associated with an altered profile of intestinal microflora in female rhesus monkeys. *Hum Reprod.* 2002;17(7):1704-8. DOI: [10.1093/humrep/17.7.1704](https://doi.org/10.1093/humrep/17.7.1704) PMID: 12093827
46. Yuan M, Li D, Zhang Z, Sun H, An M, Wang G. Endometriosis induces gut microbiota alterations in mice. *Hum Reprod.* 2018;33(4):607-16. DOI: [10.1093/humrep/dex372](https://doi.org/10.1093/humrep/dex372) PMID: 29462324
47. Chadchan SB, Cheng M, Parnell LA, Yin Y, Schriefer A, Mysorekar IU, et al. Antibiotic therapy with metronidazole reduces endometriosis disease progression in mice: a potential role for gut microbiota. *Hum Reprod.* 2019;34(6):1106-16. DOI: [10.1093/humrep/dez041](https://doi.org/10.1093/humrep/dez041) PMID: 31037294
48. Plesniarski A, Siddik AB, Su RC. The microbiome as a key regulator of female genital tract barrier function. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:790627. DOI: [10.3389/fcimb.2021.790627](https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.790627) PMID: 34976864
49. Borella F, Carosso AR, Cosma S, Preti M, Collelli G, Cassoni P, et al. Gut Microbiota and Gynecological Cancers: A Summary of Pathogenetic Mechanisms and Future Directions. *ACS Infect Dis.* 2021;7(5):987-1009. DOI: [10.1021/acsinfectdis.0c00839](https://doi.org/10.1021/acsinfectdis.0c00839) PMID: 33848139