

Nika Troha¹, Eda Bokal Vrtačnik²

Mikrobiom ženskega reproduktivnega trakta – pregledni prispevek

The Microbiome of the Female Reproductive Tract – A Review Article

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: mikrobiom/mikrobiota, reproduktivni trakt, disbioza, *Lactobacillus*, neplodnost, nosečnost, ginekološki rak

S preučevanjem mikroorganizmov človeškega telesa, njihove fiziološke in patofiziološke vloge se v zadnjih letih ukvarjajo tako rekoč vsa področja medicine. V tem prispevku se bomo glede na podatke iz literature posvetili mikrobiomu na področju reproduktivne medicine. Bakterijska kolonizacija reproduktivnega trakta je pogosta tudi pri zdravih, asimptomatskih ženskah in ni vedno patološka. Dosedanjim raziskavam je skupna ugotovitev pomembnosti zaščitne vloge *Lactobacillus* spp. v vseh anatomskih delih reproduktivnega trakta. Prevlada *Lactobacillus* spp. je dokazano povezana z ugodnim reproduktivnim in perinatološkim izidom. Tehnologije naslednje generacije analize DNK nam omogočajo vse bolj podrobno razumevanje vpliva mikrobioma na reproduktivno zdravje, spreminjanje njegove sestave glede na endogene in eksogene dejavnike, njegovo vlogo v zanositvi, vzdrževanju nosečnosti ter pojavnosti zapletov v nosečnosti. Novi dokazi kažejo tudi na morebitno vlogo disbioze v razvoju in napredovanju ginekoloških malignomov. Z raziskovanjem mikrobioma se tako odpirajo možnosti izboljšanja zdravljenja in preprečevanja ginekoloških obolenj, vključno z neplodnostjo.

ABSTRACT

KEY WORDS: microbiota/microbiome, reproductive tract, dysbiosis, *Lactobacillus*, infertility, pregnancy, gynaecological malignancies

In recent years there has been extensive research regarding the microbial composition of the human body and its physiological and pathophysiological functions in almost every field of medicine. In the following review, we will focus on the microbiome of the reproductive tract based on the findings in the current literature. According to research, bacterial colonisation of the reproductive tract is common even in a population of healthy asymptomatic women and is not always regarded as pathological. *Lactobacillus*-dominance throughout the reproductive tract is considered the ultimate protective factor as it is consistently associated with reproductive success and positive obstetrical outcomes. Next generation DNA technologies have revealed a better understanding of the microbial influence

¹ Nika Troha, dr. med., Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šljajmerjeva ulica 3, 1000 Ljubljana; nika0troha@gmail.com

² Prof. dr. Eda Bokal Vrtačnik, dr. med., Klinični oddelek za reprodukcijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šljajmerjeva ulica 3, 1000 Ljubljana

on reproductive health, their role in the implantation and maintenance of pregnancy, and shifts in bacterial composition due to various endogenous and exogenous factors. Emerging evidence shows a possible role of dysbiosis in the development and progress of gynaecological malignancies. These advances have enabled us to improve the current treatment options for many gynaecological conditions, including the treatment of infertility.

UVOD

Mikroorganizme – bakterije, viruse, kvasovke, glive, arheje in praživali –, ki kolonizirajo človeško telo ali določen anatomske predel, imenujemo mikrobiota. Izraz mikrobiom opredeljuje genom mikroorganizmov in okolja, ki ga le-ti naseljujejo (1, 2). Večja raziskovanja mikrobioma so se začela hkrati z začetkom projekta Človeški mikrobiom (pod okriljem National Institute of Health) v ZDA leta 2007 (3, 4). Sprva so prisotnost mikroorganizmov določali s pomočjo mikrobioloških kultur, vendar imajo te številne omejitve, saj se pogoji za rast med mikroorganizmi močno razlikujejo (5). Kljub temu pa so mikrobiološke kulture dokazale prisotnost mikroorganizmov v anatomske predelih, ki so do tedaj veljale za sterilne (6, 7). Danes so osrednje metode raziskovanja mikrobioma tehnologije naslednje generacije sekvencioniranja DNK, ki uporabljajo gen 16S rRNK, edinstven za bakterijski genom. Ta gen vsebuje mnoge hipervariabilne regije, ki služijo kot prepoznavne sekvence različnih rodov bakterij (2). Bakterije, katerih genomi so si v tej sekvenci podobni nad 97 %, združujemo v operativne taksonomske enote (angl. *operational taxonomic units*, OTU) (8). Raznolikost mikroorganizmov določenega anatomskega področja je opredeljena s številom različnih mikroorganizmov. Raznolikost mikroorganizmov znotraj enega anatomskega področja je imenovana alfaraznolikost, beta-rznolikost pa primerja raznolikost mikroorganizmov med dvema anatomskega področjema (2, 3, 8).

SESTAVA MIKROBIOMA ŽENSKEGA REPRODUKTIVNEGA TRAKTA

V zadnjih desetletjih so številne raziskovalne skupine preučevale sestavo mikrobiote v različnih anatomske predelih v ženskem reprodukativnem traktu. Najbolj raziskana je sluznica nožnice, vendar izsledki nedavnih raziskav kažejo, da so tudi druga področja, ki so do sedaj veljala za sterilna (npr. maternična votlina in zgornji del reprodukativnega trakta), poseljena s številnimi mikroorganizmi (6, 7, 9). Bakterije so namreč dokazali v jajcevodih in folikularni tekočini tudi pri ženskah brez predhodno znane patologije jajcevodov, sterilna pa naj ne bi bila niti posteljica (9–12). Določene bakterije so ključne za homeostazo posameznega področja. Prekinitev normalnega ravnovesja mikroorganizmov oziroma razrast patogenih bakterij na nekem področju imenujemo disbioza (13). Najpogostejša družina mikroorganizmov ženskega reprodukativnega trakta so rod *Lactobacillus* spp. (4). V prispevku Koedooder R. in sodelavci je iz 51 člankov povzeta sestava mikrobiomov posameznih anatomske predelov ženskega reprodukativnega trakta, ki je razdeljen na štiri anatomske predele: nožnica, kanal materničnega vratu, maternična votlina in zgornji reprodukativni trakt (ZRT). V nožnici se pri zdravih asimptomatske ženskah poleg *Lactobacillus* spp. najpogosteje nahaja red *Bifidobacteriaceae*, bakterije družine *Prevotellaceae* in *Veillonellaceae*. Mikrobiom materničnega vratu je podoben kot v nožnici; tu so poleg

Lactobacillus spp. v večini družina *Clostridiaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae* in *Streptococcaceae*. Maternično votlino poleg *Lactobacillus* spp. najpogosteje nase-ljuje družina *Streptococcaceae*. Družini *Peptostreptococcaceae* in *Propionibacteriaceae* pa sta bili dokazani le v ZRT (2).

Mikrobiom nožnice

Vloga *Lactobacillus* spp.

V sluznici nožnice prevladujejo *Lactobacillus* spp., ki s proizvajanjem H_2O_2 in presnavljanjem glikogena v glukozo ter maltozo do mlečne kisline vzdržujejo nožnični pH med 3,5 in 4,5 (4). Nizek pH je glavni omejujoči dejavnik rasti patogenih bakterij (9). *Lactobacillus* spp. proizvajajo D-izomer mlečne kisline, medtem ko je človeško telo samo sposobno proizvajanja le njene L-izomerne oblike. D-izomerna oblika z nadziranjem matriksne metaloproteinaze ohranja integriteto čepa materničnega vratu, s tem omeji vertikalni prenos bakterij iz nožnice v maternico in tako deluje bolj zaščitno kot njena L-izomerna oblika (14). Nekatere vrste *Lactobacillus* spp. so sposobne poleg že omenjenih protimikrobnih presnovkov sintetizirati tudi specifične beljakovine, imenovane bakteriocini, ki imajo bakteriostatično in bakteriocidno delovanje (15, 16). Za sluznico nožnice so pogoji preprečevanja vdora škodljivih mikroorganizmov tako najbolj ugodni, kadar v njej prevladujejo *Lactobacillus* spp. Za mikrobioto nožnice je v primerjavi z oralno ali gastrointestinalno mikrobioto zaradi prevladovanja *Lactobacillus* spp. značilna nižja alfa- in betaraznolikost (4). Najpogostejše vrste *Lactobacillus* spp. v nožnici so *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners*, in *L. jensenii*. *L. crispatus* sprošča najvišjo koncentracijo D-mlečne kisline in tako najbolj ščiti pred urogenitalnimi okužbami in slabimi reproduktivnimi izidi (14, 17). Mikrobiom nožnice lahko glede na prisotnost identificiranih bakterij delimo v pet razredov bakterij oz. bakterijskih stanj (angl. *community state*

types, CST), ki jih označujemo z rimskimi številkami. V skupini CST I prevladuje *L. crispatus*, v CST II *L. gasseri*, CST III *L. iners*, CST V *L. jensenii*, skupina IV pa vsebuje več anaerobov, kot so *Prevotella* spp., *Megasphaera* spp., *Atoponium* spp. in *Dialister* spp., ki porastejo na račun *Lactobacillus* spp. (18). Prisotnost skupine IV v nožnici je pogosteje povezana s prezgodnjim porodom (PP) (18, 19). Omenjene bakterijske skupine lahko prehajajo iz enega stanja v drugega, prehodi pa so odvisni od starosti ženske, menstruacijskega cikla, spolne aktivnosti, nosečnosti, dojenja, sladkorne bolezni, kajenja, stresa, eksogenih hormonov in rase (20). Znižanje koncentracije *Lactobacillus* spp. v nožnici se pogosto kaže kot simptomatsko obolenje, imenovano bakterijska vaginoza (BV), ki ga podrobneje obravnavamo v nadaljevanju članka.

Vpliv starostnih sprememb in menstruacijskega cikla na mikrobiom nožnice

Mikrobiota nožnice je v življenju ženske pod vplivom fizioloških, lahko pa tudi eksogenih spolnih hormonov. Pred menarho mikrobioto nožnice sestavljajo mikroorganizmi, podobni kožni in črevesni mikrobioti. Pojavljata se tako aerobna in anaerobna flora, najpogosteje *Prevotella* spp., *Enterobacteriaceae* (predvsem *Escherichia coli*), *Streptococcus* spp. in *Staphylococcus* spp. (6). Prevlada *Lactobacillus* spp. nastopi po puberteti, ko se lokalne razmere zaradi delovanja estrogena in progesterona spremenijo (21). Estrogeni spodbujajo proliferacijo nožničnega epitelija, tvorbo intraepitelijskega glikogena, progesteron pa podpira citolizo epiteljskih celic, ki izločajo glikogen. Povišana koncentracija glikogena ustreza mikroorganizmom, ki fermentirajo glukozo, kot je *Lactobacillus* spp. (14, 22). Med menstruacijo je mikrobiom bolj raznolik, stabilizira se predvsem ob naraščanju serumskega estrogena (23). V pomnopavzalnem obdobju je upad estrogena

dokazano povezan z upadom *Lactobacillus* spp. v nožnici (24). Nadomestno hormonsko zdravljenje v tem obdobju povrne kolonizacijo *Lactobacillus* spp. in tako zniža možnost razrasta patogenih bakterij (25).

Mikrobiom maternične votline

Novejše raziskave se iz raziskovanja vaginalnega mikrobioma usmerjajo v preučevanje mikroorganizmov v znotrajmaterničnem prostoru in ZRT. Preučevanje endometrijskega mikrobioma je zaradi nizke biomase pridobljenih vzorcev in s tem velike verjetnosti njihove kontaminacije zelo težavno. Raziskovalne skupine za pridobitev vzorcev endometrija uporabljajo različne pristope. Med neinvazivne pristope štejemo transcervikalni pristop, v nekaterih raziskavah pa so se poslužili invazivnih kirurških načinov s pomočjo laparoskopije in histeroskopije (9, 12, 26–28). Mitchell in sodelavci so vzorce endometrija pridobili s histološko resekcijo preparatov maternice po laparoskopsko asistiranih vaginalnih histerektomijah (29). Chen in sodelavci, ki so primerjali zanesljivost transcervikalnega s kirurškim pristopom, so pokazali, da je neinvazivni transcervikalni pristop ob skrbnem upoštevanju zaščitnih ukrepov pred kontaminacijo enako zanesljiv kot invazivni pristopi (9). Maternična votlina je dolgo veljala za sterilno okolje, mnoge raziskave pa so pokazale, da so tudi v endometriju prisotni raznovrstni mikroorganizmi (6, 29). Izvor bakterij v maternici skuša pojasniti več hipotez. Najpogostejša razlaga prisotnosti mikroorganizmov v maternici je njihova ascendentna selitev iz nožnice (7). Zervomanolakis in sodelavci so s pomočjo histerosalpingoscintigrafije, merjenja znotrajmaterničnega pritiska, elektromiografije in doplerskega UZ uspeli dokazati ascendentno pot z radionuklidi označenih delcev humanega serumskega albumina. Maternica in jajceveda tako delujejo kot peristaltična črpalka, ki omogoča prenos seme-

na do jajčnika, v katerem se nahaja dominantni folikel. Predvideva se, da je omenjeni transport prisoten tudi pri prenosu bakterij v maternico. Število radionuklidno označenih delcev v jajcevodu se je povečalo ob vnosu oksitocina, kar nakazuje na njegovo pomembno vlogo v peristaltični aktivnosti maternice in jajcevodov (30). Več materničnih kontrakcij se pojavlja med folikularno fazo menstruacijskega cikla (31, 32). Poleg predpostavke o širjenju mikroorganizmov iz nožnice obstajajo tudi domneve o hematogenem prenosu iz oralnega in gastrointestinalnega trakta (10, 33, 34). Aagaard in sodelavci, ki so dokazali prisotnost bakterij v posteljici, so največje ujemanje mikrobioma posteljice našli prav z mikrobiomom ustne votline (10). Možen vir širjenja mikroorganizmov do zgornjega reproduktivnega trakta je tudi retrogradni prenos preko jajcevodov in kontaminacija preko predhodnih postopkov zunajtelesne oploditve, drugih znotrajmaterničnih posegov ter spolnih odnosov (35–40, 46). Mikrobiom endometrija se po izsledkih raziskav precej razlikuje od nožničnega mikrobioma. V obeh anatomskih predelih je ključna prevlada *Lactobacillus* spp. (26). Prevlada drugih bakterij vodi v disbiotično stanje, kar je dejavnik tveganja za mnoga ginekološka obolenja, vključno z neplodnostjo. Za mikrobiom maternične votline je značilna večja alfaraznolikost in manjša količina najdenih bakterij v primerjavi z nožnico (29). Sluznica materničnega vratu namreč vsebuje protimikrobne peptide, vnetne citokine in imunoglobuline, ki preprečujejo vnos mikroorganizmov v maternico (41, 42).

Vplivi na mikrobiom maternične votline

Glede hormonskega uravnavanja endometrijske mikrobiote še ni enotnega mnenja, saj so si izsledki raziskav pogosto nasprotujoči. Zato še ni povsem znano, ali imajo spolni hormoni enak vpliv na maternično mikrobioto, kot ga imajo na mikrobioto v nožnici (35). Moreno in sodelavci so pre-

učevali hormonsko regulacijo endometrijskega mikrobioma v postopku zunajtelesne oploditve (ZTO). Endometrijske vzorce 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 endometrijski mikrobiom v obeh fazah izredno stabilen, bakterijska raznolikost endometrijske tekočine se namreč pri 81,8 % žensk med fazama ni spreminjala. Zaključili so, da endometrijski mikrobiom kljub znanemu vplivu hormonov na celice endometrija najverjetneje ni hormonsko nadzorovan znotraj menstruacijskega cikla oziroma v času endometrijske receptivnosti (28). Po drugi strani pa so Chen in sodelavci dokazali večji porast bakterij v nožnici in v maternični votlini v proliferativni fazi menstruacijskega cikla, saj je tedaj več substrata za pirimidinsko in purinsko sintezo. V sekretorni fazi naj bi prevladoval metabolizem porfirina, arginina in prolina ter razgradnja benzoata. Omenjeni rezultati pričajo o morebitnih cikličnih spremembah materničnega mikrobioma (9). To ugotovitev podpirajo tudi rezultati raziskave Khan in sodelavcev, ki so pokazali povečano število bakterijskih kolonij ob uporabi agonistov gonadoliberina (angl. *gonadotropin-releasing hormone*, GnRH), ki spremenijo hormonsko stanje endometrija (43, 44). V drugi raziskavi Moreno in sodelavcev je bil preučevan tudi pH endometrijske tekočine, ki je bil glede na rezultate neodvisen od prisotnosti bakterij in deleža *Lactobacillus* spp. v maternici, zato se ni izkazal za dobrega pokazatelja sestave endometrijskega mikrobioma. To nakazuje na morebitno drugačno vlogo *Lactobacillus* spp. v maternici od nožnice, kjer so ti ključni predvsem za ohranjanje nizkega pH (45). Kot že omenjeno, tako na vaginalni kot na endometrijski mikrobiom vplivajo tudi invazivni posegi na maternici in postopki oploditve z biomedicinsko pomočjo (OBMP) (37, 46). O tem priča raziskava Hyman in sodelav-

cev, ki je pokazala vpliv postopkov OBMP na mikrobiom nožnice. Pri tretjini od 30 žensk v raziskavi so se med postopkom pojavile bakterije, ki pred punkcijo foliklov in prenosom zarodkov niso bile prisotne (46). Kyon in sodelavci so v populaciji japonskih žensk dokazali razlike v mikrobiomu endometrija žensk, ki se obravnavajo zaradi neplodnosti (zajete so bile tako bolnice, ki so že vključene v postopke OBMP, kot tiste, ki še niso bile v OBMP-postopkih), in zdravo populacijo žensk. Izkazalo se je, da ima endometrijska sluznica pri ženskah v postopkih OBMP statistično pomembno nižji delež *Lactobacillus* spp. kot sluznica žensk, ki se niso zdravile zaradi neplodnosti ali pa niso bile vključene v postopke OBMP (37).

Obstaja tudi nekaj drugačnih teorij o vplivu na endometrijsko mikrobioto, ena od njih ugotavlja pomembnost vpliva črevesnih bakterij na hormonsko stanje ženske. Mikroorganizmi v črevesju naj bi preko izločanja β -glukuronidaze, ki dekonjugira estrogen do njegovega aktivnega presnovka, vplivali na delež prostih estrogenov v telesu ženske (47). Za dokaz povezav med omenjenima mikrobiomoma pa so potrebne nadaljnje podrobnejše raziskave.

Mikrobiom zgornjega reprodukativnega trakta

V zadnjih letih so se pojavile raziskave, ki so preučevale mikrobiom zgornjega reprodukativnega trakta – vsebine jajcevodov, folikularne tekočine, Douglasovega prostora in peritonealne tekočine. Zbiranje vzorcev ZRT je zahtevnejše in invazivnejše kot v primeru maternične sluznice in nožnice. Prva tovrstnih raziskav je bila Cottell in sodelavci, v kateri so leta 1996 poročali o porastu bakterij v vzorcih folikularne tekočine, pridobljene v času punkcije foliklov znotraj postopka ZTO. Tovrstna najdba je bila tedaj ocenjena kot kontaminacija in ne prava kolonizacija (48). Pelzer in sodelavci pa so leta 2013 dokazali prisotnost mikroorganizmov v folikularni

tekočini, ki so jih ločili na prave kolonizatorje in kontaminante. Pravi kolonizatorji so bile bakterije, najdene v folikularni tekočini ob punkciji foliklov, ne pa tudi v vzorcih nožnice. V omenjeni raziskavi je bila prisotnost *Lactobacillus* spp. v foliklih jajčnika povezana z ugodnim izidom postopka OBMP, s primernim zorenjem in uspešnim prenosom zarodkov (11). Miles in sodelavci so poleg vzorcev nožnice, materničnega vratu in endometrija pridobili tudi vzorce miometrija, jajcevodov in peritonealne tekočine. Dokazali so, da so mikroorganizmi v teh anatomskih regijah bolj raznoliki kot v nožnici (49). Chen in sodelavci pa so, pričakovano glede na značilnosti mikrobioma endometrija, ugotovili veliko kvantitativno razliko bakterij v ZRT. Dokazali so tudi, da se vrste bakterij v ZRT razlikujejo med pred- in pomenopavzalnimi ženskami, kar je znak njegovega morebitnega hormonskega uravnavanja (9).

MIKROBIOM REPRODUKTIVNEGA TRAKTA ŽENSKÉ IN NEPLODNOST

Bakterijska vaginoza (BV) je obolenje nožnice, ki prizadene do 30 % žensk v reproduktivnem obdobju (50). Zanj je značilna vaginalna disbioza, sprememba nožnične sluznice iz okolja s prevlado zaščitnih *Lactobacillus* spp. v stanje večje raznolikosti mikroorganizmov. Pri BV gre najpogosteje za polimikrobno okužbo, pri kateri prevladujejo anaerobi (13). Ti se lahko organizirajo v skupke ali biofilme, s katerimi povzročajo slabšo učinkovitost antibiotičnega zdravljenja (51). Biofilme so v nedavnih raziskavah našli tudi v endometrijski votlini in celo jajcevodih (52). Bakterijsko vaginozo najpogosteje povzročajo *Gardnerella* spp., *Atopobium* spp., *Mobiluncus* spp., *Prevotella* spp., *Streptococcus* spp., *Sneathia* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp., *Megasphaera* spp. in drugi (20, 53). BV je dokazano povezana s PP in poznimi spontanimi ter ponavljajočimi se splavi (19, 54–58). Pri ženskah z BV je bila

ugotovljena tudi večja dovzetnost za okužbo s povzročitelji spolno prenosljivih okužb (SPO), njena povezava z medenično vnetno boleznijo, endometritisom in posledično neplodnostjo (59). Van Ostrum in sodelavci so v svoji metaanalizi dokazali, da je BV statistično pogostejša pri ženskah, ki se zdravijo zaradi neplodnosti. Pri neplodnih ženskah je pojavnost BV višja predvsem pri ženskah s tubarno neplodnostjo (60).

Zdrav endometrija je osnova za uspešno ugnezditev zarodka. Maternična okužba lahko vodi v vnetje in aktivacijo imunskega sistema endometrija, kar lahko ovira ugnezditev zarodka. Znani dejavniki tveganja so okužbe s SPO, povzročene predvsem s *Chlamydia trachomatis* in *Neisseria gonorrhoeae*. Vloga *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis* in drugih mikroorganizmov v neplodnosti pa še ni povsem potrjena (35, 59). Bakterijske okužbe, ki jih povzročajo SPO, so lahko simptomatske ali asimptomatske. S svojim vnetnim delovanjem in z možnostjo tvorbe zarastlin so pomemben vzrok tubarne neplodnosti (59). Ker ima okolje maternične votline in ZRT drugačne značilnosti kot nožnica (45), še ni povsem znano, kakšna je vloga *Lactobacillus* spp. pri homeostazi endometrija in morebitnem pozitivnem vplivu na ugnezditev zarodkov (35, 37).

Mikrobiom in postopki oploditve z biomedicinsko pomočjo

Raziskovanju mikrobioma reprodukativnega trakta žensk so sledile številne raziskave o njegovem vplivu na izide postopkov OBMP. Ugnezditev zarodka omogoča interakcija med blastocisto in sluznico maternice, ki je v postopku ZTO odvisna od starosti ženske, kvalitete zarodkov, njihovega potenciala za ugnezditev, tehnike prenosa zarodka, moškega dejavnika neplodnosti in dovzetnosti endometrija (61). Dovzetnost endometrija v času ugnezditvenega okna je predpogoj za uspešen prenos zarodkov (angl. *embryo transfer*, ET) in posledično

nosečnost (62, 63). Med izvajanjem ET je možna kontaminacija maternične votline s transcervikalnim katetrom. Pri preučevanju mikrobioma v postopkih OBMP se vzorce pridobiva z mest možne kontaminacije, najpogosteje s konice katetra ob prenosu zarodkov. Raziskave so nakazale možnost slabših izidov postopkov OBMP v primeru vaginalne, cervikalne ali endometrijske disbioze in pokazale dobre izide v primeru prevlade *Lactobacillus* spp. (28, 36, 61, 64). Okužba s SPO je prav tako povezana z manjšo možnostjo ugnezditev in nižjim deležem zanositve (65). Glede na Egbas in sodelavce je bila možnost zanositve skoraj 50 % nižja v primeru izolacije bakterij s konice katetra ob ET (64). Bakterije, kot so patogeni *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* in gramnegativne bakterije, so bile najpogosteje povezane s slabim izidom ZTO v primerjavi z negativnimi kulturami (61, 64, 66). Izolacija prevladujočega *Lactobacillus* spp. je bila po drugi strani povezana z uspešnim ET in manjšim deležem spontanih splavov (31–33). Moor in sodelavci so ugotovili najnižjo stopnjo živorojenosti pri izolaciji *Streptococcus viridans* s konice katetra za ET (66). Selman in sodelavci so pri 152 bolnicah vzeli vzorce tekočine iz svoda nožnice, materničnega vratu, iz transportnega gojišča zarodka pred prenosom zarodkov in po njem ter s konice in zunanega ovoja katetra med ET. Pri 87,5 % bolnic so v mikrobioloških kulturah katelega koli dela katetra ali transportnega gojišča porastle bakterije, ki so porastle tudi v vzorcih nožnice ali materničnega vratu. Pri ženskah, kjer je bila tako dokazana kontaminacija, je bil delež ugnezditev zarodkov statistično značilno nižji (12,4 %) kot pri ženskah, ki so imele vzorce popolnoma negativne (14 %). Pri bolnicah, ki so imele izolirane *Enterobacteriaceae* in *Staphylococcus* spp., je bil odstotek nosečnosti statistično pomembno nižji kot pri negativnih kulturah. Pri ostalih izoliranih mikroorganizmih

ni bilo pomembnejših razlik (61). Salim in sodelavci so prav tako dokazali nižji odstotek zanositve pri pozitivnih bakterijskih kulturah iz vzorcev materničnega vratu žensk v času ET. Izsledki te raziskave so bili še bolj prepričljivi; pri pozitivnih kulturah je prišlo do zanositve pri 16,3 %, pri negativnih pa pri 36,8 % žensk. Pri porastu gramnegativnih bakterij ni prišlo do zanositve pri nobeni od vključenih žensk (62). Hyman in sodelavci, ki je namesto mikrobioloških kultur uporabljala tehnologijo sekvencioniranja 16S RNA, je v skladu z zgornjimi izsledki dokazala, da manj, kot je mikrobiota nožnične sluznice v času prenosa zarodkov postopka raznolika (oz. nižji, kot je indeks raznolikosti mikrobioma), višji je odstotek živorojenih otrok (46). Že omenjena raziskovalna skupina Pelzer in sodelavcev pa je leta 2013 kot ena prvih preučevala bakterijsko kolonizacijo folikularne tekočine v času punkcije foliklov in njen vpliv na izid nosečnosti. Dokaz *Lactobacillus* spp. v ovarijski folikularni tekočini je bil povezan z večjo uspešnostjo prenosa zarodkov, prisotnost bakterij *Actinomyces* spp., *Bifidobacterium* spp., *Propionibacterium* spp. in *Streptococcus* spp. pa je pokazala negativni vpliv na zanositev (11).

Več raziskovalnih skupin je mikrobioto nožnice in maternice raziskovalo v povezavi s ponavljajočo se neuspelo ugnezditevijo (angl. *recurrent implantation failure*, RIF). RIF je opredeljen kot neuspela zanositev po treh ali več prenosih kvalitetnih zarodkov znotraj postopkov OBMP. Nizka koncentracija *Lactobacillus* spp. v endometrijski tekočini je povezana s slabšim reproduktivnim izidom bolnic z RIF (7). Moreno in sodelavci so obravnavali ženske z diagnozo nedovzetnega endometrija, pri katerih so stanje endometrija sledili s testom endometrijske receptivnosti (angl. *endometrial receptivity array*, ERA), dokler te niso dosegle receptivnega okna. Zanosile so le ženske, pri katerih je bila z omenjenim testom dokazana endometrijska receptivnost

in prevlada *Lactobacillus* spp. v mikrobioti endometrija v istem ciklu. Ženske brez prevlade *Lactobacillus* spp. pa kljub primerni endometrijski receptivnosti niso zanosile. Dokazali so tudi povezavo okužbe z *Gardnerella* spp. in *Streptococcus* spp. z manjšo uspešnostjo zanositve ter večjo možnostjo spontanega splava. Zaključili so, da je prav prevlada *Lactobacillus* spp. nad 90 % edini zanesljiv napovedni dejavnik za reprodukativni uspeh. Prevlada drugih bakterij pa je bila povezana s pomembno nižjo ugnezditevno verjetnostjo, nosečnostjo in živorojenostjo (28). Verstrahlen in sodelavci so preučevali endometrijski mikrobiom 19 bolnic s ponavljajočimi se neuspešnimi ugnezditevami in ponavljajočimi se splavi. Bakterije iz družin *Firmicutes*, *Bacteroides* in *Proteobacteria* so bile v tej raziskavi najpogostejše najdene v maternici žensk z RIF, le pri eni od bolnic so bili prevladujoč mikroorganizem v maternici *Lactobacillus* spp. (12). Kitaya in sodelavci so primerjali vzorce znotrajmaternične tekočine in izločkov nožnice pri dveh skupinah žensk; tistih z diagnozo RIF in kontrolni skupini žensk v prvem ciklu ZTO. Pri kar četrtini bolnic z RIF (in pri nobeni od bolnic v kontrolni skupini) so izolirali bakterije *Burkholderia* spp., ki spada v družino *Proteobacteria* in je pogost kontaminant znotrajmaterničnih vložkov, povzročča tuboovarijske abscese in je značilno izredno odporna proti delovanju antibiotikov (67).

Predpostavljene več patofizioloških mehanizmov, s katerimi bi mikroorganizmi, najdeni v vzorcih pri prenosu zarodkov, lahko vplivali na njihovo ugnezditvev. Vzrok slabši receptivnosti endometrija je po eni od hipotez subklinični endometritis, ki ga povzročča znotrajmaternična bakterijska kolonizacija. Bakterije lahko zanesemo tudi s samim prenosom zarodkov, s tem pa se spremenijo biokemične lastnosti maternične sluznice, optimalne za ugnezditvev. V postopkih ET je možna tudi kontaminacija samih zarodkov, ki lahko spremeni nji-

hovo zmožnost in potencial ugnezditve (64, 68). V prihodnosti bo imela pri zdravljenju neplodnosti pomembno vlogo analiza endometrijskega mikrobioma, kot izhodišče za oceno sposobnosti ugnezditve zarodka in optimizacije endometrijskega mikrobioma z namenom izboljšanja perinatalnega izida.

Mikrobiom in kronični endometritis

Kronični endometritis je vztrajajoče vnetje maternične sluznice, ki jo najpogosteje povzročajo *Enterococcus faecalis*, *Enterobacteriae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *G. vaginalis*, *Chlamidia* spp., *N. gonorrhoeae*, *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma* spp. in glive (69). Bolezen je pogosto asimptomatska ali blago simptomatska (kaže se z bolečino v medenici, disfunkcijskimi krvavitvami, levkorejo, disparevnijo) in ostaja zaradi invazivne diagnostike z biopsijo endometrijskega tkiva pogosto neodkrita. Predpostavlja se, da bodo kot novo diagnostično orodje uporabne tehnike sekvencioniranja genetskega materiala oz. t. i. molekularna diagnostika (70). Tudi v asimptomatski obliki naj bi bila bolezen povezana z reprodukativnimi in perinatološkimi zapleti, tako spontane zanositve kot pri postopkih OBMP (71, 72). Pojavnost kroničnega endometritisa v splošni populaciji variira do 19%, v populaciji bolnic z rekurentnimi splavi in RIF pa se bolezen pojavlja v 60–66% (70, 73, 74). Kitaya in sodelavci je ugotavljala prevalenco kroničnega endometritisa med ženskami s predhodno anamnezo RIF. Kar 33,7% bolnic z diagnozo RIF je imelo z endometrijsko biopsijo dokazan tudi kronični endometritis. V tej raziskavi so ugotavljali tudi učinek antibiotičnega zdravljenja z doksiciklinom in metronidazolom ter ciprofloksacinom (v primeru odpornosti na doksiciklin) na uspešnost ET in živorojenost po ET. Stopnja zanositve po prvem ET, ki je sledil uspešnemu antibiotičnemu zdravljenju, je bila

statistično nepomembno višja v primerjavi z ET pri bolnicah z RIF, brez kroničnega endometritisa in zato brez antibiotičnega zdravljenja (37,1 proti 27,0%). Odstotek zanositve pa je bil statistično značilno višji po nadaljnjih treh prenosih zarodkov po antibiotičnem zdravljenju v primerjavi s skupino z RIF, a brez kroničnega endometritisa (45,7 proti 34,1 %) (75).

Vloga mikrobioma v endometriozii in adenomiozi

Endometrijoza je estrogensko odvisna bolezen, kjer se endometrijske žleze in stroma pojavljajo izven maternice (76, 77). Patogeneza endometrijoze je najverjetneje multifaktorska. V literaturi se uveljavlja t.i. hipoteza bakterijske kontaminacije, ki med možne vzročne dejavnike za endometrijozo šteje mikroorganizme, ki kolonizirajo ženski reproduktivni trakt (67, 78). V menstruacijski krvi bolnic z endometrijozo je bila dokazana višja vsebnost *E. coli* in endotoksina v primerjavi s kontrolami (43). Lipopolisaharid (LPS) ali endotoksin, ki se nahaja v membrani gramnegativnih bakterij z vezavo na tolične receptorje (angl. *toll-like receptors*, TLRs) povzroča aktivacijo celic prirojenega in pridobljenega imunskega sistema in s tem prispeva h kroničnemu vnetju (43, 79). Spremenjena mikrobiota, ki povzroča kronično vnetje reproduktivnega trakta, lahko po domnevah Takabayashi in sodelavcev sproži patološke maternične kontrakcije in tako retrogradno razsejanje endometrijskega tkiva v peritonealno votlino (80). Pri bolnicah z endometrijozo je bila namreč ugotovljena večja prevalenca disbioze različnih mest reproduktivnega trakta (9). Nedavni sistematični pregledni članek je pri bolnicah z endometrijozo ugotavljal povečano prisotnost *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp. in *E. coli* na različnih anatomskih mestih v primerjavi z zdravimi kontrolami (81). Khan in sodelavci so v tekočini endometriomov izolirali statistično značilno povišan delež bakterij

družin *Streptococcus* spp. in *Staphylococcus* spp. ter nižji delež *Lactobacillus* spp. v primerjavi z vsebino neendometriotičnih cist (44). Kot že omenjeno, so raziskave pokazale, da je disbioza gastrointestinalnega trakta povezana s povišano vsebnostjo cirkulirajočega estrogena (47). Glede na estrogensko odvisnost te bolezni se predpostavlja morebitna vloga mikrobioma gastrointestinalnega trakta v njeni patogenezi (82). Hkrati pa je estrogen pomemben imunomodulator, zato je njegovo pomanjkanje povezano z nižjo vsebnostjo antimikrobnih peptidov (83). V že navedeni Khan in sodelavci so poleg klinične pomembnosti bakterijske kolonizacije v sklopu endometrijoze ugotavljali tudi vpliv zdravljenja z agonisti gonadotropin sproščajoči hormona (angl. *gonadotropin-releasing hormone agonists*, GnRHa), ki povzročajo hipoestrogeno stanje (44). V raziskavo so vključili 32 žensk z endometrijozo, ki so bile predvidene za laparoskopsko zdravljenje neplodnosti, in 32 žensk, ki so predstavljale kontrolno skupino brez endometrijoze, predvidene za elektivne laparoskopske posege zaradi miomov maternice ali adneksalnih cist. Polovica žensk iz skupine žensk z endometrijozo in polovica žensk iz kontrolne skupine z miomi maternice se je predhodnih 4–6 mesecev zdravila z GnRHa. S pomočjo verižne reakcije s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction*, PCR) 16S rRNA so mikroorganizme našli v vseh pridobljenih vzorcih. Ne glede na zdravljenje z GnRHa je bilo pri ženskah z endometrijozo v brisih endometrija prisotnih več bakterij iz družin *Streptococcus* spp. in *Moraxella* spp. kot pri ženskah brez endometrijoze. Pri ženskah z endometrijozo, zdravljenih z GnRHa so v endometriju ugotavljali pomembno znižan delež *Lactobacillus* spp. in zvišan delež *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. in *Enterobacteriaceae*. Tudi pri ženskah po terapiji z GnRHa, ki niso imele endometrijoze, je bila opazna povečana kolonizacija s *Staphylococcus* spp. Zdravljenje z GnRHa

je po teh ugotovitvah dejavnik tveganja za subklinično bakterijsko okužbo, za katero pa so bolj dovzetne bolnice z endometriozo.

Adenomioza je bolezen, za katero je značilna benigna invazija endometrija v mio-metrij, ki tako kot endometriozo kaže odvisnost od estrogena. Povezana je s povečanim izločanjem vnetnih citokinov, okvaro celične imunosti in neoangiogeneze (84). Zaradi podobne patogeneze z endometriozo se tudi tu predpostavlja vlogo mikroorganizmov pri razvoju in napredovanju bolezni. V že omenjeni raziskavi Chen in sodelavcev so ugotovili specifično sestavo bakterij reproduktivnega trakta pri bolnicah z adenomiozo. Mikrobiom bolnic z adenomiozo se je ujema z mikrobiomom bolnic z anemijo, kar je bila ena od spremenljivk, obravnavanih v raziskavi. Preiskovali so tudi biokemijske funkcijske skupine, ki so pokazale, da je mikrobiom bolnic z adenomiozo obogaten z aromatskimi aminokisljinami. Sledila je predpostavka, da morda ostajajo biokemijski ali mikrobní markerji bolezni, kot sta endometriozo in adenomioza (9). Za dokaz povezave z adenomiozo in morebitne vloge mikroorganizmov v njeni patogenezi pa so potrebne nadaljnje raziskave.

MIKROBIOM IN ZAPLETI V NOSEČNOSTI

Mikrobiom nožnice v nosečnosti

Za uspešno ugnezditev zarodka je potrebna strogo nadzorovana interakcija med zarodkom in maternično sluznico. Stanje disbioze oziroma spremenjen mikrobiom nožnice, maternice ali posteljice lahko preko delovanja citokinov in kemokinov vpliva na proces ugnezditev in na potek nosečnosti (2, 85). Pri nosečih, tako kot pri nenosečih, ženskah v mikrobiomu nožnice prevladujejo *Lactobacillus* spp. S trajanjem nosečnosti postaja mikrobná sestava nožnice vedno stabilnejša, tako da je ob terminu poroda raznolikost mikroorganizmov najnižja. Nožnični mikrobiom se v nosečnosti

spreminja predvsem s premiki med bakterijskimi skupinami (CST-ji), kjer prevladujejo *L. vaginalis*, *L. jensenii*, *L. crispatus* in *L. gasseri* (45, 86). 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 (86). Povečana stabilnost mikrobioma nožnice v nosečnosti deluje zaščitno pred bakterijsko vaginozo in ascendentno okužbo genitalnega trakta, ki sta dejavnik tveganja za PP, insuficienco cerviksa, horioamnionitis ter prezgodnji razpok plodovih ovojev (45, 57, 58, 86–93).

Vloga pri prezgodnjem porodu

PP je definiran kot porod pred dopolnjenim 37. tednom nosečnosti, je najpogostejši vzrok umrljivosti novorojenčkov (94). Poleg materinih in plodovih genetskih dovzetnosti ter interakcij med genetiko in okoljem je po nekaterih podatkih 25–40 % PP povezanih z okužbo z mikroorganizmi. Ti lahko izvirajo iz okužbe genitourinarnega trakta, spolno prenosljivih okužb in bakterijske vaginoze (58, 95). Bakterijska vaginoza in okužba sečil v nosečnosti zahtevata ustrezno obravnavo in antibiotično zdravljenje. Poleg najpogosteje omenjenega prehoda mikroorganizmov do plodovih ovojev, posteljice in maternične votline preko spodnjega reproduktivnega trakta je bil dokazan tudi njihov hematogeni prenos, pogosto povezan s periodontalnimi patogeni (95–97). Bakterije ustne votline, najpogosteje povezane s PP, so *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* in *Fusobacterium nucleatum* (96–98).

Patogeneza vpliva mikroorganizmov, predvsem bakterij, na prezgodnji porod je bila v raziskavah pojasnjena z več mehanizmi (100–103). Z vezavo na TLRs, ki so izraženi na amnijski in horijski membrani, materničnem vratu ter posteljici, bakterijski ligandi povzročajo prepisovanje jedrnega

dejavnika κ B (angl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells*, NF- κ B), aktivacijo nevtrofilcev in makrofagov ter drugih posrednikov vnetja – interlevkin (IL) 1, IL-6, in IL-8, dejavnika tumorske nekroze (angl. *tumor necrosis factor*, TNF), spodbujevalnega dejavnika granulocitnih kolonij (angl. *granulocyte colony stimulating factor*, G-CSF), spodbujevalnega dejavnika kolonij 2 (angl. *colony stimulating factor*, CSF-2) in matriksne metaloproteinaze (MMP) ter s tem sprožijo materin in plodov vnetni odgovor. IL-1 in TNF pri tem spodbujata tvorbo prostaglandinov in pospešujeta izražanje MMP, ki povzročajo razgradnjo izvenceličnega matriksa plodovih ovojev in materničnega vratu (100, 101). Bakterije, kot so *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacteroides* spp. in *Enterobacter* spp., s pomočjo proteaz, kolagenaz in elastaz razgrajujejo plodove ovoje, kar povzroča prezgodnji predčasni razpok plodovih ovojev. Bakterijska fosfolipaza A2 in endotoksin delujeta neposredno uterotonično (103). Povišani vnetni dejavniki so bili v skladu s predhodnimi ugotovitvami dokazani v amnijski tekočini nosečnic s prezgodnjim porodom z intaktnimi plodovnimi ovoji (101).

S pomočjo tehnik naslednje generacije sekvencioniranja DNK so raziskovalci dokazali najpogostejše bakterijske skupine, ki se pojavljajo v nožnici žensk s PP. Rezultati nedavne metaanalize so pokazali različne stopnje raznolikosti mikroorganizmov v nožnicah nosečnic v prvem trimesečju v populaciji žensk, ki so rodile ob terminu, v primerjavi s tistimi, ki so rodile prezgodaj. V raziskavi je bilo ugotovljeno, da se v primeru PP raznolikost nožnice zniža v prvem trimesečju nosečnosti, medtem ko pri terminskih porodih mikrobiom nožnice ostaja stabilen. Pri tem je omenjena raziskava predpostavila spremembo nožničnega mikrobioma v prvem trimesečju za potencialni diagnostični biološki označevalec PP (104). Nedavna longitudinalna

metaanaliza vaginalnega mikrobioma in prezgodnjega poroda je obravnavala pet neodvisnih raziskav 3.201 vzorcev 415 nosečnic, ki so rodile ob terminu ali prezgodaj. Raziskava je potrdila povezanost že znanih bakterij s PP (*Dialister* spp., *Prevotella* spp., *Megasphaera* spp., *Gardnerella* spp., *Aerococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Atopobium* spp. itd.) in identificirala dve novi bakteriji *Olsenella* spp. in *Clostridium sensu stricto*, ki v literaturi še nista bili povezani s PP (105). Mikrobiom nožnice, kjer prevladuje CST IV, predvsem *Gardnerella* spp. in *Ureaplasma* spp., po nedavnih izsledkih tudi *Klebsiella pneumoniae* in bakterija, povezana z bakterijsko vaginozo (angl. *bacterial vaginosis associated bacteria 1*, BVAB1), označuje povišano tveganje za prezgodnji porod (106, 107). Visoka vsebnost *L. Crispatusa* pa je po izsledkih nekaterih raziskav pozitivni napovedni dejavnik za porod ob terminu. Po drugi strani pa je prevlada *L. inersa* ali izolacija izključno *L. inersa* od družine *Lactobacillus* spp. v nožnici dejavnik tveganja za PP pred 34. tednom (88, 108). *L. inersa* je namreč glede na nedavne ugotovitve lahko označevalec spremenjenega mikrobioma, ki je pogosto povezan z bakterijsko vaginozo in okužbo s SPO (109, 110).

Mikrobiom posteljice in plodovih ovojev

Nedavne raziskave so pokazale, da posteljica vsebuje edinstvene mikroorganizme, ki so prisotni tudi pri zdravih, terminskih nosečnostih in niso nujno povezani z neugodnimi izidi nosečnosti (10, 111–113). Ravnovesje mikrobioma mame, ploda in posteljice ter njihova medsebojna interakcija do sedaj še niso bile v celoti pojasnjene. Ker se kolonizacija z mikroorganizmi posteljice pojavlja v tudi fizioloških pogojih, se poraja vprašanje o koristni vlogi tamkajšnjih bakterij za potek nosečnosti in razvoj ploda. Aagaard in sodelavci ter Stout in sodelavci sta namreč dokazali, da so v večini posteljic ob terminu kot tudi v posteljici PP prisotne bakterije,

ne glede na način poroda (10, 113). Mikrobna sestava posteljice je bolj podobna ustnemu kot vaginalnemu mikrobiomu (88). Glede na novejšje raziskave je mikrobiom posteljice najpogosteje sestavljen iz *Proteo-bacterium* spp., *Actinobacteria*, bakterij družine *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Tenericutes* in *Fusobacterium* spp. (10, 114). Mikrobiom posteljic nosečnic, ki so rodile prezgodaj, je bolj raznovrsten, tu so bile dokazane bakterije družine *Burkholderia* spp., *Actinomycetales* in *Alphaproteobacteriae*, v plodovih ovojih prezgodaj rojenih otrok pa so skladno s predhodnimi ugotovitvami najpogosteje dokazali *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma* spp., *Aerococcaceae*, *Bifidobacteriaceae* in *Fusobacteriae* (111, 113, 114).

Horioamnionitis je vnetje plodovih ovojev, ki ga povzroča bakterijska okužba, ki lahko, kot že omenjeno, izvira iz bakterijske vaginoze (115). Intraamnijska okužba je najpogosteje povezana s polimikrobno okužbo s *S. agalactiae*, *Fusobacterium nucleatum* in *Ureaplasma parvum*, medtem ko je zmanjšana bakterijska raznolikost na plodovi strani posteljice značilna za hud horioamnionitis s kolonizacijo *Corynebacterium* spp., *E. coli*, *Peptostreptococcus magnus*, *Prevotella bivia*, *Streptococcus* spp. in genitalnimi *Mycoplasma* spp. (45, 116, 117). Vnetni odgovor na okužbo lahko povzroči klinične znake horioamnionitisa (povišana telesna temperatura, tonizirana maternica, tahikardija mame ali ploda) ali pa sproščanje prostaglandinov, zorenje materničnega vratu, razpok plodovih ovojev in prezgodnji porod. Bistvenega pomena za preprečevanje zapletov pri mami in plodu (npr. plodov sistemski vnetni odgovor, (angl. *fetal inflammatory response syndrome*, FIRS)) je čimprejšnja širokospektralna antibiotična terapija (118).

Vloga pri preeklampsiji

Z intenzivnim raziskovanjem mikrobioma ženskega reproduktivnega trakta se pojavljajo hipoteze o vpletenosti mikrobioma tudi v hipertenzivnih boleznih v nosečno-

sti. Preeklampsija je bolezen nosečnosti, katere patogenetska osnova je nenormalni razvoj posteljice, endotelna disfunkcija in neprimeren imunski odgovor na tkivo posteljice. V eni od nedavnih raziskav so v tkivu posteljice pri porodnicah s preeklampsijo dokazali bakterije ustne votline; *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* in *Treponema denticolo*, v drugi raziskavi so v amnijski tekočini pri preeklampsiji identificirali *L. iners* in bakterije rodov *Leptotrichia*, *Sneathia*, *Streptococcus* spp. in *Ureaplasma* spp. (119, 120). V tkivu posteljice žensk s preeklampsijo so bile izolirane tudi bakterije, ki so običajno povezane z gastrointestinalnimi okužbami (*Bacillus* spp., *Escherichia* spp., *Listeria* spp. in *Salmonella* spp.), okužbami dihalnih poti (*Anoxybacillus* spp. in *K. pneumoniae*) in, kot že omenjeno, peridontalnih okužb (*Dialister* spp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Variovorax* spp.) (121). Raziskovalci pri tem postavljajo več hipotez, ki potrjujejo multifaktorsko patogenezo preeklampsije, ki naj bi jo sprožilo vnetno dogajanje s sproščanjem prosvetnih citokinov in aktivacijo komplementnega sistema ter delovanja velikega bremena infekcijskih agensov, ki vodijo v sproščanje antiangiogenih dejavnikov in posledično patološko placentacijo (122).

MIKROBIOM IN GINEKOLOŠKI RAK

Mikrobiom in telo gostitelja sta v odsotnosti bolezni uravnotežena in simbiotsko povezana. Porušenje tega ravnovesja lahko povzroči spremenjeno imunsko stanje gostitelja, kar vodi k nastanku kroničnega vnetja, posledično sprememb v prehodnosti epitelijske pregrade, angiogenezi in stabilnosti genoma gostitelja, kar lahko prispeva k nastanku raka (123). Že dolgo obstaja sum, da imajo mikroorganizmi, predvsem virusi in bakterije, vlogo v karcinogenezi. *Helicobacter pylori*, edini uradno klasificiran

bakterijski karcinogen, povzročča karcinom in ektranodalni limfom limfocitov B (angl. *mucosa associated lymphogenic tissue*, MALT) želodca (124). Dokazano rakotvorni so tudi Epstein-Barr virus (EBV), humani papiloma virus (HPV) in hepatitis C virus (HCV) (125). Karcinogenezo lahko spodbuja en mikroorganizem, kot je to znano pri *H. pylori*, pri večini rakavih boleznih pa naj bi imele pri tem vlogo patološke spremembe v mikrobiomu in posledično spremenjena obrambna sposobnost gostitelja (123). Predpostavljeno je bilo, da mikroorganizmi karcinogenezo spodbujajo na štiri načine, s spodbujanjem celične proliferacije in/ali celične smrti, preko aktivacije različnih dejavnikov imunskega odziva (npr. NF- κ B preko TLRs ali povečanega proizvodjanja IL), z vplivom na presnovo v celicah gostitelja ali pa preko prispevanja k nestabilnosti in poškodbi DNK (126, 127). Po zgledu mnogih raziskav, ki so preučevale vlogo gastrointestinalnega mikrobioma v vlogi razvoja raka, se pojavlja vedno več dokazov o v mikrobiomu reproduktivnega trakta kot dejavniku karcinogeneze ginekoloških rakov.

Mikrobiom in rak materničnega vratu

Rak materničnega vratu (RMV) je malignom, ki nastane pri ženskah, okuženih z enim ali več visokorizičnimi genotipi virusa HPV, najpogosteje s HPV-16 in HPV-18. Le manjši del RMV (5,5–11 %), v večini adenokarcinomov, ni povezan s HPV (128). V zadnjem desetletju se pojavljajo dokazi o vpletenosti vaginalne mikrobiote v karcinogenezi RMV. HPV-okužba je po izsledkih raziskav pogostejša in pogostejše vztraja pri bolj raznoliki vaginalni mikrobioti, v kateri ne prevladujejo *Lactobacillus* spp. (123, 129–132). Po podatkih ene od metaanaliz je zmanjšana vsebnost *Lactobacillus* spp. in prevlada *L. iners* v nožnični mikrobioti povezana z dva- do trikrat večjim tveganjem za vztrajajočo okužbo z visokorizi-

čnimi serotipi HPV in tri- do petkrat večjim tveganjem za katero koli HPV-okužbo v primerjavi z ženskami, pri katerih v nožnici prevladuje zaščitni *L. crispatus* (133). Ženske z bakterijsko vaginozo imajo tako višje tveganje za okužbo s HPV, za vztrajajočo HPV-okužbo in napredovanje okužbe v predrakave spremembe materničnega vratu ter RMV (134). Nedavne raziskave so se trudile dokazati povezavo med displazijo materničnega vratu oziroma HPV-okužbo in specifičnimi rodovi bakterij v nožnici. Izmed bakterij, povezanih z bakterijsko vaginozo (*Gardnerella* spp., *Atopobium* spp., *Prevotella* spp., *Megasphaera* spp. itd.), je v povezavi s spremembami materničnega vratu izstopala *Snaethia* spp. Ta se je pogosteje pojavljala med mikroorganizmi v nožnicah žensk z displazijami materničnega vratu višje stopnje v primerjavi z ženskami s spremembami nižje stopnje. *Snaethia* spp. in z BV povezan povišan pH nožnice se v raziskavah omenjata kot potencialna markerja displazije materničnega vratu (129–131).

Mikrobiom in rak materničnega telesa

Rak endometrija je najpogostejši ginekološki rak. Poznamo tip I in tip II endometrijskega raka, prvi je povezan z okoljskimi dejavniki, debelostjo, vnetjem, metabolizmom estrogena, drugi je od teh dejavnikov neodvisen. Znana je predpostavka, da interakcija med črevesno mikrobioto, debelostjo in estrogenskim stanjem bolnice preko hiperplazije maternične sluznice prispeva k nastanku endometrijskega raka (135–137). Walter-Antonio in sodelavci so ugotavljali, kakšne so spremembe sestave mikroorganizmov endometrija pri bolnicah s hiperplazijo in rakom endometrija. Izolacija *Atopobium vaginae* in *Porphyromonas* spp. v kombinaciji s povišanim pH nožnice (pH nad 4,5) sta bila statistično pomembno povezana s pojavom endometrijskega raka (138). Nadaljnje raziskave so potrdile potencial

Porphyromonas spp. in visokega pH kot biomarkerja endometrijskega raka (139, 140). Walsh in sodelavci so mikrobiom spodnjega reprodukativnega trakta bolnic z endometrijskim karcinomom in brez endometrijskega karcinoma primerjali z mikrobiomom maternice obeh skupin bolnic. Rezultati so pokazali, da sta mikrobioma bolnic z rakom v primerjavi z zdravimi statistično pomembno različna. Znotraj skupine bolnic z rakom endometrija, ne pa tudi pri zdravih bolnicah, sta bila mikrobioma spodnjega in ZRT povezana, kar pomeni, da bi lahko stanje mikroorganizmov v nožnici uporabili kot približek stanja endometrijskega mikrobioma (140).

Mikrobiom in rak jajčnikov

Rak jajčnikov se ob postavitvi diagnoze pogosto pojavi že v razširjeni obliki bolezni, saj je klinična slika neznačilna in lahko asimptomatska. V nedavnih raziskavah se je pojavila domneva o povezavi bolezni z mikrobiomom ženskega reprodukativnega trakta. Kronična okužba, npr. medenična vnetna bolezen, je dokazan dejavnik tveganja za nastanek epiteljskega raka jajčnikov (141). Zhou in sodelavci so v svoji raziskavi primerjali mikrobiom karcinomskega tkiva jajčnika s preostalim zdravim tkivom bolnic z rakom jajčnikov. Pri tem so v tkivu tumorjev ugotavljali znižano raznolikost in pestrost mikroorganizmov ter pogostejše pojavljanje *Proteobacterium* spp. in bakterij rodu *Firmicutes* (142). V nekaterih drugih raziskavah, ki so iskale morebitni biološki označevalec raka jajčnikov, so se v karcinomskem tkivu najpogosteje pojavljale *Brucella* spp., *Mycoplasma* spp. in *Chlamydia* spp. (143). Rezultati raziskav, ki so preučevale okužbo s HPV in patogenezo raka jajčnika, so si nasprotujoči. Epiteljski rak jajčnikov je domnevno povezan z okužbo z visokorizičnimi tipi HPV, v eni od raziskav so genotipe HPV-18, HPV-33 in HPV-16 dokazali v 7,76–18 % bolnic z ovarijskim malignomom, pri 9,09–16 % benignih spre-

membah jajčnikov in pri le 1–1,5 % zdravih oseb (144, 145). Za opredelitev specifičnih bakterijskih označevalcev karcinoma jajčnika in vlogo mikrobioma kot možnega sinergističnega dejavnika za razvoj raka jajčnika so potrebne nadaljnje raziskave.

ANTIBIOTIČNO IN PROBIOTIČNO ZDRAVLJENJE

Raziskovanju vpliva spremenjene mikrobiote reprodukativnega trakta na reprodukativne in perinatološke izide so sledila preučevanja njenega preprečevanja in zdravljenja. Izboljšanje reprodukativnih izidov pri ženskah z nenormalno mikrobioto bi lahko dosegli z zmanjšanjem patogenih bakterij in/ali s povečanjem deleža koristnih *Lactobacillus* spp. v reprodukativnem traktu (146).

Antibiotično zdravljenje je uveljavljeno pri zdravljenju BV in preprečevanju prezgodnjega poroda (147, 148). Trenutno zdravljenje izbora za BV sta peroralni ali intravaginalni metronidazol ali intravaginalni klindamicin (50). Ker je stopnja ponovitve BV po prenehanju zdravljenja zelo visoka (do 50 % možnost ponovitve v 6–12 mesecih), je na voljo tudi profilaktično zdravljenje, običajno z metronidazolom (149). Ker je BV povezana s pomembnimi reprodukativnimi in perinatološkimi posledicami, se priporoča dosledna uporaba antibiotikov. Z antibiotičnim zdravljenjem lahko tako omejimo pojavnost preprečljivih vzrokov neplodnosti (150). Rezultati raziskav na področju postopkov ZTO pa so manj prepričljivi. Egbase in sodelavci so v prvi tovrstni raziskavi primerjali uspešnost ET v postopku ZTO ob uporabi profilaktičnega antibiotika. V tej raziskavi so pred pravo aspiracijo foliklov opravili poskusno vstavitve katetra za prenos zarodkov in konico katetra poslali na analizo mikrobioloških kultur. V času dejanske aspiracije foliklov so vsem bolnicam intravenozno aplicirali antibiotika ceftriakson in metronidazol, 48 ur po aspiraciji pa so konice katetrov ob pre-

nosu zarodkov ponovno poslali na mikrobiološke preiskave. Glede na rezultate mikrobioloških kultur konic katetrov so bolnice razporedili v tri skupine. V prvi skupini so bile ženske, kjer so bile ob obeh postopkih mikrobiološke kulture negativne, v drugi skupini so bile pozitivne kulture ob poskusnem prenosu zarodkov, kontrolna mikrobiološka kultura konice ob prenosu zarodkov po antibiotičnem zdravljenju pa je bila negativna. V tretji skupini so bile ženske, ki so imele pozitivne kulture tudi po antibiotičnem zdravljenju. Stopnja zanositve je bila v prvi in drugi skupini statistično pomembno višja kot v tretji skupini (41,3 in 38,1 proti 18,7 %) (151). Sledile so raziskave, katerih rezultati so si bili glede koristnosti antibiotičnega zdravljenja nasprotujoči (62, 66, 152). V nedavnem sistematičnem preglednem članku antibiotično zdravljenje pred prenosom zarodkom ni pokazalo vpliva na uspeh ZTO, prav tako raziskave še niso pokazale dokazov o pozitivnem vplivu antibiotičnega zdravljenja na izid same nosečnosti (153, 154). Nekoliko več dokazov je o vplivu antibiotičnega zdravljenja v zdravljenju žensk s ponavljajočimi se neuspešnimi ugnezditevami in kroničnim endometritisom. Že omenjeni Kitaya in sodelavci na področju kroničnega endometritisa je sledil sistematični pregled in metaanaliza Vitaglian in sodelavcev, ki je pokazala višjo stopnjo zanositve, višjo stopnjo potekajoče nosečnosti in živorojenosti ter višjo stopnjo ugnezditev pri ženskah s histološko potrjenim antibiotično ozdravljenim kroničnim endometritisom (67, 155). Antibiotično zdravljenje bi torej lahko imelo mesto v postopku ZTO pred prenosom zarodkov pri bolnicah z RIF, katerega vzrok je najverjetneje kronični endometritis. Snovalci omenjene raziskave predlagajo, da se pri tovrstnih bolnicah pred nadaljevanjem postopkov OBMP vedno opravi kontrolna biopsija endometrija.

Antibiotično zdravljenje kaže obetajoče rezultate v zdravljenju endometrioze.

V nedavni raziskavi na poskusnih miših, ki so bile zdravljene s širokospektralnimi antibiotiki (vankomicinom, neomicinom, metronidazolom in ampicilinom), so se po zdravljenju endometriotične lezije zmanjšale na petkrat manjšo velikost kot pred zdravljenjem. V tej raziskavi so merili tudi parametre vnetja (v endometričnih lezijah makrofagni označevalec Iba1, v peritonealni tekočini pa IL-1 α , TNF β , IL-6 in TGF), ki so se izrazito zmanjšali pri miših po opravljenem antibiotičnem zdravljenju. Z zmanjšanjem ektopičnih lezij pri poskusnih miših se je za učinkovito monoterapijo je izkazal metronidazol (156).

Ob predpostavki, da je prevlada *Lactobacillus* spp. v sluznici reproduktivnega trakta pozitiven pokazatelj zdravja, se v raziskovanju in klinični praksi povečuje uporaba probiotikov, ki vsebujejo različne seve koristnih *Lactobacillus* spp. Ti preprečujejo razrast patogenih bakterij, v sluznici gastrointestinalnega trakta pa se je izkazalo, da tudi uravnavajo imunski sistem (157). Njihova učinkovitost in dejanski vpliv na reproduktivne izide sta glede na dosedanja dogajanja še nejasna (158). Najpogosteje se uporabljajo sevi *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. plantarum*. In vitro raziskave so pokazale, da *L. rhamnosus* Lcr 35 pospešuje metabolizem glikogena in s tvorbo mlečne kisline zavira rast *G. vaginalis* in *Candida albicans*. Pritrja se na epitelne celice nožnice in materničnega vratu in tako zavira delovanje bakterij, ki so povezane z BV (159). Peroralno jemanje *L. rhamnosus* in *L. reuteri* se je izkazalo za uspešno pri povečanju števila *Lactobacillus* spp. v sluznici nožnice pri kar 82 % žensk s predhodno BV (160). V raziskavi Macklaim in sodelavcev, kjer so uporabljali tehnologijo 16S rRNA sekvencioniranja, so s kombinacijo enkratne doze antimikotika tinidazola in 28 dnevi probiotičnega zdravljenja (*L. reuteri* in *L. rhamnosus*) dokazali povečano rast zaščitnih *Lactobacillus* spp. v sluznici nožnice (161). V uporabi so tudi metaboliti probiotikov,

imenovani prebiotiki; npr. inulin in glikogen, ki podpirajo presnovo probiotikov in se jih lahko dodaja probiotičnim zdravilom. Dokazov o njihovi koristnosti v področju ginekologije in kliničnih raziskav do sedaj še ni (157, 158). Pri uravnavanju reproduktivne mikrobiote bi tako po dosedanjih spoznanjih lahko uporabljali dvostopenjsko zdravljenje. Po opravljenem antibiotičnem zdravljenju bi uporaba probiotikov omogočala ponovno kolonizacijo koristnih *Lactobacillus* spp. po uničenju patogenih bakterij. Pri postopkih OBMP bi bila morda uporabna predkonceptijska priprava sluznic z *Lactobacillus* spp., za kar pa so potrebne še nadaljnje raziskave.

Sodobne raziskave ugotavljajo tudi korist antibiotičnega in probiotičnega zdravljenja v preprečevanju ali zdravljenju malignih obolenj. Pojavljajo se dokazi raziskav o pozitivnem učinku zdravljenja bakterijske vaginoze in uporabe *Lactobacillus* spp. in na prebolevnost HPV-okužbe (162). Po nekaterih podatkih naj bi imeli *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. crispatus* in *L. jensenii* vlogo v regulaciji HPV-onkogeneze in po navedbah nekaterih raziskav celo inhibični citotoksični učinek na karcinomske celice (163, 164).

Učinkovitost monoterapije probiotikov v vaginalni sluznici in drugih delih reprodukativnega trakta še ni dokazana. Tudi antibiotično zdravljenje, ki je sicer pokazalo obetajoče rezultate v nekaterih raziskavah, ima svoje omejitve. Treba je presoditi, ali je uporaba antibiotika v teh primerih upravičena glede na razvijajočo se odpornost mikroorganizmov na pogosto uporabljene antibiotike. Ti delujejo pri uničenju patogenih bakterij manj selektivno in s svojim delovanjem uničijo tudi za sluznico zaščitne *Lactobacillus* spp.

ZAKLJUČEK

Raziskovanje mikrobioma ženskega reprodukativnega trakta v sklopu perinatologije in obravnave neplodnosti je kljub mnogim

že opravljenim raziskavam izredno perspektivno. Namen raziskovanj mikrobioma je določitev optimalne mikrobne sestave reprodukativnega trakta, s tem pa odkriti napovedne dejavnike ugodnih in neugodnih reprodukativnih izidov. Treba je upoštevati dinamiko mikrobiote, ki jo preučujemo, na katero vpliva npr. faza mensturacijskega cikla, fiziološke spremembe v nosečnosti ali izbira protokola v postopku OBMP. Glede na zgoraj predstavljene ugotovitve, je izolacija patogenih bakterij in odstopanje mikrobioma od prevladujočih *Lactobacillus* spp. povezana s perinatološkimi zapleti in slabšim izidom postopkov oploditve z biomedicinsko pomočjo. Preučevanje mikrobioma reprodukativnega trakta ima morebitno mesto v diagnostiki in zdravljenju neplodnosti pri bolnicah z nepojasnjenim vzrokom neplodnosti in s ponavljajočo se neuspelo ugnezditevijo v ZTO, kjer je mikrobiota pogosteje patološka kot med ženskami, ki niso bile udeležene v postopku ZTO. Večjo dostopnost tovrstnega preučevanja omogoča dejstvo, da je pridobivanje vzorcev iz znotrajmaterničnega prostora enako zanesljivo z uporabo manj invazivnega transcervikalnega pristopa kot uporaba invazivnejših tehnik. Mikrobiom maternega reprodukativnega trakta, posteljice in plodovih ovojev ima vlogo v vzdrževanju optimalnega okolja za zanositev, ohranjanje nosečnosti, razvoj ploda in kasneje novorojenčka. V nosečnosti prevlada *Lactobacillus* spp. omogoča stabilno mikrookolje, ki varuje pred okužbo reprodukativnega trakta. Disbioza je glede na navedene raziskave eden od sinergističnih dejavnikov razvoja in napredovanja malignih bolezni ter tako dejavnik tveganja za dolgotrajno HPV-okužbo, raka materničnega vratu in raka endometrija. Spremembe mikrobioma reprodukativnega trakta in dokaz specifičnih bakterij v predelu obolelega tkiva kažejo potencial kot morebitni mikrobni označevalec malignih ginekoloških obolenj. Za umestitev protimikrobnih učinkovin in probiotikov v pro-

tokol zdravljenja neplodnosti in preventivi in rakavih sprememb so potrebne nadaljnje ter zdravljenja ginekoloških predrakavih analize in prospektivne raziskave.

LITERATURA

1. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. 2015; 3 (31).
2. Koedooder R, Mackens S, Budding A, et al. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Human Reproduction Update*. 2018; 25 (3): 298–325.
3. Huttenhower C, Gevers D, Knight R, et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486 (7402): 207–14.
4. Turnbaugh P, Ley R, Hamady M, et al. The Human Microbiome Project. *Nature*. 2007; 449 (7164): 804–10.
5. Ward D, Weller R, Bateson M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*. 1990; 345 (6270): 63–5.
6. Franasiak JM, Scott, RT. Endometrial microbiome. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017; 29 (3): 146–52.
7. Franasiak JM, Scott RT. Introduction: Microbiome in human reproduction. *Fertil Steril*. 2015; 104 (6): 1341–3.
8. Edgar RC. Updating the 97% identity threshold for 16S ribosomal RNA OTUs. *Bioinformatics*. 2018; 34 (14): 2371–5.
9. Chen C, Song X, Wei W, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun*. 2018; 8 (1): 875.
10. Aagaard K, Ma J, Antony K, et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014; 6 (237): 237ra65.
11. Pelzer ES, Allan JA, Waterhouse MA, et al. Microorganisms within human follicular fluid: effects on IVF. *PLoS One*. 2013; 8 (3): e59062.
12. Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ*. 2016; 4: e1602.
13. Ling XZ, Kong MJ, Liu F, et al. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis. *BMC Genomics*. 2010; 11 (1): 488.
14. Witkin SS, Mendes-Soares H, Linhares IM, et al. Influence of vaginal bacteria and D- and L-lactic acid. *mBio*. 2013; 4 (4): e00460-13.
15. Aroutcheva A, Gariti D, Simon M, et al. Defense factors of vaginal lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol*. 2001; 185 (2): 375–9.
16. Gaspar C, Donders GG, Palmeira-De-Oliveira R, et al. Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. *AMB Express*. 2018; 8 (1): 153.
17. Van de Wijgert J, Borgdorff H, Verhelst R, et al. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? *PLoS One*. 2014; 9 (8): e105998.
18. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 108 (Suppl 1): 4680–7.
19. DiGiulio D, Callahan B, McMurdie P, et al. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015; 112 (35): 11060–5.
20. Amabebe E, Anumba D. The Vaginal Microenvironment: The physiologic role of Lactobacilli. *Front Med (Lausanne)*. 2018; 5: 181.
21. Huang B. The changing landscape of the vaginal microbiome. *Clin Lab Med*. 2014; 34 (4): 747–61.

22. Cribby S, Taylor M, Reid G. Vaginal microbiota and the use of probiotics. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2008; 2008: 256490.
23. Gajer P, Brotman RM, Bai G, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med*. 2012; 4 (132): 132ra52.
24. Fettweis JM, Serrano MG, Girerd PH, et al. A new era of the vaginal microbiome: advances using next-generation sequencing. *Chem Biodivers*. 2012; 9 (5): 965–76.
25. Heinemann C, Reid G. Vaginal microbial diversity among postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Can J Microbiol*. 2005; 51 (9): 777–81.
26. Moreno I, Simon C. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. *Fertil Steril*. 2018; 110 (3): 337–43.
27. Franasiak JM, Werner MD, Juneau CR, et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2015; 33 (1): 129–36
28. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*. 2016; 215 (6): 684–703.
29. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2015; 212 (5): 611.E1–E9.
30. Zervomanolakis I, Ott H, Hadziomerovic D, et al. Physiology of upward transport in the human female genital tract. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1101 (1): 1–20.
31. Kunz G, Beil D, Deiniger H, et al. The uterine peristaltic pump – normal and impeded sperm transport within the female genital tract. *Adv Exp Med Biol*. 1997; 424: 267–77.
32. Kunz G, Leyendecker G. Uterine peristaltic activity during the menstrual cycle: Characterization, regulation, function and dysfunction. *Reprod Biomed Online*. 2002; 4 (1): 5–9.
33. Fardini Y, Chung P, Dumm R, et al. Transmission of diverse oral bacteria to murine placenta: Evidence for the oral microbiome as a potential source of intrauterine infection. *Infect and Immun*. 2010; 78 (4): 1789–96.
34. Donnet-Hughes A, Perez PF, Dore J, et al. Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *Proc Nutr Soc*. 2010; 69 (3): 407–15.
35. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Frontiers in Immunology*. 2018; 9: 208.
36. Kyono K, Hashimoto T, Kikuchi S, et al. A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium. *Reprod Med Biol*. 2018; 18 (1): 72–82.
37. Kyono K, Hashimoto T, Nagai Y, et al. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod Med Biol*. 2018; 17 (3): 297–306.
38. Altmäe S. Uterine Microbiota: A Role Beyond Infection. *EMJ Reprod. Heal*. 2018; 6: 70–5.
39. Altmäe, S. Commentary: Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Front Immun*. 2018; 9: 1874.
40. Molina N, Sola-Leyva A, Saez-Lara M, et al. New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: present or future? *Biomolecules*. 2018; 10 (4): 593.
41. Hein M, Valore EV, Helmig RB, et al. Antimicrobial factors in the cervical mucus plug. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002; 187 (1): 137–144.
42. Hein M, Petersen AC, Helmig RB, et al. Immunoglobulin levels and phagocytes in the cervical mucus plug at term of pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005; 84 (8): 734–42.
43. Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, et al. *Escherichia coli* contamination of menstrual blood and effect of bacterial endotoxin on endometriosis. *Fertil Steril*. 2010; 94 (7): 2860–3.E3.
44. Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016; 199: 69–75.
45. Moreno I, Franasiak J. Endometrial microbiota—new player in town. *Fertil Steril*. 2017; 108 (1): 32–9.
46. Hyman RW, Herndon CN, Jiang H, et al. The dynamics of the vaginal microbiome during infertility therapy with in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*. 2012; 29 (2): 105–15.
47. Flores R, Shi J, Fuhrman B, et al. Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: A cross-sectional study. *J Trans Med*. 2012; 10 (1): 253.
48. Cottell E, McMorow J, Lennon B, et al. Microbial contamination in an in vitro fertilization-embryo transfer system. *Fertil Steril*. 1996; 66: 776–80.
49. 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; 107: 813–20.E1.

50. Workowski K, Bolan G. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *Ann Emerg Med.* 2015; 66 (5): 526–8.
51. Sirota I, Zarek S, Segars J. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology. *Semin Reprod Med.* 2014; 32 (1): 35–42.
52. Swidsinski A, Verstraelen H, Loening-Baucke V, et al. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. *PLoS One.* 2013; 8 (1): e53997.
53. Onderdonk A, Delaney M, Fichorova R. The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29 (2): 223–38.
54. Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. *N Engl J Med.* 1995; 333 (26): 1737–42.
55. Onderdonk A, Delaney M, Fichorova R. The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29 (2): 223–38.
56. Goldenberg RL, Iams JD, Mercer BM, et al. The preterm prediction study: The value of new vs standard risk factors in predicting early and all spontaneous preterm births. *Am J Public Health* 1998; 88 (2): 233–8.
57. Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, et al. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161 (3): 817–24.
58. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med* 2019; 25 (6): 1012–21.
59. Tsevat D, Wiesenfeld H, Parks C, et al. Sexually transmitted diseases and infertility. *Am J Obstet Gynecol.* 2017; 216 (1): 1–9.
60. Oostrum NV, Sutter PD, Meys J, et al. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2013; 28 (7): 1809–15.
61. Selman H, Mariani M, Barnocchi N, et al. Examination of bacterial contamination at the time of embryo transfer, and its impact on the IVF/pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet.* 2007; 24 (9): 395–9.
62. Salim R, Ben-Shlomo I, Colodner R, et al. Bacterial colonization of the uterine cervix and success rate in assisted reproduction: Results of a prospective survey. *Hum Reprod.* 2002; 17 (2): 337–40.
63. Opinion - Endometrial Receptivity [Internet]. *Middle East Fertil Soc J.* 2004 [citirano 2020 Jul 28]; 9 (1): 10–24. Dostopno na: <http://www.bioline.org.br/pdf?mf04003>
64. Egbase PE, Al-Sharhan M, Al-Othman S, et al. Fertilization and early embryology: Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod.* 1996; 11 (8): 1687–9.
65. Witkin SS, Kligman I, Grifo JA, et al. Chlamydia trachomatis detected by polymerase chain reaction in cervices of culture-negative women correlates with adverse in vitro fertilization outcome. *J Infect Dis.* 1995; 171 (6): 1657–9.
66. Moore DE, Soules MR, Klein NA, et al. Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2000; 74: 1118–24.
67. Kitaya K, Nagai Y, Arai W, et al. Characterization of microbiota in endometrial fluid and vaginal secretions in infertile women with repeated implantation failure. *Mediators Inflamm.* 2019; 2019: 4893437.
68. Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F, et al. Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. *Fertil. Steril.* 1998; 70 (5): 866–70.
69. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril.* 2008; 89 (3): 677–84.
70. Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, et al. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology. *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 218 (6): 602.E1–E16.
71. Kitaya K, Matsubayashi H, Yamaguchi K, et al. Chronic endometritis: Potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications. *Am J Reprod Immunol.* 2015; 75 (1): 13–22.
72. Liu Y, Ko EY-L, Wong KK-W, et al. Endometrial microbiota in infertile women with and without chronic endometritis as diagnosed using a quantitative and reference range-based method. *Fertil Steril.* 2019; 112 (4): 707–17.E1.
73. Farooki MA. Epidemiology and pathology of chronic endometritis. *Int Surg* 1967; 48 (6): 566–73.
74. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod* 2015; 30 (2): 323–30.

75. Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y, et al. Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure. *Am J Reprod Immunol.* 2017; 78 (5): e12719.
76. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1997; 24 (2): 235–58.
77. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012; 98 (3): 511–9.
78. Khan KN, Fujishita A, Hiraki K, et al. Bacterial contamination hypothesis: A new concept in endometriosis. *Reprod Med Biol.* 2018; 17 (2): 125–33.
79. Rosadini CV, Kagan JC. Early innate immune responses to bacterial LPS. *Curr Opin Immunol.* 2017; 44: 14–9.
80. Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, et al. The association between endometriosis and chronic endometritis. *PLoS One.* 2014; 9 (2): e88354.
81. Leonardi M, Hicks C, El-Assaad F, et al. Endometriosis and the microbiome: A systematic review. *BJOG.* 2019; 127 (2): 239–49.
82. Laschke MW, Menger MD. The gut microbiota: a puppet master in the pathogenesis of endometriosis? *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 215 (1): 68.e1–4.
83. Medina-Estrada I, Alva-Murillo N, López-Meza JE, et al. Immunomodulatory effects of 17 β -estradiol on epithelial cells during bacterial infections. *J Immunol Res.* 2018; 2018: 6098961.
84. May KE, et al. Peripheral biomarkers of endometriosis: A systematic review. *Hum Reprod Update.* 2010; 16 (6): 651–74.
85. Bardos J, Fiorentino D, Longman RE, et al. Immunological role of the maternal uterine microbiome in pregnancy: pregnancies pathologies and altered microbiota. *Front Immunol.* 2010; 10: 2823.
86. Romero R, Hassan SS, Gajer P, 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.
87. Romero R, Gomez R, Chaiworapongsa T, et al. The role of infection in preterm labour and delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2001; 15 (Suppl 2): 41–56.
88. Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, et al. Characterisation of the vaginal Lactobacillus microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep.* 2014; 4: 5136.
89. Juliana NCA, Suiters MJM, Al-Nasiry S, et al. The association between vaginal microbiota dysbiosis, bacterial vaginosis, and aerobic vaginitis, and adverse pregnancy outcomes of women living in sub-saharan Africa: a systematic review. *Front Public Health.* 2010; 8: 567885.
90. 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.
91. Peelen MJ, Luef BM, Lamont RF, 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.
92. Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, et al. Maternal microbiome – A pathway to preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016; 21 (2): 94–9.
93. Witkin SS. The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth. *BJOG.* 2015; 122 (2): 213–8.
94. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science.* 2014; 345 (6198): 760–5.
95. Hočevar K, Maver A, Vidmar Šimic M, et al. Vaginal microbiome signature is associated with spontaneous preterm delivery. *Front Med (Lausanne).* 2019; 6: 201.
96. Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, et al. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis-associated pregnancy complications. *Ann Periodontol.* 1998; 3 (1): 233–50.
97. Xiong X, Buekens P, Fraser WD, et al. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. *BJOG.* 2006; 113 (2): 135–43.
98. Han YW, Redline RW, et al. Fusobacterium nucleatum induces premature and term stillbirths in pregnant mice: Implication of oral bacteria in preterm birth. *Infection Immun.* 2004; 72 (4): 2272–9.
99. Lyon D, Cheng CY, Howland L, et al. Integrated review of cytokines in maternal, cord, and newborn blood. Part I. Associations with preterm birth. *Biol Res Nurs.* 2010; 11 (4): 371–6.
100. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor- α in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 187 (5): 1159–62.
101. Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL, et al. Amniotic fluid interleukin-6: Correlation with upper genital tract microbial colonization and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus induced delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1995; 173 (2): 606–12.
102. Challis J, Lye S, Gibb W, et al. Understanding preterm labor. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 943 (1): 225–34.

103. Oner C, Schatz F, Kizilay G, et al. Progesterin-inflammatory cytokine interactions affect matrix metalloproteinase-1 and -3 expression in term decidua cells: implications for treatment of chorioamnionitis-induced preterm delivery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93 (1): 252–9.
104. Haque MM, Merchant M, Kumar PN, et al. First-trimester vaginal microbiome diversity: A potential indicator of preterm delivery risk. *Sci Rep.* 2017; 7 (1): 16145.
105. Kosti I, Lyalina S, Pollard KS, et al. Meta-Analysis of vaginal microbiome data provides new insights into preterm birth. *Front Microbiol.* 2020; 11: 476.
106. Serrano MG, Parikh HI, Brooks JP, et al. Racioethnic diversity in the dynamics of the vaginal microbiome during pregnancy. *Nat Med.* 2019; 25: 1001–11.
107. Son KA, Kim M, Kim YM, et al. Prevalence of vaginal microorganisms among pregnant women according to trimester and association with preterm birth. *Obstet Gynecol Sci.* 2018; 61 (1): 38–47.
108. Kindinger LM, Bennett PR, Lee YS, et al. The interaction between vaginal microbiota, cervical length, and vaginal progesterone treatment for preterm birth risk. *Microbiome.* 2017; 5 (1): 6.
109. Jakobsson T, Forsum U. *Lactobacillus iners*: A marker of changes in the vaginal flora? *Journal of Clinical Microbiology.* 2007; 45 (9): 3145.
110. Petrova MI, Reid G, Vanechoutte M, et al. *Lactobacillus iners*: Friend or foe? *Trends Microbiol.* 2017; 25 (3): 182–91.
111. Prince AL, Antony KM, Chu DM, et al. The microbiome, parturition, and timing of birth: More questions than answers. *J Reprod Immunol.* 2014; 104–105: 12–9.
112. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, et al. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1992; 166 (5): 1515e28.
113. Stout MJ, Zhou Y, Wylie KM, et al. Early pregnancy vaginal microbiome trends and preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2017; 217 (3): 356.e1–e18.
114. Staude B, Oehmke F, Lauer T, et al. The microbiome and preterm birth: A change in paradigm with profound implications for pathophysiologic concepts and novel therapeutic strategies. *Biomed Res Int.* 2018; 2018: 7218187.
115. Silver HM, Sperling RS, St Clair PJ, et al. Evidence relating bacterial vaginosis to intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161 (3): 808–12.
116. DiGiulio DB, Gervasi MT, Romero R, et al. Microbial invasion of the amniotic cavity in pregnancies with small-for-gestational-age fetuses. *J Perinat Med.* 2010; 38 (5): 495–502.
117. Hecht JL, Onderdonk A, Delaney M, et al. Characterization of chorioamnionitis in 2nd-trimester C-section placentas and correlation with microorganism recovery from subamniotic tissues. *Pediatr Dev Pathol.* 2008; 11 (1): 15–22.
118. Tita ATN, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol.* 2010; 37 (2): 339–54.
119. Barak S, Oettinger-Barak O, Machtei EE, et al. Evidence of periopathogenic microorganisms in placentas of women with preeclampsia. *J Periodontol.* 2007; 78 (4): 670–6.
120. DiGiulio DB, Gervasi M, Romero R, et al. Microbial invasion of the amniotic cavity in preeclampsia as assessed by cultivation and sequence-based methods. *J Perinat Med.* 2010; 38 (5): 503–13.
121. Amarasekara R, Jayasekara RW, Senanayake H, et al. Microbiome of the placenta in pre-eclampsia supports the role of bacteria in the multifactorial cause of pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015; 41 (5): 662–9.
122. Beckers KF, Sones JL. Maternal microbiome and the hypertensive disorder of pregnancy, preeclampsia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2019; 318 (1): H1–H10.
123. Łaniewski P, İlhan ZE, Herbst-Kralovetz MM. The microbiome and gynaecological cancer development, prevention and therapy. *Nat Rev Urol.* 2020; 17 (4): 232–50.
124. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7–14 June 1994. *IARC Monogr. Eval Carcinog Risks Hum.* 1994; 61: 1–241.
125. Akram N, Imran M, Noreen M, et al. Oncogenic role of tumor viruses in humans. *Viral Immunol.* 2017; 30 (1): 20–7.
126. Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science.* 2015; 348 (6230): 80–6.
127. Alizadehmohajer N, Shojaeifar S, Nedaenia R, et al. Association between the microbiota and women's cancers – Cause or consequences? *Biomed Pharmacother.* 2020; 127: 110203.
128. Xing B, Guo J, Sheng Y, et al. Human Papillomavirus-negative cervical cancer: A comprehensive review. *Front Oncol.* 2021; 10: 606335.
129. Łaniewski P, Barnes D, Goulder A, et al. Linking cervicovaginal immune signatures, HPV and microbiota composition in cervical carcinogenesis in non-Hispanic and Hispanic women. *Sci Rep.* 2019; 8 (1): 7593.

130. Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS, et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep.* 2015; 5: 16865.
131. Audirac-Chalifour A, Torres-Poveda K, Bahena-Roman K, et al. Cervical microbiome and cytokine profile at various stages of cervical cancer: a pilot study. *PLoS One.* 2016; 11 (4): e0153274.
132. Ilhan ZE, Laniewski P, Thomas N, et al. Deciphering the complex interplay between microbiota, HPV, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling. *EBioMedicine.* 2019; 44, 675–90.
133. Norenth J, Du J, Olovsson M, et al. The vaginal microbiota, HPV and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG.* 2020; 127 (2): 171–80.
134. Brusselselaers N, Shrestha S, Van De Wijgert J, et al. Vaginal dysbiosis, and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 221 (1): 9–18.e8.
135. Baker JM, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz MM. Estrogen-gut microbiome axis: Physiological and clinical implications. *Maturitas.* 2017; 103: 45–53.
136. Chase D, Goulder A, Zenhausern F, et al. The vaginal and gastrointestinal microbiomes in gynecologic cancers: a review of applications in etiology, symptoms and treatment. *Gynecol Oncol.* 2015; 138 (1): 190–200.
137. Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11 (12): 1531–43.
138. Walther-Antonio MR, Chen J, Multinu F, et al. Potential contribution of the uterine microbiome in the development of endometrial cancer. *Genome Med.* 2016; 8 (1): 122.
139. Hokenstad A, Mariani A, Walther-Antonio M. Vaginal detection of *Porphyromonas somerae* is indicative of endometrial cancer diagnosis. *Gynecol Oncol.* 2017; 145 Suppl 1: 76.
140. Walsh DM, Hokenstad AN, Chen J, et al. Postmenopause as a key factor in the composition of the Endometrial Cancer Microbiome (ECbiome). *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 19213.
141. Zhou Z, Zeng F, Yuan J, et al. Pelvic inflammatory disease and the risk of ovarian cancer: a meta-analysis. *Cancer Causes Control.* 2017; 28 (5): 415–28.
142. Zhou B, Sun C, Huang J, et al. The biodiversity composition of microbiome in ovarian carcinoma patients. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 1691.
143. Banerjee S, Tian T, Wei Z, et al. The ovarian cancer oncobiome. *Oncotarget.* 2017; 8 (22): 36225–45.
144. Zhang PP, Zhou L, Cao JS, et al. Possible epithelial ovarian cancer association with HPV18 or HPV33 infection. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 17: 2959–64.
145. Hassan ZK, Hafez MM, Kamel MM, et al. Human papillomavirus genotypes and methylation of *CADM1*, *PAX1*, *MAL* and *ADCYAP1* genes in epithelial ovarian cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 17 (6): 2959–64.
146. Moreno I, Simon C. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reprod Med Biol.* 2018; 18 (1): 40–50.
147. Kroon B, Hart RJ, Wong BM, et al. Antibiotics prior to embryo transfer in ART. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2012; (3): CD008995.
148. Anahtar MN, Gootenberg DB, Mitchell CM, et al. Cervicovaginal microbiota and reproductive health: The virtue of simplicity. *Cell Host Microbe.* 2018; 23 (2): 159–168.
149. Sobel JD, Ferris D, Schwebke J, et al. Suppressive antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis. *Am J Obstet. Gynecol.* 2006; 194 (5): 1283–9.
150. Balkus JE, Manhart LE, Lee J, et al. Periodic presumptive treatment for vaginal infections may reduce the incidence of sexually transmitted bacterial infections. *J. Infect. Dis.* 2016; 213 (12): 1932–7.
151. Egbase P, Udo EE, Al-Sharhan M, et al. Prophylactic antibiotics and endocervical microbial inoculation of the endometrium at embryo transfer. *Lancet.* 1999; 354 (9179): 651–2.
152. Brook N, Khalaf Y, Coomarasamy A, et al. A randomized controlled trial of prophylactic antibiotics (co-amoxiclav) prior to embryo transfer. *Hum Reprod.* 2006; 21 (11): 2911–5.
153. Kroon B, Hart RJ, Wong BM, et al. Antibiotics prior to embryo transfer in ART. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2012; (3): CD008995.
154. Kroon SJ, Ravel J, Huston WM. Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes. *Fertil Steril.* 2018; 110 (3): 327–36.
155. Vitagliano A, Saccardi C, Noventa M, et al. Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2018; 110 (1): 103–12.e1.
156. Chadchan S, Cheng M, Pernell L, 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.

157. Bodera P, Chcialowski A. Immunomodulatory effect of probiotic bacteria. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2009; 3 (1): 58–64.
158. Mendling W. Vaginal microbiota. *Adv Exp Med Biol.* 2016; 902: 83–93.
159. Coudeyras S, et al. Adhesion of human probiotic lactobacillus rhamnosus to cervical and vaginal cells and interaction with vaginosis-associated pathogens. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2008; 2008: 549640.
160. Reid G, Bruce AW, Frase N, et al. Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2001; 30 (1): 49–52.
161. Macklaim JM, Clemente JC, Knight R, et al. Changes in vaginal microbiota following antimicrobial and probiotic therapy. *Microb Ecol Health Dis.* 2015; 26: 27799.
162. Curty G, de Carvalho PS, Soares MA. The role of the cervicovaginal microbiome on the genesis and as a biomarker of premalignant cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer. *Int J Mol Sci.* 2019; 21 (1): 222.
163. Wang KD, Xu DJ, Wang BY, et al. Inhibitory effect of vaginal Lactobacillus supernatants on cervical cancer cells. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2018; 10 (2): 236–42.
164. Motevaseli E, Shirzad M, Akrami SM, et al. Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate. *J Med Microbiol.* 2013; 62 (Pt 7): 1065–72.

Prispelo 28. 7. 2020