

Modulacija mikrobioma za poboljšanje ishoda IVF-a: mehanizmi, intervencije i kliničke implikacije

Doc. dr. sc. Ulla Marton, prim. dr. med., spec. ginekologije i porodništva

Cijeli niz provedenih studija ukazuje na važnost mikrobioma u reproduktivnom zdravlju i liječenju neplodnosti. Sastav i stabilnost vaginalnog, endometrijskog i crijevnog mikrobioma utječu na reproduktivne ishode moduliranjem lokalnih imunoloških odgovora, hormonske ravnoteže i receptivnosti endometrija. U žena koje prolaze postupak medicinski asistiranu oplodnje in vitro (IVF), disbioza osobito smanjena dominacija roda *Lactobacillus* dovodi se u korelaciju s nižom stopom implantacije i trudnoće. Uvođenje procjene i modulacije mikrobioma pomoću probiotika i odgovarajuće suplementacije kao i provođenje ciljane antibiotske terapiju uz istodobno probiotsku suplemetaciju i/ili provođenje novih terapija kao što su transplantacije bio vaginalne ili fekalne mikrobiote kroz protokole medicinski asistiranu reprodukciju (MAR – IVF) moglo bi poboljšati uspjeh implantacije, smanjiti upalu i povećati učestalost rađanja terimnske živorođene djece. Uspjeh MAR postupka (IVF-a) ovisi o brojnim biološkim i okolišnim čimbenicima, uključujući kvalitetu embrija, receptivnost maternice/endometrija i o cjelovitom zdravlju žene. U novije vrijeme uloga ljudskog mikrobioma i njihovih genoma koji nastanjuju ljudsko tijelo prepoznata je kao važan čimbenik reproduktivnog potencijala. Danas temeljem provedenih istraživanja znamo da ženski reproduktivni trakt nije sterilan; on sadrži dinamične mikrobne zajednice koje utječu na plodnost i ranu trudnoću. Istraživanja ukazuju da se na temelju ocjene sastava vaginalnog i endometrijskog mikrobioma može predvidjeti uspjeh provednog postupka MAR-a. Crijevni mikrobiom posredno regulira steroidogenezu spolnih hormona putem estroboloma, utječući na metabolizam estrogena, upalne procese i funkciju endometrija. Zbog toga modulacija mikrobioma postaje obećavajuća dopunska tehnika za poboljšanje ishoda postupaka MAR –a.

Uspjeh ostvarivanja trudnoće temelji se na uspješna implantacija embrija rezultat je složenih molekularnih i staničnih interakcija između embrionalnog trofoblasta i maternalnog endometrija. Ovaj „crosstalk“ osigurava precizno usklađenu komunikaciju koja vodi do imunološke tolerancije, angiogeneze i morfogeneze posteljice. Na mjestu implantacije, decidualne imunološke stanice, prvenstveno uNK (uterine natural killer) aktiviraju se pod utjecajem signalnih molekula embrija. One imaju ključnu ulogu u stvaranju imunološki tolerantnog mikrookruženja koje omogućuje prihvaćanje semi-alogenog fetusa. Umjesto citotoksične aktivnosti, uNK stanice pokazuju regulatorni fenotip koji potiče angiogenezu, trofoblastnu invaziju i remodeliranje spiralnih arterija. U ranoj trudnoći, uNK stanice čine do 70% leukocita decidue koji su glavni izvor angiogenih čimbenika poput vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, placental growth factor (PlGF) i angiopoetina, koji reguliraju novonastalu vaskularnu mrežu potrebnu za implantaciju i razvoj posteljice. Nadalje, uNK stanice eksprimiraju receptore za HLA-G, HLA-C i HLA-E molekule trofoblasta, čime doprinose maternalno-fetalnoj imunološkoj ravnoteži. Rani implantacijski proces odvija se u fiziološki hipoksičnim uvjetima, što potiče ekspresiju hipoksijom inducibilnog faktora 1-alfa (HIF-1α) ključnog transkripcijskog regulatora angiogeneze. Aktivacija HIF-1α stimulira sintezu VEGF-a i time omogućuje stvaranje novih krvnih žila te opskrbu rastućeg embrija i trofoblasta. Optimalna regulacija ovog puta nužna je za uspostavu adekvatne placencije i vaskularne homeostaze endometrija. Deregulacija navedenih mehanizama povezana je s nepovoljnim reproduktivnim ishodima, uključujući rekurentni implantacijski neuspjeh (RIF). U pacijentica s RIF-om često se bilježi:

- smanjena ekspresija HIF-1α i posljedično smanjena angiogeneza,
- smanjen broj uNK stanica ili promjena njihova fenotipa prema citotoksičnim CD16⁺ uNK stanicama,
- poremećena sekrecija VEGF-a i drugih proangiogenih faktora.

Takve promjene mogu rezultirati nedostatnom vaskularizacijom endometrija, ograničenom trofoblastnom invazijom te neuspjehom implantacijom. Pretpostavlja se da abnormalna interakcija između trofoblasta i uNK stanica mijenja signalne putove angiogeneze i imunološke tolerancije, što može biti ključni patofiziološki mehanizam RIF-a (1-3).

Reproduktivni mikrobiom: vaginalni, endometrijski i crijevni ekosustavi

Zdrav vaginalni mikrobiom dominiran je vrstama roda *Lactobacillus*, koje održavaju nizak pH i proizvode antimikrobne tvari poput mliječne kiseline, vodikovog peroksida i nušikovog oksida, bakteriocina. Vaginalna disbioza, obilježena smanjenom prisutnošću *Lactobacillus* i porastom bakterija poput *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* ili anaeroba, povezana je s neplodnošću i neuspjehom implantacije. Endometrij, koji se donedavno smatrao sterilnim, sadrži jedinstvenu mikrobiotu čiji *Lactobacillus*-dominantni profil s naglašenijom divergencijom povećava šanse za implantaciju i trudnoću. Suprotno tome, mikrobiota s dominacijom patogenih ili oportunističkih bakterija povezana je s kroničnim endometritisom i smanjenom implantacijskom mogućnosti (4-7).

Mehanizmi povezanosti mikrobiote i reproduktivnih ishoda

Mikrobiota utječe na reproduktivne ishode kroz imunomodulaciju, očuvanje epitelne barijere, hormonsku regulaciju i kontrolu upale. Komensalne vrste *Lactobacillus* potiču stvaranje regulatornih T-stanica i smanjuju upalne citokine, čime olakšavaju implantaciju embrija. Očuvanje epitelne barijere, zdrava mikrobiota štiti epitel endometrija i rodnicu od patogenih mikroorganizama, s druge strane, disbioza povećava oksidativni stres i smanjuje receptivnost endometrija. Metaboliti mikrobiote, poput kratkolančanih masnih kiselina, mogu mijenjati ekspresiju gena i receptivnost endometrija (7).

Strategije modulacije mikrobioma u IVF-u

Probiotici i prebiotici mogu obnoviti *Lactobacillus*-dominantnu mikrobiotu. Oralni i vaginalni probiotici pokazali su pozitivan učinak na stopu implantacije. Empirijska primjena antibiotika treba biti ograničena i vođena mikrobiološkim nalazima. Mediteranska prehrana, bogata vlaknima i omega-3 masnim kiselinama, podržava zdravi mikrobiom, dok stres, poremećaji spavanja, pojedine farmakološke terapije i toksini narušavaju mikrobnu ravnotežu. Eksperimentalne metode poput transplantacije vaginalne mikrobiote (VMT) pokazuju obećavajuće rezultate kod teških oblika disbioze, kod rekurentnih kolpitisu koji nemaju odgovarajući odgovor na provedene terapije.

Dijagnostika i personalizirani pristup

Metagenomsko sekvenciranje omogućuje preciznu procjenu reproduktivnog mikrobioma. Uključivanje mikrobiomskog profila u IVF protokole omogućuje ciljanu intervenciju; primjerice, probiotike ili promjenu prehrane i odgovarajuću suplementaciju radi optimizacije mikrobiološkog okruženja prije prijenosa embrija. Personalizirana reproduktivna medicina koja uključuje mikrobiom može poboljšati implantaciju i povećati stopu rađanja živog donošenog djeteta.

Kliničke implikacije i budući smjerovi

Iako su dokazi o povezanosti mikrobioma i uspjeha IVF-a sve jači, standardizirani protokoli još uvijek nisu definirani. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se utvrdili optimalni postupci, doze i trajanje terapije. Buduća istraživanja trebala bi uspostaviti standardizirane panele za procjenu mikrobioma te razviti kombinirane intervencije koje uključuju probiotike, prehranu i personalizirani pristup. Primjena probiotici, sojeva *Lactobacillus crispatus*, *L. rhamnosus* i *Bifidobacterium longum* pokazala je pozitivne učinke na vaginalnu i endometrijsku mikrobiotu te na stopu implantacije. Prebiotici putem uvođenja odgovarajuće prehrane, poput mediteranske prehrane bogata vlaknima, polifenolima i omega-3 masnim kiselinama potiče zdravu mikrobiotu i smanjuje sistemsku upalu. Ciljana antibiotska terapija prema mikrobiološkom nalazu preporučuje se kod kroničnog endometritisa. Promjena životnog stila uz smanjenje stresa, adekvatan san, umjerena fizička aktivnost i izbjegavanje toksina podupiru ravnotežu mikrobioma. Transplantacija mikrobiote kao još uvijek eksperimentalne metode poput vaginalne mikrobiota transplantacije (VMT) i fekalne transplantacije (FMT) pokazuju potencijal za obnovu *Lactobacillus* dominacije kod žena s teškom disbiozom. Metagenomsko sekvenciranje omogućuje detaljnu procjenu mikrobioma i implementaciju ciljane terapije, čime se optimizira implantacija i povećava stopa živorođenja (6-22).

Zaključak

Modulacija mikrobioma predstavlja perspektivnu dopunu postupcima potpomognute oplodnje. Održavanje *Lactobacillus*-dominantnog vaginalnog i endometrijskog okruženja te uravnoteženog crijevnog mikrobioma povećava uspjeh implantacije i trudnoće. Integracija probiotici, uz prilagođenu prehranu i transplantacija mikrobiote mogli bi postati važan dio buduće terapijskih pristupa u pacijetice koje ulaze u postupke MAR posebice u onih koje obilježava rekurentnih implantacijskih grešaka (RIF). U posljednjem desetljeću, važnost mikrobioma reproduktivnog sustava i crijeva u kontekstu reproduktivnog zdravlja i uspjeha postupaka medicinski potpomognute oplodnje (MAR). Modulacija mikrobioma predstavlja perspektivnu dopunu standardnim protokolima potpomognute oplodnje, s ciljem poboljšanja stope implantacije, kliničkih trudnoća i živorodenosti. Ključno obilježje zdravog vaginalnog i endometrijskog mikrookruženja jest dominacija rodova *Lactobacillus*, posebice *L. crispatus*, *L. jensenii* i *L. gasseri*, inhibiraju rast patogenih mikroorganizama te doprinose imunološkoj homeostazi endometrija. Disbioza, karakterizirana smanjenjem udjela *Lactobacillus* vrsta i porastom anaerobnih bakterija (*Gardnerella*, *Atopobium*, *Prevotella*), povezana je s kroničnom endometrijskom upalom, suboptimalnim receptivnim okruženjem te smanjenom implantacijom i s ponavljajućim implantacijskim neuspjehom (RIF – Recurrent Implantation Failure). Provedena istraživanja dokazuju da probiotička terapija, osobito sojevima *Lactobacillus rhamnosus*, *L. reuteri* i *L. crispatus*, može doprinijeti restituciji zdrave mikrobiote u reproduktivnom traktu te smanjenju rizika od endometrijske disbioze i upalnih procesa. Nadalje, prehrambeni pristupi bogati vlaknima, polifenolima i prebioticima mogu povoljno modulirati sastav crijevnog mikrobioma, posredno utječući na reproduktivne ishode. U eksperimentalnim modelima i preliminarnim kliničkim studijama, transplantacija vaginalne ili fekalne mikrobiote (VMT/FMT) pokazala je potencijal u obnovi mikrobiološke ravnoteže kod pacijentica s teškom disbiozom i ponavljanim implantacijskim neuspjesima (RIF). Integracija ovih pristupa u buduće protokole MAR mogla bi predstavljati novu paradigmu personalizirane reproduktivne medicine, usmjerenu na optimizaciju mikrobiološkog i imunološkog miljea prije embriotransfera. Premda su dostupni podaci iznimno ohrabrujući, nužna su daljnja randomizirana kontrolirana ispitivanja koja će precizno definirati sigurnost i optimalne protokole za modulaciju mikrobioma u kontekstu reproduktivne medicine tijekom provođenja postupaka medicinskih asistiranih postupaka (19-22).

Literatura:

1. Moreno I, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(6):684–703.
2. Frasiak JM, et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(1):129–36.
3. 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):djw029.
4. Ravel J, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(Suppl 1):4680–7.
5. Haahr T, et al. Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study. *Hum Reprod.* 2016;31(4):795–803.
6. Kitaya K, et al. Characterization of microbiota in endometrial fluid and vaginal secretions in infertile women with and without chronic endometritis. *Fertil Steril.* 2019;111(2):368–75.
7. Benner M, et al. The microbiome of the human endometrium and pregnancy outcomes. *Fertil Steril.* 2018;110(6):1039–46.
8. Baker JM, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz MM. Estrogen gut microbiome axis: physiological and clinical implications. *Maturitas.* 2017;103:45–53.
9. Schenk M, Grumet L, Sternat J, Reinschissler N, Weiss G. Effect of probiotics on vaginal *Ureaplasma parvum* in women suffering from unexplained infertility. *Reprod Biomed Online.* 2021 Sep;43(3):503-514. doi: 10.1016/j.rbmo.2021.06.004.
10. Lev-Sagie A, et al. Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nat Med.* 2019;25(10):1500–4.

11. Anahtar MN, et al. Human immunoregulatory and antimicrobial lipids produced by vaginal bacteria. *Science*. 2016;351(6272):1081–5.
12. Lessey BA, Young SL. What exactly is endometrial receptivity? *Fertil Steril*. 2019 Apr;111(4):611-617. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.009.
13. Plottel CS, Blaser MJ. Microbiome and malignancy. *Cell Host Microbe*. 2011;10(4):324–35.
14. Koedooder R, et al. The vaginal microbiome as a predictor for IVF outcomes. *Hum Reprod*. 2019;34(6):1042–54.
15. Moreno I, Simon C. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reprod Med Biol*. 2019;18(4):330–8.
16. Petricevic L, et al. Effect of vaginal administration of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus gasseri* on bacterial vaginosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008;54(1):83–9.
17. Favaron A, Turkgeldi E, Elbadawi M, Gaisford S, Basit AW, Orlu M. Do probiotic interventions improve female unexplained infertility? A critical commentary. *Reprod Biomed Online*. 2024 Apr;48(4):103734. doi: 10.1016/j.rbmo.2023.103734. Epub 2023 Nov 20.
18. Ameratunga D, Yazdani A, Kroon B. Antibiotics prior to or at the time of embryo transfer in ART. *Cochrane Database Syst Rev*. 2023 Nov 23;11(11):CD008995. doi: 10.1002/14651858.CD008995.pub3.
19. Muffone ARMC, de Oliveira Lübke PDP, Rabito EI. Mediterranean diet and infertility: a systematic review with meta-analysis of cohort studies. *Nutr Rev*. 2023 Jun 9;81(7):775-789. doi:
20. Cariati F, Conforti A, Esteves SC, Alviggi C. Editorial: Reproductive microbiome and its interplay with the environment. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024 Aug 15;15:1470608. doi: 10.3389/fendo.2024.1470608.
21. Lev-Sagie A, et al. Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nat Med*. 2019;25(10):1500–4.
22. Koedooder R, Schoenmakers S, de Jonge JD, Budding AE, Laven JSE. Reply: More details on microbiome profile and IVF, would allow readers to judge for themselves. *Hum Reprod*. 2021 Jul 19;36(8):2415-2416. doi: 10.1093/humrep/deab103.