

Mikrobiota ve İnfertilite

Microbiota and Infertility

¹Ferruh ACET^a, ²Gülnaz ŞAHİN^a, ³Ege Nazan TAVMERGEN GÖKER^{a,b}, ⁴Erol TAVMERGEN^{a,b}

^aEge Üniversitesi Rektörlüğü Aile Planlaması ve İnfertilite Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir, TÜRKİYE

^bEge Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, İzmir, TÜRKİYE

ÖZET

Bakterilerin moleküler tekniklerle tespiti, daha önce steril olduğu düşünülen doku ve organlarda düşük biyokütleyle sahip mikrobiyomların incelenmesini sağlamıştır. Kadın üreme sistemi mikrobiyotası fertilitiyi etkileyebilir ve yardımcı üreme teknolojilerinin başarısında anahtar rol oynayabilir. Biz de bu derlememizde üreme sistemi mikrobiyomu için güncel literatürü ve infertil hastalarda üreme sonuçlarını iyileştirmenin önemini gözden geçirdik.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiota; insan mikrobiomu; kadın üreme sistemi; infertilite

ABSTRACT

Detection of bacteria with molecular techniques has enabled the study of low biomass microbiomes in tissues and organs previously considered sterile. Female reproductive microbiota can affect fertility, and it may play a key role in the success of assisted reproductive technologies, such as embryo implantation and pregnancy care. Here we review the current literature about the reproductive system microbiome in infertile females and the importance of the healthy microbiome for improving reproductive outcomes in infertile patients.

Keywords: Microbiota; human microbiome; female reproductive system; infertility

Correspondence: Ferruh ACET

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, İzmir, TÜRKİYE/TURKEY

E-mail: acetferruh@hotmail.com



Peer review under responsibility of Turkish Journal of Reproductive Medicine and Surgery.

Received: 07 Dec 2020

Received in revised form: 06 Jan 2021

Accepted: 06 Jan 2021

Available online: 03 Feb 2021

2587-0084 / Copyright © 2021 by Reproductive Medicine, Surgical Education, Research and Practice Foundation.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Son zamanlarda biyoinformatik alanda ve ilerleyen yeni nesil genetik dizileme teknolojilerinde meydana gelen gelişmeler metagenomiklere olan ilgiyi uyandırmış, mikrobik topluluklar hakkında kapsamlı araştırmalar başlatılmasına imkan vermiştir.

Dünya genelinde 10^{30} kadar mikrobiyal hücre bulunduğu düşünülmekle birlikte, sadece insan vücudunda, bakteriler, virüsler, mantarlar ve birçok mikro-ökaryottan oluşan, 100 trilyon kadar mikroorganizma olduğu bilinmektedir.¹

İnsan vücudunun farklı ekosistemlerinde bulunan mikroorganizmaların tamamı “mikrobiyota”, bu mikroorganizmaların genomu ise “mikrobiyom” olarak adlandırılmaktadır. Bu mikrobiyal hücreler insan ile simbiyotik bir ilişki kurarak bir “süperorganizma” oluşturmaktadır. İnsan organizmasının, kabaca %10’unu insan hücresi oluştururken, %90’ı mikrobiyal hücrelerden oluşmaktadır.

Özellikle insan mikrobiyom çalışması sonrası bu alanda yaşanan gelişmeler aynı zamanda dişi üreme sistemi için de ilgi uyandırmıştır. Reprodüktif sistemdeki mikropların varlığını ele almak ve bunların insan üremesindeki olası etkilerini doğrulamak için uzun zamandır kültür temelli yaklaşımlar kullanılmıştır. Ancak pek çok mikroorganizma geleneksel kültür yöntemleri ile tespit edilemediğinden kültüre dayalı teknolojilerin kullanımının sınırlamaları vardır. Enfektif bölgelerden alınan örneklerde “dominant” olarak sınıflandırılan patojenlerin %50 kadarı ve “majör” patojenlerin %85’i standart kültür teknikleriyle tanımlanamaz.² Bununla birlikte, yeni teknolojiler mikrobiyom hakkında düşünme şeklimizi değiştirdi. İnsan mikrobiom projesi ile mikropların patolojik etkileri kadar fizyolojik yolları da araştırılmaya başlandı. Mikroarray, yeni nesil genetik dizileme, hedeflenmiş veya tüm genom analizleri tarihsel olarak steril kabul edilen uterin kavite, plasenta gibi bölgelerin aslında kendi eşsiz mikrobiotalarına sahip olduğunu gösterdi.³ Bu moleküler teknikler, bakterilere özgü olan ve bir cins için benzersiz tanımlayıcılar olarak işlev gören bir dizi hiperdeğişken bölge içeren 16S rRNA geninden yararlanır.

İnsan Mikrobiyom Projesi, vajinal mikrobiyotanın tüm insan mikrobiyotasının yaklaşık %9’unu oluşturduğunu gösterdi.⁴ Özellikle, *Lactobacilli* bu

vücut bölgesinde en çok tespit edilen bakteri olarak bildirilmiştir, diğer tespit edilen cinsler *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Sneathia* ve *Anaerococcus*’tur. Bu bakteriler, fertilizasyon ve implantasyon fazlarından başlayarak farklı üreme aşamalarında ve fetüs ve/veya yenidoğanın mikrobiyal kolonizasyonunda rol oynamaktadır.⁵ Sonuç olarak, “sağlıklı” dişi üreme sistemi mikrobiyomunun bileşimini ve rolünü ve bir disbiyozun insan üreme ve doğurganlığı üzerindeki etkilerini belirlemeye çalışmak infertiliteye yaklaşımda yeni bir yaklaşım olarak görülmektedir.

Bu derleme, kadın üreme sistemi mikrobiyotasının bileşimi ve kadın sağlığındaki rolü ile ilgili mevcut bilgileri özetlemeyi amaçlamaktadır.

REPRODUKTİF SİSTEMDE MİKROBIOMUN KARAKTERİZASYONU

Sağlıklı kadınlarda normal vajinal mikrobiyomu genellikle *Lactobacilli* türlerinin hakimiyetindedir, ancak yaşa ve hormonal ortama bağlı varyasyon belirgindir.^{6,7} Vajinal florayı kategorize etme çabasıyla, beş topluluk durumu türü (CST) oluşturulmuştur. Kadınların %70’inden fazlası, CST-I, -II, -III ve -V’ye karşılık gelen *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* veya *L. jensenii*’nin hakim olduğu vajinal mikrobiyota göstermektedir. Daha küçük bir kısım ise daha düşük *Lactobacilli* yüzdesi ve *Aerococcus*, *Atopobium*, *Dialister*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Prevotella* ve *Sneathia* gibi anaerobik bakterilerin baskınlığı ile karakterize edilen CST-IV sergilemektedir.⁶

Üst genital taktus mikrobiotasına ait veriler henüz yaygın olarak değerlendirilememektedir. Yapılan yeni nesil genetik dizileme çalışmalarında normal vajinal mikrobiyota gibi, sağlıklı ve asemptomatik kadınların endometriyumuna da genellikle *Lactobacilli* hakimdir.⁸ Bununla birlikte, sağlıklı ve asemptomatik kadınların genital yolunda *Lactobacillus* dominans olmayan topluluklar da tanımlanmıştır, bu da patolojik belirtilerin yokluğunda, *Lactobacillus*’un baskın olmadığı bir mikrobiyotanın normal kabul edilebileceğini düşündürmektedir.⁶ 16S rRNA geninin yeni nesil dizilimini kullanan bir çalışma, asemptomatik ve hamile olmayan fertil kadınların vajinal ve endometriyal mikrobiyotalarını

karşılaştırmıştır.⁹ Analiz edilen örneklerde endometriumda en çok *Lactobacillus* tespit edilirken bunu *Gardnerella*, *Prevotella*, *Atopobium* ve *Sneathia* türleri izledi. Analiz edilen kadınların yaklaşık beşte birinde, endometriyumda tanımlanan bakteri topluluğu vajinadakinden büyük ölçüde farklıydı, bu da endometriyal ve vajinal mikrobiyotanın aynı olmadığını göstermiştir. Buna rağmen hamile olmayan sağlıklı kadınların endometrial ve vajinal örneklerinde bulunan bakteriyel taksonlar arasındaki benzerlik, endometrial kavitenin kolonizasyonunun esas olarak vajinadan asendan yol ile geldiği hipotezini desteklemektedir.

REPRODUKTİF SİSTEM MİKROBİYOTASININ ÜREME ÜZERİNE ETKİSİ

Mikrobiyom, konakçı immunitesi ve infertilite arasındaki bağlantılar göz önüne alındığında, vajinal ve uterin mikrobiyomların insan üremesinin fizyolojisi ve patofizyolojisinde rol oynadığı oldukça açıktır.

Disbiyoz olarak adlandırılan vajinal mikrobiyota homeostazındaki değişiklikler veya bozulmuş mikrobiyotadaki değişiklikler infertilite ve preterm doğumların nedeni olabileceğinden, sağlıklı bir mikrobiyotanın özelliklerine ve bunun yeniden sağlanmasına yönelik artan bir ilgi vardır.¹⁰

Sağlıklı vaginal mikrobiomun sağladığı düşük Ph, üst genital traktusun korunması için ilk bariyerdir. Bu bariyerin bozulması cinsel yolla bulaşan bakterilerin üst genital sistemi etkilemesine neden olmaktadır. Bakteriyel vajinozis, *Lactobacillus* dominansı yerine anaerobik bakteri çeşitliliğinin artmasıyla karakterize, vajinal mikrobiyomun değişmiş durumunun bir örneğidir. Bakteriyel vajinoz, üreme çağındaki kadınların %20-50'sini etkiler ve subfertilite ve infertilite için bir risk faktörüdür.¹¹ *Atopobium vaginae*, *Ureaplasma vaginae*, *U. parvum*, *U. urealyticum* ve *Gardnerella* cinslerinin artan varlığı, daha yüksek *Candida* düzeyleri ve azalmış vajinal ve servikal *Lactobacillus* ile birlikte fertilitiyi azaltmaktadır.¹²

Vajinal mikrobiota da laktobasil dominansı olduğunda in vitro fertilizasyon sonuçlarının daha iyi olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur.^{13,14} Yapılan bir çalışmada IVF tedavisi alan ve vaginal

mikrobiota disbiyozu olan 22 kadından sadece ikisi (%9) klinik gebelik elde ederken normal mikrobiyota kompozisyonuna sahip 62 kadından 29'u (%47) klinik bir gebelik elde etmiştir.¹⁴ Başka bir çalışmada da, *Lactobacillus crispatus* baskın mikrobiyomlar, daha yüksek canlı doğum oranı ile ilişkili olduğu görülmüştür.¹⁵ Bu bilgiler ışığında IVF öncesi vaginal mikrobiotanın düzenlenmesi klinik olarak anlamlı görülmektedir. Tüm infertilite hastaları için koku, akıntı gibi semptomlar sorgulanmalı, gerekli görülür ise pH, Nugent skor değerlendirmesi veya PCR ile kontrol yapılmalıdır. Sigaranın bırakılması, kilo verme gibi yaşam tarzı değişiklikleri de mikrobiyotayı düzenleyerek gebelik şansını arttırmaktadır.

CST-IV cinsi vaginal mikrobiota varlığı ayrıca preterm doğum ve abortus oranlarını da arttırmaktadır. *Lactobacillus* baskın olmayan vajinal mikrobiyota ve hamilelik sırasında artan bakteri çeşitliliği, daha yüksek erken doğum riski ile ilişkilidir.¹⁶ Gebeliğin ilk trimesterinde vaginal mikrobiotanın değerlendirilmesi preterm doğum riskini belirleyip erken müdahaleye olanak sağlayabilir.

Endometriyal disbiyoz da, implantasyon başarısızlığı ve infertiliteye yol açabilir.¹⁷ Laktobasil dominant bir endometrium varlığında endometriumun reseptivitesi artmaktadır.¹⁸ Moreno ve ark. tarafından yapılan bir araştırma da, *Lactobacillus* dominant mikrobiyotaya sahip kadınlar da, implantasyon oranları (%23 vs %60); gebelik oranları (%70 vs %33); ve canlı doğum oranları (%60 vs %7) laktobasil dominant olmayan gruba göre daha yüksek saptanmıştır. Taze siklularda yüksek östrojen düzeylerinin vaginal ve endometrial mikrobiyotayı etkileyerek gebelik sonuçlarını azaltabileceği 'freeze all' tavsiye eden ekipler için bir başka argümandır.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığını olan 35 hastayı inceleyen bir çalışmada endometrial örneklerde başta laktobasiller olmak üzere 108 bileşen tespit edilmiştir. Çalışma sonucu göstermektedir ki , *Lactobacillus* dominant olmayan (<%90) bir endometriyal mikrobiyotaya sahip hastalarla, *Lactobacillus* ağırlıklı (%90) endometriyal mikrobiyota sunan hastalar karşılaştırıldığında; implantasyon, gebelik, devam eden gebelik oranları daha düşük iken abortus oranları ise daha yüksek saptanmıştır.¹⁸

Reproduktif sistem mikrobiotasının (özellikle vaginal mikrobitanın) IVF tedavisi öncesi taranmasını öneren ekipler olsa da şu anda bu kanıtlar tüm fertilite hastalarının rutin taramasını önermek için çok sınırlıdır. Dahası, moleküler tanı testleri pahalıdır ve asemptomatik kadınlarda bunu önerecek destekleyici bir literatür yoktur.

KRONİK ENDOMETRİT

Kronik endometrit çoğunlukla asemptomatik seyreder, klinik ve USG tanı kriteri olmayan ve alınan örneklerde bakterilerin standart kültür yöntemleri ile çoğunlukla üretilmediği bir patolojidir. Enflamatuvar durum, mikrobiyom ve konakçı bağışıklık sistemi arasındaki, muhtemelen mikroorganizmalar, virüsler veya parazitlere bağlı bir dengesizliğin sonucudur ancak etioloji belirsizliğini korumaktadır.¹⁹ Kronik endometrit, tekrarlayan implantasyon başarısızlığına (TİB) neden olabilecek non reseptif bir endometriuma neden olabilir. Tanı konulmuş kronik endometritli TİB olgularında antibiyotik tedavisinin etkinliği kanıtlanmıştır. Şu anda eldeki veriler rutin kullanım için yeterli olmasa da kronik endometriti tedavi etmenin bir yöntemi olarak probiyotikler ümit verici bir modalite olarak durmaktadır.

Sağlıklı bir vajinal mikrobiyota için çeşitli oral ve vajinal probiyotikler geliştirilmiştir. Ürünler çoğunlukla, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. reuteri* ve *L. rhamnosus* dahil olmak üzere çeşitli *Lactobacillaceae* kombinasyonlarıyla formüle edilmiştir. Vajinal probiyotiklerin antibiyotik tedavisine ek olarak kullanıldıklarında etkinliğin arttığı konusunda fikir birliği vardır. *Lactobacillus* spp. takviyesinin standart metronidazol tedavisinden sonra tekrarlayan enfeksiyonların önlenmesinde etkili olduğu kanıtlanmıştır.²⁰

Daha önce değinildiği gibi özellikle bakteriyel vaginosis lehine mikrobiota disbiyozu fertiliteyi olumsuz etkilemektedir. Bugüne kadar, infertilite tedavilerini destekleyen probiyotiklere ilişkin mevcut veriler yetersiz ancak umut vericidir.

ENDOMETRİOSİS- MİKROBİOTA

Endometriosis halen patolojisi net olarak ortaya konamamış bir hastalıktır.

Endometriosisli hastaların menstrüel kan örneklerinde artmış *E. Coli* kolonizasyonu, endometriumlarında floranın *Gardnerella*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Prevotella* *Propionibacterium* yönünde kaydığına dair bulgular ve endometrioma içeriğindeki artmış *Streptococcaceae* ve *Staphylococcaceae* varlığı endometriosis patofizyolojisinde de bozulmuş mikrobiotanın hastalık patofizyolojisinde yeri olduğunu düşündürmektedir. Bozulmuş floraya bağlı yine bu hasta grubunda periton sıvısında ve endometriumda artmış sitokin yükü bozulmuş mikrobiyotaya ve yardımcı üreme tekniklerinde kötü gebelik gebelik sonuçlarına neden olmaktadır.²¹

SONUÇ

Reproduktif sistem mikrobiyomunun rolünün daha eksiksiz bir şekilde anlaşılması, infertilite tedavilerinde iyileştirmeler ve bir bütün olarak üreme sağlığının daha incelikli bir şekilde anlaşılmasını vaat etmektedir. Yapılacak yeni çalışmalarla birlikte infertilite tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak çeşitli probiyotik solüsyonlar kullanıma girebilir.

Endometriyal mikrobiyom biyolojik çeşitliliğinin üreme üzerindeki etkisi, endometriyal ortamda bakteriyel kolonizasyon ve hayatta kalma mekanizmaları, mikroplar ve endometriyal hücreler arasındaki ortak veya patojenik ilişkiler, potansiyel olarak aktif hale getirilen tüm sinyal yolları, sentezleyebilecekleri metabolitler ve mukozal yüzeyden ihtiyaç duydukları besinler ve “üreme sistemi disbiyozunun” doğurganlık üzerindeki etkisi önümüzdeki süreçte aydınlatılması gereken noktalardır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazarların Katkıları

Acet F, Sahin G ve Tavmergen Goker EN: çalışmayı tasarladı; Acet F taslağı yazdı ve verileri topladı; Tavmergen E: makale eleştirel ve denetimli olarak revize edildi. Tüm yazarlar, yayımla-

nacak çalışmanın son versiyonunu onayladılar ve çalışmanın herhangi bir bölümünün doğruluğu veya bütünlüğü ile ilgili soruların uygun şekilde araştırılıp çözülmesini sağlamak için çalışmanın tüm yönlerinden sorumlu olmayı kabul ediyorlar.

KAYNAKLAR

- Aslan FG, Altındış M. İnsan Mikrobiyom Projesi, Mikrobiyotanın Geleceği ve Kişiyi Özel Tıp Uygulamaları. J Biotechnol and Strategic Health Res. 2017;1 (Special issue): 1-6.
- Rhoads DD, Cox SB, Rees EJ, Sun Y, Wolcott RD. Clinical identification of bacteria in human chronic wound infections: culturing vs. 16S ribosomal DNA sequencing. BMC Infect Dis. 2012;12:321. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Franasiak JM, Werner MD, Juneau CR, Tao X, Landis J, Zhan Y, et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. J Assist Reprod Genet. 2016;33: 129-36. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. Nature. 2012;486:215-21. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Franasiak JM, Scott RT Jr. Introduction: Microbiome in human reproduction. Fertil Steril. 2015;104:1341-3. [Crossref] [PubMed]
- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Nat Acad Sci. 2011;108(Suppl 1):4680-7. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Sch€utte UM, Zhong X, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. Sci Transl Med. 2012;4:132ra52. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Verhelst R, Verstraelen H, Claey's G, Verschraegen G, Delanghe J, Van Simaey L, et al. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between Atopobium vaginae, Gardnerella vaginalis and bacterial vaginosis. BMC Microbiol. 2004;4:16. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Moreno I, Codoner FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazan J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. Am J Obstet Gynecol. 2016;215:684-703. [Crossref] [PubMed]
- Bedaiwy MA. Endometrial macrophages, endometriosis, and microbiota: time to unravel the complexity of the relationship. Fertil Steril. 2019;112:1049-50. [Crossref] [PubMed]
- Sirota I, Zarek SM, Segars JH. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology. Semin Reprod Med. 2014;32:35-42. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Koedooder R, Mackens S, Budding A, Fares D, Blockeel C, Laven J, et al. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. Hum. Reprod. Update. 2019;25:298-325. [Crossref] [PubMed]
- Babu G, Singaravelu BG, Srikumar R, Reddy SV, Kokan A. Comparative Study on the Vaginal Flora and Incidence of Asymptomatic Vaginosis among Healthy Women and in Women with Infertility Problems of Reproductive Age. J Clin Diagn Res. 2017;11:DC18-DC22. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Haahr T, Ersbøll AS, Karlens MA, Svare J, Sneider K, Hee L, et al. Treatment of bacterial vaginosis in pregnancy in order to reduce the risk of spontaneous preterm delivery-a clinical recommendation. Acta Obstet Gynecol Scand. 2016;95:850-60. [Crossref] [PubMed]
- Vergaro P, Tiscornia G, Barragán M, García D, Rodríguez A, Santaló J, et al. Vaginal microbiota profile at the time of embryo transfer does not affect live birth rate in IVF cycles with donated oocytes. Reprod Biomed Online. 2019;38:883-91. [Crossref] [PubMed]
- Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: one syndrome, many causes. Science. 2014;345:760-5. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Moreno I, Simon C. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. Fertil Steril. 2018;110:337-43. [Crossref] [PubMed]
- Moreno I, Codo-er FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. Am J Obstet Gynecol. 2016;215:684-703. [Crossref] [PubMed]
- Park HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS. Chronic endometritis and infertility. Clin Exp Reprod Med. 2016;43:185-92. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Menard JP. Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: current and emerging therapies. Int J Womens Health. 2011;3:295-305. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, Kitawaki J. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2016;199:69-75. [Crossref] [PubMed]