Uloga mikrobioma u reprodukcijskom zdravlju žena

Zadro, Matilda

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:438954

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Matilda Zadro

Uloga mikrobioma u reprodukcijskom zdravlju žena

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za ginekologiju i opstetriciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Lane Škrgatić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017./2018.

POPIS SKRAĆENICA

GM-CSF - faktor stimulacije granulocitno-monocitnih kolonija *(engl. Granulocyte-macrophage colony - stimulating factor)*

IL-2 - interleukin 2

IL-4 - interleukin 4

IL-10 - interleukin 10

IL-11 - interleukin 11

CSF-1 - faktor stimulacije kolonija *(engl. colony stimulating factor 1)*

IGF-1 - inzulinu sličan faktor rasta I *(engl. insulin-Like Growth Factor I)*

INF γ - interferon γ

TNF α - faktor tumorske nekroze α *(engl. Tumor Necrosis Factor)*

Sadržaj

Sažetak

Summary

1. **Uvod**.....1
2. **Mikrobiom žene izvan trudnoće**.....3

    2.1. Vaginalni mikrobiom.....3

        2.1.1. Fiziološka flora.....3

        2.1.2. Bakterijska vaginoza.....5

    2.2. Utjecaj promjene mikrobioma na prijenos spolno prenosivih bolesti.....9

    2.3. Mikrobiom uterusa.....9

    2.4. Mikrobiom ovarijskog folikula.....11

3. **Mikrobiom žene u trudnoći**.....12

    3.1. Vaginalni mikrobiom u trudnoći.....12

    3.2 . Placentarni mikrobiom.....12

    3.3. Utjecaj promjene mikrobioma na trudnoću i plod.....13

4. **Mogući utjecaj mikroboma na neplodnost i ishode medicinski pomognute oplodnje**.....17
5. **Zaključak**.....19
6. **Zahvale**.....20
7. **Literatura**.....21
8. **Životopis**.....31

Sažetak

Uloga mikrobioma u reprodukcijskom zdravlju žena

Matilda Zadro

Svaki pojedinac živi u simbiozi sa čitavim nizom mikroorganizama. Ovaj sustav simbioze naziva se mikrobiomom. Prvi kontakt ostvaruje se porodom pri čemu dolazi do kolonizacije čitavog organizma. Kada govorimo o mikrobiomu reprodukcijskog trakta, mislimo na mikrobiom vagine i gornjeg reprodukcijskog trakta. Iako se prije smatralo da je gornji dio reprodukcijskog trakta sterilan, veliki napredak tehnologije genotipizacije otkrio nam je da endometrij, placenta pa čak i ovarijski folikul imaju vlastiti mikrobiom. Vaginalni mikrobiom dominantno sačinjavaju *Lactobacillus sp.* koji su i dominantni u mikrobiomu gornjeg reprodukcijskog trakta. *Lactobacillus sp*. održava pH rodnice ispod 4,5 što sprječava razvoj patogenih organizama. Neravnoteža u sastavu mikorbioma dovodi do predispozicije za razvoj infekcije i različitih reprodukcijskih komplikacija. Održavanje ravnoteže posebno je značajno za implantaciju i trudnoću. Vaginalna infekcija u trudnoći stvara rizike za prijevemeno puknuće plodovih ovoja, preuranjene trudove i porod što dovodi i majku i dijete pod rizik. Osim na samu trudnoću otkriveno je da sastav mikrobioma, uz hormone, igra veliku ulogu u uspiješnosti postupaka in vitro fertilizacije jer utječe na implantaciju.

Ključne riječi: mikrobiom, reprodukcijski trakt*, Lactobacillus sp*., trudnoća

Summary

The role of microbiome in women's reproductive health

Matilda Zadro

Everyone lives in symbiosis with a whole range of microorganisms. This symbiosis system is called microbiome. The first contact is achieved at birth, when colonization of our organism occures. When talking about the microbiome of the reproductive tract, we refer to the vaginal flora and the upper reproductive tract flora. Although it was previously believed that the upper part of the genital tract was sterile, with great advances in technology it has been discovered that the uterus, placenta, and even the ovarian follicle may have their own microbiome. *Lactobacillus sp.* was the most frequently detected organisam in the vaginal flora while the upper part can also be inhabited, again mostly with *Lactobacillus sp*.. *Lactobacillus sp*. maintains the vaginal pH below 4.5, which prevents the development of pathogenic organisms. The imbalance in bacterial composition leads to a predisposition to infections and various reproductive complications. Maintenance of "normal" flora affects on implantation and maintenance of a healthy pregnancy. Ascending vaginal infection in pregnancy can cause premature rupture of the membrane as well as premature labor and birth, which puts both mother and child at risk. Apart from just pregnancy, it has been found that the microbiome and hormones play a major role in the success of in vitro fertilization procedures.

Key words: microbiome, reproductive tract, *Lactobacillus sp.,* pregnancy

1.UVOD

Spoznaja o ljudskom mikorbiomu postoji već stoljećima. Danas, zbog razvijene tehnologije sekvenciranja, omogućeno nam je istraživanje njegove uloge u zdravlju i bolesti.

Normalna flora ljudskog organizma vrlo je složena i dinamično se mijenja. Fetus je u maternici sterilan i prva kolonizacija kože i sluznica započinje vertikalnom transmisijom majčine mikrobiote tijekom porođaja. Tijekom prvih 48 sati života, hranjenjem i dodirima novorođenče uspostavlja stabilnu floru kože, usne šupljine i probavnog sustava. Mikroorganizmi koji koloniziraju ljudsko tijelo tijekom i neposredno nakon porođaja te ostaju cijelog života nazivaju se normalnom florom.[1]

U organizmu postoji oko 10^{13} ljudskih stanica dok je ukupni broj mikroorganizama ljudskog tijela, zajedničkog imena humani mikrobiom, oko 10x više. Humani mikrobiom istražuje Nacionalni institut za zdravlje u SAD-u (engl. *National Institute of Health - NIH*) kroz projekt pokrenut 2008. godine koji se naziva „The Human Microbiome Project (HMB)“ čiji nam rezultati istraživanja otkrivaju nove spoznaje o ulozi humanog mikrobioma u zdravlju i bolesti.[2] Mikorbiom zauzima 1% - 3% tjelesne težine i još se naziva „ sekundarnim ljudskim genomom“. [3]

S obzirom da se kontakt između mikroorganizama koji čine mikorbiom i pojedinca događa prilikom porođaja, bitno pitanje je: Postoji li razlika u kolonizaciji ovisno o tome da li je dijete rođeno vaginalno ili carskim rezom? Kod djece rođene vaginalnim putem naseljavanje je iz vagine majke, dok djecu rođenu carskim rezom koloniziraju bakterije tipično nađene na koži. [4]

Prva osoba koja je otkrila da postoje razlike u mikrobiomu ovisno o mjestu s kojeg se uzme uzorak bio je Antonio van Leewenhoek. On je uspoređivao oralni i fekalni

mikrobiom i uočio je bitne razlike između pojedinaca, a također razlike kod jedne osobe ovisno da li je uzeto u zdravlju ili bolesti. [5]

U zadnjih par godina dolazi do drastičnog razvoja mikrobiologije i sekvenciranja genoma. Mogućnosti koje imamo veće su nego ikada prije. U 19. stoljeću temelj mikorbiologije bila je kultivacija *in vitro*, dok danas možemo identificirati određene vrste bakterija koje prije nismo mogli detektirati. [6] Najčešće se analiza radi prema 16S podjedinici ribosoma. [7]

Sada, u vremenu velikih tehnoloških dostignuća, nameće se pitanje: Koliko daleko seže povezanost između čovjeka i bakterija i možemo li utjecajem na mirobiologiju u čovjeku mijenjati podložnost određenim bolestima i produžiti ljudski vijek?

2. MIKROBIOM ŽENE IZVAN TRUDNOĆE

2.1. Vaginalni mikrobiom

2.1.1. Fiziološka flora

Kada govorimo o fiziološkoj vaginalnoj flori mislimo na mikrobiom zdrave, asimptomatske žene. Flora je vrlo je raznovrsna, a sastoji se od aerobnih i anaerobnih bakterija od kojih je najpoznatiji rod *Lactobacillus sp.* [8][9]

Lactobacillus sp. je od esencijalne važnosti u održavanju uravnoteženog zdravlja žene i u zaštiti od infekcija genitalnog trakta. To su mikroaerofilni i fakultativno anaerobni gram-pozitivni bacili. Pripadaju fiziološkoj flori sluznica uključujući i crijevnu. Koristeći dostupan glikogen proizvode mliječnu kiselinu koja zakiseljava rodnicu i održava pH ispod 4.5. To sprječava rast patogenih mikroorganizama i štiti od bolesti. Osim mliječne kiseline, *Lactobacillus sp.* proizvodi vodikov peroksid koji je toksičan za druge bakterije. [9]

Rod Lactobacilla ima više od 130 vrsta od koji je 20-tak nađeno u vagini žena. U zdravom ženskom mikrobiomu tipično dominiraju 4 vrste, najčešće su to *L. crispatus, L. gasseri, L. iners ili L. jensenii.* Kod nekih žena postoje i dodatne vrste kao što su *L. gallinarum* i *L. vaginalis*.[10][11]

Laktobacile je prvi opisao Doderline krajem 19. stoljeća, a danas znamo da u rodnici postoji više od 250 različitih bakterijskih vrsta. Prema istraživanju Ravela i suradnika koji su analizirali floru gotovo 400 asimptomatskih žena definirano je u 5 glavnih skupina bakterijskih zajednica ovisno o dominaciji bakterijskog roda: *L.crispatus, L. gasseri, L. inners*, anaerobne bakterije i *L. jensenii*. Suprotno dosadašnjim vjerovanjima, autori ovog istraživanja pokazali su da 27% ispitanica

nema laktobacile kao dominantnu vaginalnu floru već vaginalnom florom dominiraju anaerobne bakterije – nalaz koji bi ranije odgovarao bakterijskog vaginozi. Zaključak je ove studije da bakterijske zajednice sa malim brojem ili bez laktobacila imaju veći broj ostalih bakterija koje stvaraju mliječnu kiselinu kao što su *Atopobium,Lepotrichia* ili *Megasphera* koji šite od kolonizacije i infekcije patogenim bakterijama. [10]

U malom postotku zdravih žena nađena je odsutnost *Lactobacillus sp.* dominantne vaginalne flore. Njihov se mikrobiom sastoji većinom od drugih anaerobnih bakterija kao što su *Prevotella*, *Megasphaera, Gardnerella vaginalis, Sneathia i Atopobium vaginae*. [12]

Ovaj sastav flore najčešće se povezuje s određenim etničkim skupinama uključujući afroamerikanke i španjolke. [13] Sve te vrste kao produkt imaju mliječnu kiselinu te nam služe kao dokaz da je to glavna uloga vaginalne flore, održavanje niskog pH kao zaštita od proliferacije raznih patogenih mikroorganizama.

Kao što je već ranije navedeno, postoje razlike u fiziološkoj flori između različitih etničkih skupina. Tako je otkriveno da je pojavnost laktobacila koji proizvode vodikov perkosid manja kod afroamerička rase, također njihov pH rodnice je viši nego u žena bijele rase iako niti jednoj skupini nije dijagnosticirana bakterijska vaginoza. [14][15]

Sastav vaginalnog ekosistema nije statičan nego se mijenja s vremenom i kao odgovor na endogene i egzogene utjecaje. [16] Promjene se događaju tijekom menstrualnog ciklusa, trudnoće, korištenja oralne kontracepcije, učestale promjene seksualnih partnera te korištenja antibiotika i drugih lijekova koji mogu utjecati na endokrini sustav.[10]

Tijekom menstrualnog ciklusa dolazi do promjene u razini hormona i vaginalnog glikogena. Menstrualna krv povisuje pH rodnice i čini ju podložnijom za razvoj patogenih mikroorganizama. Mjereći koncentracije laktobacila otkriveno je da ostaju jednake ali dolazi do porasta ne-laktobacilnih vrsta. [17]

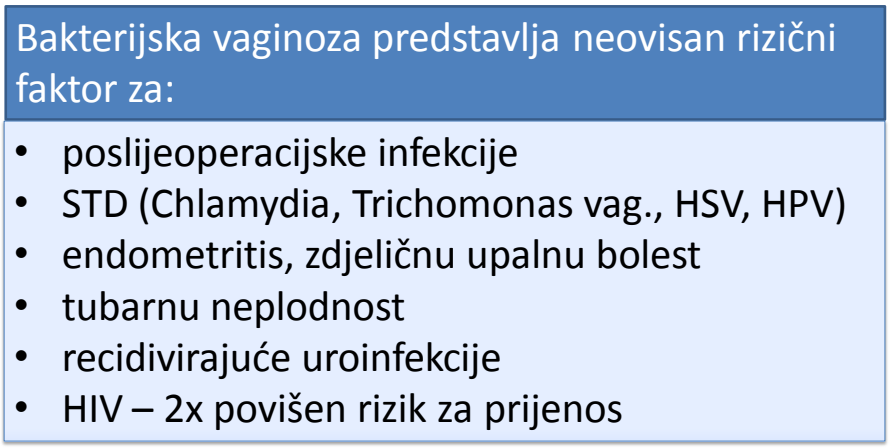
2.1.2. Bakterijska vaginoza

Bakterijska vaginoza predstavlja najčešći poremećaj vaginalne flore žena reprodukcijske dobi i uzrokom je oko 30 – 40% vaginalnih infekcija. [18] Učestalost u Europskoj populaciji u rasponu je od 5% u pacijentica na redovitom ginekološkom pregledu pa do 30 % u pacijentica koje se liječe zbog spolno prenosive bolesti. Nalazimo je u 7 – 22% trudničke populacije. [19]

Bakterijska vaginoza karakterizirana je redukcijom u koncentraciji laktobacila te dominacijom anaerobnih bakterija. Nije poznato što uzrokuje promjenu bakterijske flore. Gubitak laktobacila prethodi ili je posljedica porasta anaerobne flore. Bakterijsku vaginozu karakterizira slabi imunološki odgovor i nema znakova upale odnosno toksičnih leukocita.[20]

Bakterijska vaginoza i kada je asimptomatska neovisno utječe na negativne reprodukcijske ishode.(Slika 1). Povezana je sa povišenim rizicima za poslijeoperacijske infekcije – primjerice povišenim morbiditetom nakon histerektomije. Endometritisi koji nastaju kao posljedica bakterijske vaginoze mogu dovesti do nepravilnih krvarenja iz maternice. Povezuje se sa povišenim rizikom za tuboovarijski apsces odnosno posljedičnom tubarnom neplodnosti. [21][22][23]

Upravo zato u tiskanim S1 smjernicama različitih europskih društava preporuka je perioperacijska antibiotska profilaksa. [23]



Slika 1. Bakterijska vaginoza i reprodukcijski rizici [21][22][23]

Zbog rizika sa kojim je bakterijska vaginoza povezana u trudnoći preporuka je raditi screening na bakterijsku vaginozu kada se planira trudnoća ili u ranoj trudnoći.[24][25][26]

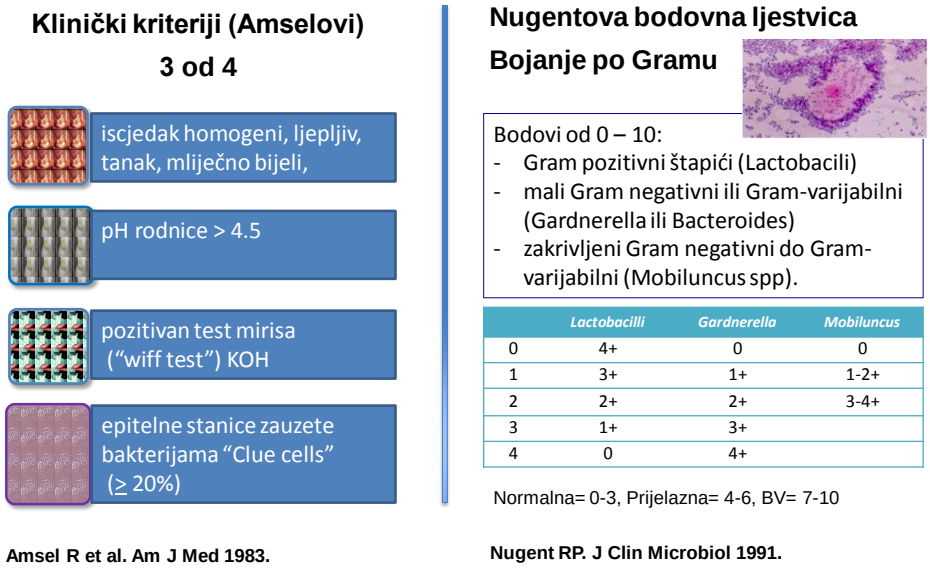
Anaerobnom florom najviše dominiraju *Gardnerella vaginalis* i *Apotobium vaginae*, ali nalaze se i *Mycoplasma hominis, Bacterioides spp, Peptostreptococcus spp., Fusobacterium spp.* i *Prevotella*. Najčešći simptom bakterijske vaginoze je bijeli do sivkasti iscjedak karakterističnog neugodnog mirisa po ribi. [27][28] Nema znakova upale u rodnici kao ni subjektivnih simptoma pečenja, boli ili dispareunije. Tipično za bakterijsku vaginozu je odsutnost infekcije. Dolazi do blagog povišenja interleukina 1 i interleukina 8. U slučaju da su prisutni simptomi izražene upale (više od 10 leukocita na 1 epitelnu stanicu) treba se uzeti u obzir druga dijagnoza.

Zlatni kriteriji za dijagnostiku bakterijske vaginoze jesu Amselovi kriteriji i Nugentov zbroj (bojanje po gramu). Slika 2.

Prema Amselovim kriterijima [29] bakterijsku vaginozu dijagnosticirammo ukoliko postoje 3 od 4 ovdje navedenih simptoma:

1. postojanje tankog homogenog iscjetka koji prijanja za vaginalni zid
2. nalaz „ clue-cells“ na mikroskopu
3. vaginalni pH iznad 4.5,
4. pozitivan „whiff test“ (dodavanjem 10% KOH stvara se miris po ribi)

Bojanjem po Gramu (Nugent score) dokazuju se veliki Gram-pozitivni bacili (*Lactobacillus sp.*), mali Gram-varijabilni bacili (*Gardnerella*) i zavijeni Gram-varijabilni bacili (*Mobiluncus*). U jednom istraživanju osjetljivost i specifičnost Amselovih kriterija bila je 70%, a bojanja po Gramu 89%. [30] Iako, prepoznato je da su ove dijagnostičke metode subjektivne i mogu dovesti do pretjeranog dijagnosticiranja bakterijske vaginoze, a 42% žena kojima je dijagnosticirana bakterijska vaginoza po Nugent score-u bile su asimptomatske.



Slika 2. Prikaz Amselovih kriterija i Nugentove Bodovne ljestvice.Prema: Amselu (1983) [31] i Nugentu (1991) [32]

Postoji još jedan pojam koji se zove „intermedijarna flora". Predstavlja točku prelaska normalnog stanja u bakterijsku vaginozu. Spiegel i sur. intermedijarnu floru definiraju kao stanje u kojem su reducirani laktobacili pomiješani s drugim morfotipovima u kojim su dominantni i *Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, G. vaginalis, Chlamydia trachomatis* i neki *Lactobacilli.* [33][34] Leitich i sur. u njihovoj metaanalizi, bakterijsku vaginozu i intermedijarnu floru predstavljaju kao rizične čimbenike za prijevremeni porođaj. [24]

2.2. Utjecaj promjene mikrobioma na prijenos spolno prenosivih bolesti

U mikroorganizme koji se najčešće prenose spolnim putem spadaju *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis, Human papillomavirus i Herpes simplex tip 2*. [35][36][37] Narušeni mikrobiom i povišeni pH rodnice (nemogućnost neutralizacije patogena i smanjen imunosni odgovor) stvaraju rizike za infekciju navedenim uzročnicima.

Dokazano je da su žene sa bakterijskom vaginozom pod rizikom za dobivanje trihomonijaze, a rizik je još veći kod žena sa intermedijarnom florom po Nugent score-u. [13] U istraživanjima je ukazano na povezanost između bakterijske vaginoze i HIV-a. [38][39][40][41]

Hidrogen peroksid, kojeg proizvode *Lactobacilli,* znan je po viricidnim svojstvima. Pokazano je da manjak u bakterijskoj vaginozi doprinosi prijenosu HIV infekcije. [42] Istraživanja također pokazuju da određeni sastav mikrobioma u kojem je prisutna *Mycoplasma* stavlja pod rizik za spolno prenosive bolesti posebno *Trichomonas vaginalis* i HIV infekciju. [41] Ta spoznaja nije bitna samo za pojedinca nego i kao javnozdravstveni problem zbog čestog nalaz tih bakterija i *Trichomonasa* kod mlađe populacije.

2.3. Mikrobiom uterusa

Do nedavno se smatralo da je kolonizacija gornjeg dijela reproduktivnog trakta kroz vaginu i cervikalni kanal patologija. Cervikalna sluz, koja predstavlja barijeru prema gornjem dijelu reproduktivnog sustava, bogata je inflamatornim citokinima, imunoglobulinima i peptidima sa antimikrobnim svojstvima tako da se dugo mislilo da

je uterus sterilno mjesto kod zdrave žene. [43][44] Danas znamo da to nije točno. U studiji u kojoj je radiooznačeni makroagregat humanog albumina veličine spermatozoe apliciran u stražnji forniks vagine u folikularnoj i lutealnoj fazi ciklusa, detektiran je u uterusu za samo 2 minute kod svih.[45]

U istraživanju provedenom 2012. godine uzeti su uzorci kod 58 žena koje su išle na histerektomiju. Vaginalni brisevi su uzeti prije histerektomije, a tokom sterilnog otvaranja uterusa uzorci su uzeti iz endometrija i gornjeg endocerviksa. DNA je testirana PCR tehnikom na 12 specifičnih bakterijskih vrsta. Kod 95% žena dokazana je bar jedna vrsta baterija. Najčešće je to bila *L. iners* (45% UGT,61% vagina). Još su nađene *Prevotella spp*. (33% UGT, 76% vagina) i *L. crispatus* (33% UGT, 56% vagina). Koncentracija bakterija u gornjem genitalnom traktu je bila manje nego u vagini. To pokazuje da cerviks ipak ima ulogu polovičnog filtera koji zajedno s imunosnim sustavom spriječava ascendenciju svih bakterija. Također je otkriveno da nije bilo razlike u razini endometrijskih upalnih parametara između žena kod kojih je nađen samo *Lactobacillus sp*., onih pozitivnih na bakterijsku vaginozu i onih bez bakterija. Sve ovo nam pokazuje da uterus nije sterilno mjesto i da postojanje niske koncentracije bakterija nije povezano sa značajnim upalama. U obzir treba uzeti i činjenicu da su gornji dio cerviksa i uterus zajedno svrstani u „gornji reproduktivni trakt“, a postoji mogućnost da sadrže različite bakterijske vrste. [46] Potrebno je utvrditi kliničku značajnost ovih podataka.

2.4. Mikrobiom ovarijskog folikula

Analizom folikularne tekućine nađen je aktivni mikrobiom u djela pacijentica koje su bile u postopcima medicinski pomognute oplodnje. Dio uzoraka je prikupljen iz folikularne tekućine tijekom aspiracije oocita, a manji dio laparoskopski. [47][48][49] Postojanje folikularnog mikrobioma je kontroverzan s obzirom da dio autora smatra da se moguće radi o kontaminaciji tijekom zahvata. [50] Takvom interpretacijom bi propustili slučajeve u kojima je upravo moguća promjena mikrobioma uzrok lošije kvaliteta oocite. Dio opservacijskih studija zaista pokazuju da mikorbiom folikula utječe na rezultate medicinski pomognute oplodnje. [48] Čini se da je prisutnost *Propionibacterium sp. i Actinomyces sp.* povezana sa lošijim ishodom. Aktivni mikrobiom ne mora uvijek značiti loš nalaz. Pelzer i sur. su pokazali da su rezultati bolji ako dominiraju *Lactobacilli*. [49] Istražuju se sličnosti i razlike između desnog i lijevog ovarija i razmatra se mogućnost hematogenog prijenosa čimbenika koji narušava ravnotežu mikrobioma folikula. Ove činjenice zahtjevaju daljnja istraživanja s obzirom da još uvijek imamo jako malo informacija o ulozi mikrobioma na zbivanja u folikulu.

3. MIKROBIOM ŽENE U TRUDNOĆI

3.1. Vaginalni mikrobiom u trudnoći

Za razliku od negravidne žene kod koje se vaginalna flora mijenja s obzirom na godine, spolni život i hormonske promjene [12][51], flora gravidne žene je puno stabilnija. [52][53] Struktura gravidnog vaginalnog mikrobioma mijenja se tijekom gestacije. Dolazi do porasta u koncentraciji 4 vrste laktobacila (*L. crispatus, L. jensenii, L. gasseri, L. vaginalis*) i do smanjenja koncentracije anaeroba. [54] U istraživanju koje je proveo Aagaard i sur., pokazano je da vaginalni mikrobiom u kasnijoj gestaciji ima više sličnosti negravidnom mikrobiomu nego onom u ranijoj gestaciji. [55][56] Za sve ovo navedeni su različiti uzroci, neki od njih su manjak hormonskih fluktuacija, izostanak menstruacije, promjene u cervikalnoj i vaginalnoj sekreciji.[53] Postoji hipoteza da povišene razine estrogena uzrokuju povećanje vaginalnog glikogena što ide u korist proliferaciji laktobacila. [52] Također smatra se da upravo ti dominantni *Lacobacilli* kasnije naseljavaju gornji gastrointestinalni trakt neonatusa i štite majku od ascendentnih bakterijskih infekcija koje mogu biti uzrok prijevremenog poroda. [56]

3.2. Placentarni mikrobiom

Placenta se također povijesno smatrala sterilnom kao i gornji reproduktivni trakt žene. Danas je dokazana velika raznolikost placentarnog mikrobioma u posteljicama zdravih trudnoća. Istraživanja su pokazala da postoji veća sličnost sa oralnim mikrobiomom nego sa mikrobiomom ostatka urogenitalnog trakta. Aagaard i sur. su u svom istraživanju prikupili 320 placnetarnih uzoraka i usporedili ih sa florom ostatka

ljudskog tijela uključujući usnu šupljinu, kožu i urogenitalni trakt. U placenti su nađeni većinom nepatogene vrste *Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Bacteroides i Fusobacteria*. [57][58] Sama uloga placentarnog mikrobioma još nije upotpunosti poznata.

3.3. Utjecaj promjene mikrobioma na trudnoću i plod

Promjene mikrobioma u trudnoći stvaraju rizike za infekciju koja je glavni rizični čimbenik za prijevremeno prsnuće vodenjaka. Ranije spomenuta sličnost placentarnog i oralnog mikrobioma pokrenula je teoriju o hematogenom širenju i stvaranju rizika za prijevremeni porođaj. [58]

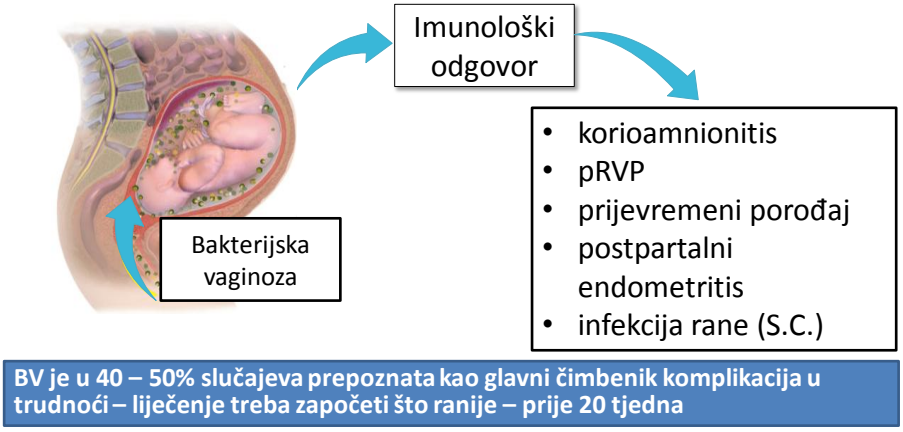
Provedena istraživanja pokušala su utvrditi povezanost vaginalnog, gastrointestinalnog i oralnog mikrobioma i prijevremenog porođaja. [54] Često nađene bakterije kod prijevremeog porođaja uključuju: *Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis, Bacteroides spp., Gardnerella vaginalis i Fusobacterium nucleatum*. [59][60] Ovi mikroorganizmi pokazuju nisku virulenciju, osim ako su nađeni u intrauterinom okolišu. Naprimjer, pokazano je da se *Fusobacterium nucleatum*, inače nepatogeni oralni anaerob, hematogeno širi do placente i uzrokuje povećanu vaskularnu permeabilnost što omogućuje kolonizaciju drugim potencijalnim patogenima kao što je *Escherichia coli*. [61]

Postavlja se pitanje da li stabilnost vaginalnog mikrobioma u kojem vladaju *Lactobacilli* može imati zaštitnu ulogu, spriječavajući širenje bakterija iz donjeg dijela spolnog sustava. Vaginalne infekcije predstavljaju najveći rizični čimbenik za komplikacije tijekom trudnoće kao što su prijevremno prsnuće plodovih ovoja, prijevremeni porođaj i perinatalne infekcije. Bakterijska vaginoza se pojavljuje

u 20% trudnica i povezuje se sa prijevremenim porođajem i spontanim pobačajem. [62] Još nije točno definiran mehanizam, ali smatra se da dolazi do promjena u obrambenom sustavu žene koje onda dopuštaju ascendentnu infekciju. Žene koje imaju smanjeni imunološki odgovor na infekciju nisu u stanju spriječiti ascendenciju bakterija kod jače upale što može dovesti do korioamnionitisa i infekcije ploda. [63] Na drugu stranu, kod žena s pojačanim imunološkim odgovorom dolazi do proizvodnje citokina koji predstavljaju povećani rizik za preuranjene trudove ako mikroorganizmi zahvate koriodecidualni prostor. Hillier i sur. pokazali su da je bakterijska vaginoza značajno povezana sa izolacijom mikroorganizama iz korioamniona, ali nisu definirali bakterijsku vrstu i da li stvarno uzrokuje prijevremeni porođaj u slučaju korioamnijske infekcije. [64]

Trudnice sa bakterijskom vaginozom imaju povišeni rizik za prijevremeno prsnuće vodenjaka i prijevremeni porođaj zbog korioamnitisa. Također je povišen rizik za postpartalni endometritis i infekcije rane. [24]

Upravo zbog ovih prepoznatih rizika kao i činjenica da je u 40 – 50% slučajeva bakterijska vaginoza detektirana kao glavni čimbenik u trudnoći danas se intenzivno raspravlja da li je potrebno liječiti i asimptomatsku infekciju u trudnoći. Danas postoje kvalitetni dokazi da *screening* i liječenje bakterijske vaginoze u visoko rizičnih pacijentica smanjuje stopu kasnih pobačaja i prijevremenih porođaja. Smatra se da je bakterijsku vaginozu potrebno liječiti što je ranije moguće, idealno prije 20 tjedna trudnoće. [65] Slika 3.



Slika 3. Bakterijska vaginoza povezana je sa komplikacijama u trudnoći [66][24]

Infekcija bakterijama *Mycoplasma hominis i Ureaplasma urealyticum* također su povezane sa negativnim ishodima trudnoće. Ovi organizmi kod trudnica i fetusa mogu uzrokovati korioamnionitis, prijevremeni porođaj i postpartalni endometritis. Organizmi su prepoznati putem receptora, koji pokreću proizvodnju citokina i prostaglandina u amnionu, korionu, decidui i miometriju, uzrokujući kontrakcije maternice, dilataciju cerviksa i puknuće plodovih ovoja, omogućujući ulazak ostalih bakterija u maternicu. [67] Prevalencija pozitivnih kultura i bakterijske DNA u koriorecidualnom tkivu je veća nego u amnijskoj tekućini što potvrđuje ideju da mikroorganizmi ascendiraju iz vagine kroz korioamnijski prostor kako bi došli do amnijske šupljine i fetusa. Postoje dokazi da bakterije, uključujući ureaplazmu, mogu kolonizirati endomateričnu šupljinu prije ili u vremenu implantacije. [68] *Ureaplasma* je mikroorganizam koji je najčešće nađen u amniskoj šupljini kod trudnica koje su preuranjeno rodile, s puknućem ovoja ili bez. [69] Izolacija ove

bakterije može klinički biti povezana sa tihom, kroničnom infekcijom ili progresivnom infekcijom.[62]

Intraamnijska infekcija postoji u 40% slučajeva peripartalnog febrilnog stanja i povezana je sa jednom trećinom rane neonatalne sepse. Rizik je veći kod ranije gestacijske dobi i prijevremenog porođaja. Intraamnijska infekcija ovim i drugim mikroorganizmima pokreće imunološku kaskadu otpuštanja prostaglandina, metaloproteaza i proinflamatornih citokina što uzrokuje uterine kontrakcije i remodeliranje kolagena rezultirajući smekšavanjem cerviksa. [70]

Još se ne zna odgovor na pitanje zašto kolonizacija ovim bakterijama uzrokuje komplikacije kod nekih žena, a kod nekih ne. To također pokreće pitanje liječenja. Koga je potrebno liječiti i kada.

4. MOGUĆI UTJECAJ MIKROBIOMA NA NEPLODNOST I ISHODE MEDICINSKI POMOGNUTE OPLODNJE

Uloga vaginalnog mikrobioma u plodnosti i postupcima medicinski pomognute oplodnje nije u potpunosti poznata. Zna se da patogeni kao što su *Mycoplasma, Chlamydia trachomatis i Neisseria gonorrhoeae* mogu uzrokovati neplodnost i subkliničke promjene u mikrobiomu u stanjima bakterijske vaginoze. [71][72]

Danas se intenzivno istražuje uloga bakterijskih biofilmova na putu od rodnice do jajovoda odnosno njihov odnos i utjecaj na intenzivna zbivanja i dinamiku međuodnosa gameta i embrija sa endometrijom tijekom implantacije.

Normalna vaginalna flora u kojoj dominiraju laktobacilne vrste predstavlja podupirući okoliš u impalntacijskom i predimplantacijskom razdoblju. Ne zbog same prisutnosti nego i zbog proizvodnje mliječne kiseline, hidrogenog peroksida i vodikovog radikala. Bakterijska vaginoza se ne povezuje samo sa rizikom za prijevremeni porođaj već i sa rizicima za neplodnost. Nedavno objavljena studija pokazala je da promjena vaginalne mikroflore u vrijeme embriotransfera igra važnu ulogu u uspješnosti postupka in vitro fertilizacije. Dominirajuća laktobacilna flora povezana je sa većom uspješnosti postupka. [73]

Osim same mikroflore ulogu u uspiješnosti implantacije igra i mreža citokina koja je povezana sa intrauterinom infekcijom. Povezanost između infekcije, upale i promjenjene reproduktivne funkcije je poznata od ranije. [74] Ekspresija citokinskih receptora kod embrija omogućuje da citokini i faktori rasta, koji se izlučuju iz jajovoda i epitelnih stanica maternice, utječu na pravilan razvoj embrija i adaptaciju na postojeći okoliš. [75] Na modelima miša dokazano je da Th2 citokini kao što je IL-10 imaju esencijalnu važnost u implantaciji i formaciji trofoblasta. [74] Osim IL-10 važnu

ulogu imaju faktori rasta poput GM-CSF, CSF-1, IGF-1 i citokini IL-4, IL-11 dok drugi faktori rasta poput TNF- α, INF- γ i IL-2 imaju inhibicijski učinak. [76]

Čini se da serumske koncentracije estrogena i progesterona imaju utjecaj na promjenu mikrobioma endometrija što može imati utjecaj na receptivnost endometrija tijekom postupaka medicinski pomognute oplodnje, ali su studije koje istražuju ovu povezanost još uvijek rijetke.

Studije o mikrobiomu i njegove uloga u začeću i održavanju trudnoće su u začetcima. Iako je uložen trud da se izdvoji „normalni“ tj. prihvatljivi mikrobiom još nemamo jasnu definiciju što «normalni» mikrobiom uključuje. Nove informacije na ovom području pridonijeti će rasvjetljavanju mogućeg negativnog utjecaja promjene mikrobioma na implantacijski neupjeh te eventualno omogućiti terapijske intervencije da se on spriječi.

Istraživanja ove kompleksne simbioze su veliki imperativ radi boljeg razumijevanja njihove potencijalne uloge.

5. ZAKLJUČAK

Mikrobiom definiramo kao skup mikroorganizama koji naseljavaju ljudsko tijelo i imaju veliku ulogu u održavanju homeostaze. Spoznaja o ljudskom mikorbiomu postoji već stoljećima. Danas, zbog razvijene tehnologije sekvenciranja, omogućeno nam je istraživanje njegove uloge u zdravlju i bolesti.

Mikrobiom reprodukcijskog trakta sastoji se od aerobnih i anaerobnih bakterija. Najčešće dominiraju bakterije iz roda *Lactobacillus sp..* Disbalans u odnosima bakterijskih zajednica stvara rizike za infekciju i nepovoljne reprodukcijske ishode. Vaginalni mikrobiom mijenja se ovisno o vanjskim čimbenicima, menstruacijskom ciklusu ili hormonskom statusu. Sastav bakterijskih zajednica različit je u različitim etničkim populacijama. Promjene u statusu vaginalne flore povisuje rizike za spolno prenosive bolesti kao i rizike za poslijeoperacijske infekcije nakon ginekoloških operacija.

Promjene vaginalnog mikrobioma povezuju se sa rizicima za prijevremeni porođaj i drugim neželjenim ishodima trudnoće. Pokazano je da i posteljica ima vlastiti mikrobiom. Utjecaj promjene posteljičnog mikrobioma na rizike prijevremenog porođaja intenzivno se istražuju.

Intenzivni razvoj metoda sekvencioniranja dala su nam čitav niz novih znanja no unatoč tome uloga biofilma reprodukcijskog trakta nije nam u potpunosti jasna. Čeka nas dug put u otkrivanju njegove uloge u plodnosti odnosno neplodnosti, trudnoći i općenito u zdravlju i bolesti svake žene.

6. ZAHVALE

Ponajprije zahvaljujem svojoj mentorici, doc.dr.sc Lani Škrgatić, na materijalima i uputama te njezinoj pristupačnosti i trudu prilikom pisanja ovoga rada.

Posebno hvala mojim prijateljima i kolegama.

Najviše zahvaljujem svojoj obitelji, koja mi je bila velika podrška tijekom cijelog studija.

7. LITERATURA

[1] Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey Wegner L, Knight R, “Defining the human microbiome.,” *Nutr. Rev.*, vol. 70 Suppl 1, no. Suppl 1, pp. S38-44, Aug. 2012.

[2] Peterson J, Garges S, Giovanni M, Mcnnes P, Wang L, Schloss JA, i sur., “The NIH Human Microbiome Project,” *Genome Res.*, vol. 19, no. 12, pp. 2317–2323, Dec. 2009.

[3] Franasiak JM, Scott RT, “Introduction: Microbiome in human reproduction,” *Fertil. Steril.*, vol. 104, no. 6, pp. 1341–1343, Dec. 2015.

[4] Dominguez-Bello MG, Castello EK, Contreras M , Magris M, Hidalgo G, Fierer N, i sur., “Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 26, pp. 11971–5, Jun. 2010.

[5] Dobell C, “The Discovery of the Intestinal Protozoa of Man.,” *Proc. R. Soc. Med.*, vol. 13, no. Sect Hist Med, pp. 1–15, 1920.

[6] Cho I, Blaser MJ, “The human microbiome: at the interface of health and disease.,” *Nat. Rev. Genet.*, vol. 13, no. 4, pp. 260–70, Mar. 2012.

[7] Mor A, Driggers PH, Segars JH, “Molecular characterization of the human microbiome from a reproductive perspective,” *Fertil. Steril.*, vol. 104, no. 6, pp. 1344–1350, Dec. 2015.

[8] Witkin SS, Linhares IM, Giraldo P,Best Practice & Research Clinical Obstetrics, and Gynaecology (2007) 21(3) 247-354, “Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation,”*Elsevier*.

[9] Lidbeck A, Nord CE,Clinical Infectious Diseases, “Lactobacilli and the normal human anaerobic microflora,” *1993;16 S181-187*

[10] Ravel J, Gajer P, Abdo Z ,Schneider GM, Koeing SSK, McCulle SL,et al., Proceedings of the National Academy of Scinece, , “Vaginal microbiome of reproductive-age women,” *(2011) 108 Suppl. 1, 4680-4687*

[11] Zhou X, “Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods,” *Microbiology*, vol. 150, no. 8, pp. 2565–2573, Aug. 2004.

[12] Huang B, Fettweis JM, Brooks JP, Jefferson KK, Buck GA,Clinics in Laboratory Medicine, “The changing landscape of the vaginal microbiome,” 34, 747-761

[13] Fettweis JM, Brooks J,Serrano MG, Sheth NU, Girerd PH,Edwards DJ, et al., “Differences in vaginal microbiome in African American women versus women of European ancestry,” *Microbiology (United Kingdom) (2014) 160 2272-2282*

[14] Antonio M,Hawes S, Hilller S, “The Identification of Vaginal Lactobacillus Species and the Demographic and Microbiologic Characteristics of Women Colonized by These Species,” *The Journal of Infectious Diseases (1999) 180(6) 1950-1956*

[15] Stevens-Simon C, Jamison J, Mcgregor JA,Douglas JA,“Racial variation in vaginal pH among healthy sexually active adolescents.,” *Sexually Transmitted Diseases (1994) 21(3) 168-172*

[16] Priestley C, Jones B,Priestley CJ,Jones BM, Dhar J, Goodwin L, et al., , “What is normal vaginal flora?,” *Genitourinary Medicine (1997) 73(3) 230*

[17] Eschenbach D, Patton DL, Hooton TM,Meier AS, Stapleton A, Aura J,i sur., "Effects of vaginal intercourse with and without a condom on vaginal flora and vaginal epithelium," *The Journal of infectious diseases (2001) 183(6) 913-8*

[18] Sobel JD, "Vaginitis," *N. Engl. J. Med.*, vol. 337, no. 26, pp. 1896–1903, Dec. 1997.

[19] Sobel JD, "Bacterial Vaginosis," *Annu. Rev. Med.*, vol. 51, no. 1, pp. 349–356, Feb. 2000.

[20] Donders G, "Diagnosis and management of bacterial vaginosis and other types of abnormal vaginal bacterial flora: a review.," *Obstet. Gynecol. Surv.*, vol. 65, no. 7, pp. 462–73, Jul. 2010.

[21] Brotman RM, "Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective.," *J. Clin. Invest.*, vol. 121, no. 12, pp. 4610–7, Dec. 2011.

[22] Martin DH, "The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease.," *Am. J. Med. Sci.*, vol. 343, no. 1, pp. 2–9, Jan. 2012.

[23] Mendling W, Martius J, Hoyme UB, "S1-Guideline on Bacterial Vaginosis in Gynecology and Obstetrics: Long version - AWMF Guideline, registration no. 015/028, July 2013 Langfassung - AWMF-Register Nr. 015/028, Juli 2013.," *Geburtshilfe Frauenheilkd.*, vol. 74, no. 1, pp. 51–54, Jan. 2014.

[24] Donati L, Di Vico A, Nucci M, Paradisi G,"Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy," *Arch. Gynecol. Obstet.*, vol. 281, no. 4, pp. 589–600, Apr. 2010.

[25] Donders GG, Calsteren KV, Bellen G, Rexbrouck R,Van de Bosch T, Riphagan I, i sur., "Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy.," *BJOG*, vol. 116, no. 10, pp. 1315–24, Sep. 2009.

[26] Guaschino S, De Seta F, Piccoli M, Maso G, Alberico S, “Aetiology of preterm labour: bacterial vaginosis,” *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.*, vol. 113, pp. 46–51, Dec. 2006.

[27] Spiegel CA, Reviews, “Bacterial vaginosis.,” *Am Soc Microbiol*.

[28] Forsum U, Holst E, Larsson P, Vasquez A, Jakobsson T, Mattsby-Baltzer I, “Bacterial vaginosis–a microbiological and immunological enigma,” *Wiley Online Libr,AMPIS*

[29] Amsel R, Totten P, Spiegel CA,Chen KCS,Eschenbach D, Holmes KK, , “Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations,” *American Journal of Medicine (1983) 74(1) 14-22*

[30] Schwebke JR, Hillier SL, Sobel JD, McGregor JA, Sweet RL, “Validity of the vaginal gram stain for the diagnosis of bacterial vaginosis,”*Obstet. Gynecol.*, vol. 88, no. 4, pp. 573–576, Oct. 1996.

[31] Amsel R, P. Totten A, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK, “Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations.,” *Am. J. Med.*, vol. 74, no. 1, pp. 14–22, Jan. 1983.

[32] Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL, “Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation.,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 29, no. 2, pp. 297–301, Feb. 1991.

[33] Spiegel C, Amsel R, Holmes KK, “Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid.,”*Am Soc Microbiol*.

[34] Kalinka J, Laudański T,Hanke W,Wasiela M, “Do microbiological factors account for poor pregnancy outcome among unmarried pregnant women in Poland?,” *Fetal Diagnosis and Therapy (2003) 18(5) 345-352*

[35] H. Wiesenfeld, S. Hillier,Krohn MA, Landers DV, Sweet RL, “Bacterial Vaginosis Is a Strong Predictor of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis Infection,” *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America (2003) 36(5) 663-668*

[36] Dareng EO,Ma B, Famooto A, Adebamowo C,“Prevalent high-risk HPV infection and vaginal microbiota in Nigerian women,” *Epidemiol. Infect.*, vol. 144, no. 01, pp. 123–137, Jan. 2016.

[37] Brotman R, Klebanoff M,Nansel TR,Yu KF,Andrews WW, Zhang J, Schwebke JR, , “Bacterial vaginosis assessed by gram stain and diminished colonization resistance to incident gonococcal, chlamydial, and trichomonal genital infection,” *The Journal of Infectious Diseases (2010) 202(12) 1907-1915*

[38] Cu-Uvin S, Hogan J, “Association between bacterial vaginosis and expression of human immunodeficiency virus type 1 RNA in the female genital tract,” *Clin Infect Dis (2001) 33 894-896*

[39] Cohen CR.Linggapa JR, Baeten JM, Ngayo MO,Spiegel CA,Hong T, i sur., “Bacterial Vaginosis Associated with Increased Risk of Female-to-Male HIV-1 Transmission: A Prospective Cohort Analysis among African Couples,” *PLoS Med.*, vol. 9, no. 6, p. e1001251, Jun. 2012.

[40] Atashili J, Poole C, Ndumbe ,Adimora AA,Smith JS, “Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies,” *AIDS (London, England) (2008) 22(12) 1493-501*

[41] Benning L,Golub ET, Anastos K, French AL,Cohen M, Gilbert D, i sur., “Comparison of Lower Genital Tract Microbiota in HIV-Infected and Uninfected

Women from Rwanda and the US," *PLoS One*, vol. 9, no. 5, p. e96844, May 2014.

[42] Klebanoff S,"Viricidal effect of Lactobacillus acidophilus on human immunodeficiency virus type 1: possible role in heterosexual transmission.," *Journal of Experimental Medicine (1991) 174(1) 289-292*

[43] Hein M, A. Petersen C, Helmig RB, Uldbjerg N, Reinholdt J, "Immunoglobulin levels and phagocytes in the cervical mucus plug at term of pregnancy," *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, vol. 84, no. 8, pp. 734–742, Aug. 2005.

[44] Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA, Sterility of the uterine cavity. Am J Obstet Gynecol, 1967;99:394-6

[45] I. Zervomanolakis, Ott HW, Hadziomerovic D, Mattle V, Seeber BE, Virgolini I, i sur., "Physiology of Upward Transport in the Human Female Genital Tract," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1101, no. 1, pp. 1–20, Feb. 2007.

[46] Mitchell C, Haick A, Nkwopara E,Garcia R, Rendi M, Agnew K, i sur., "Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women," *American Journal of Obstetrics and Gynecology (2015) 212(5) 611.e1-611.e9*

[47] Artley J, Braude P, Cooper P, Reproduction, Surgery: Vaginal squamous cells in follicular aspirates following transvaginal puncture. *academic.oup.com* (available at https://academic.oup.com/humrep/article-abstract/8/8/1272/650862)

[48] Saltes B, Molo M, Binor Z, Radwanska E, "Bacterial contamination after transvaginal aspiration (TVA) of oocytes,"*Springer*.

[49] Pelzer E, Allan J,Cunningham K,Mengersen K, Allan JM, Launchbury T, i sur., "Microbial colonization of follicular fluid: alterations in cytokine expression and

adverse assisted reproduction technology outcomes," *Journal of Reproductive Immunology (2010) 86(1) 30-31*

[50] Cottell E, McMorrow J, Lennon B., M. Fawsey M, Cafferkey M, Harrison RF, "Microbial contamination in an in vitro fertilization-embryo transfer system," *Fertility and sterility (1996) 66(5) 776-780*

[51] Gajer P, Brotman R, Bai G, Sakamoto J,Schutte UME, Zhong X, i sur.,"Temporal dynamics of the human vaginal microbiota," *Sci. Transl. Med.* **4,** (2012).

[52] Romero R ,Hassan SS, Gajer P, Tarca AL,Fadrosh DW, Bieda J, i sur., "The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women,"*Microbiome*, vol. 2, no. 1, p. 4, 2014.

[53] Walther-António MRS,Jeraldo P, Berg Miller ME, Yeoman CJ, Nelson KE,Wilson BA, i sur., "Pregnancy's Stronghold on the Vaginal Microbiome," *PLoS One*, vol. 9, no. 6, p. e98514, Jun. 2014.

[54] Romero R ,Hassan SS, Gajer P, Tarca AL,Fadrosh DW, Bieda J,i sur., "The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term," *Microbiome*, vol. 2, no. 1, p. 18, 2014.

[55] K. Aagaard,Riehle K, Ma J,Segata N, MistrettaTA,Coarfa C, isur., "A Metagenomic Approach to Characterization of the Vaginal Microbiome Signature in Pregnancy," *PLoS One*, vol. 7, no. 6, p. e36466, Jun. 2012.

[56] Prince A, Antony KM, Ma J, Aagaard KM, "The microbiome and development: a mother's perspective," *Seminars in Reproductive Medicine (2014) 32(1) 14-22*

[57] Stout MJ, Conlon B, Landeau M, Lee I, Bower C,Zhao Q, i sur.,“Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations,” *American Journal of Obstetrics and Gynecology (2013) 208(3)*

[58] Aagaard K, Ma J, Antony KM,Ganu R, Petrosino J, Versalovic J,“The placenta harbors a unique microbiome,” *Sci Transl Med. (2014) 6(237) 237ra65*

[59] Mysorekar I, Cao B, “Microbiome in Parturition and Preterm Birth,” *Semin. Reprod. Med.*, vol. 32, no. 01, pp. 050–055, Jan. 2014.

[60] Jefferson KK, “The bacterial etiology of preterm birth,” *Elsevier*.

[61] Fardini Y, Wang X, Temoin S, Nithianantham S, Lee D,Shoham M,i sur., “Fusobacterium nucleatum adhesin FadA binds vascular endothelial cadherin and alters endothelial integrity,” *Mol. Microbiol.*, vol. 82, no. 6, pp. 1468–1480, Dec. 2011.

[62] Waites K, Katz B, Schelonka RL, “Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens,” *Clinical Microbiology Reviews* **18,** 757–789 (2005).

[63] Simhan H, Caritis SN, Krohn MA, Martinez de Tejade B, LandersDV, Hiller SL, “Decreased cervical proinflammatory cytokines permit subsequent upper genital tract infection during pregnancy,” *American journal of obstetrics and gynecology (2003) 189(2) 560-567*

[64] Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA, “A Case–Control Study of Chorioamnionic Infection and Histologic Chorioamnionitis in Prematurity,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 319, no. 15, pp. 972–978, Oct. 1988.

[65] Lamont RF, Nhan-Chang CL, Sobel JD, Workowski K, Conde-Agudelo A, Romero R, “Treatment of abnormal vaginal flora in early pregnancy with clindamycin for the prevention of spontaneous preterm birth: a systematic

review and metaanalysis," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 205, no. 3, pp. 177–190, Sep. 2011.

[66] Denney JM, Culhane JF, "Bacterial vaginosis: a problematic infection from both a perinatal and neonatal perspective.," *Semin. Fetal Neonatal Med.*, vol. 14, no. 4, pp. 200–3, Aug. 2009.

[67] Newton, ER."Chorioamnionitis and intraamniotic infection.," *Clin. Obstet. Gynecol.*, vol. 36, no. 4, pp. 795–808, Dec. 1993.

[68] Andrews WW, Goldenberg RL,Hauth JC, Cliver SP, Conner M, Goepfert AR, "Endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis after spontaneous or indicated preterm versus term delivery," *American Journal of Obstetrics and Gynecology (2005) 193(3) 739-745*

[69] Cassell GH, Davis RO, Waites KB,Brown MB,Marriott PA,Stango S, i sur.,"Isolation of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum from amniotic fluid at 16-20 weeks of gestation: potential effect on outcome of pregnancy.," *Sexually transmitted diseases (1983) 10(4 Suppl) 294-302*

[70] Maymon E, Romero R, Pacora P,Gomez R,Athayde N,Edwin Si sur., "Human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infection," *American Journal of Obstetrics and Gynecology (2000) 183(1) 94-99*

[71] Sunderam S,Kissin DM,Crawford SB, Folger SG, Boulet SL,Warner L, i sur., "Assisted Reproductive Technology Surveillance — United States, 2015," *MMWR. Surveill. Summ.*, vol. 67, no. 3, pp. 1–28, Feb. 2018.

[72] Watkins A, Papenbrock T, Fleming T, "The Preimplantation Embryo: Handle with Care," *Semin. Reprod. Med.*, vol. 26, no. 2, pp. 175–185, Mar. 2008.

[73] Knight S, Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ,“Mechanisms of action of probiotics: Recent advances,” *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 15, no. 2, pp. 300–310, Feb. 2009.

[74] Robertson S, “Control of the immunological environment of the uterus,” *Rev. Reprod.*, vol. 5, no. 3, pp. 164–174, Sep. 2000.

[75] Kane M, Morgan P, Coonan C, “Peptide growth factors and preimplantation development,” *Hum. Reprod. Update*, vol. 3, no. 2, pp. 137–157, Mar. 1997.

[76] Robertson SA, Chin PY, Glynn DJ, Thompson JG, “Peri-Conceptual Cytokines - Setting the Trajectory for Embryo Implantation, Pregnancy and Beyond,” *Am. J. Reprod. Immunol.*, vol. 66, pp. 2–10, Jul. 2011.

8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 12. svibnja 1994. godine u Zagrebu. Pohađala sam Osnovnu školu „Luka“ od 2000. do 2008. u Sesvetama te Opću gimnaziju od 2008. do 2012. također u Sesvetama. Na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu školovala sam se od 2012. do 2018. godine.Aktivno se služim engleskim jezikom. Od 2015. godine imam certifikat iz KPR/AVD tečaja (Hrvatsko društvo za reanimatologiju), a od 2017. i certifikat iz ILS tečaja (Hrvatsko društvo za reanimatologiju).