

MICROBIOTA INTESTINALE, VAGINALE, ENDOMETRIALE: IMPATTO SULLA FERTILITÀ

Alberto Revelli

SCDU 2, Ospedale Sant'Anna, Università di Torino

Background

Il corpo umano è colonizzato da batteri che sono molto più numerosi rispetto al numero delle cellule; tuttavia, solo di recente il microbioma umano ha ricevuto attenzione per il suo ruolo in diversi aspetti fisiopatologici.

Il microbiota è il numero totale di microrganismi simbiotici presenti in un dato distretto corporeo, mentre il microbioma è l'insieme del patrimonio genetico della totalità dei microrganismi di un ambiente definito (Elnashar, 2021). Un elevato numero di batteri non può essere identificato e studiato con i tradizionali metodi di coltura; infatti, la caratterizzazione del microbioma umano è diventata più precisa con la metagenomica, che comprende metodiche che prevedono l'estrazione e la caratterizzazione del genoma dei batteri (fingerprinting, DNA microarrays, targeted sequencing e whole genome sequencing) (Franasiak e Scott, 2015).

Il National Institute of Health (NIH) ha lanciato nel 2007 lo Human Microbiome Project (HMP), che utilizza tecnologie avanzate di sequenziamento per caratterizzare il microbioma umano; da allora il microbioma è stato considerato il nostro "secondo genoma" (Peterson et al, 2009; Franasiak e Scott, 2015). Mentre il nostro genoma ereditario è sostanzialmente stabile per l'intero arco della vita, il microbioma è immensamente diversificato, dinamico e sensibile a influenze esterne; questo lo rende un obiettivo interessante di interventi terapeutici (Flowers e Ellingrod, 2015). Come rivelato dallo HMP, circa il 9% del microbioma umano totale è stato trovato nel tratto riproduttivo femminile ed è probabilmente coinvolto nella fisiologia e nella fisiopatologia della riproduzione assistita (Peterson et al, 2009).

Questo long abstract sintetizza e contestualizza le attuali conoscenze sul microbioma del tratto genitale femminile, approfondendone in particolare l'impatto sulla salute e sulla funzione riproduttiva.

Il microbioma delle vie genitali femminili

Storicamente si credeva che i microbi colonizzassero solo la parte inferiore delle vie genitali femminili; la cervice era considerata una barriera perfetta fra la vagina e il tratto genitale superiore, per il mantenimento della sterilità della cavità uterina. Tuttavia, l'insieme degli studi dimostra che questo tratto è un sistema aperto con un microbiota che gradualmente cambia dagli organi esterni a quelli interni, con una diminuzione del numero dei batteri e una crescente eterogeneità batterica dalla vagina alle ovaie (Moreno et al, 2022).

Il microbioma vaginale svolge un ruolo importante nella protezione della vagina, ed è la prima barriera fra l'ambiente esterno e il tratto superiore dell'apparato riproduttivo. Secondo le conoscenze attuali, nelle donne sane non gravide il microbioma vaginale è dominato da quattro specie di *Lactobacillus*:

L. crispatus, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri* (Ravel et al, 2011). Nel 2011, inoltre, Ravel e collaboratori hanno classificato il microbioma vaginale delle donne in età riproduttiva in 5 distinti Community State Types (CST): quattro di loro (I, II, III e V) sono dominanti in *Lactobacillus* e si trovano più comunemente nelle donne europee e asiatiche; CST-IV, più frequente nelle donne ispaniche e afro-americane, differisce dagli altri a causa dell'aumento di batteri strettamente anaerobi (*Gardnerella*, *Ureaplasma*) e ridotta presenza di *Lactobacillaceae* (Ravel et al, 2011). Il *Lactobacillus spp.*, producendo acido lattico, aiuta a mantenere il pH vaginale inferiore a 4,5 e crea un ambiente inospitale per la crescita dei patogeni (Graver e Wade, 2011).

La composizione del microbiota vaginale presenta differenze etniche e varia nel corso della vita della donna, a seconda di eventi fisiologici come il ciclo mestruale e la gravidanza; è influenzato anche da fattori esterni, come attività sessuale, abitudini igieniche e trattamenti medici (Ravel et al, 2011). La quantità di tempo trascorso in un particolare CST varia individualmente: alcune donne hanno CST stabili, altre transitano spesso fra vari CST e più frequentemente virano verso il CST-IV (Elnashar, 2021).

La vaginosi batterica è un esempio di uno stato alterato del microbioma della vagina, caratterizzato da una deplezione di *Lactobacillus* e diversità aumentata di batteri anaerobi, con microbiota CST-IV. La vaginosi batterica colpisce il 20-50% delle donne in età riproduttiva e rappresenta un fattore di rischio per subfertilità e infertilità; infatti, spesso, nelle donne con problemi di fertilità si osserva una maggiore presenza di batteri specifici (*Atopobium vaginale*, *Ureaplasma vaginae*, *U. parvum*, *U. urealyticum* e *Gardnerella*), insieme a una maggiore abbondanza di *Candida*, ma una riduzione dei batteri del genere *Lactobacillus* (García-Velasco et al, 2020). Si stima che la prevalenza di vaginosi batterica nelle donne infertili sia del 19% (95% CI: 14-25%) (van Oostrum et al, 2013). Di fatto, l'incidenza di vaginosi batterica aumenta nelle pazienti infertili, con ostruzione tubarica e in caso di aborto spontaneo. In particolare, è significativamente più prevalente nelle donne con infertilità tubarica rispetto alle donne con altre cause di infertilità (OR 2.77, 95% CI: 1,62-4,75), ed è associata a un rischio significativamente elevato di aborto preclinico (OR 2.36, 95% CI: 1,24-4,51) (van Oostrum et al, 2013).

Diversi studi confermano come un microbiota vaginale ricco di *Lactobacillus spp.* comporti più risultati positivi con la fecondazione artificiale. Haahr e collaboratori hanno studiato il microbiota di 84 donne sottoposte a fecondazione in vitro e hanno osservato una significativa relazione tra composizione del microbiota e ottenimento della gravidanza: solo il 9% (2/84) delle donne che avevano un microbiota vaginale alterato ha ottenuto una gravidanza, rispetto al 47% (29/84) delle donne con un microbiota vaginale normale (Haahr et al, 2016). Koedooder e collaboratori hanno condotto uno studio prospettico su donne in età riproduttiva sottoposte a fecondazione in vitro, e hanno scoperto che l'impianto dell'embrione avveniva meno frequentemente nelle donne con un microbiota vaginale povero di *Lactobacillus spp.* (Koedooder et al, 2019).

Solo di recente, studi metagenomici hanno dimostrato che il sistema riproduttivo superiore femminile – che comprende le ovaie, le tube di Falloppio e l'utero – non è sterile, ma ospita un microbiota specifico che risulta essere quantitativa-

mente e qualitativamente diverso da quello del tratto genitale inferiore. La cavità uterina contiene una comunità batterica scarsa, nota anche come microbiota a ridotta biomassa (Moreno et al, 2022).

La disbiosi endometriale può causare il fallimento dell’impianto embrionario e problemi di infertilità. L’endometrio a predominanza di *Lactobacillus* è più ricettivo di un endometrio con elevata diversità batterica e bassa proporzione di lattobacilli. Infatti, i risultati ottenuti nel 2016 da Moreno e collaboratori (**Tabella 1**) mettono in evidenza che le donne con un microbiota ricco di *Lactobacillus* hanno una maggiore possibilità di successo nell’impianto embrionario (60%) rispetto alle donne con un microbiota endometriale a bassa proporzione di lattobacilli (23%). Inoltre le donne con un endometrio *Lactobacillus*-dominante tendono ad avere un tasso di aborto spontaneo significativamente inferiore (17%) rispetto alle donne con un microbiota endometriale non dominante in lattobacilli (60%) (Moreno et al, 2016).

Tabella 1. Outcome differenti in base alla composizione del microbiota endometriale (LDM: microbiota <i>Lactobacillus</i> -dominante; NLDM: microbiota non dominante in <i>Lactobacillus</i>) (Moreno et al, 2016).			
Outcome	LDM	NLDM	P value
Tasso di impianto	60.7%	23.1%	0.02
Tasso di gravidanza	58.8%	13.3%	0.02
Tasso di nati vivi	58.8%	6.7%	0.002
Tasso di aborto	16.7%	60%	0.07

Questi risultati differiscono da quelli ottenuti da Frasiak e collaboratori, che non ha evidenziato differenze in termini di gravidanza fra diversi microbiomi endometriali, riportando un tasso di successo della fecondazione *in vitro* indipendente dalla dominanza di *Lactobacillus* (Frasiak et al, 2016).

Fluttuazioni ormonali, in particolare degli estrogeni, sono implicate nella regolazione del microbiota vaginale e nella preparazione dell’endometrio per l’impianto e la gravidanza. Ci si potrebbe attendere che gli ormoni influenzino anche il microbiota endometriale ma, sorprendentemente, è stato rilevato che il microbiota endometriale non cambia sotto l’influenza ormonale nel periodo precedente l’impianto dell’embrione (Moreno et al, 2016).

La presenza nell’endometrio di batteri patogeni quali *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Chryseobacterium*, *Gardnerella*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Stafilococco* e *Streptococco*, insieme alla deplezione di *Lactobacillus spp.*, si associa a una compromissione della funzione riproduttiva (Moreno et al, 2022). Questi dati indicano che il microbiota endometriale dovrebbe essere considerato come possibile causa emergente di fallimento di impianto e/o di aborto. Sono necessari ulteriori studi per analizzare il meccanismo mediante il quale i batteri patogeni potrebbero influenzare l’impianto dell’embrione.

Il microbioma intestinale è considerato un organo endocrino che può influenzare organi distanti e i percorsi biologici associati. Studi recenti suggeriscono che l'omeostasi microbica intestinale sia essenziale per la salute riproduttiva e che le perturbazioni nel microbiota intestinale possano portare a patologie riproduttive (Chadchan et al, 2022).

I prodotti del microbiota intestinale possono essere trasportati attraverso la circolazione e influenzare il tratto riproduttivo femminile (ad esempio, causando anomalie del ciclo mestruale, malattie del tratto genitale ed endometriosi), la funzione ovarica, lo sviluppo embrionale e la salute della donna e del feto. L'intestino può influenzare la formazione dei gameti, lo sviluppo dell'embrione e i processi di fecondazione; l'alterazione della flora intestinale può portare a disfunzione ovarica, PCOS, infertilità ed esiti avversi della fecondazione *in vitro*. In gravidanza, il microbiota intestinale ha un effetto sulla placentazione, sugli esiti della gestazione, sul tasso di nati vivi e sulla crescita, lo sviluppo e la sopravvivenza del feto, sul parto, sul neonato, e sul microbioma infantile (Qi et al, 2021; Venneri et al, 2022).

Conclusioni

Vari studi confermano che sia il microbiota del sistema riproduttivo femminile, sia quello intestinale giocano un ruolo importante nella fisiologia e nella fisiopatologia della riproduzione assistita, con un impatto significativo sulla fertilità. Una più completa conoscenza di questo argomento potrebbe aiutare gli specialisti della riproduzione a migliorare i risultati dei trattamenti.

Bibliografia

- Chadchan SB, Singh V, Kommagani R. Female reproductive dysfunctions and the gut microbiota. *J Mol Endocrinol.* 2022 Aug 4;69(3):R81-R94.
- Elnashar, A.M. Impact of endometrial microbiome on fertility. *Middle East Fertil Soc J* 26, 4 (2021).
- Flowers SA, Ellingrod VL. The Microbiome in Mental Health: Potential Contribution of Gut Microbiota in Disease and Pharmacotherapy Management. *Pharmacotherapy.* 2015 Oct;35(10):910-6. doi: 10.1002/phar.1640.
- Franasiak JM, Scott RT Jr. Reproductive tract microbiome in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2015 Dec;104(6):1364-71.
- Franasiak JM, Werner MD, Juneau CR, Tao X, Landis J, Zhan Y, Treff NR, Scott RT. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Jan;33(1):129-36.
- García-Velasco JA, Budding D, Campe H, Malfertheiner SF, Hamamah S, Santjohanser C, Schuppe-Koistinen I, Nielsen HS, Vieira-Silva S, Laven J. The reproductive microbiome - clinical practice recommendations for fertility specialists. *Reprod Biomed Online.* 2020 Sep;41(3):443-453.
- Graver MA, Wade JJ. The role of acidification in the inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by vaginal lactobacilli during anaerobic growth. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2011 Feb 17;10:8. doi: 10.1186/1476-0711-10-8.
- Haahr, T., Jensen, J.S., Thomsen, L., Duus, L., Rygaard, K., Humaidan, P. Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients. *Hum. Reprod.* 2016; 31: 795-803.
- Koedooder, R., Singer, M., Schoenmakers, S., Savelkoul, P.H.M., Morré, S.A., de Jonge, J.D., Poort, L., Cuypers, W.J.S.S., Beckers, N.J.M., Broekmans, F.J.M., Cohlen, B.R., den Hartog, J.E., Fleischer, K., Lambalk, C.B., Smeenk, J.M.J.S., Budding, A.E., Laven, J.S.E. The vaginal microbiome as a predictor for outcome of in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection: a prospective study. *Hum. Reprod.* 2019; 34: 1042-1054
- Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martínez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, Alonso R, Alamá P, Remohí J, Pellicer A, Ramon D, Simon C. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Dec;215(6):684-703.
- Moreno I, Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Bahçeci M, Barrionuevo MJ, Taguchi S, et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome.* 2022 Jan 4;10(1):1.

- Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, et al; NIH HMP Working Group. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009 Dec;19(12):2317-23.
- Qi X, Yun C, Pang Y, Qiao J. The impact of the gut microbiota on the reproductive and metabolic endocrine system. *Gut Microbes.* 2021 Jan-Dec;13(1):1-21.
- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, Karlebach S, Gorle R, Russell J, Tacket CO, Brotman RM, Davis CC, Ault K, Peralta L, Forney LJ. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Mar 15;108 Suppl 1(Suppl 1):4680-7.
- van Oostrum N, De Sutter P, Meys J, Verstraelen H. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2013 Jul; 28(7):1809-15.
- Venneri MA, Franceschini E, Sciarra F, Rosato E, D'Ettorre G, Lenzi A. Human genital tracts microbiota: dysbiosis crucial for infertility. *J Endocrinol Invest.* 2022 Jun;45(6):1151-1160.

MICROBIOTA, INFIAMMAZIONE E DOLORE NELLA DONNA



**“L'essenziale
è invisibile agli occhi”**

*(Antoine de Saint-Exupéry,
Il piccolo Principe)*

MILANO 13 settembre 2023

**ATTI E APPROFONDIMENTI
DI FARMACOLOGIA**

A cura di Annamaria Colao, Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini

P R O G R A M M A

08:45-09:00 Presentazione del corso e benvenuto ai partecipanti
Annamaria Colao, Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini

09:00-11:05 Microbiota intestinale e salute della donna: lo scenario chiave in dieci letture - Parte prima

Introducono: Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini, Linda Vignozzi

09:00-09:25 **Microbiota intestinale: dalla ricerca alla rivoluzione nella pratica clinica**
Vincenzo Stanghellini (Bologna)

09:25-09:50 **Microbiota intestinale e contraccezione ormonale**
Giovanni Grandi (Modena)

09:50-10:15 **Microbiota intestinale e sindrome metabolica**
Annamaria Colao (Napoli)

10:15-10:40 **Microbiota intestinale e disendocrinie**
Linda Vignozzi, Elisa Maseroli (Firenze)

10:40-11:05 **Microbiota intestinale, bioritmi e dolore**
Alessandra Graziottin (Milano)

11:05-11:30 **Coffee-break**

11:30-13:00 Tavola rotonda: Microbiota e metabolismo ormonale

Moderatori: Giovanni Grandi, Anna Maria Paoletti

11:30-11:45 **Adolescenti, junk food, disbiosi e policistici ovarica: quali legami**
Alessandra Graziottin (Milano)

11:45-12:00 **Disbiosi ed endometriosi**
Silvia Baggio (Verona)

12:00-12:15 **Microbiota vulvovaginale e contraccezione ormonale**
Angela Cuccarollo (Verona)

12:15-12:30 **Microbiota vulvovaginale e testosterone: quali relazioni**
Elisa Maseroli (Firenze)

12:30-12:45 **Microbiota intestinale e terapie ormonali sostitutive**
Anna Maria Paoletti (Cagliari)

12:45-13:00 **Discussione**

13:00-13:45 **Lunch**

13:45-15:50 Microbiota intestinale e salute della donna: lo scenario chiave in dieci letture - Parte seconda

Introducono: Sabrina Giglio, Filippo Murina, Alberto Revelli

13:45-14:10 **Microbiota e genomica**
Sabrina Giglio (Cagliari)

14:10-14:35 **Microbiota intestinale, vaginale, endometriale: impatto sulla fertilità**
Alberto Revelli (Torino)

- 14:35-15:00 **Disbiosi e gravidanza**
Nicoletta Di Simone (Milano)
- 15:00-15:25 **Disbiosi: la sfida della candidiasi recidivante vaginale**
Filippo Murina (Milano)
- 15:25-15:50 **Probiotici pre- e post-operatori e outcome chirurgico**
Stefano Uccella (Verona)

15:50-16:50 Tavola Rotonda: Disbiosi uroginecologiche e infezioni recidivanti. Con flash sull'igiene intima

Moderatori: Nicoletta Di Simone, Filippo Murina

- 15:50-16:05 **Disbiosi intestinale e biofilm patogeni nelle cistiti**
Daniele Grassi (Modena)
- 16:05-16:20 **Herpes recidivante, HPV vulvovaginale e disbiosi: quale legame**
Francesco De Seta (Trieste)
- 16:20-16:35 **Microbiota vulvovaginale e perineale: ruolo dell'igiene intima**
Alice Guarano (Milano)
- 16:35-16:50 **Discussione**

16:50-19:05 Tavola Rotonda: Disbiosi, menopausa e impatto clinico

Moderatori: Alessandra Graziottin, Francesco De Seta, Stefano Uccella

Parte prima - Dopo un tumore al seno: come curare la sindrome genitourinaria della menopausa

- 16:50-17:05 **Microbiota vaginale e terapie biofisiche**
Filippo Murina (Milano)
- 17:05-17:20 **Atrofia, disbiosi vulvovaginale e ossigenoterapia**
Maggiorino Barbero (Torino)
- 17:20-17:35 **Disbiosi e atrofia vulvovaginale / GSM: ruolo dell'ospemifene**
Dario Recalcati (Milano)
- 17:35-17:50 **Disbiosi vulvovaginale e riabilitazione uroginecologica**
Fabiana Giordano (Napoli)

Parte seconda - Post menopausa: disbiosi e fragilità

- 17:50-18:05 **Disbiosi e fragilità: inquadramento generale**
Roberta Scairati (Napoli)
- 18:05-18:20 **Diagnostica integrata per sarcopenia e osteopenia**
Antonio Gianluca Castellaneta (Milano)
- 18:20-18:35 **I probiotici come alleati sistemici anti-fragilità**
Francesco De Seta (Trieste)
- 18:35-18:50 **Probiotici, integratori e strategie anti-age**
Alessandra Graziottin (Milano)

- 18:50-19:05 **Discussione**

-
- 19:05-19:15 **Conclusioni e compilazione questionario ECM**

Presentazione	<i>Pag. 06</i>
Ringraziamenti	<i>Pag. 09</i>
Microbiota intestinale: dalla ricerca alla rivoluzione nella pratica clinica	<i>Pag. 10</i>
Microbiota intestinale e disendocrinie	<i>Pag. 15</i>
Microbiota intestinale, bioritmi e dolore	<i>Pag. 19</i>
Adolescenti, junk food, disbiosi e policistici ovarica: quali legami	<i>Pag. 27</i>
Endometriosi e disbiosi	<i>Pag. 39</i>
Microbiota vulvo-vaginale e contraccezione ormonale	<i>Pag. 45</i>
Microbiota vulvovaginale e testosterone: quali relazioni	<i>Pag. 57</i>
Microbiota intestinale e terapie ormonali sostitutive	<i>Pag. 61</i>
Microbiota e genomica	<i>Pag. 65</i>
Microbiota intestinale, vaginale, endometriale: impatto sulla fertilità	<i>Pag. 69</i>
Disbiosi e gravidanza	<i>Pag. 74</i>
Disbiosi: la sfida della candidiasi recidivante vaginale	<i>Pag. 79</i>
Probiotici pre- e post-operatori e outcome chirurgico	<i>Pag. 82</i>
Disbiosi intestinale e biofilm patogeni nelle cistiti	<i>Pag. 86</i>
Herpes recidivante, HPV vulvovaginale e disbiosi: quale legame	<i>Pag. 92</i>
Microbiota vulvovaginale e perineale: ruolo dell'igiene intima	<i>Pag. 96</i>
Microbiota vaginale e terapie biofisiche	<i>Pag. 102</i>
Atrofia vaginale da carenza estrogenica: trattamento coniugato con ossigeno normobarico e acido ialuronico	<i>Pag. 105</i>

Disbiosi vulvovaginale e sindrome genitourinaria della menopausa: ruolo dell'ospemifene	<i>Pag. 109</i>
Disbiosi vaginale: ruolo della riabilitazione uroginecologica	<i>Pag. 112</i>
Disbiosi e fragilità nella donna	<i>Pag. 114</i>
I probiotici come alleati sistemici anti-fragilità	<i>Pag. 119</i>
Probiotici, integratori e strategie anti-age: focus sui connettivi	<i>Pag. 125</i>

APPROFONDIMENTI DI FARMACOLOGIA

Microbioma intestinale: evoluzione dei metodi di studio e indicazioni per il clinico	<i>Pag. 135</i>
Microbiota vaginale e disbiosi permissivi	<i>Pag. 143</i>
Regolazione del dolore attraverso il microbiota intestinale: potenziali meccanismi e strategie di intervento	<i>Pag. 151</i>
Disbiosi e PCOS: ruolo dell'alfa-lattoalbumina	<i>Pag. 161</i>
Dolore genitale e sessuale dopo il parto: il ruolo del timolo nell'igiene intima	<i>Pag. 174</i>