

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
en
***Biología y Tecnología Aplicada a la Reproducción
Humana Asistida***

**MICROBIOTA DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO EN
PATOLOGÍAS ASOCIADAS A LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

Autor: Aitor Jauregi Urrutia
Tutor: Fernando Bronet Campos

Alcobendas, Septiembre 2022

ÍNDICE

Resumen.....	3
Abstract.....	3
1. Introducción.....	4
1.1. Microbiota	4
1.2. Microbiota del aparato reproductor femenino.....	4
1.3. Alteración de la microbiota	6
2. Objetivos.....	6
3. Métodos.....	6
3.1. Búsqueda bibliográfica.....	6
3.2. Consideraciones éticas.....	7
4. Resultados.....	7
4.1. Obesidad.....	7
4.2. Baja reserva.....	9
4.3. Cáncer de cérvix.....	11
4.4. Endometriosis.....	12
4.5. Síndrome de Ovario Poliquístico.....	13
5. Discusión de los resultados	
Estrategias para la estabilización de la microbiota.....	15
6. Conclusiones.....	17
7. Bibliografía.....	18

RESUMEN

La disbiosis vaginal está caracterizada por un desequilibrio en la microbiota vaginal, y está asociada a varias patologías ginecológicas y reproductivas. Normalmente tiene una tasa de recurrencia muy elevada y los tratamientos existentes no consiguen solventar la condición. Existen múltiples perfiles de microbiota, y se pueden clasificar de muchas maneras. La más utilizada es la clasificación por especie predominante, y se realiza mediante técnicas de secuenciación de nueva generación: amplificando, secuenciando y cotejando las secuencias en bases de datos genéticos. La microbiota juega un papel fundamental en el riesgo y desarrollo de enfermedades que afectan la reproducción. En este trabajo analizaremos cinco patologías y su relación con la microbiota vaginal, comparando la microbiota de mujeres sanas y de las enfermas. Se analizan: la obesidad, la baja reserva, el cáncer de cérvix, la endometriosis y el síndrome de ovario poliquístico. También se estudiará el trasplante de microbiota vaginal como solución a la disbiosis vaginal.

ABSTRACT

Vaginal dysbiosis is characterized by an unbalanced vaginal microbiota and is associated with various gynecological and reproductive pathologies. It usually has a very high recurrence rate and existing treatments fail to resolve the condition. There are multiple microbiota profiles, and they can be classified in many ways. The classification by predominant species is the most used, currently it is carried out using new generation sequencing techniques: amplifying, sequencing and collating the sequences in genetic databases. The microbiota plays a fundamental role in the risk and development of diseases that affect reproduction. In this work we will analyze five pathologies and their relationship with the vaginal microbiota, comparing the microbiota of healthy and sick women. Analyzed: obesity, poor ovarian insufficiency, cervical cancer, endometriosis and polycystic ovary syndrome. Transplantation of vaginal microbiota will also be studied as a solution to vaginal dysbiosis.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Microbiota

La microbiota es el conjunto de microorganismos que conviven simbióticamente en los diferentes órganos de los seres vivos. La microbiota humana se establece al nacer y se equilibra en los primeros dos-tres años de vida. Durante la vida, la composición bacteriana se incrementa en diversidad y complejidad, alcanzando el máximo en la edad adulta, con miles de especies formándola [1]. El ambiente al que está sometida la microbiota también influye en su composición. Este ambiente puede ser determinado por varios factores, como la dieta, el consumo de drogas, como el alcohol y el tabaco, uso de antibióticos, estado inmunológico, etc. [2]. El microbioma es el conjunto de microorganismos (bacterias, virus y hongos) y las condiciones ambientales que lo forman.

Este microecosistema juega un papel importante en la susceptibilidad de enfermedades a lo largo de la vida, por ejemplo una composición diferente en la microbiota intestinal podría desencadenar enfermedades intestinales crónicas; y lo mismo puede darse en otros órganos, como la piel (por ejemplo, psoriasis), patologías neuropsiquiátricas, incluso en el aparato reproductor. Es por ello, que se utilizan términos contrapuestos para referirse al estado de la microbiota: “óptima/subóptima”, “equilibrada/desequilibrada” o “eubiosis/disbiosis” [3].

1.2. Microbiota del aparato reproductor femenino

La microbiota más estudiada en el aparato reproductor femenino, es la relativa a la zona vulvo-vaginal. La vulva es la zona transicional entre el exterior y la vagina, y la forman el labio mayor, el labio menor, el clítoris, el himen y el inicio de la vagina. La microbiota en esta zona puede incluir *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y hongos como *Candida*; pero con diferentes composiciones en cada caso. Debido a la proximidad de la vulva al orificio anal, uretral y vaginal esta continuamente expuesta a patógenos oportunistas, por lo que el pH de esta zona está acidificada (pH 3,8-4,2) para evitar colonizaciones [4].

Por otro lado, la vagina posee un ecosistema dinámico y cambiante, ya que está delicadamente equilibrado y se auto-regula. Varios factores extrínsecos afectan en el mencionado equilibrio: la actividad sexual, el embarazo y el nacimiento de un hijo, antibióticos, la higiene (y los productos utilizados), niveles hormonales, factores menstruales y la dieta. La microbiota del aparato reproductor femenino, está clasificada en cinco tipos de estados comunitarios (del inglés, CST: *Community State Types*). Las tres primeras (CST-I, CST-II y CST-III) están clasificadas como óptimas y se encuentran en el 73% de las mujeres y están caracterizadas por la predominancia de uno de los cuatro *Lactobacillus spp.* más comunes (*L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri* y *L. jensenii*). Las CST restantes (CST-IV y CST-V) se consideran subóptimas, ya que cuentan con una baja concentración de *Lactobacillus* y por ende, una predominancia de bacterias anaeróbicas que no son *Lactobacillus*

como, *Prevotella spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Sneathia vaginalis*, *Atopobium vaginae* y *Megasphaera spp.* Esta CST es más susceptible a las enfermedades, como la bacteriosis vaginal por *Streptococos* de tipo B o candidiasis. Esta situación se da ya que las especies de *Lactobacillus* producen ácido láctico que acidifica el entorno (pH <4,5), compiten por los nutrientes y recursos e influyen en la conducta de las células inmunitarias. Además, el epitelio vaginal se renueva cada cuatro horas, proveyendo de células muertas a la microbiota [4].

La creciente evidencia demuestra la presencia de microbiota no solo en la vagina, si no en la zona superior del aparato reproductor femenino, incluyendo los ovarios, las trompas de Falopio y el útero (zonas que se consideraban estériles en un principio) [5]. La Figura 1 recopila los diferentes géneros de bacterias, así como características de ciertos órganos, como el tamaño y el pH [6].

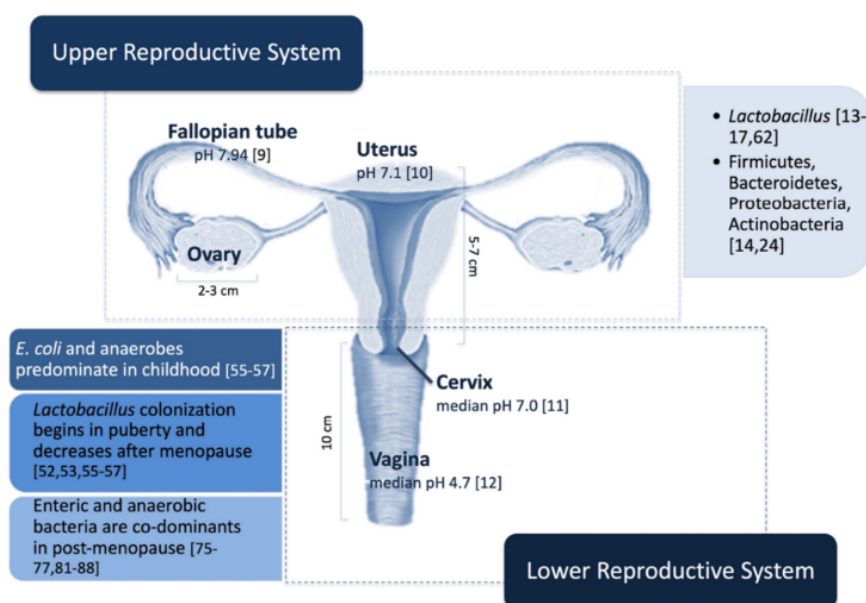


Figura 1. El aparato reproductor femenino en condiciones fisiológicas no es estéril, pero alberga una microbiota específica. La parte superior, lo cual incluye útero, trompas de Falopio y ovarios, tiene 10.000 veces menos concentración de microorganismos que la parte inferior del aparato (cérvix, vagina y zona exterior). Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria y Actinobacteria son el filo más abundante, siendo el género *Lactobacilli* el más representado. En la zona inferior, el género *Lactobacilli* representa más del 99% de la microbiota (en casos normales) y en la zona superior no llega al 1%. La microbiota vaginal sufre fluctuaciones debido al estilo de vida, fase menstrual, la edad y factores ambientales [6].

Estos microorganismos contribuyen al mantenimiento del aparato, protegiéndolo de infecciones. Las alteraciones en la microbiota podrían desencadenar enfermedades ginecológicas severas que pueden afectar directa o indirectamente en la propia fertilidad, enfermedades como infecciones, endometriosis crónica, enfermedad inflamatoria pélvica, incluso cánceres ginecológicos [7].

1.3. Alteraciones en la microbiota

En los últimos años, los estudios sobre la infertilidad se han centrado en la calidad ovocitaria o embrionaria o en el estado del endometrio. Se denomina fallo de implantación cuando una mujer con buena calidad ovocitaria, no consigue llegar a gestar. En estos casos tras analizar que no se trata de ninguna otra patología, la infertilidad idiopática, se observó una mejora importante en las tasas de embarazo después de la administración de antibióticos. Por lo que podemos atribuir a la microbiota del aparato reproductor femenino, un papel esencial en el desarrollo intrauterino del embrión [8]. La disbiosis es un estado de la microbiota vaginal en el que se da un desequilibrio y hay un sobrecrecimiento de algún microorganismo patógeno. Factores tanto ambientales como internos pueden provocar la disbiosis, y es una condición con una gran tasa de recurrencia. Además, puede ocasionar complicaciones tanto en la salud reproductiva como en la salud general de la persona que lo padece. En este trabajo nos centraremos en la disbiosis vaginal.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal del trabajo bibliográfico a desarrollar dentro del Trabajo de Fin de Máster fue realizar la búsqueda de diferentes artículos científicos relacionados con el tema a tratar, especialmente los trabajos experimentales que comparan la microbiota de una mujer sana control con una afectada por la patología a estudiar y su asociada disbiosis.

3. MÉTODOS

3.1. Búsqueda bibliográfica

Para la realización de este Trabajo de Fin de Máster, se ha planificado una búsqueda bibliográfica con el objetivo de recoger los artículos científicos más importantes sobre el tema en cuestión, la diferente conformación de la microbiota vaginal en diferentes patologías que suelen estar asociadas a problemas de reproducción.

La búsqueda de artículos se ha hecho en inglés ya que es el idioma en el que más se publican los artículos científicos, aunque ciertos artículos están en idioma español. Para encontrar los artículos en inglés, se ha consultado los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS), herramienta que proporciona el término de interés en inglés y en su forma documental. Dichos términos denominados MeSH (del inglés, *Medical Subject Headings*), mejoran la eficacia de búsqueda. Han sido utilizadas todas las bases de datos disponibles en el catálogo que ofrece la Universidad Europea (Biblioteca CRAI Dulce Chacón), en las que encontramos bases de datos como, MEDLINE Complete, Science Citation Index, Scopus... Se han reducido los resultados de búsqueda, filtrándolos por años, desde 2019 hasta 2022.

Considerando el objetivo del trabajo, se han buscado artículos relacionados con las siguientes palabras clave: *microbiota, obesity, Polycystic Ovary Syndrome, Cervical Intraepithelial Neoplasia, poor ovarian insufficiency, endometriosis, infertility, Pregnancy...* Para concretar más la búsqueda, se han utilizado operadores booleanos para unir términos, como por ejemplo, “*microbiota AND endometriosis*”.

3.2. Consideraciones éticas

Las nuevas líneas de investigación que hacen uso de material biológico humano requieren una revisión de las consideraciones éticas, las cuales se deben tener en consideración en cada caso en particular. En este trabajo bibliográfico, las consideraciones a tener en cuenta son las asociadas a la privacidad de cada paciente analizado en los diferentes estudios, recogidas en el consentimiento informado de cada una. Al tratarse de un tema controvertido, no se ha consensado una ley universal, por lo tanto, cada país o región tiene una legislación determinada respecto a la investigación con material biológico humano.

4. RESULTADOS

Se han leído y analizado más de 25 artículos para realizar este trabajo, con una media de 3-4 artículos por cada patología. Se han descartado los estudios anteriores a 2019 y los que no contienen la información deseada. Se han seleccionado los que realizan una comparación directa entre la microbiota de mujeres sanas y mujeres con la patología a analizar. Después, de todos los artículos aptos, se ha escogido uno de referencia para cada patología. Estos son los resultados obtenidos:

4.1. Obesidad

La obesidad se ha convertido en un problema mundial en las últimas décadas, con proyecciones para 2025 con 1 de cada 5 mujeres obesa (IMC 30-40 kg/m²), y 1 de cada 10 obesa mórbida (IMC +40 kg/m²). Los problemas reproductivos relacionados a la obesidad pueden ser numerosas: trastornos menstruales, anovulación, síndrome de ovario poliquístico, infertilidad, aborto de repetición, parto pretérmino, complicaciones obstétricas, embarazo ectópico, etc. Aun así, no se conoce en su totalidad cómo la obesidad provoca las mencionadas afecciones ginecológicas.

Para conocer el efecto que el Índice de Masa Corporal provoca en la microbiota vaginal, nos centraremos en el artículo de Raglan *et al.*, donde comparan las microbiotas vaginales de 109 mujeres: 42 no-obesas y 67 obesas [9]. Para equiparar las personas examinadas, todas eran nulíparas, no tenían diferencias significativas en edad (28-65 años), raza o estado menstrual, y no habían tomado antibióticos recientemente. Además, de todas las mujeres, 27 se sometieron a una cirugía bariátrica, y se analizó la microbiota de estas mujeres 3 meses y 6 meses después de la intervención. El análisis de la microbiota se realizó mediante la secuenciación del gen 16S del ARN

ribosómico. Para organizar los resultados, se agruparon los diferentes Microbiomas Vaginales (VMB, del inglés, *Vaginal MicroBiome*) en tres grupos:

- Lactobacillus-dominante: predomina el género *Lactobacillus*, y está asociado a un microbioma adecuado y de buena calidad.
- Gardnerella-dominante: predomina el género *Gardnerella*, y existe poco *Lactobacillus*, está asociado a un microbioma de calidad media.
- VMB de alta diversidad: *Lactobacillus* y *Gardnerella* aparecen en una pequeña concentración y existe una diversidad de bacterias anaeróbicas muy elevadas. Se considera un microbioma de baja calidad.

Una vez analizados todos los microbiomas, los resultados fueron los siguientes: de las mujeres no-obesas, el 61,2% pertenecía al grupo de *Lactobacillus*-dominante, un 23,9% al grupo de *Gardnerella*-dominante, y un 14,9% al grupo de alta diversidad. En cambio, en el subgrupo de las mujeres obesas la mayoría (42,8%) pertenecían al grupo de alta diversidad (estipulado como un microbioma de baja calidad), el 28,6% pertenecía al *Lactobacillus*-dominante y el 28,6% restante al grupo de predominancia de *Gardnerella* (Figura 2). Esta división cuenta con un p-valor inferior a 0,001 por lo que es significativa. También se analizaron los grupos dependiendo de si las mujeres eran diabéticas o no, o si eran resistentes a la insulina, pero los resultados no eran significativos entre grupos [9].

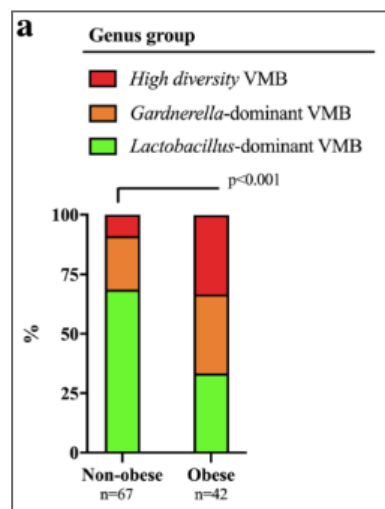


Figura 2. La prevalencia del grupo *Lactobacillus*-dominante es inferior en el grupo obeso comparado con el no-obeso ($p<0,001$).

Al analizar también el microbioma post-intervención de las sometidas a la cirugía bariátrica, se observó, un aumento de los microbiomas agrupados en *Lactobacillus*-dominante, a medida que pasa el tiempo. De la misma forma disminuye el IMC de las pacientes. En el caso de las pacientes que no consiguieron adelgazar con la cirugía, tampoco pudieron mejorar su calidad del microbioma vaginal, y por tanto, su salud reproductiva. (Figura 3)

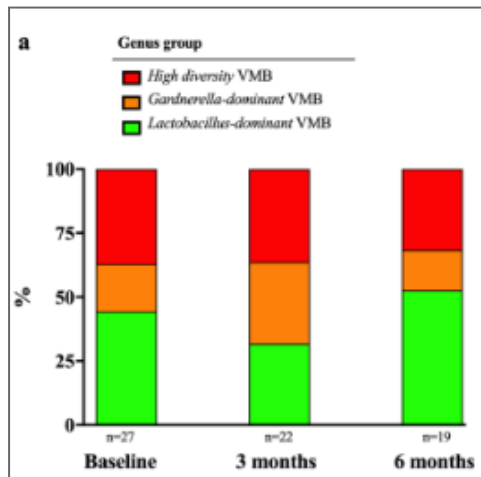


Figura 3. Aumento de mujeres pertenecientes al grupo de *Lactobacillus*-dominante. De 37% de base, a 31,8% en tres meses y finalmente a 52,6% a 6 meses de la intervención.

4.2. Baja reserva

La baja reserva o la insuficiencia prematura ovárica, es una condición médica en la cual los folículos ováricos se agotan y dejan de funcionar normalmente en mujeres menores de 40 años. Las manifestaciones clínicas son muy diversas dependiendo del caso, incluyen: amenorrea, dismenorrea, síndrome perimenopáusico prematuro, desajustes hormonales, etc. También puede afectar en el estado psicológico y la calidad de vida de la mujer afectada. Incluso incrementa el riesgo de osteoporosis y trastornos cardiovasculares y neurológicos. La etiología de dicha condición no está clara aún, pero los principales son el origen genético, el autoinmune, el iatrogénico y el derivado por contaminantes (tanto ambientales como por un estilo de vida insalubre) entre otros. Aun así, a la mitad de las personas diagnosticadas con una baja reserva se les atribuye una etiología idiopática. Por lo tanto, considerando los efectos adversos de esta condición en la salud reproductiva y general de la persona afectada, es de gran importancia estudiarla [10].

Varias investigaciones han empezado a prestar atención en el impacto que el microbioma tiene en la función reproductiva endocrina femenina. Utilizaremos la investigación de Wen *et al.* [10] como guía, en la que comparan las características principales y la salud reproductiva de 30 mujeres con baja reserva y 26 mujeres con una reserva normal, analizando la microbiota vaginal de cada una de ellas. No se hallaron diferencias significativas en la edad y el IMC de las mujeres estudiadas, ni tampoco en otras características demográficas como, el estilo de vida, historial reproductivo, ni en la escala HAD (del inglés, *Hospital Anxiety and Depression*). La identificación de cada microorganismo se realizó mediante la secuenciación del gen 16S del ARN ribosómico y comparándolas en una base de datos genómica.

En el estudio se han encontrado diferencias significativas, tanto en la composición y la función metabólica de la microbiota vaginal entre ambos grupos. Como se menciona en la introducción, la microbiota vaginal se puede clasificar en diferentes tipos de estados (CST), el CST-IV está asociado a una concentración baja de *Lactobacillus* y a una microbiota anómala. En la Figura 4 podemos diferenciar y comparar los dos grupos de estudio dependiendo del tipo de CST.

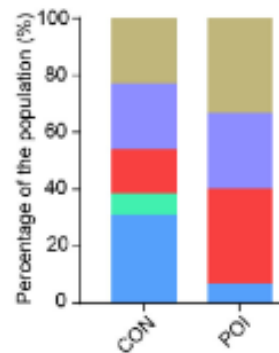


Figura 4. Las diferentes proporciones de CST en cada grupo de estudio. El rojo representa el CST-IV, lo cual indica una baja concentración de *Lactobacillus*. Se puede apreciar un mayor porcentaje en la columna POI (*Premature Ovarian Insufficiency*) (33,33%) frente al grupo control (CON) (15,38%). El resto de los colores representan una predominancia de *Lactobacillus* (CST-I, CST-II, CST-III) [10].

En el estudio también se analizaron diferentes rutas metabólicas para ver si se daban de forma anómala en el caso de las mujeres con baja reserva ovárica. Se demostró una diferencia significativa (p valor menor que 0,05) en 14 rutas metabólicas de la microbiota. Como por ejemplo, la degradación anaerobia de la alantoína, la fermentación homoláctica, la asimilación de formaldehído, etc. (Figura 5). [10]

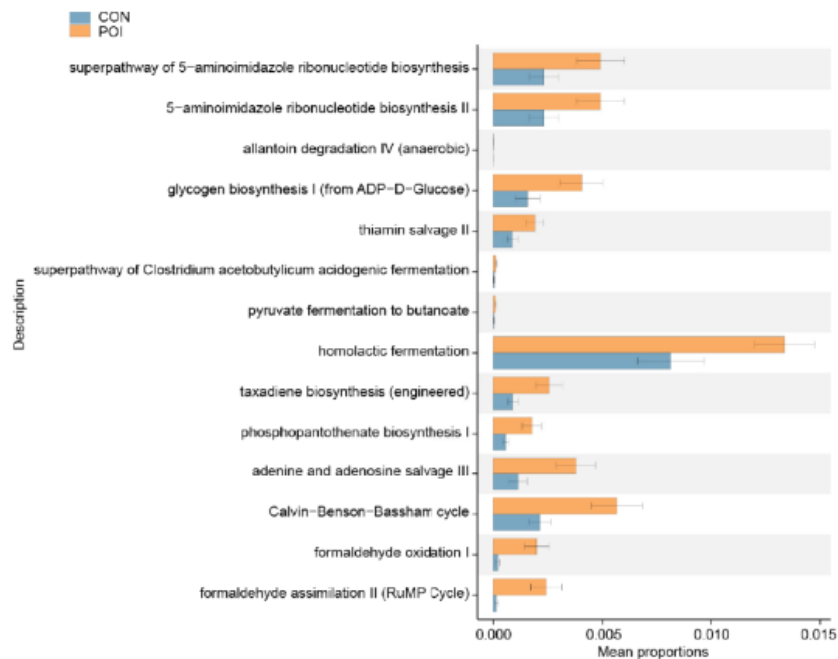


Figura 5. Diferencias significativas en la actividad de diferentes rutas metabólicas asociadas a la interacción entre la microbiota y el aparato reproductor femenino. En naranja la actividad en los casos de baja reserva (POI) ; y en azul, la actividad de mujeres con una reserva sana o control (CON) [10].

4.3. Cáncer de cérvix

El cáncer de cérvix (CC) es la cuarta neoplasia maligna más frecuente entre las mujeres en el mundo, y es un serio problema de salud pública. Una infección persistente por el Virus del Papiloma Humano (VPH) es el principal factor para el desarrollo del CC en el 99,7% de los casos. Aunque el 90% de las infecciones de este virus son transitorias y desaparecen sin provocar complicaciones severas. La probabilidad de que una mujer contraiga el VPH en algún momento de su vida es del 80%, pero de que trascienda a un CC es de 0,6%. Además, para desarrollar la neoplasia maligna son necesarios otros factores adicionales, entre ellos: el tipo de VPH infectante, la inmunidad individual, el uso de hormonas anticonceptivas, el uso de preservativo, el historial menstrual y reproductivo, estilo de vida, etc. [11]

Recientes estudios aseguran una significativa relación entre la microbiota vaginal y los cánceres ginecológicos; ya que la composición puede influir en la respuesta inmune local y la eliminación del VPH. La microbiota vaginal con predominancia de Lactobacilos suele mostrar mejor capacidad protectora frente a infecciones oportunistas, porque al sintetizar ácido láctico, el entorno está acidificado protegiendo de bacterias anaerobias y virus, y evitan la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) las cuales favorecen la oncogénesis en el cérvix. [11]

Por lo tanto, la disbiosis o desequilibrio en la microbiota vaginal puede conllevar a patologías severas, por ejemplo, la microbiota con predominancia de *Gardnerella vaginalis* se dan varios factores que favorecen la infección por parte del VPH. *G. vaginalis* es capaz de sintetizar la enzima sialidasa, un compuesto que degrada el mucus vaginal, rompiendo las uniones entre las glicoproteínas (la mucina) que lo forman; y la mucosa es la primera barrera física entre el lumen y el epitelio de la vagina. Además, las bacterias que pertenecen al subtipo CST-IV (microbiota anómala), suelen secretar ácido butírico, el cual puede modificar la metilación de las histonas del ADN y, por ende, las cadenas de ADN son más susceptibles a modificaciones como adhesiones de ADN vírico en ellas. Esta condición favorece la invasión de cualquier virus, tanto del VPH como del VIH entre muchos otros. [11]

En un estudio de 2018 por Kwasniewski *et al.* [12], analizaron la microbiota vaginal de 250 mujeres, incluyendo 70 en el grupo sano control, 95 positivas de VPH con una bajo grado de lesión intraepitelial escamosa (L-SIL HPV+, del inglés, *Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion*) y 85 positivas para VPH con un alto grado de lesión intraepitelial escamosa (H-SIL HPV+). En el grupo sano o control, se hallaron altas frecuencias de *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners*, y *Lactobacillus taiwanensis*; y la ausencia de *Gardnerella vaginalis* y *Lactobacillus acidophilus*. En el grupo L-SIL HPV+, *L. crispatus* era menos frecuente, y predominaban *L. acidophilus* y *L. iners*. Y por último, en el grupo H-SIL HPV+ *G. vaginalis* y *L. acidophilus* predominaban en la mayoría de mujeres y las frecuencias de *L. iners*, *L. crispatus* y *L. taiwanensis* disminuyen en comparación al grupo control. Por lo que se puede afirmar que la composición del microbioma vaginal puede determinar el riesgo de que una persona sea infectada por el VPH y las complicaciones que eso conlleva, como el cáncer de cérvix. Este conocimiento debería aplicarse en estudios longitudinales para determinar la participación de especies de bacterias en la prevención, progresión o regresión de las patologías relacionadas con el VPH.

4.4. Endometriosis

La endometriosis es una condición crónica estrógeno-dependiente definida por la presencia de endometriomas benignos distribuidos por las diferentes zonas de la cavidad uterina y las capas que la forman. Afecta aproximadamente al 10% de las mujeres en edad fértil y está asociado con dismenorrea, dolor pélvico, dispareunia o infertilidad; en otros casos, la endometriosis es asintomática. Los recientes estudios han demostrado que la disbiosis en la microbiota del aparato reproductor femenino, aumenta los niveles de estrógenos en circulación. Esta exposición a altos niveles de estrógenos pueden estimular el crecimiento de los endometriomas y la actividad inflamatoria en ellas. Por lo tanto, es plausible que la microbiota juegue un papel importante en el

desarrollo de la endometriosis afectando la epigenética, y las funciones inmunológicas y/o bioquímicas de la persona afectada, ya que influye en el ciclo de los estrógenos. [13]

Para poder comparar las personas afectadas por esta patología y las sanas, se tendrá como guía el estudio prospectivo observacional de cohortes publicado por Ata *et al.* realizado entre los años 2016 y 2017 [13]. Las participantes eran 14 mujeres caucásicas sanas pertenecientes al grupo control y 14 mujeres con endometriosis. Las afectadas por la patología estaban clasificadas con endometriosis moderado o severo (estadio 3-4) de acuerdo al American Fertility Society Revised Classification. Todas padecían endometriomas en uno o los dos ligamentos sacrouterinos y lesiones generalizadas en la pelvis. Se recolectaron hisopados vaginales y endocervicales, y muestras fecales de cada una de las mujeres analizadas. Después se extrajo el ADN y se amplificó el gen de ARN ribosómico 16S, para finalmente analizar e identificar cada secuencia extraída hasta el nivel de género.

Los resultados mostraron una alta similitud entre la composición de la microbiota vaginal, cervical e intestinal de las mujeres con endometriosis (estadio 3-4) y las mujeres del grupo control. Pero sí que se encontraron ciertas diferencias: las mujeres con endometriosis carecían del género *Atopobium* en su microbiota vaginal y cervical, en la microbiota intestinal predominaban los géneros *Escherichia* y *Shigella*, y en la microbiota cervical predominaba el género *Gardnerella*, lo cual puede ser un puente de unión entre el resto de patologías analizadas en este trabajo, ya que la predominancia de *Gardnerella* o la simple no-dominancia del género *Lactobacillus* parece estar asociado a una disbiosis y las diferentes consecuencias que conlleva [13]. En otros estudios se menciona como la presencia de *Atopobium* es significativa en mujeres con vaginosis bacteriana, bacteriemias obstétricas e incluso en cáncer endometrial, dando al género *Atopobium* un papel relevante en la benignidad o malignidad de la neoplasia formada. Por lo tanto, en mujeres con endometriosis (tumores benignos) no hay constancia de dicho género, pero en mujeres con cáncer endometrial (tumores malignos) este género aparece frecuentemente, y se asocia ya que este microorganismo es capaz de degradar ciertas glucoproteínas que forman la lámina basal de los tejidos afectados [14].

4.5. Síndrome de ovario poliquístico

El Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) es un trastorno endocrino complejo, el cual puede manifestarse con diferentes sintomatologías en cada persona afectada. Dentro de esta sintomatología encontramos trastornos de la menstruación, hiperandrogenemia, múltiples quistes ováricos, etc. Además, las personas afectadas tienen mayor incidencia de resistencia a la insulina, síndrome metabólico, periodontitis y vaginitis comparándolas con mujeres sanas [15].

Gracias a la tecnología de secuenciación de nueva generación del gen 16s del ARN ribosómico, podemos identificar las diferentes especies que forman la microbiota de una muestra.

Con el uso de esta tecnología, Lu *et al.* de la Universidad de Nanjing de China [16], han comparado las especies que forman la microbiota de la vagina de 42 mujeres afectadas por SOP y 24 mujeres sanas control voluntarias, con edades compatibles. Para el estudio se aplicaron los criterios de diagnóstico de Rotterdam, clasificando las mujeres afectadas en tres grupos: 1º ovulación anormal (oligomenorrea o amenorrea), 2º hiperandrogenismo (tanto clínico como biológico) y 3º ovario con morfología poliquística. Los criterios de exclusión fueron: malformación o patología orgánica en el aparato reproductor, antecedentes de cáncer (quimioterapia o radioterapia) y consumo de antibióticos, antidiabéticos, anticonceptivos, alcohol y tabaco.

Para la recogida de la muestra, se tomaron secreciones vaginales entre 3 y 7 días post-menstruación y mediante la tecnología de secuenciación del gen 16s del ARN ribosómico se identificaron las diferentes especies que forman la microbiota vaginal de las mujeres participantes en el estudio y la proporción de cada uno de ellos.

Las 66 personas analizadas fueron distribuidas en cuatro grupos dependiendo de si padecían la enfermedad y de si el género *Lactobacillus* era dominante o no: L-SOP (dominancia de *Lactobacillus* y SOP), N-SOP (*Lactobacillus* no-dominante y SOP), L-CONTROL (*Lactobacillus* dominante y pertenecientes al grupo control sano) y N-CONTROL (*Lactobacillus* no-dominante y del grupo control). De las 66 iniciales, 25 eran L-SOP, 18 L-CONTROL, 17 N-SOP y 6 N-CONTROL (Tabla 1).

	SOP	CONTROL	TOTAL
LACTOBACILLUS DOMINANTE (>70%)	25 (L-SOP)	18 (L-CONTROL)	43
LACTOBACILLUS NO-DOMINANTE (<70%)	17 (N-SOP)	6 (N-CONTROL)	23
TOTAL	42 (T-SOP)	24 (T-CONTROL)	66

Tabla 1. Distribución de las mujeres participantes en el estudio según la microbiota y la enfermedad [16].

En el estudio se analizaron la diversidad alfa, la beta y el factor ambiental. En la diversidad alfa se detectaron en el grupo L-SOP diferencias significativas, ya que los índices Chao1 (es un estimador de especies en una comunidad basado en el número de especies raras en la muestra) y ACE (Abundance Coverage Estimator) (es un estimador que divide las especies presentes en la muestra agrupándolas en abundantes y raras) estaban disminuidos en comparación al grupo L-CONTROL. Otros índices (como Shannon y Simpson) mostraban una tendencia disminuyente pero no eran resultados significativos. Por lo tanto, los resultados muestran que sí que hay diferencias en la microbiota vaginal entre las mujeres sanas y las que padecen SOP. Esta diferencia se podría estar relacionada con la alta incidencia de vaginitis que sufren las mujeres con SOP. Una alta abundancia y diversidad microbiana está asociada a un ambiente estable y sano, y, por lo contrario, una baja

diversidad a inflamación crónica de bajo-grado, la cual aumenta el riesgo a hiperandrogenemia, resistencia a la insulina, afecta al eje hipotálamo-hipófisis-ovario y por lo tanto, en la salud reproductiva de la mujer. En el análisis de la diversidad beta no mostró resultados significativos, ya que la comparación estaba distorsionada por factores como la edad, el IMC, el estado endocrino, etc. [16].

Por último, el análisis del factor ambiental mostró una correlación entre la composición de la microbiota y la FSH. La abundancia de bacterias anaerobias y anaerobias facultativas está significativamente negativamente correlacionado con el FSH, mientras que el *Lactobacillus* está positivamente correlacionado con la hormona FSH. Además, las personas con SOP tienen altos niveles de LH y hormona antimulleriana, y esto reduce aún más el nivel de FSH. Niveles bajos de FSH están relacionados con un desarrollo folicular anormal e incluso con anovulación. También está relacionado con mayor riesgo de infecciones por patógenos oportunistas [16].

5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Estrategias para la estabilización de la microbiota

En una disbiosis vaginal, definida como un desequilibrio del microbioma vaginal, se da una reducción de lactobacilos y un aumento descontrolado de estreptococos, estafilococos, enterobacterias, hongos del género *Candida*, etc. La disbiosis vaginal está clínicamente asociada a varias condiciones inflamatorias, también aumenta la susceptibilidad y transmisión del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), el riesgo de infecciones maternas o neonatales, de enfermedad pélvica inflamatoria y nacimiento pretérmino [17].

Actualmente, para estabilizar la microbiota vaginal de una mujer afectada por una disbiosis vaginal, se utilizan bacterias exógenas para recuperar el equilibrio. Varios países aprobaron el uso de *Lactobacillus crispatus* como probiótico vaginal, ya que este género produce ácido láctico y bactericidas para evitar el sobrecrecimiento de organismos patógenos, y está asociado a menores tasas de inflamación de la mucosa vaginal. Aun así, este probiótico tiene una baja tasa de recuperación y la disbiosis vaginal suele reaparecer en la mayoría de los casos.

Se da una situación similar con la infección de *Clostridium difficile* en el intestino tras consumir fármacos antibióticos. Los probióticos tienen una tasa de curación baja y es una infección muy frecuente. Para solventar dicho problema, se empezó a aplicar el trasplante de microbiota fecal y las tasas de cura aumentaron a un 60-90% y la tasa de recurrencia disminuyó significativamente,

aplicando una sola dosis [18]. Por lo tanto, la idea de repetir este método con la microbiota vaginal podría ser el método definitivo para aumentar la tasa de curación de la disbiosis y bajar la tasa de recurrencia.

En el estudio de Chen et al. de la Universidad de Nanchang [17], recrearon un modelo murino de disbiosis vaginal, mezclando *E. coli*, *S. aureus*, y estreptococos β -hemolíticos para después introducirlos en el tracto vaginal de las ratas. Los lactobacilos, a parte de lo previamente mencionado, están asociados a bajos niveles de citoquinas pro-inflamatorias y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que generan está relacionado a bajos niveles de IL-1 β , IL-6 y IL-8 (InterLeuquinas). Una vez realizado el experimento, aplicando una mezcla de probióticos de Lactobacilos y microbiota vaginal sana se demostró que las microbiotas vaginales de las ratas con disbiosis mejoraron casi al nivel de las ratas control sanas en cuestión de días.

Aun así, esta metodología es difícil para la comercialización, por su potencial riesgo de infección, por el cribado de donantes, el alto coste de almacenamiento y transporte, y cuestiones éticas. Por lo tanto, a día de hoy las mujeres que padecen disbiosis vaginal generada por una patología mayor como las mencionadas en este trabajo, deberán seguir tomando probióticos para estabilizar su microbiota vaginal y no sufrir las consecuencias de la disbiosis.

6. CONCLUSIONES

- a. Gracias a la tecnología de secuenciación de nueva generación, como la amplificación y secuenciación del gen 16s del ARN ribosómico, se ha podido alcanzar un análisis de la microbiota mucho más exacto, hasta el nivel de género o especie.
- b. La obesidad es una condición que afecta negativamente y de manera significativa el estado de la microbiota vaginal y está correlacionada con el IMC de la persona.
- c. Las mujeres con baja reserva o insuficiencia prematura ovárica, tienen la microbiota vaginal alterada lo cual puede influir en las rutas metabólicas y por lo tanto en el sistema endocrino reproductivo.
- d. El estado de la microbiota puede ser crucial en el desarrollo de ciertas enfermedades como el cáncer de cérvix.
- e. El estado de la microbiota vaginal puede determinar la benignidad de los endometriomas en mujeres con endometriosis.

- f. El estado de la microbiota puede verse afectado por el sistema endocrino.

- g. En general, la microbiota con predominio de lactobacilos tiende a ser de buena calidad y las que están compuestas por una gran diversidad de bacterias son más propensas a sufrir complicaciones y disbiosis.

- h. Actualmente, para restaurar la microbiota vaginal se utilizan probióticos (principalmente Lactobacilos), pero con una tasa de recurrencia alta. A tiempo futuro, el trasplante de microbiota vaginal podría ser una alternativa eficaz.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Noora Ottman, Hauke eSmidt, Willem M de Vos, Clara eBelzer. The function of our microbiota: Who is out there and what do they do? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2012 Aug 1 [cited 2022 May 23];2. Available from: <https://search.ebscohost.com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&AN=edsdoj.9ac8f68807814e7c9633d83feacf966f&lang=es&site=eds-live&scope=site>
2. La calidad nutricional, un factor clave que modula la composición de la microbiota intestinal y la respuesta inmune-metabólica en modelos de obesidad. Impacto en la progresión/prevención de enfermedades crónicas no transmisibles de alta prevalencia social. Cano, Roxana Carolina dir (2019) La calidad nutricional, un factor clave que modula la composición de la microbiota intestinal y la respuesta inmune-metabólica en modelos de obesidad Impacto en la progresión/prevención de enfermedades crónicas no transmisibles de alta prevalencia social [Proyecto de investigación] [Internet]. 2019 [cited 2022 May 23]; Available from: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsoai&AN=edsoai.on1152192726&lang=es&site=eds-live&scope=site>
3. Giacomo Faldella, Angelo Vittorio Zambrini, Arianna Aceti, Isadora Beghetti, Patrizia Brigidi, Simone Rampelli, et al. Microbial Community Dynamics in Mother's Milk and Infant's Mouth and Gut in Moderately Preterm Infants. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2022 May 23];9. Available from: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsair&AN=edsair.dedup.....75c35168e8d71cd497761531b031fa9a&lang=es&site=eds-live&scope=site>
4. Banga, L. (2021). The microbiota of the vulva and vagina: Ways of washing to optimise the protective function of the vulvo-vaginal microbiota during pregnancy. *New Zealand College of Midwives Journal*, (57). Org.nz. 2021 [citado el 23 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.midwife.org.nz/wp-content/uploads/2022/01/Jnl-57-2021.pdf#page=34>
5. Moreno I, Simon C. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reproductive medicine and biology* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2022 May 23];18(1):40–50. Available from: <https://search.ebscohost.com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=30655720&lang=es&site=eds-live&scope=site>
6. Rossella Tomaiuolo, Iolanda Veneruso, Federica Cariati, Valeria D'Argenio. Microbiota and Human Reproduction: The Case of Female Infertility. *High-Throughput* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 May 23];9(12):12. Available from: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&AN=edsdoj.31a10d9e11f64c43a5d64fcd713502bc&lang=es&site=eds-live&scope=site>
7. Moreno I, Fransiak JM. Endometrial microbiota-new player in town. *Fertility and sterility* [Internet]. 2017 Jul [cited 2022 May 23];108(1):32–9. Available from: <https://search.ebscohost.com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=28602480&lang=es&site=eds-live&scope=site>

8. Surcel M, Neamțiu I, Nemeti G, Axente DD, Surcel A, Goidescu I, et al. Uterine microbiota - a new possible culprit in infertile patients. *Obstetrica si Ginecologie* [Internet]. 2020 Oct [cited 2022 May 23];68(4):190–4. Available from:
<https://search-ebscobhost-com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=152053171&lang=es&site=eds-live&scope=site>
9. Olivia Raglan, David A. MacIntyre, Anita Mitra, Yun S. Lee, Ann Smith, Nada Assi, et al. The association between obesity and weight loss after bariatric surgery on the vaginal microbiota. *Microbiome* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2022 May 23];9(1):1–17. Available from:
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&AN=edsdoj.fb74d12f111c42efbfb4790fd93745cf&lang=es&site=eds-live&scope=site>
10. Jingyi Wen, Yanzhi Feng, Wei Yan, Suzhen Yuan, Jinjin Zhang, Aiyue Luo, et al. Vaginal Microbiota Changes in Patients With Premature Ovarian Insufficiency and Its Correlation With Ovarian Function. *Frontiers in Endocrinology* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2022 May 23];13. Available from:
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&AN=edsdoj.51ec74056484cbbb4e5726aad485b48&lang=s&site=eds-live&scope=site>
11. Castanheira CP, Sallas ML, Nunes RAL, Lorenzi NPC, Termini L. Microbiome and Cervical Cancer. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology* [Internet]. 2021 [cited 2022 May 23];88(2):187–97. Available from:
<https://search-ebscobhost-com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=33227782&lang=es&site=eds-live&scope=site>
12. Kwasniewski W, Wolun-Cholewa M, Kotarski J, Warchol W, Kuzma D, Kwasniewska A, et al. Microbiota dysbiosis is associated with HPV-induced cervical carcinogenesis. *Oncology letters* [Internet]. 2018 Dec [cited 2022 May 23];16(6):7035–47. Available from:
<https://search-ebscobhost-com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=30546437&lang=es&site=eds-live&scope=site>
13. Ata B, Urman B, Yildiz S, Turkgeldi E, Brocal VP, Moya A, et al. The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls. *Scientific Reports* [Internet]. [cited 2022 May 23];9(1). Available from:
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edselc&AN=edselc.2-52.0-85061749589&lang=es&site=eds-live&scope=site>
14. Knoester M, Lashley LEELO, Wessels E, Oepkes D, Kuijper EJ. First Report of *Atopobium vaginae* Bacteremia with Fetal Loss after Chorionic Villus Sampling. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* [Internet]. 2011 Apr 1 [cited 2022 May 23];49(4):1684–6. Available from:
<https://search-ebscobhost-com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=edsWSC&AN=000289080600088&lang=es&site=eds-live&scope=site>
15. Yu-mei Li, Fang-fang He. Role of gut microbiota in the development of insulin resistance and the mechanism underlying polycystic ovary syndrome: a review. *Journal of Ovarian Research* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2022 May 23];13(1):1–13. Available from:
<https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsair&AN=edsair.doi.dedup....971d5b8dec03500063bcccc80be7e817&lang=es&site=eds-live&scope=site>
16. Chaoyi Lu, Hui Wang, Jihong Yang, Xinyue Zhang, Yao Chen, Ruizhi Feng, et al. Changes in Vaginal Microbiome Diversity in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Frontiers in*

Cellular and Infection Microbiology [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2022 May 23];11. Available from: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsdoj&AN=edsdoj.5a63a90db48e497abc717aa3541da5b5&lang=es&site=eds-live&scope=site>

17. Chen, T., Xia, C., Hu, H., Wang, H., Tan, B., Tian, P., ... & Xin, H. B. (2021). Dysbiosis of the rat vagina is efficiently rescued by vaginal microbiota transplantation or probiotic combination. *International journal of antimicrobial agents*, 57(3), 106277.
18. Ma D, Chen Y, Chen T. Vaginal microbiota transplantation for the treatment of bacterial vaginosis: a conceptual analysis. *FEMS MICROBIOLOGY LETTERS* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2022 May 23];366(4):fnz025. Available from: <https://search.ebscohost-com.ezproxy.universidadeuropea.es/login.aspx?direct=true&db=eds-wsc&AN=000469762800005&lang=es&site=eds-live&scope=site>