



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**VAJİNAL DİSBIYOZİSİN HPV ENFEKSİYONU VE
PREİNVAZİV SERVİKAL EPİTELYAL LEZYONLAR
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Esra KAYA

UZMANLIK TEZİ

**ANKARA
2022**



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**VAJİNAL DİSBIYOZİSİN HPV ENFEKSİYONU VE
PREİNVAZİV SERVİKAL EPİTELYAL LEZYONLAR
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Esra KAYA

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat GÜLTEKİN**

**ANKARA
2022**

TEŞEKKÜR

Asistanlığımın ilk gününden itibaren hem hocam hem abim olarak her zaman yanımda olan, uzun yıllar yollarımızın ayrılmayacağı çok değerli tez hocam Prof. Dr. Murat Gültekin'e,

Cerrahi eğitimim ve uzun sohbetlerimiz ile her zaman ufkumu açan sohbetlerimiz hiç kesilmesin istediğim çok değerli hocam Prof. Dr. Nejat Özgül'e,

Uzmanlık sürecimde desteğini hep hissettiğim, tecrübelerini koşulsuz bizlere aktaran kıymetli hocam Prof. Dr. Z. Selçuk Tuncer'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen, yetişmemde büyük emeği olan başta Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. G. Serdar Günalp olmak üzere tüm hocalarıma;

Asistanlık hayatım boyunca doğumhane, poliklinik, ameliyathane, servisler, jinekolojik onkoloji ve tüp bebek birimlerinde birlikte çalıştığım tüm asistan, hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma,

Tüm asistanlık sürecimde sabırla yanımda olan, hayalini kurduğum uzmanlığıma ulaşmamda her zaman beni destekleyen çok sevgili aileme ve Dr. Ayşe Sena Çalış'a;

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Esra KAYA

ÖZET

Kaya E., Vajinal Disbiyozisin HPV Enfeksiyonu ve Preinvaziv Servikal Epitelyal Lezyonlar Üzerine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi, Ankara 2022

Rahim ağzı kanseri (CC), dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen dördüncü malign neoplaziyi temsil eder ve ciddi bir halk sağlığı sorunudur. HPV enfeksiyonu, üreme sisteminin en yaygın viral enfeksiyonudur ve yüksek riskli genital HPV'ler, serviks kanserinin ve onun malign prekürsörü olan servikal intraepitelyal neoplazinin gelişiminde merkezi etiyolojik ajanlardır. HrHPV ile enfeksiyon CC gelişimi için gereklidir ancak yeterli değildir ve hastalığın oluşumunda, ilerlemesinde veya gerilemesinde ek faktörler rol oynar. Etkilenen viral tip gibi bu faktörlerin bazıları virüsle ilişkilirken bireysel bağışıklık, sigara içme, parite, hormonal kontraseptif kullanımı ve cinsel davranış gibi diğer faktörler konakçı ile ilgilidir. Son çalışmalar vajinal mikrobiyom (VM) ile jinekolojik kanser arasındaki potansiyel ilişkiyi değerlendirmiştir. VM bileşimi, lokal bağışıklık tepkisini etkileyebilir, servikal onkogeneze ve HPV klirensine dahil olabilir. Vajinal mikrobiyota, çok sayıda endojen ve eksojen faktöre yanıt olarak değişebilen benzersiz ve karmaşık bir ortamdır. Bu nedenle, vajinal mikrobiyotanın konakçının üreme fizyolojisini etkileyebileceği gibi, mikrobiyal bileşimin de konak fizyolojisinden etkilenebileceğini akılda tutmak çok önemlidir. Genel olarak, sağlıklı bir yetişkin vajinal mikrobiyomu ağırlıklı olarak *Lactobacillus* spp. ve düşük bolluktaki diğer mikropları içerir. Büyümelerini destekleyen asidik bir ortam yaratmanın yanı sıra, *Lactobacillus* suşlarının çoğu, bir dizi potansiyel olarak zararlı mikrop için toksik olan ve büyümelerini engelleyen kayda değer sayıda antimikrobiyal benzeri bileşik, bakteriyosin veya hidrojen peroksit üretebilir. Laktobasil türlerini içeren probiyotikler, vajinal florayı iyileştirmek için ürogenital enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Son veriler, bazı bakteri türlerinin varlığının ve bolluğunun HPV enfeksiyonunu önleyebileceğini ve bu anatomik bölgelerde kanser öncü lezyonlarının gelişme riskini azaltarak virüs klirensine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Tersine, diğer bakteri türleri patolojik durumu destekleyebilir. Bu nedenle, VM bileşiminin ve değişikliklerinin (disbiyoz) HPV enfeksiyonu/kalıcılığı üzerindeki etkisini anlamak, bu virüsün neden

olduğu enfeksiyonların sonuçlarının daha iyi tahmin edilmesine katkıda bulunabilir. Çalışmamızda toplam 80 hastada flora kullanım süreleri incelendiğinde 6-9 ay arası kullanan 58 (%72,5), 9-12 ay arası kullanan 15 (%18,8) ve 12 ay ve üzerinde kullanan 7 (%8,8) hasta olduğu görülmüştür. Tedavi süresi yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında yeterli olduğu görülmüştür. Yaptığımız çalışmada tedavi grubunda yer alan 80 hastanın tedavi öncesi ve sonrası smear sonuçları ASCUS açısından analiz edilmiş. Yapılan analizlere göre tedavi öncesi hastaların %48,8'inin smear sonucu anormal (\geq ASCUS) iken tedavi sonrası bu oran %33,8'e düşmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunda yer alıp tedavi başlanmayan 82 hastanın %37,8'inin smear sonucu ASCUS açısından anormal (\geq ASCUS) bulunmuştur. 6 ay sonra ise %24,4'ünün anormal sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu veriler; uyguladığımız tedavinin smear sonuçları üzerine olumlu etkisini ortaya koymuştur. Fakat çalışmamızın diğer verileri incelendiğinde uygulanan tedavi LSIL ve HSIL smear sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe yol açmamıştır. Tedavinin HPV değişimi üzerinde etkisi incelendiğinde; HPV 16 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %46,2 iken tedavi almayan grupta %56,7'dir. HPV 18 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %54,5 iken tedavi almayan grupta %100'dür. HrHPV açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %48,6 iken tedavi almayan grupta %49,2'dir. HPV 16/18 değişimi incelendiğinde ise tedavi almayan gruptaki 2 hastanın 2'sinde de 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü, tedavi alan gruptaki 4 hastanın ise 2'sinin (%50) tamamen negatife döndüğü, diğer 2'sinin ise (%50) 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü gözlenmiştir. Tüm bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda flora düzenleyici tedavinin HPV klirensi üzerine bir miktar etkisi gözlenmiş olsa da kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. İlk başvuruda kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %76,2, almayan grupta %59,8'dir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kolposkopi sonucu ise tedavi alanların %19'unda almayanların %60'ında anormal bulunmuştur. Tedavi almayan hastalarda ilk başvuruda anormal kolposkopi sonucu oranı anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Kontrol başvurusunda ise kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %38,8, almayan grupta %19,5'tir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Kolposkopi sonucu ise tedavi almayanların %66,7'sinde anormal iken tedavi alanların tamamında normal bulunmuştur ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlı olup sonuçlar literatür ile uyumludur.

Anahtar Kelimeler: Servikal Kanser, Servikal Kanser Tarama, Pap-Smear, HPV, Vajinal Mikrobiyota, Vajinal Mikrobiyota State Çeşitliliği

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ABSTRACT

Kaya E., The Effect of Vaginal Dysbiosis on HPV Infection and Preinvasive Cervical Epithelial Lesions, Hacettepe University Faculty of Medicine, Obstetrics and Gynecology Dissertation, Ankara 2022

Cervical cancer is the fourth most prevalent malignant neoplasia in women worldwide, and it is a major public health issue. The most common viral infection of the reproductive system is the HPV infection, and high-risk genital HPVs are the primary etiological agents in the development of cervical cancer and its malignant precursor, cervical intraepithelial neoplasia. Infection with HrHPV is essential for the development of CC, however, it is not sufficient, and additional factors play a role in the onset, progression, and regression of the disease. While some of these factors such as the affecting viral type are virus-related; others, such as the individual's immunity, smoking, parity, hormonal contraceptive use, and sexual behaviors are host related. Recent studies evaluated the potential relationship between the vaginal microbiome (VM) and gynecological cancer. The VM compound can influence the local immune response, as well as be involved in cervical oncogenesis and HPV clearance. The vaginal microbiota is a unique and complex medium that changes in response to a variety of endogenous and exogenous factors. Therefore, it is critical to remember that vaginal microbiota can affect the host's reproduction physiology, and that the microbial compound can be affected by the host's physiology. In general, a healthy adult's vaginal microbiome contains *Lactobacillus* spp. predominantly, and other microbes in low densities. In addition to producing an acidic medium that allows growth, most *Lactobacillus* strains can produce antimicrobial-like compounds, bacteriocins, and hydrogen peroxide that are toxic to harmful microbes and prevent their growth. *Lactobacillus*-containing probiotics are used to cure vaginal flora for the treatment of urogenital infections. Recent data suggest that the presence and quantity of certain bacterial types can prevent HPV infection, and reduce the risk of developing precursor cancer lesions, contributing to virus clearance. On the contrary, other bacterial types can support the pathological situation. Therefore, understanding the effects of VM compounds and changes (dysbiosis) on HPV infection and persistence may therefore aid in better predicting the outcomes of infections caused by this virus.

When the flora usage durations of 80 patients were examined in our study, it was discovered that 58 (72.5%) patients used flora for 6-9 months, 15 (18.8%) for 9-12 months, and 7 (8.8%) for 12 months or more. In comparison to the studies conducted, it was discovered that the treatment duration is adequate. The pre-treatment and post-treatment smear results of 80 patients in the treatment group were analyzed in terms of ASCUS in our study. According to the analyses, 48.8% of the patients' pre-treatment smear results were abnormal (\geq ASCUS). This rate dropped to 33.8% after treatment, which was found to be statistically significant. The smear results of 37.8% of the 82 patients in the control group who were not treated were found to be abnormal in terms of ASCUS (\geq ASCUS). Six months later, it was discovered that 24.4% of the samples had abnormal results. However, this difference was not statistically significant. In line with these data, the positive effect of treatment on smear results can be revealed. On the other hand when the other data of our study were examined, the treatment applied did not lead a statistically significant change in the LSIL and HSIL smear results. When the effect of the treatment on HPV change was examined; it was found in the treated group and untreated group that 46.2% and 56.7% of people tested negative for HPV-16, respectively. In the treated and untreated groups, 54.5% and 100% of patients tested positive for HPV-18, respectively. In the treated group and untreated group, 48.6% and 49.2% of people tested negative for HrHPV, respectively. When HPV-16/18 changes were examined, it was discovered that both of the patients in the untreated group tested negative for type 16 or 18, and in the treated group, 2 (50%) of the 4 patients tested fully negative, and the remaining 2 (50%) patients tested negative for type 16 or 18. No statistically significant difference was found. Although some effect of treatment on HPV clearance was observed in our study, no statistically significant difference was found when the results of the control group were compared. Undergoing colposcopy at the first admission rate in the treated and untreated groups was 76.2% and 59.8%, respectively. This difference was found to be statistically significant. In 19% of the treated group and 60% of the untreated group, abnormal colposcopy results were found. The rate of abnormal colposcopy results in untreated patients was found to be significantly higher. Undergoing colposcopy at the check-up, admission rates in the treated and untreated groups were 38.8% and 19.5%, respectively. This difference was found to be statistically significant. Of untreated

patients, 66.7% had abnormal colposcopy results, while all treated patients had normal results. This difference was statistically significant.

Keywords: Cervical Cancer, Cervical Cancer Screening, Colposcopy, HPV, Pap Smear, Vaginal Microbiota, Vaginal Microbiota State Diversity

Supporting Institutions: Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLOLAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serviks Anatomisi	3
2.2. Serviks Histoloji ve Embriyolojisi	3
2.2.1. Skuamo-Kolumnar Bileşke, Transformasyon Zonu ve Servikal Metaplazi.....	4
2.3. Servikal Kanser ve Preinvaziv Lezyonlarının Risk Faktörleri.....	5
2.4. Serviks Kanserinin Önlenmesi.....	7
2.4.1. Smear ile Tarama.....	8
2.4.2. HPV ile Tarama.....	11
2.5. Serviksin Preinvaziv Lezyonlarının Sınıflandırılması	11
2.5.1. Bethesda Sistem	11
2.5.2. LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology).....	14
2.6. HPV (Human Papilloma Virüs) Tanımı ve Tiplendirilmesi	15
2.7. Vajinal Flora.....	19
2.8. Anormal Servikal Sitolojinin Değerlendirilmesi	29
2.8.1. ASC-US	29
2.8.2. LSIL.....	30
2.8.3. ASC-H.....	30
2.8.4. HSIL	30
2.8.5. AGC.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Araştırmanın Yöntemi ve Veri Toplama Araçları.....	32

3.2. İstatistiksel Analiz	32
3.3. Etik Kurul Onayı	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ	53
7. KAYNAKLAR.....	56

KISALTMALAR

(HPV)	Human papilloma virüs
(CIN)	Servikal intraepitelyal neoplazi
(BV)	Bakteriyel vaginozis
(SCJ)	Squamokolumnar bileşke
(TZ)	Transformasyon zonu
(Pap)	Papanicolaou testi
(CC)	Rahim ağzı kanseri
(HrHPV)	Yüksek onkojenik riskli HPV
(LR- HPV)	Düşük onkojenik riskli HPV
(VLPs)	Virüs benzeri partiküller
(ACOG)	Amerikan Jinekoloji ve Obstetri Derneği
(LAST)	Alt Anogenital Skuamöz Terminolojisi
(ASC)	Atipik Skuamöz hücreler
(ASC-US)	Önemi belirlenemeyen Atipik Skuamöz hücreler
(ASC-H)	HSIL dışlanamayan Atipik Skuamöz hücreler
(LSIL)	Düşük dereceli Skuamöz intraepitelyal lezyon
(HSIL)	High-grade Skuamöz intraepitelyal lezyon
(AGC)	Atipik Glandüler hücreler
(AIS)	Adenokarsinoma in situ
(Early) (E)	Erken gen
(Late) (L)	Geç gen
(NK)	Natural killer hücreler
(CST)	The Vaginal Community State Types
(HRT)	Hormon replasman tedavisi
(VM)	Vajinal Mikrobiyota
(BPDE)	Benzo [a]piren diol epoksit
(LEEP)	Loop elektrocerrahi eksizyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Serviks şematik gösterimi	3
Şekil 2.2: Serviksin skuamöz epitelinde Servikal İntraepitelyal Neoplazinin (CIN) ilerlemesi	6
Şekil 2.3: HPV'nin karsinogenez süreci	16
Şekil 4.1: Çalışma grupları	34
Şekil 4.2: Yaş histogramı	35

TABLOLAR

Tablo 2. 1:	Aşı ve içerik olan HPV türü	8
Tablo 2. 2 :	Sitolojik sınıflandırma sistemlerinin karşılaştırılması.....	12
Tablo 2. 3:	Bethesda sistemi sitoloji raporu bileşenleri.....	13
Tablo 2. 4:	Bethesda sistemi epitelyal hücre anormallikleri.....	14
Tablo 2. 5:	Servikal İntraepitelyal Neoplazi terminolojisi ve histolojisi.....	15
Tablo 2. 6:	Onkojenik Risk Potansiyeline Göre HPV Tipleri	15
Tablo 2. 7:	Lactobacillus türleri ve CST	20
Tablo 4. 1:	Hasta grupları	34
Tablo 4. 2:	Hastaların yaş dağılımları.....	35
Tablo 4. 3:	Medeni durum	35
Tablo 4. 4:	İlk cinsel ilişki yaşları ve partner sayıları.....	36
Tablo 4. 5:	Risk faktörleri.....	36
Tablo 4. 6:	Tedavi grubunda ASCUS açısından smear sonuçları	37
Tablo 4. 7:	Tedavi grubunda LSIL açısından smear sonuçları.....	37
Tablo 4. 8:	Tedavi grubunda HSIL açısından smear sonuçları	38
Tablo 4. 9:	Kontrol grubunda ASCUS açısından smear sonuçları	38
Tablo 4. 10:	Kontrol grubunda LSIL açısından smear sonuçları.....	39
Tablo 4. 11:	Kontrol grubunda HSIL açısından smear sonuçları	39
Tablo 4. 12:	HPV değişimleri.....	40
Tablo 4. 13:	HPV sayıları	41
Tablo 4. 14:	Flora kullanım özellikleri ve kontrol başvuru süresi.....	41
Tablo 4. 15:	Çalışma gruplarına göre hastaların yaş dağılımları.....	42
Tablo 4. 16:	Çalışma gruplarına göre hastaların medeni durumları	42
Tablo 4. 17:	Çalışma gruplarına göre ilk cinsel ilişki yaşları ve partner sayıları	43
Tablo 4. 18:	Çalışma gruplarına göre hastaların risk faktörleri.....	43
Tablo 4. 19:	Çalışma gruplarına göre kontrol başvurusunda HPV değişimleri.....	44
Tablo 4. 20:	Çalışma gruplarına göre kolposkopi yapılma durumu ve sonuçları	44
Tablo 5. 1:	Farklı çalışmaların HPV ve smear sonuçları üzerine etkisi	50

1. GİRİŞ

Serviks kanseri, dünyada her iki dakikada bir kadının ölümüne neden olan ve kadınlarda en sık görülen dördüncü kanserdir. Gelişmiş ülkelerde kadın kanserlerinin %3,6'sını, gelişmemiş ülkelerde ise %15'ini oluşturmaktadır. En sık 50–59 yaşları arasında görülmekle birlikte, ülkemiz koşullarında invazif serviks kanserlerinin %65'i 40–60 yaş grubunda görülmektedir [1]. Bugün servikal kanser gelişimi için HPV'nin mutlaka var olması gerektiği bilinmektedir ve serviks kanserlerinin neredeyse tamamı (%99,7'si) HPV ile ilişkilidir [2].

Persistan human papilloma virüs (HPV) enfeksiyonu hem servikal kanser hem de servikal intraepitelyal neoplaziler için en önemli etyolojik faktördür. Virüs oldukça yaygın olmasına rağmen, sadece az sayıda kadın persistan HPV enfeksiyonuna sahiptir ve persiste enfeksiyonu olan kadınlar daha sonra klinik olarak anlamlı hastalıklar (Smear anormalileri ve histolojik bozukluklar, ASC-US, LSIL, HSIL, CIN1-3, Kanser vb.) geliştirir. Servikal intraepitelyal neoplazili (CIN) kadınlarda vajinal ortamın sağlıklı kadınlardan farklı olduğu bildirilmiştir. Persistan HPV'de kofaktörler tam olarak açıklanamamakla birlikte vaginal mikrobiyotanın etkisi ile ilgili çalışmalar mevcuttur [3].

Vajinal mikrobiyota, kadın üreme sistemi sağlığı için önemli bir rol oynar. Reprodüktif çağıdaki kadınlarda vaginal mikrobiyotayı laktobasiller hâkim olmak üzere Difteroidler, *G. vaginalis*, anaerob streptokoklar, *S. agalactiae*, *Enterococcus* spp., KN-stafilokoklar, *S. aureus*, *E. coli*, mikoplazma, üreaplazma ve mayalar oluşturur. Postmenopozal dönemde ise laktobasiller azalır, enterik basil sayısı artar. Vajinal *Lactobacillus* spp. düşük pH ve bakteriyosin üretimini sürdürerek bakteriyel vajinozisle ilişkili bakteri türlerinin kolonizasyonunu önler. *Lactobacillus* spp'nin azalmasıyla birlikte vajinal mikrobiyota çeşitliliğinin artarak bakteriyel vajinozis (BV) tablosuna yol açtığını gösteren kanıtlar mevcuttur [4-6]. BV anaerobik mikroorganizmaların ve bunların vajina epiteline zarar veren ve koruyucu servikal mukozayı bozan yan ürünler ile karakterize edilen yaygın bir durumdur. BV'de, aktif sialidaz enzimleri ve musin tabakası servikal epitelini bozma yeteneğine sahiptir, bu nedenle HPV enfeksiyonu için daha duyarlı olan ve persiste enfeksiyona neden

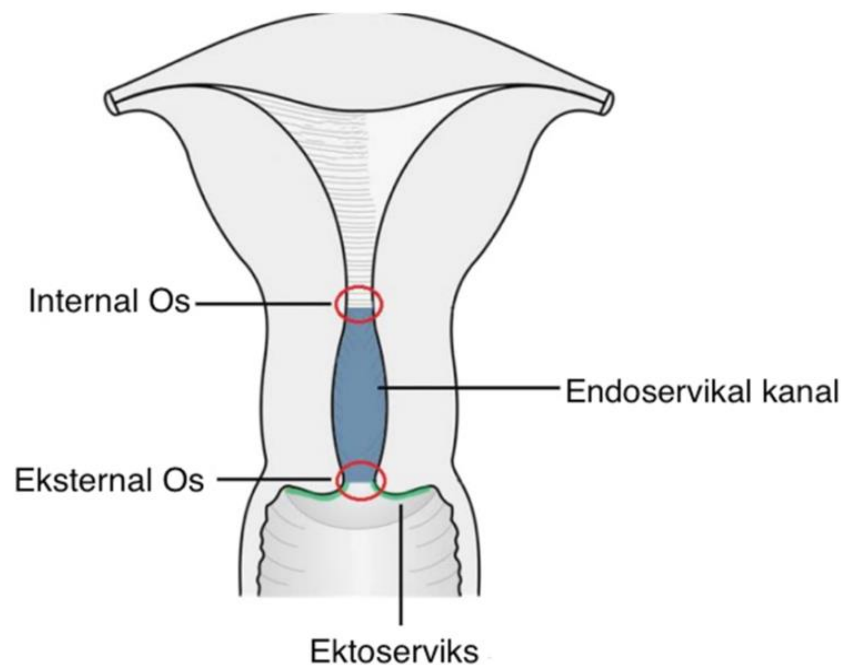
olabilecek yeni bir vajinal çevreye neden olabilir. Ek olarak, bakteriyel sialidaz, lokal immünoglobulinleri ve lokal immün savunmayı bozabilir.

Literatürdeki çalışmalar vaginal mikrobiyota çeşitliliğin artmasının persistan HPV enfeksiyonunun oluşmasında rol oynadığını göstermesine rağmen preinvaziv servikal epitelyal lezyon olan kadınlar üzerindeki etkisini değerlendiren çalışma sayısı da halen yeterli değildir [4, 7]. Günümüzde kendi kliniğimizde de olduğu gibi, ülkemizde ve Dünya’ da geçici ya da kalıcı HPV enfeksiyonlarında vajinal flora uygulamasını öneren klinikler olmakla birlikte, sadece izlem yapan klinikler de bulunmaktadır. Bu çalışmada kliniğimiz polikliniklerine başvurmuş ve poliklinik doktorlarınca değerlendirilmiş HPV pozitif olan ve/veya yönetimde takibi uygun görülmüş servikal sitolojik anormallik saptanmış, birlikteliğinde kronik kötü kokulu, bakteriyel vaginosis ile uyumlu akıntı gözlenmiş, tarafımızca herhangi bir endikasyon nedeniyle vaginal mikrobiyota homeostazının pre-probiotik vaginal kapsüllerle (Tedavi kapsülleri *L.regenerans* (Vagiflora®), *L.helveticus*, *L.rhamnosus*, *L.salivarius*, *Bifidobacterium longum* (Motiflor®) ve benzeri ürünler olup rutin poliklinik kontrollerinde hastalara vajinal flora düzenleyici tedavi olarak verilen preperatlardır.) sağlanmış 80 hasta ile tarafımızca vaginal mikrobiyota tedavisi almamış ancak rutin jinekolojik muayene için başvurmuş 82 hastanın değerlendirilmesi planlandı. Polikliniğimizce rutin takibi yapılmış 82 hasta ile vaginal kapsül tedavisi başlanılıp takibi yapılmış 80 hastamızın rutin poliklinik tetkiklerimizden olan HPV ve pap smear test sonuçlarını içeren dosyaları inceledik. Böylece vaginal mikrobiotanın HPV enfeksiyonu ve preinvaziv servikal epitel lezyon üzerine etkisinin değerlendirilmesini gözlemledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serviks Anatomisi

Serviks uterusun alt 1/3 ünü oluşturmaktadır olup yaklaşık 2-4 cm uzunluğundadır [8]. Vajene açılan servikal kısma portio vaginalis veya ekzoserviks adı verilmektedir. Bu yapının endoservikal kanal ile devamlılığı olan yuvarlak bir giriş noktası (eksternal servikal os) bulunmaktadır. Endoservikal kanal ise yaklaşık 2-3 cm uzunluğunda olup uterin kaviteye internal servikal os ile açılmaktadır [9]. Endoserviks; tek katlı kolumnar epitel ile örtülü olup mukus salgılayan bezleri barındırmaktadır [8].



Şekil 2.1: Serviks şematik gösterimi

2.2. Serviks Histoloji ve Embriyolojisi

İntrauterin hayatın 6-7. Haftalarında Müllerian kanalın altta Ürogenital sinüs ile birleşmesiyle beraber alt genital sistem oluşur [10]. Servikal mukoza ekzoserviks kısmında yassı epitel, endoservikal kanalda ise kolumnar epitel ile döşelidir [11]. Bu iki epitelin karşılaştığı yer ise squamokolumnar bileşke (SCJ) olarak adlandırılır [9].

İntrauterin 4. Ayda kolumnar epitel squamöz metaplaziyle beraber squamöz epitele dönüşmeye başlar [10].

2.2.1. Skuamo-Kolumnar Bileşke, Transformasyon Zonu ve Servikal Metaplazi

Squamöz ve kolumnar epitelin birleştiği Skuamo-Kolumnar Junction (SCJ); hormonal uyarıların değiştiği ergenlik, gebelik ve menopoz döneminde hormona duyarlı olan dinamik bir bölgedir. Yenidoğan döneminde ektoservikal yerleşimlidir. Menarşın başlaması ile artmış östrojen üretimi vajinal epitelin glikojen depolamasına neden olur. Vajinal florada yer alan Laktobasiller glikojen varlığında asidik pH değeri oluşturmasıyla subkolumnar hücrelerin metaplaziye ilerlemesine neden olur [11]. Metaplazi orijinal SCJ dan içeri kolumnar villusların bulunduğu eksternal servikal osa doğru gelişir. Bu gelişimi ile transformasyon zonu (TZ) olarak adlandırılan bir alan oluşur. TZ orijinal SCJ ile aktif SCJ arasında sınırlı olan alandır. Erken metaplazik hücrelerin bulunduğu SCJ onkojenik faktörlere karşı savunmasız olup bu hücrelerin CIN'e dönüşmesine neden olabilir. Bu nedenle hormonal uyarıların yoğun olduğu menarş, gebelik gibi dönemde metaplazi yoğun olarak gerçekleşerek CIN'in başlamasına neden olabilir. Yine aynı sebeple hormonal uyarımın azaldığı menopoz döneminde ise CIN gelişme ihtimali azalmaktadır [9].

Normal Transformasyon Zonu:

4 tabakadan meydana gelmektedir;

- 1- Bazal tabaka: Tek kat olarak dizilmiş büyük nükleuslu ve az sitoplazmaya sahip hücrelerden meydana gelir.
- 2- Parabazal tabaka: 2-4 adet immatür hücre dizileridir. Mitoz ile hücre yenilenmesini sağlar.
- 3- Orta tabaka: 4-6 adet diziden oluşan, geniş sitoplazmalı ve hücreler arası geniş ara yüze sahip hücrelerden oluşur.
- 4- Yüzeysel tabaka: Glikojen depolayan, küçük nükleuslu 5-8 kat hücrelerden meydana gelir. Bu katta bulunan hücrelerin yüzeyden ayrılması (dökülme) Papanicolaou (Pap) testinin temelini oluşturur [11].

2.3. Servikal Kanser ve Preinvaziv Lezyonlarının Risk Faktörleri

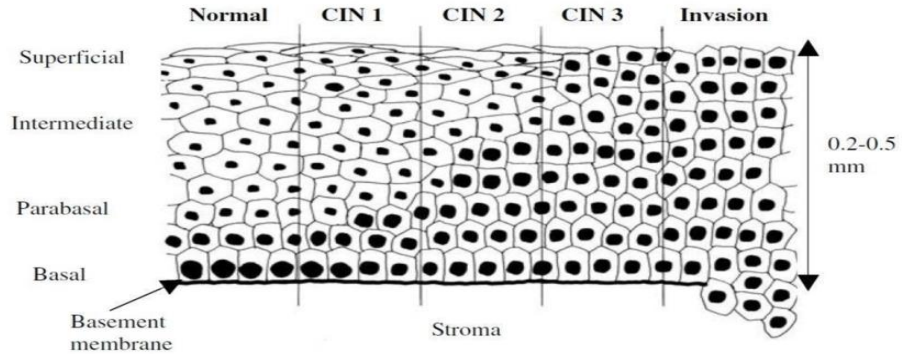
Rahim ağzı kanseri (CC), dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen dördüncü malign neoplaziyi temsil eder ve ciddi bir halk sağlığı sorunudur. 2018'de yaklaşık 570.000 yeni vaka ve 311.000 ölüm meydana gelmiş olup, bunların çoğu gelişmekte olan ülkelere aittir [12-14]. Yüksek onkojenik riskli HPV'nin (HrHPV) insan papilloma virüsü (HPV) tipleri ile kalıcı enfeksiyon, CC'nin gelişimi için ana faktördür ve CC örneklerinin %99,7'sinde bulunmuştur [15]. HrHPV ile enfeksiyon, cinsel olarak aktif kadınlarda oldukça yaygındır. Bununla birlikte, CC öncü lezyonlarının oluşumu nispeten düşüktür [16, 17]. Aslında, HrHPV ile enfeksiyonların yaklaşık %90'ı geçicidir ve kendiliğinden geriler [18]. Bir kadının yaşamı boyunca herhangi bir HPV türü ile enfeksiyon kapma riski yaklaşık %80 iken, CC geliştirme riski %0,6'dır [19].

HrHPV ile enfeksiyon CC gelişimi için gereklidir ancak yeterli değildir ve hastalığın oluşumunda, ilerlemesinde veya gerilemesinde ek faktörler rol oynar. Etkilenen viral tip gibi bu faktörlerin bazıları virüsle ilişkilidir ve bireysel bağışıklık, sigara içme, parite, hormonal kontraseptif kullanımı ve cinsel davranış gibi diğerleri konakçı ile ilgilidir [18].

Serviksin preinvaziv hastalığı terimi; epitelde invaziv kanser izlenimi veren ama sadece epitelde sınırlı tutulumu olan lezyonlar fark edildiğinde ilk olarak tanımlanmıştır [20]. Yapılan sitolojik çalışmalar ile bu malign potansiyeli işaret eden öncül hücreler displazi olarak tanımlanmıştır [21]. Takip eden çalışmalarda bu lezyonların tedavisiz izlemde servikal kansere ilerleyebildiği görülmüştür [22]. Tedavi edilmeden kalan CIN 1 ve bazı CIN 2 lezyonları spontan gerileyebilirken yüksek dereceli CIN olarak değerlendirilen CIN 3 tedavi edilmediği takdirde invaziv kansere ilerleyen lezyonları tanımlamaktadır [23].

İntraepitelyal neoplazi hücresel immatürite, nükleer anormallik, artmış mitotik aktivite ve hücresel dezorganizasyonu içeren değişikliklerin değerlendirilmesi ile patoloğlar tarafından tanısı konulur. Artmış mitotik aktivite, nükleer atipinin yaygınlığı ve immatür hücre proliferasyonundaki artış neoplazinin derecesini belirlemektedir. Eğer bu değişiklikler epitelin alt 1/3'ünde sınırlı ise lezyona CIN 1

olarak adlandırılmaktadır. Değişikliklerin orta 1/3 lük kısmı tutması ile CIN 2, tam kat tutulumda ise CIN 3 olarak adlandırılmaktadır [9].



Şekil 2.2: Serviksin skuamöz epitelinde Servikal İntreapitelyal Neoplazinin (CIN) ilerlemesi [24]

Gözlemsel veriler, enfeksiyondan invaziv hastalığın gelişimine kadar tahmini sürenin yaklaşık 15 yıl olduğunu göstermektedir, ancak nadir durumlarda hızlı bir ilerleme olabilir. Bazı durumlarda kanserojen sürecin sürekliliği sorgulanmış olmasına rağmen, servikal karsinogenez normal olarak farklı CIN dereceleriyle iyi tanımlanmış uzun bir kanser öncesi faza sahiptir [25].

Hastalığa ilişkin mevcut anlayışımızdaki bu büyük ilerlemelere rağmen, devam edecek, ilerleyecek veya tersine kendiliğinden düzelecek enfeksiyon ve / veya hastalığı belirleyen kesin faktörler tam olarak anlaşılmamıştır [19].

Servikal neoplazilerde etyoloji daha açıktır ve HPV ile ilişkisi kesindir. Etkili olabilecek risk faktörleri:

1. Human Papilloma Virus
2. Sigara
3. Herpes Simplex Virus tip 2
4. Diğer cinsel yolla bulaşan ajanlar
5. Oral kontraseptifler
6. Sosyoekonomik düzey yetersizliği

7. Erken yaşlarda koitus
8. Çok eşlilik
9. Kötü hijyen [26].

Seksüel yaşamın serviks kanseri ile ilişkisi birçok çalışma ile gösterilmiş olup yapılan olgu-kontrol çalışmalarında evlilik yaşı ile gelişen kanser riski ters orantılı bulunmuştur. Seksüel geçişli enfeksiyonlara uzun süre maruz kalma nedeniyle riskin artmış olduğu görülmektedir. Aynı şekilde çok partnerlikte enfeksiyon kapma riskini yükseltmektedir [11].

Genel olarak, HPV litik olmayan bir enfeksiyondur, bu nedenle HPV'ye karşı inflamatuvar yanıt, *C. trachomatis* gibi diğer mukozal enfeksiyonlardan çok daha belirsizdir. Akut HPV enfeksiyonlarına karşı ilk bağışıklık tepkisine muhtemelen yerel doğal bağışıklık sistemi aracılık eder, muhtemelen birkaçını saymak gerekirse tool like reseptörlerin ve natural killer (NK) hücrelerin aktivasyonu gibi mekanizmaları içerir. Kalıcı enfeksiyonlar, antijen sunan hücrelere bağlı olan adaptif immün yanıtların gelişmesiyle büyük olasılıkla temizlenir. HPV 16'nın hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklık tepkilerini azalttığı düşünülmektedir. Son veriler, yerel mikrobiyal toplulukların bağışıklık tepkilerini düzenlemede de önemli roller oynadığını göstermektedir [27]. Kansere giden son yollar, telomeraz aktivitesi ve viral entegrasyon ile etkileşime neden olur, ancak kanserlerin yüzde birinde epizomal HPV DNA'sına sahip olduğu bulunur [28]. HPV E6 ve E7, proliferasyon, yaşlanma ve apoptoz dahil olmak üzere temel kanserojen olayları kontrol edebilen onkoproteinlerdir. Hücresel hedefler arasında p53, E6AP, CBP, p300, Bak, hTERT, MAGUK, cIAP, survivin, p107, pRB, p130 bulunur [29] [19].

2.4. Serviks Kanserinin Önlenmesi

HPV enfeksiyonunda lokal ve humoral immün yanıtın etkin olduğu düşünülmüş olup aşılama ile aktive edilen humoral immün yanıt ile konağa girişi önlemektedir [30].

Serviks kanserinin gelişiminde en önemli etken olan HPV'ye karşı geliştirilen profilaktik koruyucu aşılarda primer korunmada en önemli yöntemdir. Virüsün kapsid proteinini taklit eden proteinlerin (virüs benzeri partiküller- VLPs) geliştirilmesiyle aşı

üretimi sağlanmıştır. HPV' ye karşı geliştirilen ve günümüzde kullanılan 3 farklı aşı bulunmaktadır. Bivalan aşı HPV tip 16 ve 18 için VLP' ler içeren aşı olup, Kuadrivalan aşı ise HPV tip 6,11,16 ve 18 için VLP' ler içermektedir. Kuadrivalan aşı ile hpv tip 6 ve 11 in neden olduğu genital siğillerden de korunma sağlanmaktadır. 9'lu aşı ile dörtlü aşıda bulunan suşlara ek olarak HPV 31, 33, 45, 52 ve 58 e karşıda korunma sağlanarak teorik olarak bu sayde servikal kanser korunma yüzdesi % 65'den % 80 'e çıkartılmıştır [31]. Yapılan çalışmalar ile üç doz aşısını tamamlayan kadınları % 99 ' unda genital siğillere karşı bağışıklık geliştiği saptanmaktadır [32]. Yine yapılan çalışmalarda her iki aşı ile 15-26 yaş arasındaki kadınlarda CIN 2, CIN 3 ve adenokarsinomlara karşı korunma sağlamaktadır [33]. Aşının ilk cinsel ilişkiden önce 11-12 yaşında (9 yaşa kadar bu sınır indirilebilir) rutin olarak yaptırılması önerilmektedir [34]. Aşılar yüksek derecede immünojenik olup 5-8 yıl boyunca koruyuculuğu sürmektedir [35].

Tablo 2.1: Aşı ve İçerik olan HPV türü

Aşı Türü	HPV İçeriği
Bivalan Aşı	16,18
Kuadrivalan Aşı	6,11,16,18
Dokuzlu Aşı	6,11,16,18,31,33,45,52,58

Servikal kanser taraması ise preinvaziv lezyonların erken saptanması veya tedavi imkanına sahip erken evre servikal kanseri tespit etmeyi sağlar. Alt genital sistemin preinvaziv lezyonları her zaman gözle görülemeyip tarama yöntemleri sayesinde saptanması mümkündür. Tarama HPV DNA testlerinin de eklenmesi ile sitoloji ve HPV DNA ile yapılabilmektedir [31].

2.4.1. Smear ile Tarama

Pap test; servikal kanser öncülü olan lezyonlardan dökülen hücrelerin servikovajinal sitoloji alınarak incelenmesiyle, servikal kanser insidansını % 79, mortalitesini ise % 70 oranında azaltmıştır [36].

Konvansiyonel Pap Test tekniği örnekleme hataları, küçük lezyonlardan yeterli hücre eksfolye edilememesi, dökülen hücrelerin fiksasyon alanına yeterli miktarda taşınmaması nedeniyle hatalı sonuçların görüldüğü ve geliştirilmesi gereken bir yöntemdir. Bu tip problemlerin yol açabileceği sorunlar nedeniyle sıvı-bazlı teknik geliştirilmiştir [9]. Sıvı- bazlı ortam, örnekleme ve toplanan hücrelerin saklanması için her yerde bulunabilen, spesmen örnekleme ve hazırlama hatalarının ortadan kaldırıldığı bir yöntemdir. Hücre örnekleri plastik spatula veya süpürge, servikal fırça ile alınır. Örnek içerisinde sıvı alkol bazlı koruyucunun olduğu şişede çalkalanır, bu sayede hava ile materyalin kuruması önlenmiş olur. Bu yöntemde spesmen sıvı örnek halinde cam yüzeye ince, uniform şekilde yayılarak servikal hücre tabakası oluşturulur.

Kaliteli bir Pap Smear için gerekli faktörler:

1. Örnekleme öncesi 24 saatte cinsel ilişki veya vajinal duş olmamalıdır,
2. Mens veya antibiyotik kullanımı sonrası ilk 7 günde örnekleme yapılmamalıdır,
3. Örnek muayene öncesi alınmalıdır,
4. Örnek alınırken; kuru ve steril spekulum kullanılmalı, kayganlaştırıcı kullanılmamalıdır,
5. Vajinal kültür alınması planlanan hastada önce smear sonra kültür örneği alınmalıdır,
6. Smear alınırken porsiyon tam olarak görülmelidir,
7. Endoservikal örnekleme esnasında kanama olabileceğinsen önce spatula ile ektoserviksten ilk yayma ardından cytobrush ile endoservikal kanaldan örnekleme alınması tavsiye edilmektedir,
8. Alınan smear ince yayma tabaka halinde yayılmalıdır,
9. Uygun bir fiksatörle hızlı bir şekilde sabitlenmelidir,
10. Sitolojik inceleme tecrübeli personelin olduğu günlük belirli sayıda spesmenin incelendiği yeterli klinik donanımda bir merkez tarafından yapılmalıdır [8].

Yalancı test sonuç nedenleri:

- Küçük lezyon olması halinde smear alınması esnasında anormal hücrelerin atlanması ve bu sebeple anormal hücrelerin alınamaması
- Alınan hücrelerin brushtan aktarımının yeterli yapılamaması
- Lezyonun servikal kanala doğru bulunması
- İnflamasyonun olması
- Küçük boyutlu anormal hücrelerin olması durumunda patolog tarafından hücrelerin değerlendirilmesinin yapılamaması veya normal olarak değerlendirilmesi [37].

Preparatın yeterliliğinin değerlendirilmesi:

- Değerlendirme için yeterli: Preparatın %10'ndan fazlasında endoservikal veya metaplastik hücrelerin bulunması durumudur.
- Değerlendirme için sınırdan yeterli: Endoservikal komponenti içermeyen veya epitel hücrelerinin %50'den fazlasının inflamasyon, kötü fiksasyon gibi durumlara bağlı olarak değerlendirilmesinin sınırlı yeterlilikte olması durumudur. Hastanın kliniğine bağlı olarak testin tekrarı değerlendirilmelidir.
- Değerlendirme için yetersiz: Epitelyal hücrelerin %70 ve daha fazlasında inflamasyon, kötü fiksasyon gibi durumlara bağlı olarak değerlendirilememesi durumudur. Görüntülenebilir skuamöz hücre sayısı preparatın %10'undan daha az alanı içermesi durumunda da spesmen yetersiz olarak değerlendirilir. Eğer sitolojik test yetersiz olarak değerlendirildiyse testin tekrar alınması gereklidir [8].

Smear ile taramada Amerikan Jinekoloji ve Obstetrik Derneği (ACOG) 21 yaş veya cinsel aktivite başlangıcından 3 yıl sonra taramanın başlanması gerektiğini önermektedir. Tarama yıllık konvansiyonel Pap test, 3 yılda bir sıvı bazlı Pap test şeklinde yapılmalıdır. 30 yaş üzerinde ise her 5 yılda bir ko- test (Pap + HrHPV DNA) önerilmektedir. Taramaya son 10 yıl içerisinde anormal Pap test sonucu yoksa 70 yaşında son verilmektedir. Benign nedenlerle histerektomi yapılan olgularda ise taramaya gerek duyulmamaktadır [38]. ACOG 'a göre 21 yaş altındaki kadınlara cinsel aktivite olsa bile genç yaş grubunda invaziv kanser prevalansının düşük olması,

karsinogenez sürecinin uzun yıllar alması ve eksizyonel işleme sebep olarak preterm eylem riskin nedeniyle tarama önermemektedir [9].

2.4.2. HPV ile Tarama

HPV ile tarama enfeksiyonların geçici olması, spontan kaybolan bir enfeksiyon olması ve özellikle gençlerde kanser prekürsörlerine yol açmaması nedeniyle 30 yaş altı kadınlarda tarama testi olarak kullanılmamalıdır [39]. Alınan örnek smear örneğinden ayrı bir kaptan örneklenir [40].

HrHPV ve smearın birlikte değerlendirilmesine ko-test denilmekte olup, 30 yaş üstü kadınlarda bu yaklaşım desteklenmektedir. Ko-test yöntemiyle tarama test duyarlılık %100'e yakın artırılır [41]. High grade lezyonlar için yüksek öngörü değerinin olması, malign sürecin yavaş ilerlemesi ve maliyet nedeniyle ko-test 5 yıl geçerlidir [42]. Sitoloji negatif, HPV pozitif olması durumunda 12 ay sonra ko-test tekrarı önerilmekte olup bu olgularda high-grade neoplazi riski düşük görülmüş ve HPV enfeksiyonunun bu süreçte yok olduğu görülmüştür [42]. Dirençli HPV test pozitifliği olması halinde ileri inceleme yapılması, anormal smear sonucu olması durumunda ise HPV den bağımsız olarak kılavuzlar doğrultusunda yönetim yapılmalıdır. Tek başına HPV ile tarama smeara göre high-grade neoplazilerin daha erken tanısını sağlamış olup duyarlılığı % 90'ın üzerindedir [31].

2.5. Serviksin Preinvaziv Lezyonlarının Sınıflandırılması

2.5.1. Bethesda Sistem

Sitolojik bulguların standardize edilerek raporlanması ve benzer vakaların analiz edilmesi Bethesda sisteminin geliştirilmesi ile sağlandı. Servikal sitoloji yorumları standardize edilerek klinik yönetime daha güvenli bir rehberlik yapılma imkânı Bethesda sistemi ile oldu [9].

Temel olarak alınan hücre miktarı, inflamasyon veya gizli kan varlığı temel alınarak örneğin yeterli veya yetersiz rapor edilmesi örneklemin yeterliliği göstermektedir. Yetersiz test varlığında 2-4 ay sonra testin tekrarlanması önerilmektedir. Atrofi veya enfeksiyon olması halinde uygun tedavi sonrası örneğin

alınması gerekir. Tekrarlayan yetersiz sonuç görülmesi durumunda CIN risk artışı olması nedeniyle kolposkopi ile değerlendirme yapılmalıdır [31].

Bu sistemde premalign lezyonlar 3 gruba ayrıldı.

1. Atipik Squamöz hücreler (ASC)
 - Önemi bilinmeyen (ASC-US)
 - Yüksek dereceli lezyonların dışlanması gereken (ASC-H)
2. Düşük dereceli squamöz intraepitelyal lezyonlar (LSIL)
3. Yüksek dereceli squamöz intraepitelyal lezyonlar (HSIL)

Yapılan çalışmalarda uzun süreli takipte koilositoz olarak sınıflandırılan lezyonların % 14 yüksek dereceli squamöz intraepitelyal neoplaziye, hafif displazi lezyonlarının % 16 şiddetli displazi veya CIS 'ya ilerlediği görülmüştür [23, 43].

Papanicolaou Sınıflaması

Class 1: Normal

Class 2: Atipi, inflamasyon veya uterin hücreler

Class 3: Displastik hücreler

Class 4: Karsinoma in situ

Class 5: Malign hücreler, invaziv kanseri destekler [8].

Tablo 2.2: Sitolojik sınıflandırma sistemlerinin karşılaştırılması [43]

Sitolojik Sınıflama Sistemlerinin Karşılaştırılması		
Bethesda Sistemi	Displazi / CIN sistemi	Papanicolaou sistemi
Normal sınırlarda	Normal	I
İnfeksiyon (organizma tanımlanmalı)	<i>İnflamatuvar atipi</i> (organizma)	II
Reaktif ve reperatif değişiklikler		
Skuamöz hücre anormallikleri		
Önemi belirsiz atipik skuamöz epitel hücreleri (ASCUS)	Skuamöz atipi	IIR
Düşük grade skuamöz intraepitelyal lezyonlar (LSIL)	HPV atipi	IIR
	Hafif displazi	CIN 1
	Orta derecede displazi	CIN 2
	Şiddetli displazi	CIN 3
	Karsinoma in situ	IV
Skuamöz hücreli karsinom	Skuamöz hücreli karsinom	V

Tablo 2.3: Bethesda sistemi sitoloji raporu bileşenleri

Örnekleme Tipi
Geleneksel (Pap smear)
Sıvı Bazlı (Pap test)
Diğer
Örneklemenin Yeterliliği
Değerlendirme için yeterli
Değerlendirme için yetersiz (nedeni açıklanmış)
Genel sınıflama
İntraepitelyal malignite açısından negatif
Epitelyal hücre anormalliliği
Diğer
Yorum/ Sonuç
İntraepitelyal malignite açısından negatif
Epitelyal hücre anormalliliği
Neoplastik olmayan bulgular <ul style="list-style-type: none"> • Hücrel farklılıklar (atrofi, metaplazi) • Reaktif hücrel değişiklikler (inflamasyon, radyasyon) • Histerektomi sonrası glandüler hücreler
Organizmalar <ul style="list-style-type: none"> • Trikomonas vaginalis • Kandida ve türevi fungal organizmalar • Bakteriyal vajinozis düşündüren değişimler • Herpes simplex virüs ile uyumlu hücrel farklılaşmalar

Tablo 2.4: Bethesda sistemi epitelyal hücre anormallikleri

Skuamöz hücre
Atipik skuamöz hücreler (ASC) <ul style="list-style-type: none"> • Önemi belirlenemeyen (ASC-US) • HSIL dışlanamayan (ASC-H)
Low-grade skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL)
High- grade skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL)
Skuamöz hücreli karsinom
Glandüler hücre
Atipik glandüler hücreler (AGC) <ul style="list-style-type: none"> • Endoservikal, endometrial ya da başka şekilde belirtilemeyen Atipik glandüler hücreler, neoplazi lehine • Endoservikal ya da başka bir şekilde belirtilemeyen
Adenokarsinoma in situ (AIS)
Adenokarsinom

2.5.2. LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology)

2012'de, Amerikan Patoloji Koleji ve Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği'nin Alt Anogenital Skuamöz Terminolojisi (LAST) projesi, anogenital yolun HPV ile ilişkili skuamöz lezyonlarını tanımlamak için kullanılan terminolojide değişiklikler yayınladı [44, 45]. LAST sisteminde histolojik servikal bulgular, sitolojik bulgularla aynı terminoloji kullanılarak aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır:

- Önceki terminoloji sisteminde CIN 1, düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL) olarak adlandırılır.
- CIN 2, kanser öncesi lezyonları belirlemek için p16 immün boyamaya göre katmanlara ayrılır. CIN 2'nin tekrarlanabilirliği zayıftır ve muhtemelen CIN

1 veya 3 olarak adlandırılabilir lezyonları içeren heterojen bir karışımdır. Lezyonlar (HSIL) olarak adlandırılır.

- CIN 3, HSIL olarak anılır [46].

Tablo 2.5: Servikal İntraepitelyal Neoplazi terminolojisi ve histolojisi [45, 47]

LAST Sistemi	Sitoloji	LSIL	HSIL		
	Histoloji	LSIL	P16 ile boyanma*	HSIL	
Bethesda Sınıflaması	Sitoloji	LSIL	HSIL		
	Histoloji	CIN1	CIN2	CIN3	
Displazi Terminolojisi		Hafif displazi	Orta düzey displazi	Ciddi displazi	Karsinoma İn-situ

2.6. HPV (Human Papilloma Virüs) Tanımı ve Tiplendirilmesi

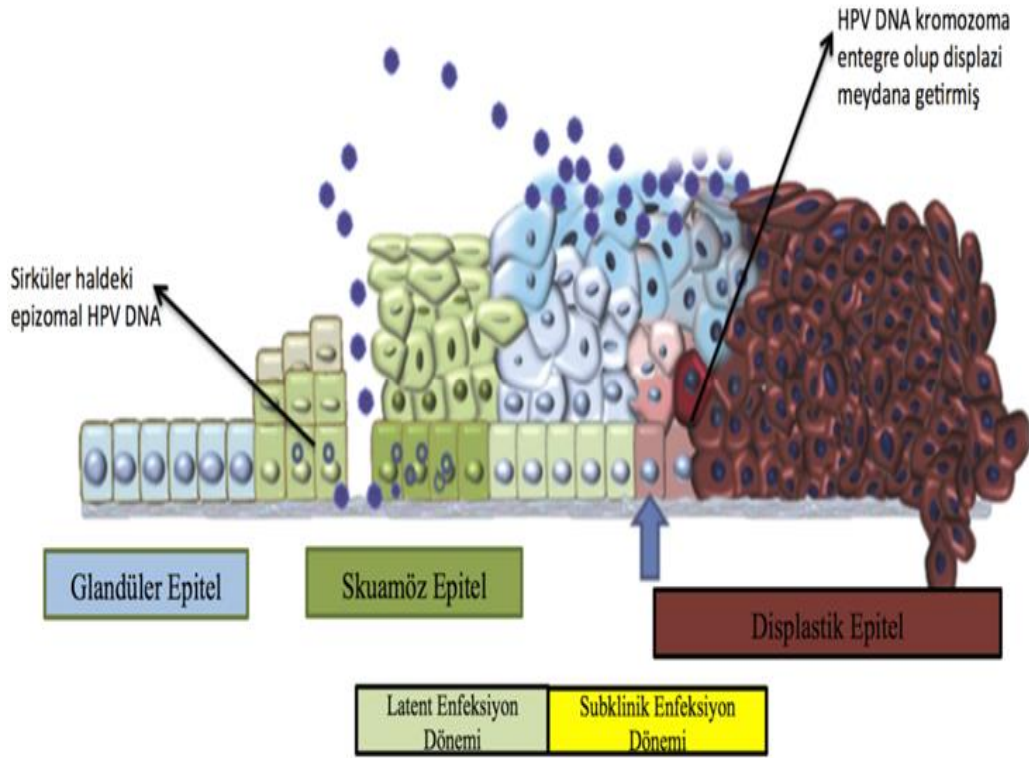
HPV virüsü serviks kanserinin primer etkenidir [48]. HPV, Parvovirus ailesinde bulunan 8.000 baz çiftinden oluşan bir DNA virüsüdür. Bilinen 200' den fazla tipi vardır [8].

HPV tipleri servikal kanser ile ilişkili yüksek riskli (HrHPV) ve düşük riskli (LrHPV) olarak sınıflandırılmaktadır. Düşük risk grubunda HPV tip 6 ve 11'in sebep olduğu genital siğile neden olan, laringeal papillom yapan ve subklinik enfeksiyona sebep olan nadiren malign özellik gösteren HPV tipleri bulunmaktadır. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45 ve 58 in içerisinde bulunduğu inatçı HPV enfeksiyonuna neden olarak servikal kanser yapan grubun %95'inden sorumludur. HPV 16 en karsinojen olan ajan olup CIN 3 lezyonlarının %45, serviks kanserlerinin %55'ine sebep olmaktadır. Aynı zamandan anogenital sistem ve orofarenks kanserlerinde de yine en çok rastlanan ajandır. İkinci sıklıkta %13 ile HPV 18 servikal kansere yol açmakta olup, adenokarsinom ve adenosquamöz karsinomlarda da sık görülmektedir [31].

Tablo 2.6: Onkojenik Risk Potansiyeline Göre HPV Tipleri

Onkojenik risk	HPV genotipi
Düşük Risk	6,11,42,43,44
Yüksek Risk	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68,73

HPV enfeksiyonu, üreme sisteminin en yaygın viral enfeksiyonudur ve yüksek riskli genital HPV'ler, serviks kanserinin ve onun malign prekürsörü olan servikal intraepitelyal neoplazinin gelişiminde merkezi etiyolojik ajanlardır [49]. HrHPV genotipleri 16, 18, 31, 33 ve 35 dünya çapında en yaygın olanlardır. Diğer yüksek risk genotipleri HPV 39, 45, 51, 52, 56, 58, 66 ve 69'dur [50]. Genel olarak HPV, viral genomların düşük kopya sayılarında epizomlar olarak kaldığı servikal skuamöz epitelin bazal tabakasını enfekte eder [28]. Epitel hücrelerinin farklılaşması üzerine yüksek virion kopyaları üretilir ve yeni virion soyları epitel yüzeyinden salınabilir. Bazal tabakanın kök hücre benzeri hücrelerinin enfeksiyonu, enfeksiyonun kalıcılığını sağlar [51].



Şekil 2.3: HPV'nin karsinogenez süreci [52]

HPV esas olarak skuamöz ve metaplastik epitelyal hücreleri enfekte eden her viral tipe özgü kapsid proteini içeren çift sarmallı DNA virüsü olup 150 den fazla genetik tipi tanımlanmıştır [53]. 6 adet 'Erken (Early)' (E) gen: DNA bakımı, replikasyonu ve transkripsiyonu gibi virüsün erken yaşam fonksiyonlarını yönetir. 2 adet 'Geç (Late)' (L) gen; majör (L1) ve minör (L2) kapsid proteinlerini kodlayarak

viral yaşam siklusunun geç döneminde yeni enfeksiyöz partiküllerinde oluşumunda gereklidir [31]. L1 VE L2 kapsid proteinleri bazal hücrelere bağlanarak, virüsün yeni konak hücrelere girişine izin verir, enfeksiyon başlar [54]. HPV gen ekspresyonu squamöz epitel yapı farklılaşması ile eş zamanlı oluşan ve ona bağımlı olarak gerçekleşir. Bu sebeple viral yaşam siklusu bütünüyle intak ve farklılaşmamış squamöz epitel varlığında mümkündür [53].

HrHPV'lerin onkojenik aktivitesi, onların E6 ve E7 proteinlerinin fonksiyonel özelliklerine dayanmaktadır [55]. Bu proteinler sırasıyla p53 ve retinoblastoma proteinini inaktive eder, apoptozun inhibisyonuna ve servikal epitelin bazal ve farklılaşmış katmanlarında hücrelerin hücre döngüsü ilerlemesine yol açar. Genetik değişikliklerle viral entegrasyon, nihayetinde kontrolsüz hücre proliferasyonunu indükleyebilir [53, 56].

L.cripiatus, *L.jensenii* ve *L.gasseri* gibi spesifik *Lactobacillus* türlerinin baskınlığı, servikovajinal ortamda nispeten inflamatuvar olmayan bir durumla ilişkilidir. Bu pro-inflamatuvar durumlar, muhtemelen HPV'nin onkojenik potansiyelini artıran doku hasarı ile sonuçlanır. DNA hasarına rağmen, E6 ve E7'nin ekspresyonu apoptozun inhibisyonu ile sonuçlanır ve hücresel proliferasyonu artırır, anöploidi ve kromatin anormalliklerini artırır. Bu sayede servikal displazi ve kanser gelişimine yol açar [57]. Histolojik düzeyde, farklı derecelerde skuamöz intraepitelyal lezyonlar, kalıcı HrHPV enfeksiyonunun sonucudur ve tespit edilmezler. Tedavi edilmezlerse, ortalama 5 ila 15 yıl içinde yüksek dereceli lezyonlara ve kansere yol açabilirler [58].

Akut HPV enfeksiyonlarına karşı bağışıklık yanıtına başlangıçta mukozal NK hücreleri [59, 60] ve anti-viral etkileri bildirilen antimikrobiyal peptitler üreten epitel hücreleri aracılık eder [61]. Bununla birlikte, HrHPV'ler, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklıktan kaçmak için moleküler stratejiler geliştirmiştir [62-65]. HrHPV enfeksiyonu hiçbir zaman belirgin bir proinflamatuvar ortamla ilişkilendirilmez [66-68]. Oldukça yüksek sayıda CD4⁺, CD25⁺düzenleyici T hücreleri ve aktive edilmiş TH2 hücrelerinin varlığı, HrHPV kalıcı enfeksiyonlarında rapor edilmiştir ve sitotoksik fonksiyonların baskılanması, T hücre enerjisinin indüklenmesi ile ilişkilendirilmiştir [69, 70]. Sonuç olarak, virüs kaynaklı immün baskılanma, *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonu gibi cinsel yolla bulaşan diğer hastalıklarla artan

enfeksiyondan sorumlu olabilir [71, 72]. Ortaya çıkan veriler, vajinal mikrobiyomun hastalığın doğal seyrinde rol oynadığı fikrini desteklemektedir [59]

HPV enfeksiyonu spesifik olmayan ve persiste etmeyen enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Enfeksiyon çoğunlukla 9-15 ay içerisinde temizlenmektedir [73]. CIN'e ilerleyen persistent enfeksiyonun olması oldukça az sayıda kadında gerçekleşmektedir [74, 75]. HPV enfeksiyonları, HrHPV genotipleri ile bile geçici olabildiğinden ve %50'den fazlası altı ay içinde, yaklaşık %90'ı ise iki yıl içinde temizlendiğinden, çalışmalarda elde edilen verilerin dikkate alınmasının kritik olduğuna inanılmaktadır [59, 76]. HrHPV ile kalıcı enfeksiyon, rahim ağzı kanseri gelişimi için gerekli ancak yeterli olmayan bir koşuldur. HrHPV enfeksiyonu oluşur olmaz servikal pul pul dökülen hücrelerde hücresel değişiklikler gözlemlenebilir [58].

HPV virüsü bulaşında en önemli risk faktörü cinsel yolla bulaştır. Erken yaşta ilişkiye başlanması ve yaşam boyu partner sayısı bulaş riskini artırmaktadır [77]. Sigara, diğer cinsel yolla bulaşan enfektif ajanlara maruz kalma, beslenme, immunsupresyon vb. durumlar persistent enfeksiyona neden olabilecek risk faktörleridir [9]. Cinsel ilişki esnasında genital epitelde oluşacak hasar ile bazal membran hücrelerine ulaştığı ve bir kez enfeksiyona sebep olduktan sonra bu hücrelerde depolandığı kabul edilir [30]. Aynı şekilde oral- genital, anal- genital geçiş olabileceği ön görülse de en sık genital- genital geçişin olduğu görülmüştür [78]. Ciltte kolonize olarak vertikal geçiş (anneden yenidoğana) ile konjenital HPV enfeksiyonu nadir olup, doğumda veya sonraki 1-3 yıl içerisinde gelişen konjonktival, laringeal, vulvar siğiller şeklinde görülebilir [79]. Sezaryen endikasyonu olarak görülmesi de doğum yolunu kapatacak, doğum esnasında koparak kanamaya neden olabileceği yaygın siğillerin olduğu durumlarda doğum şekli sezaryen olarak yapılması uygun görülmektedir [31].

HPV ilişkili tedavi genital sistem siğilleri, high-grade neoplazi ve invaziv kanser olması halinde yapılmaktadır. Çoğunlukla subklinik enfeksiyona sebep olması nedeniyle etkin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Sitoloji sonucu LSIL olan kişilerde tedavi gerekmiyebilir yaklaşık 2 yıllık takip süreci ile değerlendirilir [31]. Genital siğillerin sayısı, yerleşimi ve boyutuna bağlı olarak değişen çeşitli tedavi yöntemleri bulunmaktadır [80].

2.7. Vajinal Flora

Mikrobiyom kavramı ilk olarak Lederberg ve McCray [81] tarafından aynı yaşam alanını paylaşan ve belirli insan dokuları ile karmaşık bir etkileşim geliştiren bir dizi ortak, simbiyotik veya patojenik mikroorganizmayı belirtmek için kullanılmıştır. İnsan vücudunun farklı organlarında bulunan mikroorganizmaların çeşitliliğini ele alan ilk büyük çalışma, 2008'de başlayan İnsan Mikrobiyom Projesi'dir. Bu çalışmada, alt genital bölge de dahil olmak üzere vücudun farklı bölümlerinin mikrobiyom bileşimi analiz edilmiştir [82].

Vajinal mikrobiyomun kolonizasyonu, tıpkı bağırsak veya cilt mikrobiyomu gibi doğumda oluşmaya başlar ve doğum şekline (vajinal doğum veya sezaryen) bağlı olarak değişiklik gösterebilir [83-85]. Bir kadının yaşamı boyunca vajinanın morfolojisi ve fizyolojisinin değişmesi gibi, vajinal mikrobiyom da ergenliğin başlangıcı ve adet döngüsü sırasındaki hormonal değişiklikler, menopoz ve hamilelik gibi faktörlerden etkilenir [86-88]. Bu nedenle, vajinal mikrobiyotanın konakçının üreme fizyolojisini etkileyebileceği gibi, mikrobiyal bileşimin de konak fizyolojisinden etkilenebileceğini akılda tutmak çok önemlidir [89].

Yaşamın ilk birkaç haftasında, dişi üreme sisteminin vajina ve vulva, rezidüel maternal östrojenlerden etkilenir. Vajina mukozası zengin bir glikojen kaynağı içerdiğinden, *Lactobacillus* türleri gibi laktik asit bakterilerinin doğumdan sonraki ilk 24 saat içinde hızla kolonize olduğu öne sürülmüştür [86, 90]. Vajinadaki glikojen içeriği düştükçe, laktik asit üreten mikropların göreceli eksiklikleri nedeniyle vajinal pH'nın nötr veya alkali hale geldiği varsayılır [91-93].

Genel olarak, sağlıklı bir yetişkin vajinal mikrobiyomu ağırlıklı olarak *Lactobacillus* spp. ve *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* ve *Enterobacteriaceae* gibi daha düşük bolluktaki diğer mikropları içerir. Büyümelerini destekleyen asidik bir ortam yaratmanın yanı sıra, *Lactobacillus* suşlarının çoğu, bir dizi potansiyel olarak zararlı mikrop için toksik olan ve büyümelerini engelleyen kayda değer sayıda antimikrobiyal benzeri bileşik, bakteriyosin veya hidrojen peroksit üretebilir [94, 95]. Bunun dışında bazı *Lactobacillus* spp. türleri, patojenleri dişi üreme sisteminin dışında tutmak veya temizlemek için konağın bağışıklık tepkisini düzenleyebilirler [96]. *Lactobacillus* spp. vajina kolonizasyonunun sürdürülmesinde başka bir anahtar

mekanizmayı temsil eden, kaynak rekabeti yoluyla patojenler üzerinde engelleyici etkiler sergilediği gösterilmiştir [97-100]. Çoklu *Lactobacillus* spp. türleri aynı birey içinde farklı zaman noktalarında sayısal olarak baskındır [101].

Ravel ve ark. 2011'de üreme çağındaki kadınlar arasında The Vaginal Community State Types (CST) adı verilen beş tür vajinal bakteri topluluğu tanımlamıştır. Vajinal mikrobiyotanın ayrıntılı bileşimi ve bakteri türlerinin göreceli bolluğu, son zamanlarda yüksek verimli 16s rRNA gen dizilimi yoluyla tanımlanmıştır. Dört CST'ye, vajinal ortama oldukça adapte olmuş *Lactobacillus* türleri hakimdir [76, 102].

Tablo 2.7: *Lactobacillus* türleri ve CST

CST	MİKROBIYATA
CST - I	<i>Lactobacillus crispatus</i>
CST- II	<i>Lactobacillus gasseri</i>
CST- III	<i>Lactobacillus iners</i>
CST- IV	<i>Gardnerella</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Ureaplasma</i> , <i>Dialister</i> , <i>Bacteroides</i>
CST- V	<i>Lactobacillus jensenii</i>

Her CST'nin baskın bir *Lactobacillus* türü vardır: Tip I: *L.crispatus*, Tip II: *L. gasseri*, Tip III: *L. iners* ve Tip V: *L. jensenii* [36]. Aksine, CST IV, *Lactobacillus*'tan yoksundur ve genellikle *Megasphaera*, *Prevotella*, *Gardenella* ve *Sneathia* gibi çeşitli fakültatif veya katı anaerobik bakteriler tarafından yönetilir [51, 76] Vajinal *Lactobacillus* spp. laktik asit, bakteriyosin ve biyosürfaktan üreterek ve patojenik enfeksiyona karşı bariyer oluşturan mukozaya yapışarak geniş spektrumlu koruma sağlar [103-107]. CST IV, yetersiz *Lactobacillus* bulunan, yüksek vajinal pH (>4.5) ve *Gardnerella*, *Prevotella* ve *Atopobium* spp dahil olmak üzere çeşitli anaerobik bakterilerin göreceli bollukta olduğu durumla karakterizedir [76]. Bu mikrobiyal özellikler aynı zamanda sayısız semptom ve olumsuz sağlık sonuçları ile ilişkilendirilebilen bakteriyel vajinozun karakteristiğidir ve CST IV'ün 'moleküler-BV'

olarak adlandırılmasına yol açar [108]. Kadınlar CST IV ile görünüşte sağlıklı görünse de bu CST sıklıkla yüksek Nugent skoru ve bakteriyel vajinoz ile ilişkili olduğu görülmüştür [49, 50, 109].

Sağlıklı, menopoz öncesi vajinal bakteri toplulukları genellikle *Lactobacillus* spp. patojenik ajanlara karşı ilk savunma hattını sağladığı düşünülen düşük bir pH sağladığı kabul edilir [103]. Bununla birlikte, tüm *Lactobacillus*'lar mutlaka stabil veya "sağlıklı" değildir. *L. iners*, "dysbiosis" olanlar dahil tüm kadınlarda bulunurken, *L.crispatus* daha çok "sağlıklı" kadınlarda görülür. Örneğin, bir çalışmada, *L. iners*'in baskınlığı vajinal "dysbiosis" lerden biri olan bakteriyel vajinozun gelişimini öngördü [104-106, 110, 111]. Karşılaştırıldığında, *L.cripatus* baskınlığı, BV gelişimine karşı koruyucu görünmektedir [112]. *L.cripatus*, *L.iners*'a kıyasla daha fazla laktik asit üretir ve *L.iners*, normalden anormal CST'lere geçiş riskinin artmasıyla ilişkilidir. Çalışmalar arasında bildirilen farklılıklar, farklı örnek toplama ve analiz tekniklerine, farklı etnik kökene, beslenmeye ve genetik faktörlere, adet döngüsü boyunca zamansal değişimlere ve doğum kontrol yöntemi kullanımına bağlanabilir [19, 112]. Bu farklılıkların ardındaki gerçek nedenler hala araştırılırken, bazı araştırmalar bunların irksal varyasyonun yanı sıra ev sahibi genetik farklılıklardan kaynaklandığını öne sürmektedir [28, 109, 113, 114].

Laktobasil türleri, 2 laktik asit izomeri, yani L- ve D-laktik asit üretebilir. İkincisi, vajinal disbiyozla karşı daha fazla koruyucu etki gösterir [115]. Laktik asit üretmenin yanı sıra, *Lactobacillus* türleri bakteriyosinler ve biyosümfaktanlar gibi antimikrobiyal etkiye sahip peptitler de üretir. *L. iners* sadece L-laktik asidi sentezleyebilir ve ayrıca bakteri üremesine karşı inhibitör bir etki sergileyen hidrojen peroksit üretemez [115, 116]. Ayrıca *L. iners*, *Gardnerella* tarafından salgılanan vajinolizin proteinine benzer şekilde gözenek oluşturu bir sitotoksin olan inerolizini üretebilir, vajinal epitelde gözenekler oluşturarak enfeksiyonları destekleyebilir [116]. Bu nedenle, *L.cripatus*'un baskın olduğu bir VM, koruyucu mukozal yüzey tabakası bütünlüğünün korunması ile ilgilidir. HPV dahil olmak üzere, fırsatçı bakteriyel ve viral ürogenital enfeksiyonlar için daha küçük bir risk oluşturur. Öte yandan, *L. iners*'in baskın olduğu bir VM, daha yüksek viral enfeksiyon riski ve öncü lezyonların ve CC' nin gelişimi ile ilişkilidir [115, 117] CST IV içinde, HPV pozitif kadınların oksitlenmiş glutatyon ve indirgenmiş glutatyon dahil

olmak üzere glutatyonla ilişkili metabolitlerin daha düşük seviyeleri vardır. Bu metabolitler, oksidatif stresi ve toplam glutatyon tükenmesini temsil edebilir. Oksidatif stresin yan ürünleri, membran lipidlerinde, proteinlerde ve DNA'da geri dönüşü olmayan hasara neden olabilir. HPV kanserojenezinde ve kalıcılığında potansiyel kofaktörler olarak gösterilmiştir [56, 108, 118].

Hijyen ve cinsel ilişki gibi ev sahibi davranışlarının vajinadaki mikrobiyal bileşimi doğrudan etkilediği gibi, rahim içi araç kullanımı gibi hormonal olmayan doğum kontrol yöntemlerinin seçimi de vajinal mikrobiyomun dengesini bozarak enfeksiyon riskini artırabilir [53, 55, 56, 58, 59]. Çok sayıda çalışma, medroksiprogesteron asetat gibi hormonal kontraseptiflerin vajinal epitel tabakasını bozduğunu ve bağışıklık tepkisini değiştirerek vajinal mikrobiyomda değişikliklere yol açtığını, muhtemelen konakçının HIV-1'e karşı duyarlılığını artırdığını ileri sürmüştür [60-62]. Vajinal mikrobiyota da muhtemelen çok sayıda eksojen faktörden etkilenir, ancak bunların çoğu özellikle uzunlamasına örneklerde iyi çalışılmamıştır. Hormonal kontraseptifler ve sigara serviks kanseri gelişimi ile de ilişkili olduğundan özellikler ilgi çekicidir. Kombine oral kontraseptif kullanımı, servikste artan inflamatuvar sitokin seviyesi ile ilişkilidir [119].

Bu sitokinlerin kaynağı bilinmemekle birlikte, mikrobiyotanın bağırsakta bulunduğu gibi bu inflamatuvar ortamı etkilemesi olasıdır [120]. Akut inflamasyon, HPV dahil olmak üzere cinsel yolla bulaşan enfeksiyon bulaşmasına karşı koruyucu olabilir, ancak inflamasyona kronik maruz kalma, DNA hasarı ve potansiyel olarak kanserojen değişikliklerle sonuçlanan hücreler için toksiktir [121]. Hormonal kontraseptiflerin kullanımının ayrıca vajinal flora kompozisyonunu etkilediği, BV epizodlarının insidansını, prevalansını ve tekrarını azalttığı gösterilmiştir [122]. Ek olarak, cinsel aktivite, bakteri çeşitliliğini destekleyen laktobasil popülasyonunun azalmasına katkıda bulunuyor gibi görünen bir faktördür [123]. İlginç bir şekilde, vajinal duş, BV riskini artırır. Böylece duşun vajinal ekosistemde olan etkisini gösterir [124]

Olabilirdiğince, östrojenin vajinal mikrobiyomun korunmasında kritik bir rol oynadığına dair artan kanıtlar da birikmektedir [51]. VM'nin boylamsal çalışmaları, bakteriyel topluluk yapısının dinamik olduğunu ve menstrüasyon sırasında daha az

stabil hale gelme eğilimi ile hormonal olarak etkilendiğini göstermektedir. Bunun tersine normal hamilelik sırasında daha stabil ve daha az çeşitli olduğunu göstermektedir [101, 125, 126]. Anne ve fetüste gebeliğe özgü fizyolojik süreçlere uyum sağlamak için gebelik sırasında meydana gelen fizyolojik değişiklikler arasında, önemli fizyolojik değişikliklerden biri de vajinal mikrobiyomu doğrudan etkileyen östrojen düzeyinin artması olduğu görülmüştür [63-66]. Yükselen östrojen seviyesi, vajinal epitel içinde glikojen sentezini teşvik eder ve bu da *Lactobacillus* spp'nin büyümesini seçici olarak zenginleştirir [67]. Gebeliğin aksine, postmenopozal fazdaki (tipik olarak 50 yaş civarında) kadınlar, östrojen azalması ve folikül uyarıcı hormon düzeylerinin artması dahil olmak üzere üreme hormonlarında büyük değişiklikler yaşamaktadır [127-129]. Mirmonsef et al. menopoz öncesi kadınlara kıyasla menopoz sonrası kadınlarda önemli bir serbest glikojen azalması tespit etti, bu vajinadaki *Lactobacillus* seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdi [76, 130]. Daha sonra 2019 yılında Gliniewicz ve ark. hormon replasman tedavisi (HRT) alanlar da dahil olmak üzere menopoz öncesi ve sonrası kadınların vajinal mikrobiyomlarını karşılaştırdı [131]. Ekip, 16s rRNA gen kopyalarını nicelendirerek, HRT alan postmenopozal kadınların menopoz öncesi kadınlarla karşılaştırılabilir bakteri sayıları gösterdiğini gözlemledi.

Bununla birlikte, HRT almayan postmenopozal kadınlar, diğer iki gruba göre yaklaşık 10 kat daha az bakteri sayısı sergilediler. *Lactobacillus* spp. bolluğunun azalmasıyla birlikte, birçok çalışma, menopoz sonrası kadınlarda anaerobların bolluğunda (örneğin, *Bacteroides*, *Mobiluncus*) ve *Gardnerella vaginalis* gibi vajinozla ilişkili bakterilerde bir artış olduğunu bildirdi [132-134]. Shadell ve ark. pre-, peri- ve menopoz sonrası kadınlardan oluşan iki yıllık bir kohort çalışması (n = 750) gerçekleştirdi [133]. Menopoz sonrası kadınların yaklaşık yarısının (%49,7, 356/716) düşük *Lactobacillus* spp. içeren bir vajinal mikrobiyota topluluğu sergilediğini buldu [51].

Prepuberal yaşta vajinal mikrobiyota, *Enterobacteriaceae* ve / veya *Staphylococcaceae*'nin anaerobik türleri tarafından domine edilir. Ergenlikte, artan östrojen konsantrasyonları, olgun epitel hücreleri tarafından glikojen birikimini teşvik eder. Alfa-amilaz aracılı glikojen sindiriminden türetilen maltotrioz ve alfa-dekstrinler, bu ürünleri laktik asit sentezi için kullanan *Lactobacillus* türleri için seçici

besindir. Düşük pH, mukus viskozitesinin korunması ve epitel yüzeylerde bakteri bağlanmasının önlenmesi *Lactobacillus* baskınlığını destekleyen faktörlerdir [115]. Elbette, konakçının vajinal patojenlere verdiği yanıtta rol oynayan olası genetik ve hormonal faktörler vardır. Bunlar sitokin ve kemokin polimorfizmlerini, bu etkileşimleri karmaşık hale getiren endojen ve eksojen sentetik hormonları içerir. Ayrıca servikal epitel tipi (kolumnar, metaplastik ve skuamöz) de immün yanıtı etkiler. Bir çalışmada, pubertal servikse özgü geniş servikal kolumnar epiteli olan kadınlarda proinflamatuvar sitokin seviyeleri çok daha yüksek olarak görüldü [135].

Vajinal mikrobiyota, çok sayıda endojen ve eksojen faktöre yanıt olarak değişebilen benzersiz ve karmaşık bir ortamdır. Etnik köken ve genetik farklılıkların vajinal mikrobiyomdaki bireyler arası varyasyonlara katkıda bulunduğunu tartışan birkaç makale olsa da yaşam boyunca kadınlarda vajinal mikrobiyomun zamansal dinamiklerini anlamada hala keşfedilecek çok şey olduğunu belirtmek mantıklıdır [76, 136, 137].

HPV pozitif ve servikal displazi gruplarında (LSIL ve HSIL) amino asit metabolitlerinin tükenmesi ve HSIL grubundaki dipeptitlerin tükenmesi gibi yapısal değişikliklerin olduğu görüldü. CC hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek lipid metabolitleri bolluğu, tümör mikroçevresindeki onkojenik yolakların aktivasyonu yoluyla hücre proliferasyonu ve hücre membran sentezindeki bir artış ile açıklanabilir [138, 139]. Son çalışmalar vajinal mikrobiyom (VM) ile jinekolojik kanser arasındaki potansiyel ilişkiyi değerlendirmiştir [140]. VM bileşimi, lokal bağışıklık tepkisini etkileyebilir ve servikal onkogeneze ve HPV klirensine dahil olabilir. Belirli laktobasil türlerinin baskın olduğu VM, fırsatçı enfeksiyonlara karşı koruyucu bir role sahip olabilir ve yeni bir terapötik hedefi temsil edebilir [141]. Kwasniewski ve ark. 70 sağlıklı kontrol, düşük dereceli SIL ve HPV pozitifliği olan 95 kadın ve yüksek dereceli SIL ve HPV pozitifliği olan 85 kadın dahil 250 kadının vajinal florasını değerlendirdi. Kontrol grubunda yüksek *L.criparius*, *L. İners*, *L. taiwanensis* ve *G. Vaginalis* seviyeleri ile *L. acidophilus* yokluğu tespit edildi [142]. Düşük dereceli SIL grubunda; *L.criparius* kontrol grubuna göre daha az sıklıkta görülmekte olup, *L. acidophilus* ve *L. İners* ise baskındı. Öte yandan, yüksek dereceli SIL grubunda *G. vaginalis* ve *L. Acidophilus* artarken, *L. iners*, *L.criparius* ve *L. taiwanensis* frekansları kontrol grubuna göre daha düşüktü. Bu sonuçlar VM, HPV

enfeksiyonu ve CIN gelişimi arasında olası bir ilişkiyi göstermektedir. *G. vaginalis*'in hakim olduğu ve *L. iners*, *L. crispatus* ve *L. taiwanensis*'te zayıf olan bir mikrobiyom, HPV kalıcılığı, CIN gelişimi ve CC için bir kofaktör olabilir [117, 142].

Drago et al. *Ureaplasma parvum* ve HPV ko-enfeksiyonu ile CIN1 arasında güçlü bir korelasyon buldu [127]. Mitra et al., farklı derecelerde servikal lezyonları olan 169 kadından oluşan bir kohortu incelediler ve servikal lezyonların şiddetinin artmasının, daha yüksek vajinal mikrobiyom çeşitliliği ve *Lactobacillus* türlerinin göreceli bolluğunun azalması ile ilişkili olduğunu gösterdiler [59]. CST-IV, HPV durumundan bağımsız olarak artan hastalık şiddeti ile ilişkiliydi [129, 143]. Özellikle *Atopobium vajinae* ve *Lactobacillus iners* HPV pozitif kadınlarda artmış neoplastik ilerleme riski ile ilişkiliydi [143]. *Sneathia sanguinogens* ve diğer *Fusobacterial* türleri, *Anaerococcus tetradius* ve *Peptostreptococcus anaerobius*'un hastalık şiddetinde bir artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [67, 128, 143]. Yeni bakteri taksonları (*Shuttleworthia*, *Gemella* ve *Olsenella*) ve *Streptococcus agalactiae*, düşük ve yüksek dereceli servikal displazi, invaziv servikal karsinomu (CC) olan kadınlarda HPV pozitiflik daha yüksek bulunduğu gözlemlendi [67]. *Sneathia* spp. hem HPV⁺ herhangi bir dereceli lezyonu olmayan kadınlarda hem de kanser öncesi lezyonları ve serviks kanseri olan kadınlarda önemli ölçüde zenginleştirilmiş tek taksondu, bu taksonun CIN ilerlemesi için metagenomik bir belirteci temsil edebileceğini düşündürdü [51]. Audirac-Chalifour ve ark. [60] CC'nin çeşitli evrelerinde servikal mikrobiyom ve sitokin profillerini analiz etmek için bir çalışma yürütmüştür. Servikal epitelyumun HrHPV enfeksiyonundan sonra mikrobiyom bileşiminin *L. crispatus*'tan *L. iners*'e geçtiğini öne sürdüler [143]. Enfeksiyon skuamöz intraepitelyal lezyona (SIL) doğru ilerledikçe, *Sneathia* ve *Fusobacterium* spp tarafından işaretlenen mikrobiyota çeşitliliğinde bir artış olduğu gözlemlendi. CC'de, *Fusobacterium necrophorum* mikrobiyom çeşitliliğini artışı da mevcuttu. Önerilen bu modelde, HPV enfeksiyonu; mikrobiyotadan türetilen TGFβ-1 tarafından geliştirilmiş, mikrobiyota ve sitokin profili arasında pozitif geri besleme yaratan bir immüno-supresif mikro ortam (IL-10 ekspresyonu ve makrofaj tip 2 indüksiyonu yoluyla) oluşturmaktan sorumludur [117].

Bagaitkar et al. tütünün insan vücudundaki bakteriyel enfeksiyonları etkilediği fizyolojik-yapısal değişiklikler, bakteriyel virülansta artış ve bağışıklık fonksiyonunun

düzensizliği şeklinde olan üç mekanizmadan bahseder [144]. Sigara içenlerin servikal mukusunda nikotin ve metaboliti kotinin tespit edilmiştir [145-147]. Ayrıca sigara içmenin, sigaranın anti-östrojenik etkisi [24] ile birleşen vajinal aminlerin birikmesine yol açtığı varsayılmaktadır [24]. Bu sayede kadını BV' ye yatkın hale getirir. Sigara içen kadınlarda, sigara içmeyenlere kıyasla, döngü ortası ve luteal faz estradiol düzeyleri önemli ölçüde daha düşüktür ve vajinal mikro ortamın endojen östrojenden etkilendiği iyi belgelenmiştir [148-151]. Ek olarak, sigara içen kadınların vajinal salgılarında eser miktarda benzo [a]piren diol epoksit (BPDE) bulunur ve BPDE, laktobasillerde bakteriyofaj indüksiyonunu önemli ölçüde artırır [152]. Sigara daha sonra kısmen faj indüksiyonunu teşvik ederek koruyucu vajinal laktobasillerin bolluğunu azaltabilir [153]. Nikotin ve ana metaboliti, yani kotinin, kadınların servikal mukusunda ve sigara içen erkeklerin menisinde bulunur [154]. HrHPV ile enfekte hücrelerde, tütün dumanının onkogen E6 transkripsiyonunda bir artışa neden olduğu, p53 aktivitesinde ve seviyelerinde bir azalmaya yol açtığı, bu da skuamöz hücreli karsinom gelişimini kolaylaştırabildiği yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir [155-157]. Sigara içen kadınlarda CST IV'ün arttığını belirtmekte de ayrıca fayda vardır [153]. Ağır sigara içimi BV ile ilişkilendirilmiştir. Sigara içmek, inflamatuvar sitokinleri azaltarak nötrofillerin ve makrofajların işlevselliğini bozarak doğuştan gelen bağışıklığı etkiler. Ağız boşluğunda ve bağırsakta sigara içmek mikrobiyomun değişmesine neden olur [158]. Ek olarak, serviko-vajinal bağışıklık üzerinde değişen etkiler ve serviko-vajinal mikrobiyomda daha düşük laktobasil prevalansı ile ilişkilendirilmiştir [7, 153].

Vajinal ekosistem epitel hücreleri ve mikrobiyotaya ek olarak nötrofiller, makrofajlar, klasik dendritik hücreler, Langerhans hücreleri, NK hücreleri, T ve B lenfositleri gibi doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık hücrelerini de içerir [159]. CD3⁺ T lenfositleri, ağırlıklı olarak CD8⁺ lenfositleri, serviks ve vajinanın lamina propriasında dağılır. Özellikle ektoservikal mukozada efektör/bellek (CD27⁻ CD45RA⁻) veya efektör fenotipi (CD27⁻ CD45RA⁺); B hücreleri, T lenfositlerle çevrili kümeler veya foliküler benzeri yapılar olarak bulunur. Plazma hücrelerinin yanı sıra az sayıda makrofaj CD68⁺ ve dendritik hücreler, lamina propria boyunca dağılmıştır. Dendritik hücreler ve monosit/makrofaj CD14⁺ hücreleri, vajinal ekosistemde en yaygın antijen sunan hücreleri temsil eder [160-162].

Bakteriyel vajinozun daha yüksek HPV enfeksiyonu oranları ve kalıcılığı ile ilişkisi uzun zamandan beri bilinmesine rağmen metagenomik veriler, seçilen mikrobiyota bileşimlerinin, klinik semptomatolojinin tamamen yokluğunda bile enfeksiyon riskini artırdığını ortaya koydu [163]. Bazı mikrobiyal toplulukların servikal mukus ve epitelin bariyer etkisini değiştirerek HPV enfeksiyonunu desteklediği oldukça açık olsa da mikrobiyota ile ilişkili immünolojik değişikliklerin HPV enfeksiyonunun sonuçları üzerindeki etkileri henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Bu, HPV enfeksiyonunun konağın bağışıklık savunması üzerindeki etkisine bağlı olabilir ve bu mukozal metabolizma üzerinde vajinal mikrobiyotanın bileşimini de etkiler [66, 67]. Bu nedenle, HPV enfeksiyonunun vajinal mikrobiyota üzerindeki immünolojik imzasının daha fazla aydınlatılması ve HPV enfeksiyonlarının vajinal ortam tarafından nasıl modüle edildiğinin tam olarak anlaşılması için daha fazla veriye ihtiyaç vardır [51]. Mukozal kompartmanların herhangi biri gibi vajina içindeki spesifik anatomik bölgeler arasında farklılıklar olması muhtemeldir. Vajinal bölmelerin bazılarını incelemeye yönelik girişimler olmuştur (serviks, proksimal vajina, distal vajina), ancak ektoservikal/endoservikal veya olgunlaşmamış/olgun servikal epitel ile ilişkili mikro bakteriler dahil olmak üzere diğer bölgeler iyi karakterize edilmemiştir. Numune alma sırasında kontaminasyonun meydana gelebileceği bu sahaların yakınlığı nedeniyle bu çalışmaların yorumlanması da zordur. “Sağlıklı” mikrobiyotayı tanımlamak zordur, çünkü topluluk kümelenmesi, kadınların adet döngüsü ve üreme yaşı boyunca değişkenlik gösteren hareketli bir hedef gibi görünmektedir [164].

Rahim ağzı mikro çevresinin metabolik profili, rahim ağzı kanseri araştırmalarına üç önemli fayda sağlar. İlk olarak konak, mikrobiyom ve HPV arasındaki metabolik iletişimin anlık görüntüsünü sağlar. Buna uygun olarak, metabolik profil oluşturma, HPV bağlamında kanserin ayırt edici özelliklerini modüle etmede konakçı-mikrobiyota etkileşimini anlamanın ilk adımıdır. İkincisi, servikovajinal lavaj toplama, viral kalıcılık ve hastalık ilerlemesi mekanizmaları hakkında daha fazla biyolojik anlayış sağlayabilecek invazif olmayan bir yöntemdir. Son olarak, murin ve insan olmayan primat modellerindeki sınırlamalar ve zorluklardan kaçınılır çünkü bu modeller insanlarda vajinal mikrobiyotanın bileşimini tam olarak özetlememektedir [138, 165].

Gelecekte, nükleer manyetik rezonans ve kütle spektroskopisini kullanan metabolomik çalışmaların, sağlık ve hastalık durumlarında vajinal mikrobiyota bileşiminin ilişkisini daha iyi tanımlaması kuvvetle muhtemeldir. *L.iners*, *A.vajinae* ve *Sneathia* türleri gibi tek tek bakteri türlerinin epitelyal ve immün hücre işlevleri üzerindeki etkilerinin daha iyi tanımlanması arzu edilir. Aslında, HPV hastalığında tek bir bakteri türünün sorumluluğu tanımlanırsa, mikroçip dizisi veya metabolomik teknolojiler kullanılarak daha yüksek risk altındaki hastaları belirlemek mümkün olacaktır. Ayrıca, vajinal mikrobiyota kompozisyonunu manipüle etmek için pre/probiyotiklere dayalı yeni terapötik stratejiler geliştirmek mümkün olacaktır [51]. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre probiyotikler "yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır [166]. *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus* türleri konakçının mikrobiyomunu değiştirebilir, bağışıklık tepkisini ve inflamatuvar durumu iyileştirebilir. Laktobasil türlerini içeren probiyotikler, vajinal florayı iyileştirmek için ürogenital enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Etki mekanizması vajinal asitlenmeyi, bakteri yapışmasının önlenmesini ve konağın bağışıklık sistemi ile sinerjistik etkiyi içerecektir [167]. Etkinlikleri hakkında kesin veri olmamasına rağmen probiyotikler, inflamasyonu indüklemedikleri, direnci artırmadıkları veya yan etkileri olmadığı göz önüne alındığında BV ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların alternatif tamamlayıcı tedavisi gibi görünmektedir [168]. Probiyotiklerin uterin serviksin sitolojik değişiklikleri ve HPV enfeksiyonu üzerindeki etkileri Verhoeven ve ark. 51 kişide, yirmi dört kadın günlük olarak *L. paracasei* Shirota suşu içeren Yakult® probiyotik aldı ve 27 kadın kontrol grubunu oluşturdu [169]. Başlangıçta tüm kadınların HPV için pozitif bir PCR'si vardı. 3 ay sonra, kontrol grubunun %7,7'sine karşı probiyotik alan kadınların %25'inde HPV temizlendi. 6 ay sonra, probiyotik ve kontrol gruplarında klirens oranları sırasıyla %29,2 ve %19,2 idi. Yine de aynı çalışmada, HPV enfeksiyonuna bağlı sitolojik anormallik klirensi probiyotik grupta kontrol grubuna göre iki kat daha yüksekti [169]. Palma et al. BV veya mantar enfeksiyonu olan (sitolojik değişiklikler veya HPV/PCR varlığı olan) 117 kadını değerlendirdi [170]. Kadınlar 2 gruba ayrıldı ve enfeksiyonların tedavisini takiben bir vajinal *Lactobacillus Rhamnosus* içeren BMX54, NORMOGIN® 54 kapsülü aldılar. Grup 1 (n = 60) 3 ay boyunca probiyotik aldı ve grup 2 (n= 57) 6 ay boyunca probiyotik aldı. 3

ve 6 ay sonra sitoloji, kolposkopi ve bakteriyoskopi ile mantar ve vajinoz araştırması için örnekler toplandı. 9 ay sonra HPV/PCR analizleri dahil edildi. Sonuçlar, probiyotiği daha uzun süre kullanan grup 2'de sitolojik değişikliklerin temizlenmesinin 2 kat olduğunu gösterdi. HPV enfeksiyonunun klerensi de grup 2'de daha yüksekti (yani grup 1'de %31.2'ye karşı %11.6), ayrıca vajinal enfeksiyon nüks oranları daha düşüktü [170]. CC ve lezyon sonuçlarının VM'nin oluşumu ile ilişkili olup olmadığını anlamak için ek uzunlamasına çalışmalara ihtiyaç vardır [117].

Son on yılda yürütülen çalışmalar, VM'nin değişken ve karmaşık bileşimini kanıtlamıştır. HrHPV tipleri ile kalıcı HPV enfeksiyonu, hemen hemen tüm CC'nin ve önemli bir oranda vajinal ve vulvar malignitelerin gelişimi için ana risk faktörüdür. Son veriler, bazı bakteri türlerinin varlığının ve bolluğunun HPV enfeksiyonunu önleyebileceğini, bu anatomik bölgelerde kanser öncü lezyonlarının gelişme riskini azaltarak virüs klirensine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Tersine, diğer bakteri türleri patolojik durumu destekleyebilir. Bu nedenle, VM bileşiminin ve değişikliklerinin (disbiyoz) HPV enfeksiyonu/kalıcılığı üzerindeki etkisini anlamak, bu virüsün neden olduğu enfeksiyonların sonuçlarının daha iyi tahmin edilmesine katkıda bulunabilir. Dahası, HPV'nin neden olduğu patolojilerle ilişkili bakteriyel bileşenlerin net bir şekilde tanımlanması klinik bir ilişkiye sahip olabilir ve alternatif terapötik stratejiler için bir fırsat sağlayabilir. Halihazırda mevcut olan teknolojiler, VMB' nin hızlı yüksek verimli analizine izin verir. Bu araçlar, HPV ile ilişkili servikal, vajinal ve vulvar patolojilerin oluşumunda, önlenmesinde, ilerlemesinde veya gerilemesinde belirli bakteri türlerinin katılımını belirlemek için boylamsal çalışmalarda uygulanmalıdır [117].

2.8. Anormal Servikal Sitolojinin Değerlendirilmesi

2.8.1. ASC-US

ASC; gerçek anlamda önemi belirlenemeyen anormal hücrelerin bulunduğu ortamda görülen test sonucudur. ASC-US tanısı alan hastaların % 10-20 CIN1, % 3-5 CIN2-3 riski olduğu görülmüştür [171, 172]. CIN1 genellikle benign HPV virüs varlığında gelişen ve spontan gerileyen bir durum olması nedeniyle göz ardı edilebilse de; ASC-US testinde tirajdaki asıl amaç CIN2-CIN3 olarak görülme ihtimali olan lezyonların saptanmasıdır [173]. Bu sebeple ASC-US test sonucuna HPV testini

konfirme etmenin yararlı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [174, 175]. ASC - US yönetiminde, HPV testin olmadığı durumda 1 yıl sonra sitolojinin tekrarı yapılır. HPV testi pozitif olması durumunda LSIL ile eşdeğer riske sahip olması nedeniyle kolposkopi ile değerlendirilme önerilmektedir. HPV negatif, ASC-US yönetimi 3 yıl sonra ko-test ile yeniden değerlendirilme yapılması şeklindedir [31].

2.8.2. LSIL

Düşük dereceli squamöz intraepitelyal lezyonlar denildiğinde koilositik atipi olarak tanımlanan HPV değişimleri ve CIN 1 (hafifi displazi) tanımlanmaktadır [9]. Günümüz kılavuzlarında LSIL sonucu görülmesi halinde ileri değerlendirme amacıyla kolposkopi yapılması gerektiğini vurgulamaktadır [177]. 21-24 yaş arasında kendiliğinden gerilemenin görülmesi nedeniyle kolposkopi yerine sitoloji takibi yapılır. HPV testi olmayan postmenopozal hastalarda yönetim HPV testi bakılması, 6-12 ay sonra sitoloji tekrarı veya kolposkopi yapılması şeklinde olabilir [31].

2.8.3. ASC-H

Bu tanımlama HSIL sitolojisini tam olarak karşılamayan ancak high-grade lezyonlarında dışlanamadığı durumlar için geçerlidir. Bu grup içerisinde %25 oranında HSIL saptanması nedeniyle yaş, HPV test sonucundan bağımsız olarak hastalar kolposkopi ile incelenmelidir [31].

2.8.4. HSIL

Bu kategori CIN2 VE CIN3' ü yani orta displazi, ağır displazi ve karsinoma in situyu içermektedir. Bu sebeple HSIL sonucu görülen her kadına kolposkopi yapılmalı ve gerekli olması halinde biyopsi alınmalıdır [177]. 25 yaş üstü hastalarda HSIL yönetiminde 'gör' ve 'LEEP'; Loop elektrocerrahi eksizyon(Loop electrosurgical excision procedure) yaklaşımı ile hem tanı hem de tedavi imkanı sağlanmaktadır [31].

2.8.5. AGC

Bu grup içerisinde yüksek neoplazi riski taşımaktadır. Endometrial, meme, kolon kanserleri içinde artmış risk bulunmaktadır. Yaklaşık yarısı endometrial neoplazilerden kaynaklanmaktadır. Bu sebeple değerlendirmede kolposkopi ve endoservikal örnekleme gerekmektedir. Endometrial hastalıklar için risk faktörü

taşıyan kronik anovulatuvar öyküsü olan, anormal uterin kanama şikâyeti bulunan veya 35 yaş üstü hastalarda endometriyal biyopsi de yapılmalıdır. Triajında HPV ile değerlendirme gerekmemektedir [9, 31].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yöntemi ve Veri Toplama Araçları

Kadın hastalıkları polikliniğine Ocak 2017 – Mart 2022 tarihleri arasında başvurmuş poliklinik hekimlerimizce değerlendirilmiş herhangi bir endikasyon nedeniyle vaginal flora düzenleyici tedavi başlamış, 20-65 yaş arası, HPV pozitif ve/veya servikovajinal sitolojik anormallikleri mevcut olması nedeniyle vaginal mikrobiyota homeostazının pre-probiotik vaginal kapsüllerle sağlanmış (Tedavi kapsülleri *L.regenerans* (Vagiflora®), *L.helveticus*, *L.rhamnosus*, *L.salivarius*, *Bifidobacterium longum* (Motiflor®) ve benzeri ürünler olup rutin poliklinik kontrollerinde hastalara vajinal flora düzenleyici tedavi olarak verilen preparatlardır.) 80 hasta ile tarafımızca vaginal mikrobiyota tedavisi almamış ancak rutin jinekolojik muayene için başvurmuş 82 hastanın dosyaları tarafımızca bu retrospektif çalışmada değerlendirilmiştir. Çalışmayı etkileyebilecek hamilelik ve HIV enfeksiyonu dahil immün yetmezlikle ilgili hastalıkları mevcut olan hastalar dahil edilmemiştir. Dahil edilen hastaların izlenme süresince takipte yapılmış tetkikleri incelenmiştir.

Hastalardan rutin servikal smear tarama ve takip programı dahilinde alınmış olan Pap smear örnekleri poliklinik hekimlerince Cytobrush tekniği ile alınmış olup servikal pap smear örnekleri Bethesda sistemi kullanılarak Hacettepe Üniversitesi Patoloji laboratuvarında, HPV DNA genotiplendirme ise PCR yöntemi ile Hacettepe Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarında kategorize edilmiştir.

3.2. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS Statistics 18 © Copyright SPSS Inc. 1989, 2010 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelenmiştir. Çalışmada yer alan kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) ile sürekli değişkenler ortalama±standart sapma (SS), medyan (IQR: 25-75. persentil) değerleri ile sunulmuştur. Kategorik değişkenlerin analizinde Pearson Ki-kare, Yates düzeltmesi ve Fisher-Exact Test ve Fisher Freeman Halton Exact Test, bağımlı gruptaki kategorik değişkenlerin tekrarlayan analizlerinde ise McNemar testi kullanılmıştır. Bağımsız iki grup ortalama karşılaştırmalarında parametrik test varsayımları sağlanmadığından dolayı Mann

Whitney U testi yapılmıştır. Çalışmada istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

3.3. Etik Kurul Onayı

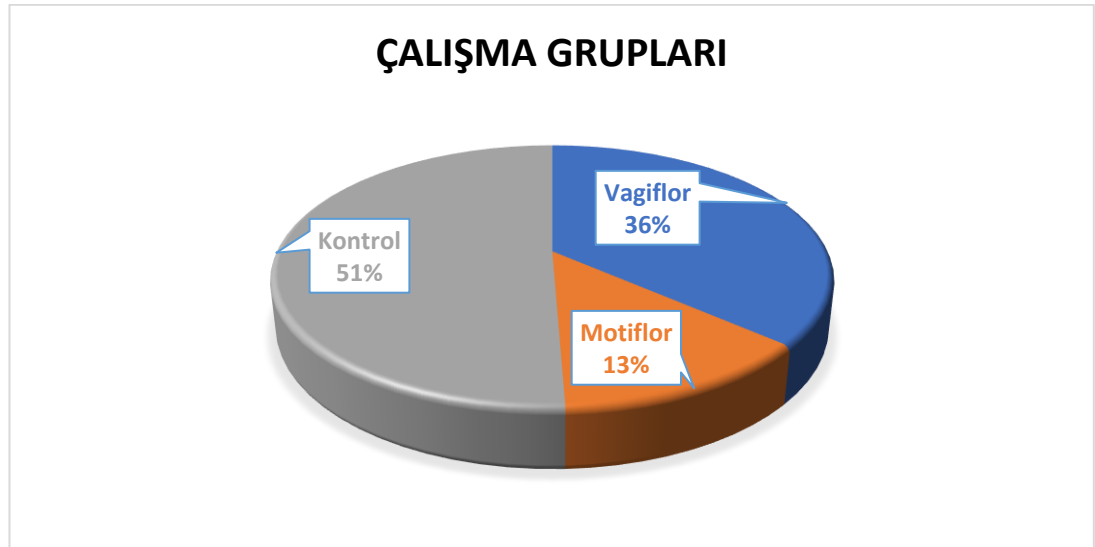
Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından bu tez çalışması gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntem dikkate alınarak incelenmiş olup tıbbi etik açıdan uygun bulunarak onay verilmiştir. (GO 22/488 kayıt numarası. Karar No: 2022/08-57) Çalışma bütçesi ise araştırmacılar tarafından karşılandı.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 162 kişi dahil edilmiştir. Bu 162 kişinin 80'i (%49,4) tedavi alan grupta, 82'si (%50,6) tedavi almayan grupta yer almaktadır. Tedavi grubunda yer alan hastaların 59'u (%73,7) vagiflora, 21'i (%26,3) motiflor® tedavisi almıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1: Hasta grupları

Grup (n=162)	n	%
Tedavi yok	82	50,6
Tedavi var	80	49,4
Vagiflor	59	73,7
Motiflor	21	26,3

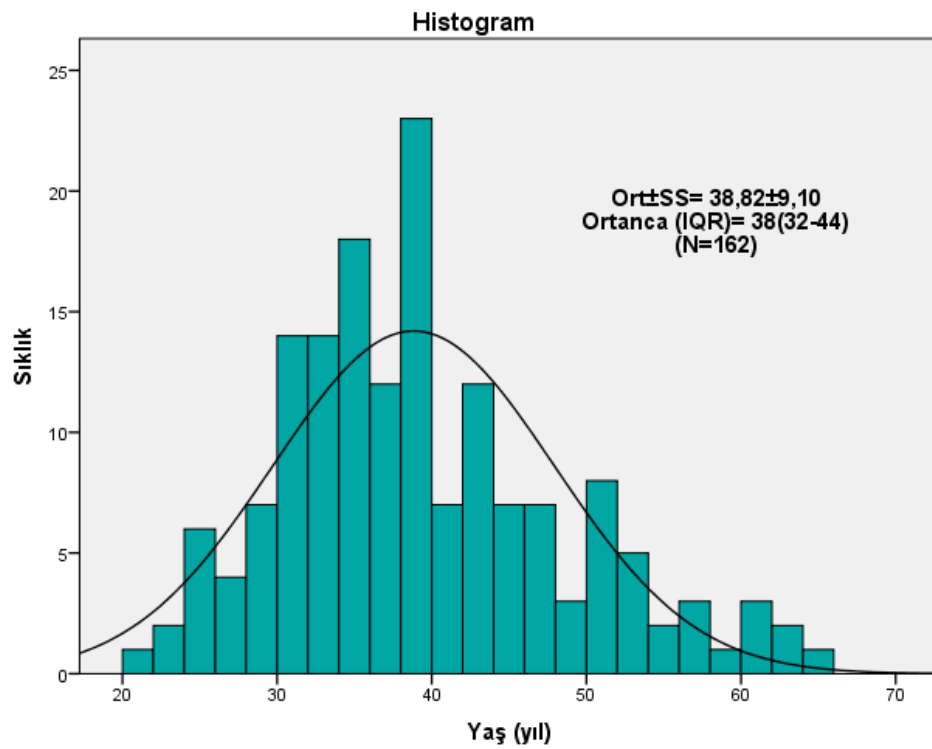


Şekil 4.1: Çalışma grupları

Hastaların yaş dağılımları tablo 4.2 ile sunulmuştur. Yapılan analizlere göre 20-29 yaş grubunda 20 (%12,3), 30-39 yaş grubunda 81 (%50), 40-49 yaş grubunda 36 (%22,2) ve 50 yaş ve üzerinde ise 25 (%15,4) hasta yer almaktadır. Tüm hastaların yaş histogramları grafik 4.2 ile gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Hastaların yaş dağılımları

Yaş grubu (n=162)	n	%
20-29 yıl	20	12,3
30-39 yıl	81	50,0
40-49 yıl	36	22,2
50 yıl ve üzeri	25	15,4

**Şekil 4.2:** Yaş histogramı

Hastaların medeni durumları sorgulandığında toplam 111 hastanın 35'inin (%31,5) bekar, 76'sının (%68,5) evli olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.3)

Tablo 4.3: Medeni durum

Değişkenler (n=111)	n	%
Medeni durum iki grup		
Bekar	35	31,5
Evli	76	68,5

İlk cinsel ilişki yaşları ortanca değeri 20 (18-24) olan hastaların %70,4'ü (n=114) 1, %29'sı ise (n=48) 1'den fazla cinsel partneri olduğunu belirtmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: İlk cinsel ilişki yaşları ve partner sayıları

Değişkenler (n=162)	n(%)
İlk cinsel ilişki yaşı (yıl), <i>Medyan(IQR)</i>	20(18-24)
Cinsel partner sayısı	
1 partner	114(70,4)
1'den fazla partner	48(29,6)

Hastaların risk faktörleri incelendiğinde %72,2'sinde sigara kullanımı, %5,6'sında KOK kullanımı, %8,8'inde RİA kullanımı olduğu ve 1 ve üzeri parite sayısı olan hasta sayısının ise 94 (%66,7) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Risk faktörleri

Değişkenler	n(%)
Sigara kullanımı (n=162)	
Yok	45(27,8)
Var	117(72,2)
Parite, <i>Medyan(IQR)</i> (n=141)	1(0-2)
0	47(33,3)
≥1	94(66,7)
KOK (n=125)	
Yok	118(94,4)
Var	7(5,6)
RİA (n=137)	
Yok	125(91,2)
Var	12(8,8)

Tedavi grubunda yer alan 80 hastanın tedavi öncesi ve sonrası smear sonuçları ASCUS açısından analiz edilmiş ve sonuçlar tablo 6 ile gösterilmiştir. Yapılan analizlere göre tedavi öncesi hastaların %48,8'inin smear sonucu anormal (\geq ASCUS) iken tedavi sonrası bu oran %33,8'e düşmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,04$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: Tedavi grubunda ASCUS açısından smear sonuçları

Tedavi öncesi smear durumu	Tedavi sonrası smear durumu		Toplam	p
	Normal	Anormal		
Normal (<ASCUS)	32	9	41(%51,2)	0,04
Anormal (\geq ASCUS)	21	18	39(%48,8)	
Toplam	53(%66,3)	27(%33,8)	80(%100)	

McNemar test.

Tedavi grubunda yer alan 80 hastanın tedavi öncesi ve sonrası smear sonuçları LSIL açısından analiz edilmiş ve sonuçlar tablo 7 ile gösterilmiştir. Yapılan analizlere göre tedavi öncesi hastaların %21,3'ünün smear sonucu anormal (\geq LSIL) iken tedavi sonrası bu oran %18,8'e düşmüştür ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,82$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Tedavi grubunda LSIL açısından smear sonuçları

Tedavi öncesi smear durumu	Tedavi sonrası smear durumu		Toplam	p
	Normal	Anormal		
Normal (<LGSIL)	54	9	63(%78,8)	0,82
Anormal (\geq LGSIL)	11	6	17(%21,3)	
Toplam	65(%81,3)	15(%18,8)	80(%100)	

McNemar test

Tedavi grubunda yer alan 80 hastanın tedavi öncesi ve sonrası smear sonuçları HSIL açısından analiz edilmiş ve sonuçlar tablo 8 ile gösterilmiştir. Yapılan analizlere

göre tedavi öncesi hastaların %5'inin smear sonucu anormal (\geq HSIL) iken tedavi sonrası bu oran %3,8'e düşmüştür ancak bu fark da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=1,00$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Tedavi grubunda HSIL açısından smear sonuçları

Tedavi öncesi smear durumu	Tedavi sonrası smear durumu		Toplam	p
	Normal	Anormal		
Normal (<HSIL)	73	3	76(%95)	1,00
Anormal (\geq HSIL)	4	0	4(%5)	
Toplam	77(%96,3)	3(%3,8)	80(%100)	

McNemar test

Kontrol grubunda yer alıp tedavi başlanmayan 82 hastanın %37,8'inin smear sonucu ASCUS açısından anormal (\geq ASCUS) bulunmuştur. 6 ay sonra ise %24,4'ünün anormal sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,07$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Kontrol grubunda ASCUS açısından smear sonuçları

Tedavi öncesi smear durumu	Tedavi yok		Toplam	p
	Normal	Anormal		
Normal (<ASCUS)	41	10	51(%62,2)	0,07
Anormal (\geq ASCUS)	21	10	31(%37,8)	
Toplam	62(%75,6)	20(%24,4)	82(%100)	

McNemar test.

Kontrol grubunda yer alıp tedavi başlanmayan 82 hastanın %22'sinin smear sonucu LSIL açısından anormal (\geq LSIL) bulunmuştur. 6 ay sonra ise %14,6'sinin anormal sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,26$) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Kontrol grubunda LSIL açısından smear sonuçları

Tedavi öncesi smear durumu	Tedavi yok		Toplam	p
	Normal	Anormal		
Normal (<LSIL)	57	7	64(%78)	0,26
Anormal (≥LSIL)	13	5	18(%22)	
Toplam	70(%85,4)	12(%14,6)	82(%100)	

McNemar test

Kontrol grubunda yer alıp tedavi başlanmayan 82 hastanın %3,6'sının smear sonucu HSIL açısından anormal (≥HSIL) bulunmuştur. 6 ay sonra ise %2,4'ünün anormal sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=1,00) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11: Kontrol grubunda HSIL açısından smear sonuçları

Tedavi öncesi smear durumu	Tedavi yok		Toplam	p
	Normal	Anormal		
Normal (<HSIL)	78	1	79(%96,3)	1,00
Anormal (≥HSIL)	2	1	3(%3,6)	
Toplam	80(%97,6)	2(%2,4)	82(%100)	

McNemar test

Tedavi sonucunda hastalardaki HPV değişimleri analiz edilmiş ve sonuçlar tablo 12 ile gösterilmiştir. HPV 16 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %46,2 iken tedavi almayan grupta %56,7'dir (p=0,56). HPV 18 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %54,5 iken tedavi almayan grupta %100'dür (p=0,47). HrHPV açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %48,6 iken tedavi almayan grupta %49,2'dir (p=0,98). HPV 16/18 değişimi incelendiğinde ise tedavi almayan gruptaki 2 hastanın 2'sinde de 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü, tedavi alan gruptaki 4 hastanın ise 2'sinin (%50) tamamen negatife döndüğü, diğer 2'sinin ise (%50) 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü gözlenmiştir (p=0,46). Tüm bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.12).

Tablo 4.12: HPV değişimleri

HpV değişimleri	Grup	Negatif dönmüş	Persistan	Yeni HPV ile persistan	Toplam	p*
HPV 16 değişimi (n=56)	Tedavi yok	17 (%56.7)	10 (%33.3)	3 (%10,0)	30 (%100)	0.56
	Tedavi var	12 (%46,2)	9 (%34,6)	5 (%19,2)	26 (%100)	
HPV 18 değişimi (n=13)	Tedavi yok	2 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	2 (%100)	0.47
	Tedavi var	6 (54.5)	3 (27.3)	2 (18.2)	11 (%100)	
HrHPV değişimi (n=137)	Tedavi yok	32 (%49.2)	21(32.3)	12 (18.5)	65 (%100)	0.98
	Tedavi var	35 (48.6)	23 (31.9)	14 (19.4)	72 (%100)	
		Negatif dönmüş	16 veya 18'den biri negatif dönmüş			p**
HPV 16/18 değişimi (n=6)	Tedavi yok	0 (%0)	2 (%100)		2 (%100)	0,46
	Tedavi var	2 (%50)	2 (%50)		4 (%100)	

* Pearson ki-kare, **Fisher's Exact Test

İlk başvuruda HPV sayısı 1 olan 74(%45,7), 1'den fazla olan 88(%54,3) hasta bulunur iken kontrol başvurusunda HPV sayısı 1 olan 61(%37,7), 1'den fazla olan 59(%36,4) ve HPV'si negatif olan 42(%25,9) hasta olduğu görülmüştür (Tablo 4.13).

Tablo 4.13: HPV sayıları

Değişkenler, n(%)	İlk Başvuru	Kontrol Başvuru
	(n=162)	(n=162)
HPV sayısı		
1	74(45,7)	61(37,7)
>1	88(54,3)	59(36,4)
Negatif	-	42(25,9)

Toplam 80 hastada flora kullanım süreleri incelendiğinde 6-9 ay arası kullanan 58(%72,5), 9-12 ay arası kullanan 15(%18,8) ve 12 ay ve üzerinde kullanan 7(%8,8) hasta olduğu görülmüştür. Kontrol başvuru süreleri incelendiğinde ise kontrol başvuru süresi 6-9 ay olan 24(%29,3), 9-12 ay olan 31(%37,8) ve 12 ay ve üzeri olan 27(%32,9) hasta olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14: Flora kullanım özellikleri ve kontrol başvuru süresi

Değişkenler	n(%)
Flora kullanım süresi (n=80)	
6-9 ay	58(72,5)
9-12 ay	15(18,8)
≥12 ay	7(8,8)
Kontrol başvuru süresi (n=82)	
6-9 ay	24(29,3)
9-12 ay	31(37,8)
≥12 ay	27(32,9)

Tablo 4.15'te tedavi alan ve almayan hasta gruplarında yaş dağılımı gösterilmiştir. Ortanca yaş değeri tedavi alan grupta 36(31-43), kontrol grubunda 39(34-44) yıl olarak hesaplanmıştır (p=0,099). Hastaların yaşları 30, 40 ve 50 yaş kesim noktası alınarak ayrı ayrı analiz edildiğinde gruplar arasındaki oranlar istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur (p>0,05).

Tablo 4.15: Çalışma gruplarına göre hastaların yaş dağılımları

Değişkenler (n=162)	Çalışma grupları, n(%)		p
	Tedavi var (n=80)	Tedavi yok (n=82)	
Yaş (yıl), <i>Medyan(IQR)</i>	36(31-43)	39(34-44)	0,099
Yaş grupları (I)			
<30 yıl	13(16,2)	7(8,5)	0,210
≥30 yıl	67(83,8)	75(91,5)	
Yaş grupları (II)			
<40 yıl	50(62,5)	51(62,2)	0,968
≥40 yıl	30(37,5)	31(37,8)	
Yaş grupları (III)			
<50 yıl	67(83,8)	70(85,4)	0,946
≥50 yıl	13(16,2)	12(14,6)	

Mann Whitney U test, Pearson Ki kare test, Yates düzeltmesi.

Tedavi alan gruptaki hastaların %58,5'i tedavi almayan gruptaki hastaların %74,3'ü evlidir. Medeni durum açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,131) (Tablo 4.16).

Tablo 4.16: Çalışma gruplarına göre hastaların medeni durumları

Değişkenler (n=111)	Çalışma grupları, n(%)		p
	Tedavi var (n=41)	Tedavi yok (n=70)	
Medeni durum			
Bekar	17(41,5)	18(25,7)	0,131
Evli	24(58,5)	52(74,3)	

Pearson Ki kare test, Yates düzeltmesi.

İlk cinsel ilişki yaşı ortanca değeri tedavi alan hastalarda 20(18-24) yıl, tedavi almayan hastalarda 20(18-24) yıl olarak hesaplanmıştır ve istatistiksel açıdan benzer

bulunmuştur ($p=0,987$). Cinsel partner sayısı incelendiğinde 1'den fazla partneri olan hasta sayısı tedavi olan grupta da kontrol grubunda da 24'tür ve bu oranlar da istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur (%30 ve %29,3; $p=0,919$) (Tablo 4.17).

Tablo 4.17: Çalışma gruplarına göre ilk cinsel ilişki yaşları ve partner sayıları

Değişkenler (n=162)	Çalışma grupları, n(%)		p
	Tedavi var (n=80)	Tedavi yok (n=82)	
İlk cinsel ilişki yaşı (yıl), <i>Medyan(IQR)</i>	20(18-24)	20(18-24)	0,987
Cinsel partner sayısı			
1 partner	56(70)	58(70,7)	0,919
1'den fazla partner	24(30)	24(29,3)	

Mann Whitney U test, Pearson Ki kare test, Fisher's Freeman Halton exact test.

Risk faktörleri açısından yapılan analizlerde tedavi alan ve almayan hastalarda sigara ($p=0,938$) ve KOK kullanım oranları ($p=0,717$) benzer bulunmuştur. RİA kullanım oranı ise tedavi alan hastalarda %1,4 ($n=1$), tedavi almayan hastalarda %16,9 ($n=11$) olarak hesaplanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,004$). Parite sayısı 1 ve üzerinde olan hastaların oranı da yine tedavi almayan grupta %75,7 ile tedavi alan gruptaki hastalara göre (%56,7) anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,027$) (Tablo 4.18).

Tablo 4.18: Çalışma gruplarına göre hastaların risk faktörleri

Değişkenler	Çalışma grupları, n(%)		p
	Tedavi var	Tedavi yok	
Sigara kullanımı (n=162)	(n=80)	(n=82)	0,938
Yok	22(27,5)	23(28)	
Var	58(72,5)	59(72)	
Parite, <i>Medyan(IQR)</i> (n=141)	(n=67)	(n=74)	
0	29(43,3)	18(24,3)	0,027
≥1	38(56,7)	56(75,7)	
KOK (n=125)	(n=62)	(n=63)	
Yok	58(93,5)	60(95,2)	0,717
Var	4(6,5)	3(4,8)	
RİA kullanımı (n=137)	(n=72)	(n=65)	0,004
Yok	71(98,6)	54(83,1)	
Var	1(1,4)	11(16,9)	

Pearson Ki kare test, Yates düzeltmesi, Fisher's Freeman Halton exact test.

Tedavi grubundaki hastaların kontrol başvurusunda %36,2'sinin HPV sayısı 1, %37,5'inin 1'den fazla ve %26,2'sinin negatiftir. Tedavi almayan grubun ise kontrol başvurusundaki HPV sayıları %39'unda 1, %35,4'ünde 1'den fazla, %25,6'sında ise negatiftir. Bu oranlar istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur ($p=0,932$) (Tablo 4.19).

Tablo 4.19: Çalışma gruplarına göre kontrol başvurusunda HPV değişimleri

Değişkenler	Çalışma grupları, n(%)		p
	Tedavi var (n=80)	Tedavi yok (n=82)	
Kontrol başvurusunda HPV sayısı			
1	29(36,2)	32(39)	0,932
>1	30(37,5)	29(35,4)	
Negatif	21(26,2)	21(25,6)	

Pearson Ki kare test.

İlk başvuruda kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %76,2, almayan grupta %59,8'dir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,025$). Kolposkopi sonucu ise tedavi alanların %19'unda almayanların %60'ında anormal bulunmuştur. Tedavi almayan hastalarda ilk başvuruda anormal kolposkopi sonucu oranı anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($p=0,009$).

Kontrol başvurusunda ise kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %38,8, almayan grupta %19,5'tir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,012$). Kolposkopi sonucu ise tedavi almayanların %66,7'sinde anormal iken tedavi alanların tamamında normal bulunmuştur ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). (Tablo 4.20).

Tablo 4.20: Çalışma gruplarına göre kolposkopi yapılma durumu ve sonuçları

Değişkenler	İlk başvuru, n(%)			Kontrol başvuru, n(%)		
	Tedavi var	Tedavi yok	p	Tedavi var	Tedavi yok	p
Kolposkopi (n=80)		(n=82)		(n=80)	(n=82)	
Hayır	19(23,8)	33(40,2)	0,025	49(61,2)	66(80,5)	0,012
Evet	61(76,2)	49(59,8)		31(38,8)	16(19,5)	
Kolposkopi sonucu (n=21)		(n=30)		(n=21)	(n=12)	
Normal	17(81)	12(40)	0,009	21(100)	4(33,3)	<0,001
Anormal	4(19)	18(60)		0(0)	8(66,7)	

Pearson Ki kare test, Yates düzeltmesi, Fisher's Freeman Halton exact test.

5. TARTIŞMA

İnsan mikrobiyomu kavramı 2001’de Jashua Ledenberg tarafından ilk olarak tanımlanmış olup, vücut alanımızı tam anlamıyla paylaşan simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik topluluğunu belirtmek için kullanıldı. Oluşturulan bu kavram doğrultusunda 2008’de insan vücudunun farklı organlarında bulunan mikroorganizmaların çeşitliliğini ele alan ilk büyük çalışma İnsan Mikrobiyom Projesi yapıldı. Yapılan çalışma ile alt genital bölge dahil olmak üzere vücudun farklı bölümlerinin mikrobiyom bileşimi analiz edildi [82].

Ravel ve arkadaşlarının üreme çağındaki kadınlarda vajinal mikrobiyomu oluşturan *Lactobacillus* türlerinin incelenmesi ve sonrasında oluşturulan CST tanımlaması bu konu hakkında araştırılması gereken daha birçok nokta olduğu konusunda tartışmaları başlattı [76]. Ravel ve arkadaşlarının oluşturduğu CST kavramı sonrasında; mikrobiyomun sağlıklı hale getirilmesi durumunda olası enfeksiyonlara ve hatta HPV’nin neden olduğu prekanseröz etkenlerden korunulabilmesi konusunda yeni çalışmaların yapılması gerektiğini düşündürdü.

Mikrobiyomun sağlıklı hale getirilmesi Dünya Sağlık Örgütü’nün ‘yeterli miktarlarda verildiğinde konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar’ olarak tanımladığı probiyotikleri akla getirdi. Probiyotiklerin yardımcı fonksiyonları; pH’taki değişiklikler, patojenlerin inhibisyonu, mukozal bariyerin bakımı ve benzeri yöntemler ile mikrobiyotanın korunmasını sağlamaktır. Vajinal mikrobiyotayı derinlemesine anlayıp bir kadının ilk savunma hattını en üst düzeye çıkararak, sonuçta CYBE'lere, özellikle HPV' ye duyarlılığı azaltmak için pratik ve düşük maliyetli terapötiklerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

*Lactobacillus regenerans*ın in vitro koşullarda etkisi incelendiğinde glikojeni metabolize etme yeteneği yüksek olduğu görüldü. Bu sayede düşük pH ortamı oluşturabildiği gözlemlendi. Aynı zamanda bulunduğu ortamda glikojeni tüketerek patojenlerle rekabet edebildiği görüldü. *G. vaginalis* ve *C.albicans*ın probiyotik bulunan ortamda büyüme inhibisyonu olduğu görüldü [178]. *Lactobacillus casei rhamnosus*un BV tedavisi sonrası vajinal floranın restorasyonu amacıyla kullanıldığı bir araştırmada Nugent skoru ile yapılan değerlendirmede tedavi grubunda %83

normal flora görülürken, kontrol grubunda % 35 normal flora izlendi. Tedavi grubunda bulunan hastaların % 83 ünde Nugent skorunda en az 5 derece azalma yaparak vajinal florayı restore ettiği görüldü [179]. Yukarıdaki bilgiler ışığında *L.regenerans* (Vagiflora®), *L.helveticus*, *L.rhamnosus*, *L.salivarius*, *Bifidobacterium longum* (Motiflor®) probiyotikleri vajinal flora düzenleyici tedavi olarak çalışmamızda bulunmaktadır.

Sigaranın biyojenik amin ve fosfolipit konsantrasyonuna etkisi ile HPV pozitif ve HPV negatif kadınlarda farklı CST profili oluşturduğu yapılan çalışmalar ile gözlemlenmiştir. Sigara içmek, inflamatuvar sitokinleri azaltarak nötrofillerin ve makrofajların işlevselliğini bozarak doğuştan gelen bağışıklığı etkiler. Ek olarak, serviko-vajinal bağışıklık üzerinde değişen etkiler ve serviko-vajinal mikrobiyomda daha düşük laktobasil prevalansı ile ilişkilendirilmiştir [158]. *Coriolus versicolor* bazlı vajinal jel ile vajinal floranın düzeltilmesi ile HrHPV ilişkisinin araştırıldığı çalışmada tedavi grubunda %10,5 kontrol grubunda %6,2 oranında sigara tüketimi görülmüştür [180]. Carboxy-Methyl-Beta-Glucan ile VMB tedavisinin HPV üzerine etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada tedavi grubunun %53,1 kontrol grubunun ise %52,2 oranında sigara tükettiği görüldü [181]. Bizim çalışmamızda vajinal flora düzenleyici tedavi alan hasta grubunda %72,5 tedavisiz izlenen kontrol grubunda %72 oranında sigara tüketimi görülmüştür. Çalışmamıza dahil edilen hasta grubunda daha yüksek sigara tüketiminin görülmesi HPV persistansına sigaranın etkisi düşünüldüğünde önemlidir. Çalışmamıza dahil edilen hastaların sigara tüketim oranı diğer çalışmalar ile benzer olmadığı görülmüştür.

Lenka ve arkadaşlarının hormonal kontrasepsiyonun BV ile ilişkisinin incelendiği meta analizde hormonal kontraseptif kullanımı yaygın BV olasılığında %32 azalma ve tekrarlayan BV riskinde %31 azalma ile ilişkilendirilmiştir. Hem progesteron hem de östrojenin, genital sistem epitelyal ve bağışıklık hücrelerinde bir dizi önemli bağışıklık mekanizmasını düzenlediği düşünülmektedir [122]. Bu doğrultuda bakıldığında *Coriolus versicolor* bazlı vajinal jel ile tedavi çalışmasında tedavi grubunda östro-progesteron alımı %12,8, kontrol grubunda %9,3 olarak görülmüştür [180]. Probiyotiklerin HPV ilişkili servikal lezyonlar üzerine etkisinin incelendiği prospektif başka bir çalışmadan hormonal kontrasepsiyon kullanımı % 83 - % 80' e varan yüksek oranlarda olduğu görülmüştür [169]. Bizim çalışmamızda

tedavi alan hasta grubunda hormon kullanımı %6,5 olup kontrol grubunda bu oran %4,8 olarak görülmektedir. Hormonal tedavinin BV azalması ve VMB' un normalize hale gelmesi üzerine etkisi düşünüldüğünde çalışmamızda bu etkinin daha düşük olduğuna inanılmaktadır. Çalışmamıza dahil edilen hastaların hormonal kontraseptif kullanım oranı diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzer olmadığı görülmüştür.

ACOG tarafından açıkça belirtildiği üzere 30 yaşından küçük cinsel olarak aktif kadınlarda yüksek riskli HPV enfeksiyonlarının yüksek prevalansı ve düşük serviks kanseri insidansı vardır. Bu nedenle, bu yaş grubundaki ortak test, temel olarak kanserojen potansiyeli olmayan geçici HPV enfeksiyonunu tespit edecek ve kanser insidansında kayda değer bir azalma olmaksızın daha fazla test yapılmasına yol açacaktır [182]. Bu sebeple çalışmaya dahil edilen hastaların yaş aralığı ve HPV ilişkisi önemli bir detay olarak bulunmaktadır. Coriolus versicolor içerikli vajinal jel tedavisi alan hasta grubunun yaş ortalaması 30.1 olup kontrol grubunda 32.3 olduğu görülmüştür [180]. Uzun süreli Lactobacillus Rhamnosus içeren BMX54, NORMOGIN® vajinal ekosistemin restore edilmesi planlandığı çalışmada tedavi alan grup yaş ortalaması 32.4 olup kontrol grubu yaş ortalaması 29.1'dir [170]. Çalışmamızda tedavi alan hasta grubunun yaş ortalaması 36 olup kontrol grubunda 39 olduğu görülmüştür. ACOG önerileri tarafından desteklenen bu durum diğer çalışmalar ile uyumludur.

Dengeli bir vajinal ekosistemi oluşturmak üzere Lactobacillus Rhamnosus içeren BMX54, NORMOGIN® içeren vajinal tabletlerle yapılan çalışmada tedavi süresinin HPV ve smear değişikliği üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada 9 aylık tedavi sonrasında HPV DNA testi olarak %31.2' lik bir yüzdeye kıyasla kısa süreli 3 aylık tedavi protokollü hastaların %11.6' sında toplam HPV klirensi gösterilmiştir. HPV ile ilişkili sitolojik anomalilerin uzun süreli tedavi ile 2 kat daha fazla çözülmüş olduğu yine bu çalışma ile görüldü (%79, %37,5). Bu çalışma doğrultusunda en az 6 ay probiyotik uygulaması vajinal mikrofloranın yeniden oluşturulmasında faydalı olabileceği ve vajinal dengenin yeniden sağlanması nedeniyle HPV enfeksiyonunun kontrolünde fayda sağladığı düşünüldü [170]. Bu doğrultuda çalışmamızda flora tedavi kullanım süresi tarafımızca en az 6 ay olacak şekilde belirlenmiş olup %72,5 oranında tedavi 6-9 ay olarak verilmiştir. Çalışmamızın tedavi süresi literatür ile uyumlu olup yeterli olarak görülmektedir.

Coriolus versicolor bazlı vajinal jel; HrHPV enfeksiyonu olan kadınları yeniden epitelizasyon ve mikrobiyota hareketlerini yeniden dengeleme yoluyla tedavi etmek üzere önerilmektedir. Bu tedavinin uygulandığı çalışmada 97'si jel ile tedavi edilen ve 86 kontrol olan 183 hastanın 6 ay sonra, HPV DNA testi kontrollerin %37,2'sinde ve tedavi edilen hastaların %67,0'ında negatif olduğu görüldü. HrHPV kadınları arasında yürütülen bu kavram kanıtı çalışmasında, Coriolus versicolor bazlı vajinal jelin kullanımı, sunulan en son verilerle uyumlu olarak HPV-DNA, sitoloji ve kolposkopi testlerinin sonuçlarını önemli ölçüde iyileştirdiği görüldü [180]. Çalışmamızda kontrol grubunda HrHPV %49,2 tedavi alan kadınlarda %48,6 negatif olduğu görüldü. Bu veriler doğrultusunda çalışmamız ile vajinal flora tedavisinin HrHPV üzerine etkisi gösterilememiştir.

Kenyon ve ark. 2013 yılında dünyanın farklı yerlerinden yapılan toplam 86 anketten BV prevalansı hakkında bilgi topladı. Genel gözlem Afrika'nın bazı bölgelerinin BV'nin en yüksek prevalansını yansıttığını; Asya ve Avrupa'daki çoğu bölgede en düşük olduğunu gösterirken, bazı popülasyonlarda bunun tam zıttı patternde rol oynayıp Afrika'da çok düşük BV prevalansı olan bazı bölgeler, Asya ve Avrupa yüksek prevelanslı bazı bölgelerin olduğu görüldü. Ekip ayrıca, bir ülkedeki yaygınlığın etnik gruba göre değişebileceği oldukça etkileyici başka bir noktayı da tartıştı [183]. Yapılan farklı bir çalışmada ise davranışsal ve çevresel faktörler mikrobiyomu etkileyebilir olduğu gözlemlendi. Brezilya'nın 5 coğrafi bölgesinden kadınların vajinal mikrobiyomu karakterize etmeyi amaçlayan çalışmada üreme çağındaki Brezilyalı kadınların yaklaşık üçte ikisinin ya *L. iners* tarafından baskın olan bir CST III' e ya da *Lactobacillus* tüketilmiş CST IV vajinal mikrobiyotaya sahip olduğunu görülmüştür. Bu veriler, bu popülasyonun büyük bir bölümünün, CYBE edinimi ve bulaşması da dahil olmak üzere bu mikrobiyota profiliyle ilişkili olumsuz sonuçlar için artan bir risk altında olabileceğini göstermektedir [184]. Bu veriler doğrultusunda aynı etnik kökene sahip olup coğrafi bölge farklılığı ile değişebilen CST olduğu görülmüştür [184]. Mikrobiyotanın endemik bölge, etnik köken gibi bazı faktörlerden etkilenebileceği düşünülmektedir. Coriolus Versicolor bazlı jel tedavi çalışmasının Kafkas ırkında yapıldığı gözlemlenmiş olup tek merkezli bir çalışmadır [180]. Bizim çalışmamız da aynı şekilde ırk çeşitliliği bulunmayıp tek endemik bölge ile sınırlandırılmıştır. Bu veriler doğrultusunda yapılacak çalışmaların çok merkezli ve

farklı etnik kökende hastaların dahil edildiği hasta gruplarından oluşacak şekilde planlanması düşünülebilir.

Probiyotiklerin HPV ve servikal lezyonlar üzerine etkisini incelemek üzere yapılan prospektif çalışmada *Lactobacillus casei* Shirota içeren Yakult® probiyotik içecek tedavisi hastalara uygulandı. Tedavi sonrası 6. Ay kontrolünde HPV negatifliği %24 olup probiyotik tedavisi altında olan hastalarda %29,2'ye kontrol grubunda %19,2 olarak görüldü. Sitolojik değerlendirmeler üzerinde etkisine bakıldığında %39.2 sitolojik anormalliğin düzeldiği görülmüş olup probiyotik alan grubun %50 kontrol grubun % 29.6 oranında normal değerlendirme olduğu görüldü [169]. Çalışmamızın yöntemi ve tedavi sonrası sonuçları bu çalışma ile uyumlu değildir. Çalışmamızda tedavi uygulama yöntemi ovül şeklinde olup oral tedavi verilmemiştir. Bu veriler ışığında tedavi yönteminin flora düzenlenmesi üzerine etkisi olabileceği düşünülebilir.

Coriolus Versicolor bazlı jel tedavi de jelin sahip olduğu güçlü nemlendirme özellikleri nedeniyle nemlendirici ve kayganlaştırıcı görevi görerek, ayrıca atrofik veya hasarlı servikovajinal mukozanın onarımını hızlandırdığı düşünülmüştür. Bu doğrultuda yapılan kolposkopik incelemelerde; 6 ay sonra yapılan değerlendirmede tedavi edilen kadınların %76,1'i ve kontrollerin %40,8'i bir kolposkopi iyileşmesi kaydederken, sırasıyla %60,9'a karşılık %40,8'i bir remisyon gösterdi [180]. Bu durum tedavinin kolposkopi sonuçları üzerine etkisini göstermiş oldu. Bizim çalışmamızda ilk başvuruda kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %76,2, almayan grupta %59,8'dir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kolposkopi sonucu ise tedavi alanların %19'unda almayanların %60'ında anormal bulunmuştur. Tedavi almayan hastalarda ilk başvuruda anormal kolposkopi sonucu oranı anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Kontrol başvurusunda ise kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %38,8, almayan grupta %19,5'tir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kolposkopi sonucu ise tedavi almayanların %66,7'sinde anormal iken tedavi alanların tamamında normal bulunmuştur ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlı olup sonuçlar literatür ile uyumludur.

Daha önce yapılmış çalışmalarda flora düzenleyici tedavinin HPV ve smear sonuçları üzerine etkisi açık olarak konulmuştur. (Tablo 5.1)

Tablo 5.1: Farklı çalışmaların HPV ve smear sonuçları üzerine etkisi [169, 170, 180, 181, 185-187]

Çalışma preparatı- etken madde	HPV klirensi	Smear normalizasyonu	Kolposkopi
Papilocare® (Coriolus versicolor)	% 67	% 70.8	% 60.9
DeFlagyn® (Citric acid + Silicone Dioxide)	% 53	%80.9	
AHCC® (Lentuna mycelia extract)	%58.8		
Rebacin® (bileşik ajan)	%74		
Normogin® (Lactobacillus rhamnosus BMX 54)	% 31	% 79	%13.8
Colpofix® (carboxy-methyl-beta-glucan)	%39.9	% 37.1	%50.3
Yakult® (Lactobacillus casei Shirota)	%29.2	%50	
Vajiflora® (Lcr Regenerans (Lactobacillus casei subsp. Rhamnosus) + Motiflor® (L.helveticus, L.rhamnosus, L.salivarius, B.langum)	%48.6	%26.3	

Sitrik asit ve sodyumun bir anti-oksidatif kombinasyonu olarak tedavi yöntemi olarak kullanılan DeFlagyn® probiyotik tedavisinde 6 ay sonra, katılımcıların %80,9'unda Pap smear bulgularında (ASC-US, LSIL, ASC-H veya HSIL) bir iyileşme gösterdi. Benzer şekilde, 3 aylık jel uygulamasından sonra vakaların %53'ünde HrHPV virüsü negatifleştiği izlendi [185]. Probiyotiklerin HPV ve servikal lezyonlar üzerine etkisini incelemek üzere yapılan prospektif çalışmada Lactobacillus casei Shirota içeren Yakult® probiyotik içecek tedavisi hastalara uygulandı. Tedavi sonrası 6. ay kontrolünde HPV negatif saptanan hasta oranı %24 olup; probiyotik tedavisi altında olan hastalarda oran %29,2 iken kontrol grubunda %19,2 olarak görüldü. Sitolojik değerlendirmeler üzerinde etkisine bakıldığında %39.2 hastada sitolojik anormalliğin düzeldiği görülmüş olup; probiyotik alan grupta oranın %50 kontrol grubunda ise % 29.6 olduğu görüldü [169]. REBACIN® 'in HPV üzerine etkisini ortaya koyan metaanalizde HPV klirensi %74.73 olarak görüldü. Bu çalışmada tedavi

öncesi sitoloji testinin etkiyi belirlemede önemli bir faktör olduğu da ortaya konuldu [187]. 50 yıllık tedavi geçmişi bulunun İnosin pranobex etken maddesinin tedavi protokollerinin incelendiği metaanalizde HPV enfeksiyonu temizleme oranı %54.8 oranında görülürken, İnosi pranobex ile birlikte kombine tedavi planlandığında bu oranın %84.2'ye kadar yükseldiği görülmüştür [188].

2 yıldır uzun süredir kalıcı HrHPV bulunan hastalara yönelik yapılan Lentinula edodes mycelia içeren AHCC® preparatı ile ilgili çalışması çok daha dikkat çekici bulgular içermektedir. İlk olarak 2 pilot çalışma ile başlandı. İlk çalışmaya 10 kadın dahil edilmiş olup HrHPV klirensi için gerekli tedavi süresi ve etkin doz bulmak amaçlandı. 3 ay ve 6 aylık tedavi sonrası değerlendirmelerde % 50 HPV eradikasyonu gözlenmesi cesaret uyandırdı. Yapılan ikinci pilot çalışmada aynı bulgular görülmesi üzerine çalışmanın genişletilmesi amacıyla Faz-2 çalışması yapılmaya karar verildi. Yapılan randomize, çift kör, plasebo kontrollü faz 2 çalışmasında 2 yıldan uzun süredir kalıcı HrHPV enfeksiyonu olduğu bilinen hastalara 12 ay plasebo veya 6 ay Lentinula edodes mycelia içeren AHCC® adlı prepat tedavisi ve ardından 6 ay plasebo uygulandı. Her 3 ayda bir yapılan takiplerde hastaların sistemik bağışıklık durumunu gösteren laboratuvar çalışmaları (IFN-alfa, IFN-beta vb.) ve HPV DNA/RNA testleri uygulandı. Çalışmanın tamamlandığında AHCC® kullanımı olan grupta HPV klirensi %58.8 olarak görüldü. Plasebo grubunda bu oran % 10.5 olarak saptandı. Bu çalışma ile kalıcı HPV enfeksiyonlarını ortadan kaldırmak için konakçı bağışıklık sisteminin desteklenmesinin önemi gösterilmiş oldu [186].

Yaptığımız çalışmada tedavi grubunda yer alan 80 hastanın tedavi öncesi ve sonrası smear sonuçları ASCUS açısından analiz edilmiştir. Yapılan analizlere göre tedavi öncesi hastaların %48,8'inin smear sonucu anormal (\geq ASCUS) iken tedavi sonrası bu oran %33,8'e düşmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunda yer alıp tedavi başlanmayan 82 hastanın %37,8'inin smear sonucu ASCUS açısından anormal (\geq ASCUS) bulunmuştur. 6 ay sonra ise %24,4'ünün anormal sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu veriler; uyguladığımız tedavinin smear sonuçları üzerine olumlu etkisini ortaya koymuştur. Fakat çalışmamızın diğer verileri incelendiğinde uygulanan

tedavi LSIL ve HSIL smear sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe yol açmamıştır.

Tedavinin HPV değişimi üzerinde etkisi incelendiğinde; HPV 16 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %46,2 iken tedavi almayan grupta %56,7' dir. HPV 18 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %54,5 iken tedavi almayan grupta %100'dür. HrHPV açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %48,6 iken tedavi almayan grupta %49,2' dir. HPV 16/18 değişimi incelendiğinde ise tedavi almayan gruptaki 2 hastanın 2'sinde de 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü, tedavi alan gruptaki 4 hastanın ise 2'sinin (%50) tamamen negatife döndüğü, diğer 2'sinin ise (%50) 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü gözlenmiştir. Tüm bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda flora düzenleyici tedavinin HPV klirensi üzerine bir miktar etkisi gözlenmiş olsa da kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

6. SONUÇ

Son yıllarda önemi giderek artan mikrobiyomun düzeltilmesi ile VM bileşiminin ve değişikliklerinin (disbiyoz) HPV enfeksiyonu/kalıcılığı üzerindeki etkisini anlamak, bu virüsün neden olduğu enfeksiyonların sonuçlarının daha iyi tahmin edilmesine katkıda bulunabilmek amacıyla çalışmamız planlanmıştır. Bizim çalışmamızda vajinal flora düzenleyici tedavi alan hasta grubunda %72,5 tedavisiz izlenen kontrol grubunda %72 oranında sigara tüketimi görülmüştür. Çalışmamıza dahil edilen hasta grubunda daha yüksek sigara tüketiminin görülmesi HPV persistansına sigaranın etkisi düşünüldüğünde önemlidir. Çalışmamıza dahil edilen hastaların sigara tüketim oranı diğer çalışmalar ile benzer olmadığı görülmüştür.

Bizim çalışmamızda tedavi alan hasta grubunda hormon kullanımı %6,5 olup kontrol grubunda bu oran %4,8 olarak görülmektedir. Hormonal tedavinin BV azalması ve VB' un normalize hale gelmesi üzerine etkisi düşünüldüğünde çalışmamızda bu etkinin daha düşük olduğuna inanılmaktadır. Çalışmamıza dahil edilen hastaların hormonal kontraseptif kullanım oranı diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzer olmadığı görülmüştür.

Yapılan çalışmalar doğrultusunda en az 6 ay probiyotik uygulaması vajinal mikrofloranın yeniden oluşturulmasında faydalı olabileceği ve vajinal dengenin yeniden sağlanması nedeniyle HPV enfeksiyonunun kontrolünde fayda sağladığı düşünülmüştür. Bu doğrultuda çalışmamızda flora tedavi kullanım süresi tarafımızca en az 6 ay olacak şekilde belirlenmiş olup %72,5 oranında tedavi 6-9 ay olarak verilmiştir. Çalışmamızın tedavi süresi literatür ile uyumlu olup yeterli olarak görülmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubunda HrHPV %49,2 tedavi alan kadınlarda %48,6 negatif olduğu görüldü. Bu veriler doğrultusunda çalışmamız ile vajinal flora tedavisinin HrHPV üzerine etkisi gösterilememiştir.

Mikrobiyotanın endemik bölge, etnik köken gibi bazı faktörlerden etkilenebileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamız ırk çeşitliliği bulunmayıp tek endemik bölge ile sınırlandırılmıştır. Bu veriler doğrultusunda yapılacak çalışmaların

çok merkezli ve farklı etnik kökünde hastaların dahil edildiği hasta gruplarından oluşacak şekilde planlanması düşünülebilir.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde tedavi preparatının oral, vajinal jel şeklinde farklı yöntemler ile uygulandığı görüldü. Çalışmamızda tedavi uygulama yöntemi ovül şeklindedir. Bu veriler ışığında tedavi yönteminin flora düzenlenmesi üzerine etkisi olabileceği düşünülebilir.

Bizim çalışmamızda ilk başvuruda kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %76,2, almayan grupta %59,8'dir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kolposkopi sonucu ise tedavi alanların %19'unda almayanların %60'ında anormal bulunmuştur. Tedavi almayan hastalarda ilk başvuruda anormal kolposkopi sonucu oranı anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Kontrol başvurusunda ise kolposkopi yapılma oranları tedavi alan grupta %38,8, almayan grupta %19,5'tir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kolposkopi sonucu ise tedavi almayanların %66,7'sinde anormal iken tedavi alanların tamamında normal bulunmuştur ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlı olup sonuçlar literatür ile uyumludur.

Yaptığımız çalışmada tedavi grubunda yer alan 80 hastanın tedavi öncesi ve sonrası smear sonuçları ASCUS açısından analiz edilmiştir. Yapılan analizlere göre tedavi öncesi hastaların %48,8'inin smear sonucu anormal (\geq ASCUS) iken tedavi sonrası bu oran %33,8'e düşmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunda yer alıp tedavi başlanmayan 82 hastanın %37,8'inin smear sonucu ASCUS açısından anormal (\geq ASCUS) bulunmuştur. 6 ay sonra ise %24,4'ünün anormal sonucu olduğu gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu veriler; uyguladığımız tedavinin smear sonuçları üzerine olumlu etkisini ortaya koymuştur. Fakat çalışmamızın diğer verileri incelendiğinde uygulanan tedavi LSIL ve HSIL smear sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe yol açmamıştır.

Tedavinin HPV değişimi üzerinde etkisi incelendiğinde; HPV 16 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %46,2 iken tedavi almayan grupta %56,7'dir. HPV 18 açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %54,5 iken tedavi almayan grupta %100'dür. HrHPV açısından negatife dönme oranı tedavi alan grupta %48,6

iken tedavi almayan grupta %49,2'dir. HPV 16/18 değişimi incelendiğinde ise tedavi almayan gruptaki 2 hastanın 2'sinde de 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü, tedavi alan gruptaki 4 hastanın ise 2'sinin (%50) tamamen negatife döndüğü, diğer 2'sinin ise (%50) 16 veya 18'den birinin negatife döndüğü gözlenmiştir. Tüm bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda flora düzenleyici tedavinin HPV klirensi üzerine bir miktar etkisi gözlenmiş olsa da kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

7. KAYNAKLAR

1. T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI SAĞLIK İSTATİSTİKLERİ YILLIĞI 2015.
2. YILDIRIM, D. and H. Gökaslan, *SERVİKS KANSERİ TARAMASINDA HPV DNA TESTİNİN YERİ*. Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi, 2015. **18**(1): p. 1-6.
3. Lee, J.E., et al., *Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort*. PLoS One, 2013. **8**(5): p. e63514.
4. Kabuki, T., et al., *Production, purification and characterization of reuterin 6, a bacteriocin with lytic activity produced by Lactobacillus reuteri LA6*. International journal of food microbiology, 1997. **34**(2): p. 145-156.
5. Stoyancheva, G., et al., *Bacteriocin production and gene sequencing analysis from vaginal Lactobacillus strains*. Archives of microbiology, 2014. **196**(9): p. 645-653.
6. Kawai, Y., et al., *Primary amino acid and DNA sequences of gasserin T, a lactacin F-family bacteriocin produced by Lactobacillus gasseri SBT2055*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 2000. **64**(10): p. 2201-2208.
7. Kero, K., et al., *Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2017. **36**(11): p. 2215-2219.
8. Beksaç, M.S., A. Ayhan, and H. Hassa, *Jinekoloji: Üreme endokrinolojisi & İnfertilite*. Jinekolojik Onkoloji, 2006.
9. Berek, J.S., *Berek&Novak's Gynecology_14ed.pdf*.
10. Joanna, *Cervical cancer screening*. Ginekologia Praktyczna. **14**(1): p. 10-14.
11. Fish, C.R. *Handbook of Colposcopy: Diagnosis and Treatment of Lower Genital Tract Neoplasia and HPV Infections*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1990. Elsevier.

12. Ferlay, J., et al., *Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods*. International journal of cancer, 2019. **144**(8): p. 1941-1953.
13. Zhou, C., Z.K. Tuong, and I.H. Frazer, *Papillomavirus Immune Evasion Strategies Target the Infected Cell and the Local Immune System*. Front Oncol, 2019. **9**: p. 682.
14. Cohen, P.A., et al., *Cervical cancer*. The Lancet, 2019. **393**(10167): p. 169-182.
15. Graham, S.V., *The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review*. Clinical science, 2017. **131**(17): p. 2201-2221.
16. Bosch, F.X. and S. De Sanjosé, *Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer—burden and assessment of causality*. JNCI monographs, 2003. **2003**(31): p. 3-13.
17. Giuliano, A.R., et al., *Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions*. Vaccine, 2008. **26**: p. K17-K28.
18. Castellsagué, X., *Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer*. Gynecologic oncology, 2008. **110**(3): p. S4-S7.
19. Kyrgiou, M., A. Mitra, and A.B. Moscicki, *Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer?* Transl Res, 2017. **179**: p. 168-182.
20. Pund, E. and H. Nieburgs, *Preinvasive carcinoma of the cervix uteri; seven cases in which it was detected by examination of routine endocervical smears*. Archives of pathology, 1947. **44**(6): p. 571-577.
21. RICHART, R.M., *Natural history of cervical intraepithelial neoplasia*. Clinical Obstetrics and Gynecology, 1967. **10**(4): p. 748-784.
22. Koss, L.G., et al., *Some histological aspects of behavior of epidermoid carcinoma in situ and related lesions of the uterine cervix. A long-term prospective study*. Cancer, 1963. **16**(9): p. 1160-1211.

23. Nasiell, K., V. Roger, and M. Nasiell, *Behavior of mild cervical dysplasia during long-term follow-up*. *Obstetrics and gynecology*, 1986. **67**(5): p. 665-669.
24. Lingappanoor, S., et al., *Cervical cancer, an emerging health burden for womenhood*. *International Journal of Medical Science and Current Research*, 2019. **2**(3): p. 151-60.
25. Moscicki, A.-B., et al., *Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers*. *Vaccine*, 2012. **30**: p. F24-F33.
26. Castle, P.E., et al., *A prospective study of high-grade cervical neoplasia risk among human papillomavirus-infected women*. *Journal of the National Cancer Institute*, 2002. **94**(18): p. 1406-1414.
27. Rose, W.A., et al., *Commensal bacteria modulate innate immune responses of vaginal epithelial cell multilayer cultures*. *PloS one*, 2012. **7**(3): p. e32728.
28. Doorbar, J., *Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer*. *Clinical science*, 2006. **110**(5): p. 525-541.
29. Wise-Draper, T.M. and S.I. Wells, *Papillomavirus E6 and E7 proteins and their cellular targets*. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 2008. **13**(3): p. 1003-1017.
30. Stanley, M., *Pathology and epidemiology of HPV infection in females*. *Gynecologic oncology*, 2010. **117**(2): p. S5-S10.
31. Hoffman, B.L., et al., *Williams gynecology*. 2016: cGraw-Hill Education.
32. Future, I.I.S.G., *Four year efficacy of prophylactic human papillomavirus quadrivalent vaccine against low grade cervical, vulvar, and vaginal intraepithelial neoplasia and anogenital warts: randomised controlled trial*. *The BMJ*, 2010. **341**.
33. Paavonen, J., et al., *Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women*. *The Lancet*, 2009. **374**(9686): p. 301-314.

34. Markowitz, L.E., et al., *Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports, 2014. **63**(5): p. 1-30.
35. Ferris, D., et al., *Long-term study of a quadrivalent human papillomavirus vaccine*. Pediatrics, 2014. **134**(3): p. e657-e665.
36. Ries, L.A., et al., *SEER cancer statistics review, 1975-2003*. 2006.
37. Sherman, M.E., et al., *Performance of a semiautomated Papanicolaou smear screening system: results of a population-based study conducted in Guanacaste, Costa Rica*. Cancer Cytopathology: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 1998. **84**(5): p. 273-280.
38. Saslow, D., et al., *American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer*. CA: a cancer journal for clinicians, 2002. **52**(6): p. 342-362.
39. Wright, T.C., et al., *Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening*. Obstetrics & Gynecology, 2004. **103**(2): p. 304-309.
40. Castle, P.E., et al., *Three-year risk of cervical precancer and cancer after the detection of low-risk human papillomavirus genotypes targeted by a commercial test*. Obstetrics and gynecology, 2014. **123**(1): p. 49.
41. Ronco, G., et al., *Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial*. The lancet oncology, 2010. **11**(3): p. 249-257.
42. Saslow, D., et al., *American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer*. American journal of clinical pathology, 2012. **137**(4): p. 516-542.
43. Solomon, D., et al., *The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology*. Jama, 2002. **287**(16): p. 2114-2119.

44. Waxman, A.G., et al., *Revised terminology for cervical histopathology and its implications for management of high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix*. *Obstetrics and gynecology*, 2012. **120**(6): p. 1465.
45. Darragh, T.M., et al., *The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology*. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 2012. **136**(10): p. 1266-1297.
46. Perkins, R.B., et al., *2019 ASCCP risk-based management consensus guidelines for abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors*. *Journal of lower genital tract disease*, 2020. **24**(2): p. 102.
47. Nayar, R. and D.C. Wilbur, *The pap test and Bethesda 2014*. *Acta cytologica*, 2015. **59**(2): p. 121-132.
48. Walboomers, J.M., et al., *Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide*. *The Journal of pathology*, 1999. **189**(1): p. 12-19.
49. Fitzmaurice, C., et al., *The global burden of cancer 2013*. *JAMA oncology*, 2015. **1**(4): p. 505-527.
50. De Villiers, E.-M., et al., *Classification of papillomaviruses*. *Virology*, 2004. **324**(1): p. 17-27.
51. Torcia, M.G., *Interplay among vaginal microbiome, immune response and sexually transmitted viral infections*. *International journal of molecular sciences*, 2019. **20**(2): p. 266.
52. Evans, M.F., et al., *HPV E6/E7 RNA in situ hybridization signal patterns as biomarkers of three-tier cervical intraepithelial neoplasia grade*. *PloS one*, 2014. **9**(3): p. e91142.
53. Doorbar, J., et al., *The biology and life-cycle of human papillomaviruses*. *Vaccine*, 2012. **30**: p. F55-F70.

54. Sapp, M. and M. Bienkowska-Haba, *Viral entry mechanisms: human papillomavirus and a long journey from extracellular matrix to the nucleus*. The FEBS journal, 2009. **276**(24): p. 7206-7216.
55. Zur Hausen, H., *Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application*. Nature reviews cancer, 2002. **2**(5): p. 342-350.
56. De Marco, F., *Oxidative stress and HPV carcinogenesis*. Viruses, 2013. **5**(2): p. 708-731.
57. Motevaseli, E., et al., *Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate*. Journal of medical microbiology, 2013. **62**(7): p. 1065-1072.
58. Woodman, C.B., S.I. Collins, and L.S. Young, *The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues*. Nature Reviews Cancer, 2007. **7**(1): p. 11-22.
59. Mitra, A., et al., *The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next?* Microbiome, 2016. **4**(1): p. 1-15.
60. Stanley, M.A., *Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus*. Clinical microbiology reviews, 2012. **25**(2): p. 215-222.
61. Yarbrough, V.L., S. Winkle, and M.M. Herbst-Kralovetz, *Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications*. Human reproduction update, 2015. **21**(3): p. 353-377.
62. Guess, J.C. and D.J. McCance, *Decreased migration of Langerhans precursor-like cells in response to human keratinocytes expressing human papillomavirus type 16 E6/E7 is related to reduced macrophage inflammatory protein-3 α production*. Journal of virology, 2005. **79**(23): p. 14852-14862.
63. Karim, R., et al., *Human papillomavirus deregulates the response of a cellular network comprising of chemotactic and proinflammatory genes*. PloS one, 2011. **6**(3): p. e17848.

64. Sperling, T., et al., *Human papillomavirus type 8 interferes with a novel C/EBP β -mediated mechanism of keratinocyte CCL20 chemokine expression and Langerhans cell migration*. PLoS pathogens, 2012. **8**(7): p. e1002833.
65. Hong, S. and L.A. Laimins, *The JAK-STAT transcriptional regulator, STAT-5, activates the ATM DNA damage pathway to induce HPV 31 genome amplification upon epithelial differentiation*. PLoS pathogens, 2013. **9**(4): p. e1003295.
66. Clifford, G.M., et al., *Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer*. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2005. **14**(5): p. 1157-1164.
67. Laniewski, P., et al., *Linking cervicovaginal immune signatures, HPV and microbiota composition in cervical carcinogenesis in non-Hispanic and Hispanic women*. *Sci Rep*. 2018; **8** (1): 7593. Epub 2018/05/17. doi: 10.1038/s41598-018-25879-7. PubMed PMID: 29765068.
68. Shannon, B., et al., *Association of HPV infection and clearance with cervicovaginal immunology and the vaginal microbiota*. Mucosal immunology, 2017. **10**(5): p. 1310-1319.
69. Bordignon, V., et al., *How human papillomavirus replication and immune evasion strategies take advantage of the host DNA damage repair machinery*. Viruses, 2017. **9**(12): p. 390.
70. Bonin, C.M., et al., *Detection of regulatory T cell phenotypic markers and cytokines in patients with human papillomavirus infection*. Journal of Medical Virology, 2019. **91**(2): p. 317-325.
71. Smith, J.S., et al., *Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines*. The Journal of infectious diseases, 2002. **185**(3): p. 324-331.
72. Alberts, C.J., et al., *Association of Chlamydia trachomatis infection and herpes simplex virus type 2 serostatus with genital human papillomavirus infection in men: the HIM Study*. Sexually transmitted diseases, 2013. **40**(6): p. 508.

73. Ho, G.Y., et al., *Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women*. New England Journal of Medicine, 1998. **338**(7): p. 423-428.
74. Ley, C., et al., *Determinants of genital human papillomavirus infection in young women*. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1991. **83**(14): p. 997-1003.
75. Koutsky, L.A., et al., *A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection*. New England journal of medicine, 1992. **327**(18): p. 1272-1278.
76. Ravel, J., et al., *Vaginal microbiome of reproductive-age women*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011. **108**(supplement_1): p. 4680-4687.
77. Burk, R.D., et al., *Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women*. Journal of Infectious Diseases, 1996. **174**(4): p. 679-689.
78. Winer, R.L., et al., *Early natural history of incident, type-specific human papillomavirus infections in newly sexually active young women*. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2011. **20**(4): p. 699-707.
79. Cohen, B.A., P. Honig, and E. Androphy, *Anogenital warts in children: clinical and virologic evaluation for sexual abuse*. Archives of dermatology, 1990. **126**(12): p. 1575-1580.
80. Rosales, R. and C. Rosales, *Immune therapy for human papillomaviruses-related cancers*. World journal of clinical oncology, 2014. **5**(5): p. 1002.
81. Lederberg, J. and A.T. McCray, *Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words*. The scientist, 2001. **15**(7): p. 8-8.
82. Peterson, J., et al., *The NIH human microbiome project*. Genome research, 2009. **19**(12): p. 2317-2323.
83. Dominguez-Bello, M.G., et al., *Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010. **107**(26): p. 11971-11975.

84. Lau, A.W.Y., et al., *The chemistry of gut microbiome in health and diseases*. Progress In Microbes & Molecular Biology, 2021. **4**(1).
85. Lee, L.-H., et al., *Human microbiome: Symbiosis to pathogenesis*. 2021, Frontiers Media SA. p. 605783.
86. Farage, M. and H. Maibach, *Lifetime changes in the vulva and vagina*. Archives of gynecology and obstetrics, 2006. **273**(4): p. 195-202.
87. Hickey, R.J., et al., *Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective*. Translational Research, 2012. **160**(4): p. 267-282.
88. Nunn, K.L. and L.J. Forney, *Focus: microbiome: unraveling the dynamics of the human vaginal microbiome*. The Yale journal of biology and medicine, 2016. **89**(3): p. 331.
89. Joseph, R.J., et al., *Finding a balance in the vaginal microbiome: how do we treat and prevent the occurrence of bacterial vaginosis?* Antibiotics, 2021. **10**(6): p. 719.
90. Widdowson, E.M., *Changes in body proportions and composition during growth*. Scientific foundations of pediatrics, 1974: p. 153-163.
91. Huffman, J.W., *The structure and bacteriology of the premenarchal vagina*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1959. **83**(2): p. 227-236.
92. Brownell, A.D., R.A. Shapiro, and M.R. Hammerschlag, *Caution is required when using non-Food and Drug Administration-cleared assays to diagnose sexually transmitted infections in children*. The Journal of Pediatrics, 2019. **206**: p. 280-282.
93. Gerstner, G., et al., *Vaginal organisms in prepubertal children with and without vulvovaginitis*. Archives of gynecology, 1982. **231**(3): p. 247-252.
94. Hillier, S.L., et al., *The normal vaginal flora, H₂O₂-producing lactobacilli, and bacterial vaginosis in pregnant women*. Clinical Infectious Diseases, 1993. **16**(Supplement_4): p. S273-S281.

95. Vallor, A.C., et al., *Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production*. The Journal of infectious diseases, 2001. **184**(11): p. 1431-1436.
96. Ceccarani, C., et al., *Diversity of vaginal microbiome and metabolome during genital infections*. Scientific reports, 2019. **9**(1): p. 1-12.
97. He, Y., et al., *Evaluation of the inhibitory effects of *Lactobacillus gasseri* and *Lactobacillus crispatus* on the adhesion of seven common lower genital tract infection-causing pathogens to vaginal epithelial cells*. Frontiers in Medicine, 2020. **7**: p. 284.
98. Hibbing, M.E., et al., *Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle*. Nature reviews microbiology, 2010. **8**(1): p. 15-25.
99. Khan, S., M.J. Voordouw, and J.E. Hill, *Competition among *Gardnerella* subgroups from the human vaginal microbiome*. Frontiers in cellular and infection microbiology, 2019. **9**: p. 374.
100. France, M.T., H. Mendes-Soares, and L.J. Forney, *Genomic comparisons of *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus iners* reveal potential ecological drivers of community composition in the vagina*. Applied and environmental microbiology, 2016. **82**(24): p. 7063-7073.
101. Gajer, P., et al., *Temporal dynamics of the human vaginal microbiota*. Science translational medicine, 2012. **4**(132): p. 132ra52-132ra52.
102. Kroon, S.J., J. Ravel, and W.M. Huston, *Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes*. Fertility and sterility, 2018. **110**(3): p. 327-336.
103. Boskey, E., et al., *Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source*. Human reproduction, 2001. **16**(9): p. 1809-1813.
104. Aroutcheva, A., et al., *Defense factors of vaginal lactobacilli*. American journal of obstetrics and gynecology, 2001. **185**(2): p. 375-379.

105. Ocaña, V.S., A.d.A. Pesce de Ruiz Holgado, and M.E. Nader-Macías, *Characterization of a bacteriocin-like substance produced by a vaginal Lactobacillus salivarius strain*. Applied and environmental microbiology, 1999. **65**(12): p. 5631-5635.
106. Reid, G., et al., [31] *Biosurfactants produced by Lactobacillus*, in *Methods in enzymology*. 1999, Elsevier. p. 426-433.
107. Kaewsrichan, J., K. Peeyananjarassri, and J. Kongprasertkit, *Selection and identification of anaerobic lactobacilli producing inhibitory compounds against vaginal pathogens*. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2006. **48**(1): p. 75-83.
108. Borgogna, J.-L.C. and C.J. Yeoman, *The application of molecular methods towards an understanding of the role of the vaginal microbiome in health and disease*. Methods in Microbiology, 2017. **44**: p. 37-91.
109. Alcaide, M.L., et al., *Bacterial vaginosis is associated with loss of gamma delta T cells in the female reproductive tract in women in the Miami Women Interagency HIV Study (WIHS): A cross sectional study*. PloS one, 2016. **11**(4): p. e0153045.
110. McMillan, A., et al., *Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011. **86**(1): p. 58-64.
111. Boris, S. and C. Barbés, *Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens*. Microbes and infection, 2000. **2**(5): p. 543-546.
112. Verstraelen, H., et al., *Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L. crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L. gasseri and/or L. iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora*. BMC microbiology, 2009. **9**(1): p. 1-10.
113. Nunn, K.L., et al., *Enhanced trapping of HIV-1 by human cervicovaginal mucus is associated with Lactobacillus crispatus-dominant microbiota*. MBio, 2015. **6**(5): p. e01084-15.

114. Egawa, N., et al., *Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia*. *Viruses*, 2015. **7**(7): p. 3863-3890.
115. Amabebe, E. and D.O. Anumba, *The vaginal microenvironment: the physiologic role of lactobacilli*. *Frontiers in medicine*, 2018. **5**: p. 181.
116. Petrova, M.I., et al., *Lactobacillus iners: friend or foe?* *Trends in microbiology*, 2017. **25**(3): p. 182-191.
117. Castanheira, C.P., et al., *Microbiome and cervical cancer*. *Pathobiology*, 2021. **88**(2): p. 187-197.
118. Borges, B.E.S., et al., *Human papillomavirus infection and cervical cancer precursor lesions in women living by Amazon rivers: investigation of relations with markers of oxidative stress*. *Einstein (São Paulo)*, 2018. **16**.
119. Fichorova, R.N., et al., *The contribution of cervicovaginal infections to the immunomodulatory effects of hormonal contraception*. *MBio*, 2015. **6**(5): p. e00221-15.
120. Round, J.L. and S.K. Mazmanian, *The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease*. *Nature reviews immunology*, 2009. **9**(5): p. 313-323.
121. Balkwill, F. and A. Mantovani, *Inflammation and cancer: back to Virchow?* *The lancet*, 2001. **357**(9255): p. 539-545.
122. Vodstrcil, L.A., et al., *Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis*. *PloS one*, 2013. **8**(9): p. e73055.
123. Jespers, V., et al., *The significance of Lactobacillus crispatus and L. vaginalis for vaginal health and the negative effect of recent sex: a cross-sectional descriptive study across groups of African women*. *BMC infectious diseases*, 2015. **15**(1): p. 1-14.
124. Schwebke, J.R., R.A. Desmond, and M.K. Oh, *Predictors of bacterial vaginosis in adolescent women who douche*. *Sexually transmitted diseases*, 2004: p. 433-436.

125. MacIntyre, D.A., et al., *The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population*. Scientific reports, 2015. **5**(1): p. 1-9.
126. Romero, R., et al., *The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women*. Microbiome, 2014. **2**(1): p. 1-19.
127. Drago, F., et al., *Ureaplasma parvum as a possible enhancer agent of HPV-induced cervical intraepithelial neoplasia: Preliminary results*. Journal of medical virology, 2016. **88**(12): p. 2023-2024.
128. Mitra, A., et al., *Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity*. Scientific reports, 2015. **5**(1): p. 1-11.
129. Oh, H., et al., *The association of uterine cervical microbiota with an increased risk for cervical intraepithelial neoplasia in Korea*. Clinical Microbiology and Infection, 2015. **21**(7): p. 674. e1-674. e9.
130. Piyathilake, C.J., et al., *Cervical Microbiota Associated with Higher Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women Infected with High-Risk Human Papillomaviruses* Microbiome and CIN Risk. Cancer Prevention Research, 2016. **9**(5): p. 357-366.
131. Mhatre, M., et al., *Cervical intraepithelial neoplasia is associated with genital tract mucosal inflammation*. Sexually transmitted diseases, 2012. **39**(8): p. 591.
132. Thellman, N.M. and S.J. Triezenberg, *Herpes simplex virus establishment, maintenance, and reactivation: in vitro modeling of latency*. Pathogens, 2017. **6**(3): p. 28.
133. Beyrer, C., et al., *Molecular methods for the diagnosis of genital ulcer disease in a sexually transmitted disease clinic population in northern Thailand: predominance of herpes simplex virus infection*. Journal of Infectious Diseases, 1998. **178**(1): p. 243-246.

134. Johnston, C. and L. Corey, *Current concepts for genital herpes simplex virus infection: diagnostics and pathogenesis of genital tract shedding*. Clinical microbiology reviews, 2016. **29**(1): p. 149-161.
135. Hwang, L.Y., et al., *Higher levels of cervicovaginal inflammatory and regulatory cytokines and chemokines in healthy young women with immature cervical epithelium*. Journal of reproductive immunology, 2011. **88**(1): p. 66-71.
136. Zhou, X., et al., *Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods*. Microbiology, 2004. **150**(8): p. 2565-2573.
137. Zhou, X., et al., *The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups*. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2010. **58**(2): p. 169-181.
138. Ilhan, Z.E., et al., *Deciphering the complex interplay between microbiota, HPV, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling*. EBioMedicine, 2019. **44**: p. 675-690.
139. Santos, C.R. and A. Schulze, *Lipid metabolism in cancer*. The FEBS journal, 2012. **279**(15): p. 2610-2623.
140. Chase, D., et al., *The vaginal and gastrointestinal microbiomes in gynecologic cancers: a review of applications in etiology, symptoms and treatment*. Gynecologic oncology, 2015. **138**(1): p. 190-200.
141. Champer, M., et al., *The role of the vaginal microbiome in gynaecological cancer*. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 2018. **125**(3): p. 309-315.
142. Kwasniewski, W., et al., *Microbiota dysbiosis is associated with HPV-induced cervical carcinogenesis*. Oncology letters, 2018. **16**(6): p. 7035-7047.
143. Audirac-Chalifour, A., et al., *Cervical microbiome and cytokine profile at various stages of cervical cancer: a pilot study*. PloS one, 2016. **11**(4): p. e0153274.

144. Bagaitkar, J., D.R. Demuth, and D.A. Scott, *Tobacco use increases susceptibility to bacterial infection*. Tobacco induced diseases, 2008. **4**(1): p. 1-10.
145. Hellberg, D., et al., *Smoking and cervical intraepithelial neoplasia: nicotine and cotinine in serum and cervical mucus in smokers and nonsmokers*. American journal of obstetrics and gynecology, 1988. **158**(4): p. 910-913.
146. Sasson, I., et al., *Cigarette smoking and neoplasia of the uterine cervix: smoke constituents in cervical mucus*. The New England journal of medicine, 1985. **312**(5): p. 315-316.
147. Schiffman, M.H., et al., *Biochemical epidemiology of cervical neoplasia: Measuring cigarette smoke constituents in the cervix*. Cancer Research, 1987. **47**(14): p. 3886-3888.
148. Hillier, S.L. and R.J. Lau, *Vaginal microflora in postmenopausal women who have not received estrogen replacement therapy*. Clinical infectious diseases, 1997. **25**(Supplement_2): p. S123-S126.
149. Hummelen, R., et al., *Vaginal microbiome and epithelial gene array in postmenopausal women with moderate to severe dryness*. PloS one, 2011. **6**(11): p. e26602.
150. Brotman, R.M., et al., *Association between the vaginal microbiota, menopause status and signs of vulvovaginal atrophy*. Menopause (New York, NY), 2014. **21**(5): p. 450.
151. Westhoff, C., et al., *Predictors of ovarian steroid secretion in reproductive-age women*. American journal of epidemiology, 1996. **144**(4): p. 381-388.
152. Pavlova, S.I. and L. Tao, *Induction of vaginal Lactobacillus phages by the cigarette smoke chemical benzo [a] pyrene diol epoxide*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2000. **466**(1): p. 57-62.
153. Brotman, R.M., et al., *Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study*. BMC infectious diseases, 2014. **14**(1): p. 1-11.

154. Prokopczyk, B., et al., *Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers*. Journal of the National Cancer Institute, 1997. **89**(12): p. 868-873.
155. Wei, L., et al., *Tobacco exposure results in increased E6 and E7 oncogene expression, DNA damage and mutation rates in cells maintaining episomal human papillomavirus 16 genomes*. Carcinogenesis, 2014. **35**(10): p. 2373-2381.
156. Luhn, P., et al., *The role of co-factors in the progression from human papillomavirus infection to cervical cancer*. Gynecologic oncology, 2013. **128**(2): p. 265-270.
157. Cancer, C.o.E.S.o.C., *Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies*. International journal of cancer, 2006. **118**(6): p. 1481-1495.
158. Mason, M.R., et al., *The subgingival microbiome of clinically healthy current and never smokers*. The ISME journal, 2015. **9**(1): p. 268-272.
159. Lee, S.K., et al., *Immune cells in the female reproductive tract*. Immune network, 2015. **15**(1): p. 16-26.
160. Aflatoonian, R. and A. Fazeli, *Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression*. Journal of reproductive immunology, 2008. **77**(1): p. 7-13.
161. Hart, K.M., et al., *Functional expression of pattern recognition receptors in tissues of the human female reproductive tract*. Journal of reproductive immunology, 2009. **80**(1-2): p. 33-40.
162. Yeaman, G., et al., *CD8+ T cells in human uterine endometrial lymphoid aggregates: evidence for accumulation of cells by trafficking*. Immunology, 2001. **102**(4): p. 434-440.

163. Gillet, E., et al., *Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis*. BMC infectious diseases, 2011. **11**(1): p. 1-9.
164. Kyrgiou, M., A. Mitra, and A.-B. Moscicki, *Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer?* Translational Research, 2017. **179**: p. 168-182.
165. Herbst-Kralovetz, M.M., et al., *New systems for studying intercellular interactions in bacterial vaginosis*. The Journal of infectious diseases, 2016. **214**(suppl_1): p. S6-S13.
166. Ebner, S., et al., *Probiotics in dietary guidelines and clinical recommendations outside the European Union*. World Journal of Gastroenterology: WJG, 2014. **20**(43): p. 16095.
167. Li, Y., et al., *Vaginal microbiota and HPV infection: novel mechanistic insights and therapeutic strategies*. Infection and Drug Resistance, 2020. **13**: p. 1213.
168. Reid, G., *Has knowledge of the vaginal microbiome altered approaches to health and disease?* F1000Research, 2018. **7**.
169. Verhoeven, V., et al., *Probiotics enhance the clearance of human papillomavirus-related cervical lesions*. European journal of cancer prevention, 2013. **22**(1): p. 46-51.
170. Palma, E., et al., *Long-term Lactobacillus rhamnosus BMX 54 application to restore a balanced vaginal ecosystem: a promising solution against HPV-infection*. BMC infectious diseases, 2018. **18**(1): p. 1-7.
171. Wright, T.C., X.W. Sun, and J. Koulos, *Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities*. Obstetrics & Gynecology, 1995. **85**(2): p. 202-210.
172. Cox, J.T., et al., *Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance*. American journal of obstetrics and gynecology, 1995. **172**(3): p. 946-954.

173. Melnikow, J., et al., *Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis*. *Obstetrics & Gynecology*, 1998. **92**(4): p. 727-735.
174. Wright Jr, T.C., et al., *Reflex human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in women with abnormal Papanicolaou smears*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 1998. **178**(5): p. 962-966.
175. Manos, M.M., et al., *Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results*. *Jama*, 1999. **281**(17): p. 1605-1610.
176. Kinney, W.K., et al., *Where's the high-grade cervical neoplasia? The importance of minimally abnormal Papanicolaou diagnoses*. *Obstetrics & Gynecology*, 1998. **91**(6): p. 973-976.
177. Wright Jr, T.C., et al., *2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2007. **197**(4): p. 346-355.
178. Nivoliez, A., et al., *Influence of manufacturing processes on in vitro properties of the probiotic strain Lactobacillus rhamnosus Lcr35®*. *Journal of Biotechnology*, 2012. **160**(3-4): p. 236-241.
179. Petricevic, L. and A. Witt, *The role of Lactobacillus casei rhamnosus Lcr35 in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis*. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 2008. **115**(11): p. 1369-1374.
180. Criscuolo, A.A., et al., *Therapeutic Efficacy of a Coriolus versicolor-Based Vaginal Gel in Women with Cervical Uterine High-Risk HPV Infection: A Retrospective Observational Study*. *Advances in Therapy*, 2021. **38**(2): p. 1202-1211.
181. Lavitola, G., et al., *Effects on vaginal microbiota restoration and cervical epithelialization in positive HPV patients undergoing vaginal treatment with carboxy-methyl-beta-glucan*. *BioMed Research International*, 2020. **2020**.
182. Randel, A., *ACOG releases guidelines on cervical cancer screening*. *American Family Physician*, 2013. **88**(11): p. 776-777.

183. Kenyon, C., R. Colebunders, and T. Crucitti, *The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review*. American journal of obstetrics and gynecology, 2013. **209**(6): p. 505-523.
184. Marconi, C., et al., *Characterization of the vaginal microbiome in women of reproductive age from 5 regions in Brazil*. Sexually Transmitted Diseases, 2020. **47**(8): p. 562-569.
185. Huber, J., et al., *Human papillomavirus persistence or clearance after infection in reproductive age. What is the status? Review of the literature and new data of a vaginal gel containing silicate dioxide, citric acid, and selenite*. Women's Health, 2021. **17**: p. 17455065211020702.
186. Smith, J.A., et al., *AHCC® Supplementation to Support Immune Function to Clear Persistent Human Papillomavirus Infections*. Frontiers in Oncology, 2022. **12**: p. 881902.
187. Yang, Y., et al., *REBACIN® is an optional intervention for persistent high-risk human papillomavirus infection: A retrospective analysis of 364 patients*. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2021. **152**(1): p. 82-87.
188. Kovachev, S.M., *A Review on Inosine Pranobex Immunotherapy for Cervical HPV-Positive Patients*. Infection and Drug Resistance, 2021. **14**: p. 2039.