



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
ANTALYA
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Antalya EĞitim ve Araştırma Hastanesi

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANTALYA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

HR-HUMAN PAPİLLOMA VİRÜS (HPV) POZİTİFLİĞİ OLAN
HASTALARDA HPV PERSİSTANSININ VAJİNAL MİKROBİYOTA İLE
İLİşKİSİ

Dr. Glce Nur ÖZÜNLÜ

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANTALYA-2024



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
ANTALYA
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANTALYA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

HR-HUMAN PAPİLLOMA VİRÜS (HPV) POZİTİFLİĞİ OLAN
HASTALARDA HPV PERSİSTANSININ VAJİNAL MİKROBİYOTA İLE
İLİŞKİSİ

Dr. Gülce Nur ÖZÜNLÜ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burak KARADAĞ
(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANTALYA-2024

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZ	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. SERVİKS ANATOMİSİ	3
2.2. SERVİKAL EMBRİYOLOJİ VE HİSTOLOJİ.....	4
2.3. SQUAMOKOLUMNAR ALAN, TRANSFORMASYON ZONU VE METAPLAZİ.....	5
2.4. SERVİKS KANSERİ VE PREİNVAZİV LEZYONLAR.....	8
2.5. SERVİKAL KANSER ÖNLEME STRATEJİLERİ	10
2.6. SERVİKAL KANSER TARAMASI.....	11
2.7. SERVİKAL PREİNVAZİV LEZYON DEĞERLENDİRİLMESİ.....	14
2.8. HPV	19
2.8.1. HPV enfeksiyonu izlemi	21
2.9. SERVİKOVAJİNAL MİKROBİYOTA	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. VERİ TOPLANMASI	30
3.2. VS ALINMASI	31
3.3. DEĞERLENDİRME	31
3.4. İSTATİKSEL YÖNTEM.....	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ.....	47
KAYNAKÇA	48

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerisini aktaran değerli tez danışmanım Prof. Dr. Burak Karadağ'a, klinik ve cerrahi eğitimim için katkı sağlayan aynı zamanda beni hekimliğe ve hayata hazırlayan saygıdeğer hocalarım; Doç. Dr. Hasan Ali İnal, Dr. Özgür Özdemir, Dr. Bekir Sıtkı İsenlik, Doç. Dr. Metin Kaba ve Doç. Dr. Esra Tamburacı'ya sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Onkoloji kliniğinde hasta ile iletişimde ve aynı zamanda klinik ve cerrahi yaklaşımda hayatım boyunca hatırlayacağım deneyimler yaşatan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Işın Üreyen ve Doç. Dr. Tayfun Toptaş'a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık sürecimde destek ve ilgisini hep hissettiğim, sohbetleriyle ufkumu açan değerli hocalarım Doç. Dr. And Yavuz ve Op. Dr. Hasan Berkan Sayal'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin mikrobiyoloji kısmının çalışılmasında yardımcı olan sayın Prof Dr. Aylin Erman Daloğlu'na ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı doktorları ve çalışanlarına tüm emekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık hayatım boyunca doğumhane, poliklinik, ameliyathane, servislerde birlikte çalıştığım sayın uzman hekimlerimize, tüm asistan, hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

En başından beri sevgi ve sabırla beni destekleyen hem insan hem uzman doktor olmamda emekleri çok büyük olan canım annem Canan Özünlü, babam Murat Nuri Özünlü ve ablam Elif Ece Özünlü'ye, tam da asistanlığımın sonuna yaklaşırken iyi ki tanıştığım, güzel kalbi ve değerleriyle bana eşlik eden ve tez yazma sürecimde özveri ve yardımlarıyla beni destekleyen canım Dr. Umur Cem Topcu'ya teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

ACOG: American College of Obstetric and Gynecology

AGC: Atipik glandüler hücreler

AGC-EC: Endoservikal hücrelerden kaynaklanan atipik glandüler hücreler

AGC-NOS: Sınıflandırılmayan atipik glandüler hücreler

AGUS: Önemi bilinmeyen atipik glandüler hücreler

AIS: Adenokarsinoma in situ

ASC- H: HSIL dışlanamayan hücreler

ASC- US: Önemi belirlenemeyen hücreler

ASC: Atipik Skuamöz Hücreler

BPDE: Benzopiren diol epoksit

BV: Bakteriyel vajinozis

CC: Serviks Kanseri

CIN: Servikal İntraepitelyal Neoplazi

CST: Community State Type

E2: Estrodiol

EK: Endometrium Kanseri

GİS: Gastrointestinal Sistem

HIV: İnsan İmmun Yetmezlik Virüsü

HPV: Human Papilloma Virus

Hr-HPV: Yüksek Riski Human Papilloma Virüs

HSIL: High-grade skuamöz intraepitelyal lezyon

LAST: Alt Anogenital Skuamöz Terminoloji Projesi

LEEP: Loop Elektrocerrahi Eksizyon Prosedürü

LSIL: Low-grade skuamöz intraepitelyal lezyon

MPA: Medroksiprogesteron Asetat

NK: Natural Killer Cell

OKS: Oral Kontraseptif

PAP: Papanicolau

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SBÜ: Sağlık Bilimleri Üniversitesi

SCJ: Skuamokolumnar Junction

SIL: Skuamöz İntraepitelyal Lezyon

TGF-B1: Transforming Growth Faktör

TZ: Transformasyon Zonu

VKI: Vücut kitle indeksi

VM: Vajinal Mikrobiyota

VS: Vajinal Smear

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Transformasyon zonunu oluşturan tabakalar.....	6
Tablo 2. HPV aşısı türleri ve içeriği	11
Tablo 3. Konvansiyonel yöntemde dezavantajlar	12
Tablo 4. Bethesda sistemi sitoloji sonuç raporu bileşenleri.....	15
Tablo 5. Smear testinde epitel hücre anormallikleri	16
Tablo 6. Servikal İntraepitelyal Neoplazi terminolojisi ve histolojisi	16
Tablo 7. Onkojenik risk potansiyeline göre HPV tipleri.....	19
Tablo 8. CST ve Lactobacillus türleri	23
Tablo 9. HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif katılımcıların sosyodemografik ve klinik özellikleri	35
Tablo 10. HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif kadınların CST sonuçlarının karşılaştırılması	38
Tablo 11. HPV 16 ve/veya 18 pozitifliği ile diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları.....	39
Tablo 12. Tek HPV pozitifliği ve multiple HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları	40

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Serviksin şematik olarak gösterimi.....	3
Şekil 2. Serviks anatomisi.....	4
Şekil 3. Skuakolumnar alanın menarş menopozal duruma göre konumu.....	5
Şekil 4. Transformasyon zonu epitel tabakaları.....	6
Şekil 5. Transformasyon zonu.....	7
Şekil 6. Skuamokolumnar bileşke ve metaplazi alanı.....	8
Şekil 7. Servikal İntraepitelyal Neoplazinin (CIN) ilerlemesi.....	9
Şekil 8. PAP smear alma tekniği.....	11
Şekil 9. Sıvı bazlı sitoloji yönteminde kullanılan materyaller.....	12
Şekil 10. HPV'nin karsinogenez sürecinin şematik gösterilmesi.....	20
Şekil 11. HPV genomunun haritası ve genlerin temel işlevleri.....	20
Şekil 12. Vajinal mikrobiyota CST haritası.....	24
Şekil 13. CST'lerin etnik gruplara göre dağılımı.....	24
Şekil 14. Çalışmamızın Akış Şeması.....	34
Şekil 15. Katılımcıların cins düzeyinde mikrobiyotalarının karşılaştırılması.....	41

ÖZ

Amaç: Bu tıpta uzmanlık tez çalışması Human Papilloma Virüs (HPV) (-) negatif ve HPV (+) pozitif olan kadınlarda vajinal mikrobiyotanın (VM) HPV'yi persiste etmesinde herhangi bir rolünün olup olmadığını araştırmayı amaçlamıştır.

Gereç ve Yöntem: Prospektif bir kohort araştırması olan bu tez çalışması, 15 Mart 2024 -15 Ağustos 2024 tarihleri arasında yapılmış olup, Hr-HPV enfeksiyonu olan ve bir yıl sonraki kontrollerinde de Hr-HPV negatif olan (n=49) ve Hr-HPV pozitif olan (n=49) toplam 98 kadın araştırmaya dahil edilmiştir. Katılımcılardan alınan vajinal sürüntü örneklerinin kültürlerde başta Lactobacillus türleri olmak üzere üreme sonuçları değerlendirilmiş ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Gruplar arasında yaşı, vücut kitle indeksi (VKİ), gebelik, doğum, düşük, dış gebelik ve küretaj sayısı, eğitim durumu, ekonomik düzey, yaşadığı yer, meslek, doğum şekli, sistemik herhangi bir hastalık olup olmadığı, ailede kronik bir hastalık varlığı, sigara kullanımı, alkol kullanımı, ilaç alışkanlığı gibi sosyodemografik veriler, kontrasepsiyon yöntemi, partner sayısı ve ilk menstruasyon yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). HPV negatif ve pozitif ve HPV 16 ve/veya 18 pozitifliği ile diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınlar arasında kadınlar arasında Community State Type (CST) 1, CST 2, CST 3, CST 4, CST 5, kategorize edilemeyen ve diğer laktobasillerin varlığı ve HPV negatif ve HPV pozitif kadınların cins düzeyinde VM'nin karşılaştırılması açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Tek ve multiple HPV pozitifliği olan kadınlar arasında CST 1 [0 (%0) vs 3(%11,5)], CST 2 [0 (%0) vs 0 (%0)], CST 3 [11 (%47,8) vs 4 (%15,4)], CST 4 [8 (%34,8) vs 8 (%30,8)], CST 5 [0 (%0) vs 4(%15,4)], kategorize edilemeyen [4 (%17,4) vs 3 (%11,5)] ve diğer laktobasillerin [0 (%0) vs 4 (%15,4)] varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,002$).

Sonuç: Bu çalışma vajinal mikrobiyotanın Hr-HPV pozitifliği olan hastalarda HPV persistansı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu konunun açıklığa kavuşturulması için daha fazla sayıda katılımcı içeren prospektif kohort çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: human papiloma virus, klirens, Laktobacillus, PAP smear, serviks kanseri, vaginal mikrobiyota

ABSTRACT

Objective: This thesis aims to investigate whether vaginal microbiota (VM) has any role in the persistence of Human Papilloma Virus (HPV) in women who are HPV (-) negative and HPV (+) positive.

Materials and Methods: This prospective cohort study was conducted between March 15, 2024, and August 15, 2024, and included a total of 98 women: 49 with Hr-HPV infection who were Hr-HPV negative at one-year follow-up and 49 who were Hr-HPV positive. Vaginal swab samples collected from participants were cultured, and the reproductive results, particularly regarding *Lactobacillus* species, were evaluated and compared between groups.

Results: No statistically significant differences were found between the groups in terms of age, body mass index (BMI), pregnancy history, childbirth, miscarriages, ectopic pregnancy, curettage counts, education level, economic status, place of residence, occupation, mode of delivery, presence of any systemic diseases, family history of chronic illnesses, smoking status, alcohol consumption, medication habits, contraceptive methods, number of partners, and age at first menstruation ($p > 0.05$). There was no statistically significant difference in the presence of Community State Types (CST) 1, CST 2, CST 3, CST 4, CST 5, uncategorized types, and other lactobacilli between HPV negative and positive women ($p > 0.05$). However, statistically significant differences were observed among women with single and multiple HPV positivity: CST 1 [0 (%0) vs 3 (%11.5)], CST 2 [0 (%0) vs 0 (%0)], CST 3 [11 (%47.8) vs 4 (%15.4)], CST 4 [8 (%34.8) vs 8 (%30.8)], CST 5 [0 (%0) vs 4 (%15.4)], uncategorized [4 (%17.4) vs 3 (%11.5)], and other lactobacilli [0 (%0) vs 4 (%15.4)] ($p = 0.002$).

Conclusion: This study indicates that vaginal microbiota does not have an effect on HPV persistence in patients with Hr-HPV positivity. Further prospective cohort studies with larger sample sizes are needed to clarify this issue.

Keywords: cervical cancer, clearance, human papilloma virus, *Lactobacillus*, PAP smear, vaginal microbiota.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Serviks kanseri (CC) kadınlarda meme, kolorektal ve akciğer kanserinden sonra dördüncü sıklıkta görülen kanser olup düşük sosyoekonomik gelirli ülkelerde daha sık mortaliteye neden olmaktadır (1).

Tarama imkanlarının olması nedeniyle CC'nin erken tanı ve tedavisi ile prevalans ve insidansı azalacak ve dolayısı ile mortalite de azalacak ve sosyoekonomik açıdan da hiç yük olmayacaktır. CC olgularının %99'da Human Papilloma Virus (HPV) birlikteliği gözlenmiştir. CC için 15 riskli HPV tanımlanmış ve servikte persiste bir enfeksiyon sonucu CC'nin geliştiği düşünülmektedir. Kadınların %80'i tüm hayatları boyunca HPV enfeksiyonu geçirmekte, %10'unda HPV enfeksiyonu kalıcı hale gelmekte, %0,06'sında ise CC gelişmektedir (2,3).

HPV servikal skuamokolumnar junction (SCJ) bölgesinde hasar gören epitelden giriş yaparak bazal tabakadaki hücreleri infekte etmektedir. HPV enfeksiyonunun %90'dan fazlası iki yıl içinde klirens uğramaktadır. CC gelişiminde Hr-HPV enfeksiyonunun yanında sigara, doğurganlık, oral kontraseptif (OKS) kullanımı, seksüel partner sayısı ve konakçının immünitesi de önemlidir (4).

Serviks kanserinin önlenmesinde bivalan, quadrivalan ve nanovalan aşılar kullanılmaktadır. Konvansiyonel ve sıvı bazlı sitoloji ile taraması yapılmaktadır. ACOG 30-65 yaş arasında sıvı bazlı sitoloji ile birlikte HPV taramasını rutin önermektedir (5).

Vajinal PAP Smear (VS) değerlendirilmesinde Bethesda 2004 klasifikasyonu kullanılmaktadır (6).

Vücutta kommensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların oluşturduğu mikrobiyotanın büyük çoğunluğunda bakteriler yer almaktadır. Vajinal mikrobiyota (VM) cilt ve GİS mikrobiyotası gibi doğumla birlikte oluşmaya başlamakta, konakçının ürogenital sisteminden etkilenebileceği gibi, ürogenital sistemi de etkileyebilmektedir (7,8).

Doğumla birlikte ilk 24 saatte vajinal glikojenden dolayı Laktobasiller lokalize olmaktadır. VM'de laktobasillerin ürettiği bakteriyostatik ve bakterisidal ürünler vajinal ph'ı düşürüp, bakteriyel vaginozisi, seksüel yolla bulaşan hastalıkları

ve virüslerin SCJ epiteline invazyonunu engellemektedir. The Vaginal Community State Types (CST) 'de beş tür bakteri topluluğu tanımlanmıştır. CST 1- 2- 3 ve 5'te Lactobacillusların hakimiyeti söz konusu iken, CST 4 'te ise anaerobik bakteriler baskındır (9,10). CST hakimiyeti genetik, ırk ve etnisiteden etkilenebilmektedir ve rahim içi araç, sigara, cinsel alışkanlıklar, cinsel hijyen ve seksüel partner sayısı gruplar arasında geçişe neden olmaktadır (11-13).

VM'deki Lactobacillusların azalıp diğer anaerobik mikroorganizmaların artışı vajinal mikrobiyotayı değiştirmekte ve servikovajinal SCJ'deki koruyucu bariyer yapı kaybolmaktadır.

CST 1- 2- 3 ve 5 hakimiyeti vajinada noninflamatuvar bir ortam ile ilişkili iken CST 4 hakimiyeti ve sonuçta gelişen inflamasyon epitelyal DNA hasarına neden olabilmekte, hücreye entegre olan HPV'nin, konakçı hücrelerde kontrolsüz çoğalmasına ve servikal intraepitelyal neoplaziye ve CC gelişmesine neden olabilmektedir (9). Bundan dolayı VM'nin değişmemesi çok önemlidir.

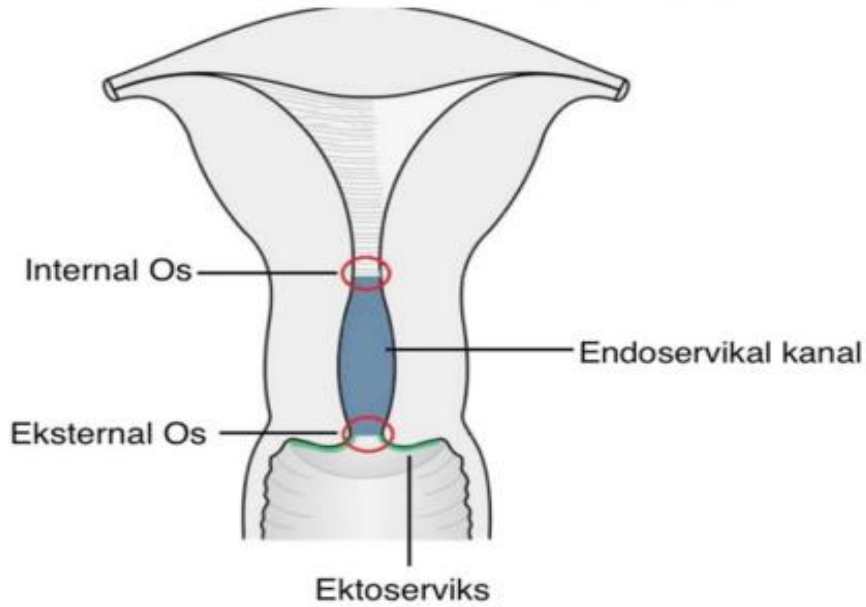
Bu tez çalışmasında HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif kadınlarda VM'nin HPV'yi persiste etmesinde herhangi bir rolünün olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serviks Anatomisi

Uterusun alt 1/3'ünü oluşturan serviks, yaklaşık 2 ile 4 cm uzunluğunda fiçi şeklinde bir organ olup; yapısı kadının yaşı, doğum tipi ve seyirine göre değişmektedir. İnternal servikal ostium ile uterus isthmusuna, eksternal servikal ostium ile de vajene açılmakta, arada kalan 2-3 cm'lik kısım ise endoservikal kanal olarak isimlendirilmektedir (14).

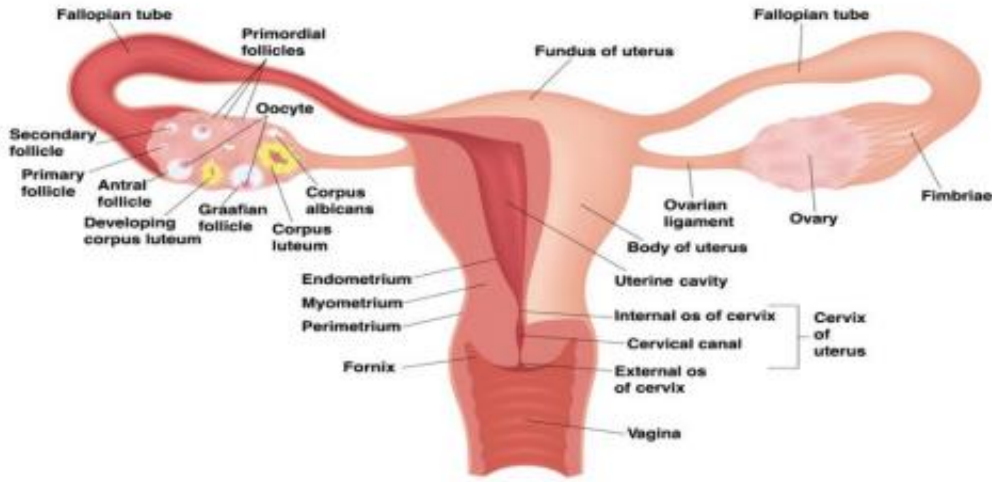
Serviksin vajende kalan kısmı portio vaginalis, üstteki kısmı da portio supravaginalis olarak adlandırılmaktadır. Spekulum ile yapılan jinekolojik muayenede ektoserviks ve eksternal servikal ostium gözlenebilmektedir. Normal doğum yapmış kadınlarda eksternal servikal ostium enine geniş bir yarıklanma şeklinde iken, doğum yapmamış ve sezaryen ile doğum yapmış kadınlarda ise yuvarlak toplu iğne başı görünümüne sahiptir. Serviks ile vajen ön duvarı arasındaki bölüm anterior forniks, vajen arka duvarı arasındaki bölüm ise posteior forniks olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1) (14).



Şekil 1. Serviksin şematik olarak gösterimi

Serviksin arterleri, venleri ve innervasyonunu sağlayan sinirleri fibromuskuler doku ile kaplı servikal stromadan geçmektedir. Serviksi besleyen arterler internal iliak

arterin dalı olup uterin arterden ayrılmakta; ayrıca vajinal arterden de anastamoz ile beslenmektedir. Bu arterler servikse saat 3 ve 9 hizasında giriş yapmakta, venöz damarsal yapılar ise arterlerle paralel olarak seyredip hipogastrik venöz pleksusa dökülmektedir. Lenfatik drenaj ise eksternal ve internal iliak, obturator ve parametriyal lenf nodlarına olmaktadır. Servikal innervasyonu sağlayan sinirler ise hipogastrik pleksustan köken almakta olup endoservikal kanalda duysal innervasyon yoğun iken ektoservikte ise minimaldir. Bu nöronal innervasyon servikal biyopsi, LEEP ve kriyoterapi gibi invaziv işlemlerde analjezi ihtiyacını azaltmaktadır (15,16).



Şekil 2. Serviks anatomisi

Ön yüzde mesane ile komşu olan serviks yanlarda parametriyal alanda ise üreterlerle komşuluk yapmaktadır (Şekil 2).

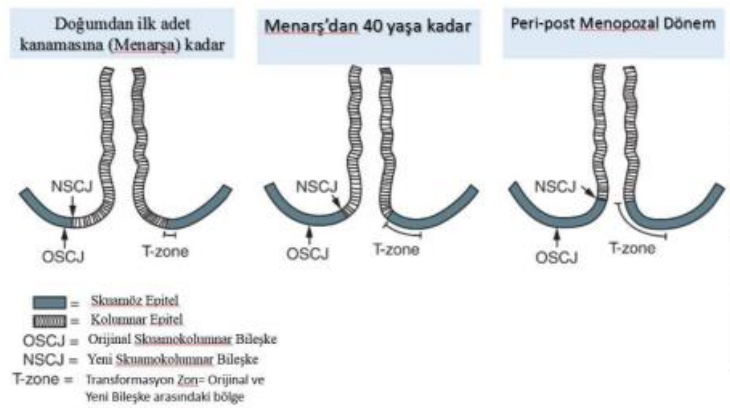
2.2. Servikal Embriyoloji ve Histoloji

Müllerian kanal ile ürogenital sinüs intrauterin dönemin 6-7. gebelik haftalarında birleşmesiyle genital sistem oluşmaktadır (17). Endoservikal kanal tek sıra kolumnar epitel ile kaplı iken, ektoservikal alan ise nonkeratinize yassı epitel ile

örtülüdür (18). Kolumnar epitel ile kaplı endoservikal kanalda tek katlı glandüler hücreler silindirik yapıda olup muayenede alt tabakadaki stromadaki damarlar kolay görüldüğü için kırmızı renkte izlenmektedir. Tek katlı kolumnar epitelin servikal kanala doğru yaptığı invajinasyonlar endoservikal bezlerin oluşumunu sağlamakta ve bu bezlerden de serviksi ve vajinanın ıslaklığını sağlayan şeffaf, renksiz ve kokusuz sekresyon salgılamaktadır. Endoservikal kanala olan girintilerin tıkanması sonucunda ise yoğun içerikli mukus barındıran Nabothi kistleri oluşmaktadır.

2.3. Squamokolumnar alan, Transformasyon zonu ve Metaplazi

Squamokolumnar bileşke (SCJ) endoservikal kolumnar epitel ile ektoservikal yassı epitelin birleştiği alan olup, hormonal değişikliklere duyarlı dinamik bir bölgedir ve ergenlik, gebelik ile postmenopozal dönemlerde değişmektedir. SCJ yenidoğan kız bebeklerde ektoservikal alanda iken menstrüasyonun başlaması ile birlikte artan östrojen vajinal epitelde glikojen depolarını artırmakta ve vajinal pH azalmakta; bu durumda SCJ'daki hücrelerin metaplaziye uğramasına ve SCJ'nın endoservikal kanala doğru ilerlemesine neden olmaktadır. Bu geçiş olan bölge, transformasyon zonu olarak (TZ) adlandırılan bir bölgeyi oluşturmaktadır. Bu alan ilk SCJ ile aktif SCJ arasındaki bölge olup buradaki metaplaziye uğramış epitel hücreleri bir takım onkojenik ajanlara karşı özellikle artan hormonal uyarıların olduğu menarş ve gebelik durumlarında oldukça duyarlıdır (Şekil 3) (15,18).

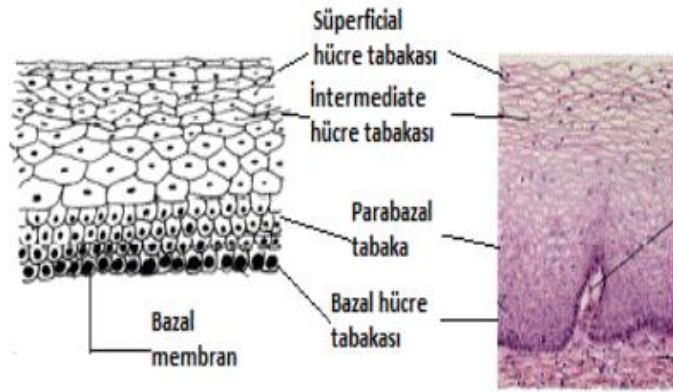


Şekil 3. Skuakolumnar alanın menarş menopozal duruma göre konumu

TZ dört tabakadan oluşmaktadır. Bu dört tabaka Tablo 1'de özetlenmiştir (Şekil 4).

Tablo 1. Transformasyon zonunu oluşturan tabakalar

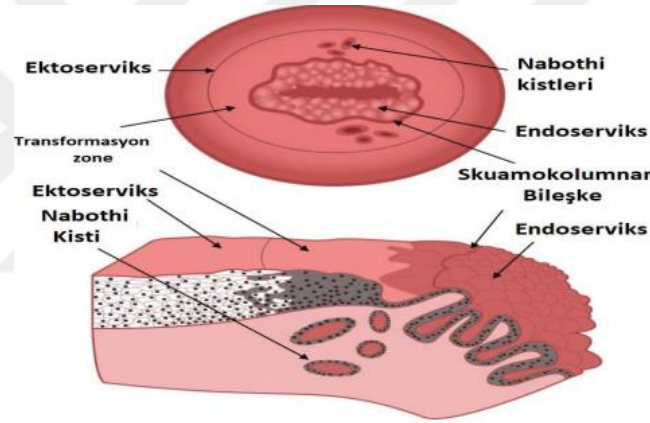
1-Bazal tabaka	Tek katlı, büyük nükleuslu ve az sitoplazmalı hücreler
2-Parabazal tabaka	Mitoz ve hücrelerin yenilenmesini sağlayan 2 ile 4 adet diziden oluşan immatür hücreler
3-İntermedier (Orta) tabaka	Geniş sitoplazmalı, küçük nükleuslu 4 ile 6 adet diziden oluşan geniş ara yüzü hücreler
4-Yüzeyel tabaka	Küçük nükleuslu ve çok geniş sitoplazmalı 5 ile 8 kat hücreden oluşan ve Papanicolaou (PAP) testi ile yüzeyden ayrılıp değerlendirilen hücreler



Şekil 4. Transformasyon zonu epitel tabakaları

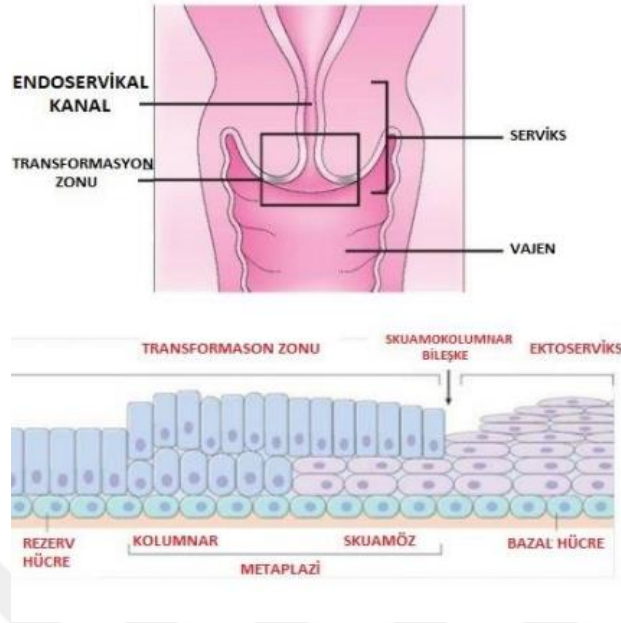
SCJ puberteden sonra reproduktif hayatta östrojen etkisi ile endoservikal kanala uzamaktadır. Büyüyen serviks nedeniyle endoservikal kanaldaki kolumnar epitel de ektoservikal alana doğru eversiyona uğramaktadır. Bu eversiyon (dışa doğru açılma) ektropiona neden olabilmekte ve SCJ ektoservikse yer değiştirmektedir. Eversiyona uğrayan endoservikal kolumnar epitel vajinal asidik ortamda değişmekte ve olgun bir epitelin başka bir epitele dönüşmesi olarak adlandırılan metaplazi izlemektedir. Menopoza doğru yaklaştıkça yani yaş ilerledikçe SCJ endoservikal kanala doğru gerilemekte ve menapozla birlikte endoservikal kanal içerisinde izlenmektedir. Postmenopozal kadınlarda SCJ endoservikal kanalda olduğu için muayene ile gözlenemez (19).

TZ vajinal muayenede dış sınırı Nabothian kistlerin veya kriptlerinin ağzlarının görülmesi ile iç sınırının ise SCJ gözlenmesi ile tanımlanabilir (Şekil 5).



Şekil 5. Transformasyon zonu

Squamöz metaplazi squamokolumnar hücrelerin ortama çıkması ile başlamaktadır. Squamöz metaplazili hücreler küçük ve yuvarlak rezerv hücreler olup mitozla birlikte ince çok hücreli immatür squamöz epitel oluşturmaktadır. Bu immatür squamöz hücreler glikojen depolayamadıkları için muayenede lugol solüsyonu ile kahverengiye boyanmazlar. Kadınlarda bu immatür squamöz hücreler çoğalarak squamöz epitele benzeyen hücelere dönüşmekte ve metaplazik epitel gelişmektedir. Çok az bir kısmı ise immatür olarak kalmakta ve özellikle HPV ile infekte olduklarında displastik bir prekanseröz özellikler gösteren bir epitele dönüşebilmektedir (Şekil 6) (20).



Şekil 6. Skuamokolumnar bileşke ve metaplazi alanı

2.4. Serviks kanseri ve preinvaziv lezyonlar

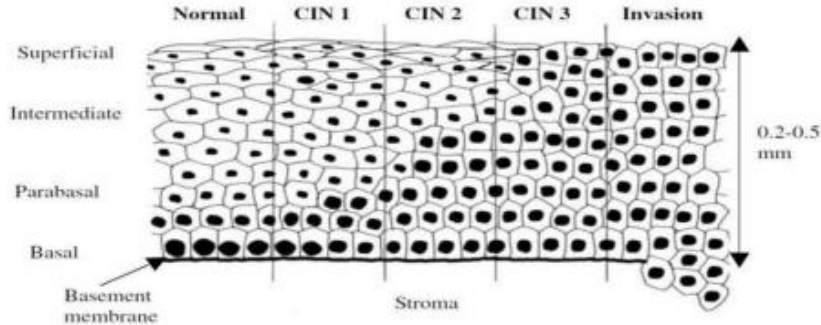
Serviks kanseri (CC) kadınlarda meme, kolorektal ve akciğer kanserinden sonra dördüncü sıklıkta gözlenmekte olup düşük ve orta ekonomik gelirli ülkelerde yeni vaka ve ölümler yüksek ekonomik gelire sahip ülkelere göre daha sıktır (1). CC tarama sayesinde, erken tanı ve tedavi programlarının da olması nedeniyle prevalansı ve insidansı azaltılabilecek bir kanserdir. HPV enfeksiyonu ile birlikte olan CC için 15 riskli HPV türünden bir veya birkaçının serviks kalıcı bir enfeksiyonun sonucunda geliştiğine inanılmaktadır (21). HPV DNA'nın 6-12 ay ara ile alınan numunelerde varlığı ile kalıcı enfeksiyon tanısı konulmaktadır. Yüksek riskli HPV (Hr-HPV) CC'li vakaların %99'unda mevcut olup seksüel aktif kadınlarda daha yaygındır (2,3). Kadınların yaşamları boyunca en az %80'i HPV enfeksiyonuna yakalanmakta; bunların da %10'unda kalıcı HPV enfeksiyonu, %0,06'da da CC gelişmektedir (22). Kadınlardaki HPV enfeksiyonunun %90'dan fazlası iki yıl içerisinde kaybolmakta yalnızca %10'luk bir kısmı persiste etmektedir (3).

CC gelişiminde yalnızca Hr-HPV enfeksiyonu yeterli olmayıp ek faktörler kanser oluşumunda, ilerlemesinde ve gerilemesinde rol oynamaktadır. HPV'nin tipi

virüs ile ilgili bir faktör iken kişisel bağışıklık, sigara içme durumu, doğurganlık ve OKS, seksüel partner sayısı gibi faktörler ise konakçı ile ilgili değişkenlerdir (4).

Servikal preinvaziv hastalık kavramı ilk defa epitelde sınırlı invaziv kanser izlenimi veren lezyonlar olarak tanımlanmıştır (23). Histopatolojik olarak malign potansiyelin habercisi olan bu lezyonlar displazi olarak tanımlanmış olup, tedavi edilmediklerinde CC'ye ilerleyebilmektedir (24). Servikal intraepitelyal lezyonlar CIN-1 ve bazı CIN-2 kendiliğinden gerileyebilmekte iken, CIN-3 ise tedavi edilmediğinde invaziv kansere ilerlemektedir (25,26).

CIN tanısı hücrel matüritenin değerlendirilmesi, nükleer anormallik, mitotik aktivitenin artışı ve hücrel organizasyondaki değişimler değerlendirilerek histopatolojik olarak konulmaktadır. Mitotik aktivite artışı, nükleer atipi yoğunluğu ve matür olmayan hücrel proliferasyon artışı CIN'nin derecesini tespit etmektedir. Bu bahsedilen değişiklikler eğer epitelin 1/3 alt bölgesinde ise CIN-1, orta 1/3'lük alana kadar sınırlanmış ise CIN-2, tüm katları tutmuş ise CIN-3 olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 7) (15).



Şekil 7. Servikal İntraepitelyal Neoplazinin (CIN) ilerlemesi

HPV enfeksiyonundan CIN'e kadar geçen ortalama sürenin 15-20 yıl olduğu gözlenmiştir (27). Bu süreci hızlandıran veya yavaşlatan faktörler tam olarak bilinmemektedir (22).

CIN'in etiopatogenezinde HPV'nin rolü kesin olmakla birlikte etkili olabilecek olası risk faktörlerinden bazıları şunlardır.

1. Sigara,
2. Herpes Simpleks Virus-2,
3. Cinsel yolla bulaşan bazı mikroorganizmalar,
4. OKS,
5. Düşük sosyoekonomik düzey,
6. Koitus yaşının erken olması,
7. Bozuk ve kötü hijyenik koşullar.

CC gelişimi ile seksüel ve evlilik yaşı ters orantılıdır. Cinsel yolla bulaşan hastalıklara maruz kalma süresi uzadıkça ve cinsel partner sayısı arttıkça CC gelişme riski artmaktadır (18).

HPV'ye karşı oluşan litik olmayan inflamatuvar yanıtta immun sistemin ilk tepkisi doğal bağışıklık sistemi ile Natural killer cell (NK) ve tool-like-reseptör aktivasyonudur ve inflamasyonun %90'dan fazlası elimine edilmektedir. HPV 16 konjenital ve edinsel immun sistemi baskılamakta, telomeraz enzimini aktifleştirmektedir (28,29).

2.5. Servikal kanser önleme stratejileri

Lokal ve humoral bağışıklığın etkili olduğu HPV infeksiyonunda aşılama yöntemi ile humoral bağışıklık aktifleştirilmekte ve HPV'nin konağa girişi engellenmektedir (30). HPV aşıları virusun kapsid proteinini taklit ederek etkilidirler ve primer korunmada en etkili yöntemdir. Günümüzde HPV'ye karşı üç farklı aşı mevcut olup bivalan olan HPV 16 ve 18'e, quadrivalan aşı HPV 16 ve 18'e ek olarak HPV 6 ve 11'e, nanovalan aşı da HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ve 58'e karşı etkilidir. Nanovalan aşının geliştirilmesi ve üç doz uygulanması ile birlikte CC'ye karşı %80, genital siğillere karşı da %99 korunma sağlamaktadır. HPV aşıları için en ideal dönem cinsel ilişki başlamadan önce 11-13 yaş arasında cinsiyet ayrımı yapılmaksızın uygulanmasıdır (31,32).

Aşı türleri aşağıdaki Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. HPV aşı türleri ve içeriği

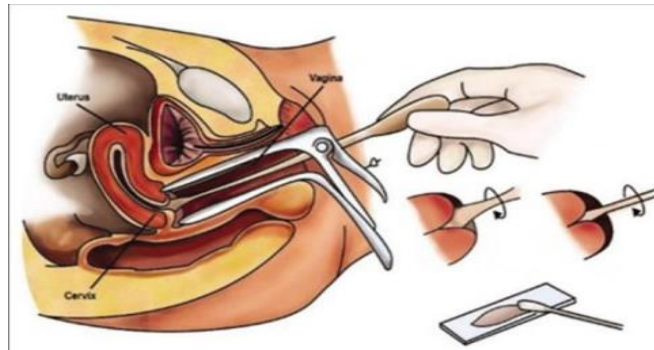
Aşı Türü	HPV İçeriği
Bivalan Aşı	16,18
Kuadrivalan Aşı	6,11,16,18
Dokuzlu Aşı	6,11,16,18,31,33,45,52,58

2.6. Servikal Kanser Taraması

CC taramasında amaç preinvaziv servikal lezyonları ve CC'yi erken evrede saptayarak tedavisini sağlamaktır. Rutin jinekolojik muayenede gözle görülmeyen bu lezyonlar tarama testleri ile saptanabilmekte ayrıca taramaya HPV DNA testlerinin eklenmesi ile de taramanın etkinliği artmaktadır (33).

SCJ'deki kanser öncüsü lezyonlardan alınan servikal hücrelerin histopatolojik değerlendirilmesine dayanan PAP testi ile CC insidansı %80, mortalitesinde ise %70 azalma sağlanmıştır (34).

CC tarama testinde konvansiyonel ve sıvı bazlı sitolojiye dayanan iki yöntem kullanılmaktadır. Konvansiyonel yöntemde litotomi pozisyonunda spekulum kullanılarak serviksten SCJ'dan fırça yardımı ile endoservikal kanaldan ve ektoserviksten alınan servikal hücreler lamın ortasına sürülerek fikse edilip hazırlandıktan sonra mikroskop altında değerlendirilmektedir. Servikal fırça saat yönünde 2-3 defa 360 derece döndürülmeli, saat tersi yönünde döndürülmemelidir. Çünkü saat tersi yönünde döndürme toplanan hücrelerin dökülmesine neden olmaktadır (Şekil 8 ve 9).



Şekil 8. PAP smear alma tekniği



Şekil 9. Sıvı bazlı sitoloji yönteminde kullanılan materyaller

Konvansiyonel yöntemde bulunan dezavantajlar Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Konvansiyonel yöntemde dezavantajlar

1. Küçük lezyonlardan yeterince hücre örneklemesinin yapılamaması
2. Alkol ile yeterince fiksasyon sağlanamaması
3. Fiksasyonda havayla temasa bağlı kuruma artefaktı oluşması
4. İnflamasyon ve kanama durumunda güvenirliliğinin düşük olması

Konvansiyonel yöntemdeki bu dezavantajlar nedeni ile Thinprep ve Surepath PAP test gibi özel kitler kullanılarak yapılan sıvı bazlı sitolojik değerlendirme geliştirilmiştir. Sitobrush ile konvansiyonel yöntemdeki gibi alınan servikal hücreler metanol bazlı koruyucu bir taşıma şişesine alınıp çalkalandıktan sonra patolojiye değerlendirilmek için gönderilmelidir. Ayrıca bu sıvı bazlı yöntem ile HPV DNA testi de yapılmaktadır (35).

İyi bir PAP smear değerlendirilmesi için aşağıdaki faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.

1. Cinsel ilişki veya vajinal duş sonrası ilk 24 saatte örnek alınmamalıdır.
2. Menstruasyon veya antibiyotik kullanımı sonrası ilk 7 günde örnek alınmamalıdır.
3. Muayeneden önce örnek alınmalıdır.
4. Örnekleme yapılırken kuru ve steril spekulum kullanılmalı, kayganlaştırıcı kullanılmamalıdır.
5. Kültür alınacaksa smeardan önce alınmalıdır.
6. Smear alınırken serviks ağzı tam olarak görülmelidir.
7. Endoservikal örnek alınırken kanama olabileceği için önce spatula ile ektoserviksten ilk yayma ardından cytobrush ile endoservikal kanaldan örnekleme alınması tavsiye edilmektedir.
8. Smear alındıktan sonra ince bir tabaka halinde yayılmalıdır.
9. Uygun fiksatörle hızlıca sabitlenmelidir.
10. Sitolojik inceleme tecrübeli personel eşliğinde belirli sayıda örneğin incelendiği donanımlı bir merkez tarafından yapılmalıdır.

Yalancı test sonuçlarının olası nedenleri şunlardır.

1. Küçük lezyon varlığında smear alınırken anormal hücrelerin atlanması,
2. Alınan hücrelerin brushtan aktarımının yeterli yapılamaması,
3. Lezyonun servikal kanala doğru olması,
4. Servikte inflamasyonun olması
5. Küçük boyutlu anormal hücrelerin olması halinde patoloğun hücreleri değerlendirememesi veya normal olarak değerlendirmesi (36).

Vajinal smear preparatının değerlendirilmesinde aşağıdaki durumlar göz önünde bulundurulmalıdır.

Değerlendirme için yeterli: Preparatın %10'undan fazlasında endoservikal veya metaplastik hücrelerin bulunması

Değerlendirme için sınırdan yeterli: Endoservikal komponenti içermeyen veya epitel hücrelerinin %50'den fazlasının inflamasyon, kötü fiksasyon gibi

durumlara bağlı değerlendirilmesinin sınırlı yeterlilikte olması. Hastanın kliniğine bağlı olarak test tekrar değerlendirilmelidir.

Değerlendirme için yetersiz: Epiteyal hücrelerin %70 ve daha fazlasında inflamasyon,kötü fiksasyon gibi durumlara bağlı olarak değerlendirilememesi durumu. Görüntülenebilir skuamöz hücre sayısı preparatın %10'undan daha az alanı içermesi durumunda örnek yetersiz olarak değerlendirilir. Yetersiz ise test tekrarlanmalıdır (14).

American College of Obstetric and Gynecology (ACOG) CC taramasını 21 yaşı veya cinsel ilişkinin başlamasından üç yıl sonrası olarak önermektedir. Konvansiyonel yöntem ile tarama yapılmışsa yıllık, sıvı bazlı yöntem ile tarama yapılmışsa üç yılda bir takip önerilmektedir. Eğer 30 yaşı üzeri kotest (PAP + HPV DNA) yapılmış ise her beş yılda bir tarama gerekmektedir. Tarama sonuçları normal olan bir kadında, 65 yaşı sonrası tarama önerilmez, benign endikasyon ile histerektomi olan kadınlarda da tarama önerilmemektedir (5). Ayrıca 21 yaşı altında kadınlara da servikal lezyonların tamamı regrese olduğu için tarama önerilmemektedir.

HPV taraması 30 yaşı altındaki kadınlarda prekanseröz lezyonlar gelişmediği için önerilmemektedir (37,38). Kotest ile 30-65 yaşı arası taramalarda duyarlılık %100 olup HSIL servikal patolojilerde bile malign bir lezyona ilerleme süreci yavaşı olduğu için beş (beş) yılda bir tarama önerilmektedir (39). PAP test negatif HPV DNA pozitif olan olguların bir yıl sonra kotest önerilmekte, dirençli HPV pozitifliğinde ise ileri inceleme gerekmektedir. Yalnız HPV DNA taraması PAP smeare göre bile daha erken tanı imkanı sağlamakta olup duyarlılığı %90'nın üzerindedir (33).

Vajinal smear test yetersizliğinde iki ile dört ay sonrası test tekrarlanmalı, atrofi ve/veya inflamasyon varlığında uygun tedavi sonrası yeniden örnek alınmalıdır. Ardışık tekrarlayan yetersiz vajinal smear sonuçlarında olan CC risk artışı nedeniyle kolposkopik değerlendirme yapılmalıdır (33).

2.7. Servikal Preinvaziv Lezyon Değerlendirilmesi

Vajinal smear sonuçlarının standardize edilerek değerlendirilmesi için Bethesda sistemi geliştirilmiştir (15). Bethesda sistemi sitoloji raporu bileşenlerinde numune türü ve yeterliliği, genel sınıflandırma ve yorum-sonuç kısımları bulunmalıdır (6).

Bethesda sistemi sitoloji raporunda bulunması gerekenler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Bethesda sistemi sitoloji sonuç 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 düşündürülen değişimler• Herpes simplex virüs ile uyumlu hücrel farklılaşmalar

Vajinal smear testinde epitel hücre anormallikleri squamöz ve glandüler hücreler olmak üzere iki farklı hücre tipine dayanmaktadır. Bu hücre tipleri Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 5. Smear testinde epitel hücre anormallikleri

Squamöz 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
<ul style="list-style-type: none">• Endoservikal ya da başka bir şekilde belirtilemeyen
Adenokarsinoma in situ (AIS)
Adenokarsinom

Amerikan Patoloji Koleji ve Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği 2012 yılında toplanarak Alt Anogenital Skuamöz Terminolojisini (LAST) geliştirmiştir (40,41).

LAST projesi ile servikal histolojik ve sitolojik bulgular Tablo 6’da eşleştirilmiştir.

Tablo 6. Servikal İntraepitelyal Neoplazi terminolojisi ve histolojisi

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 in-situ

Daha önce CIN 1 olarak adlandırılan lezyon L-SIL olarak adlandırılmıştır. CIN 2 p16 immunohistokimyasal boyanma sonucuna göre katmanlara ayrılmıştır. CIN 2’de

rekürrens nadir olup CIN 1 veya CIN 3'e geçiş gözlenmektedir. CIN 3 ise HSIL olarak isimlendirilmiştir (42).

PAP smear testinde multinükleasyon, hiperkromazi ve perinükleer sitoplazmik vaskülarizasyon morfolojik değişiklikler arasında yer almaktadır. Anormal hücrelerdeki nükleer büyüme normal hücrelerin nükleusunun üç katına kadar çıkabilir. Ayrıca nükleus kaybolabilir ve keratinizasyon gelişebilir. Bu squamöz hücrel değişiklikler koilositoz olarak adlandırılmaktadır (40).

Premalign lezyonlar Bethesda sınıflamasına göre üçe ayrılmaktadır.

1. Atipik squamöz hücreler (ASC),
2. L-SIL ve
3. H-SIL.

ASC'de önemi bilinmeyen atipik squamöz hücreler (ASC-US) ve yüksek dereceli lezyonların dışlanamadığı atipik skuamöz hücreler (ASC-H) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

ASC-US: PAP smear testinde karşılaşılan en yaygın patoloji olup HPV inflamasyonu ile ilişkili malignite öncesi hücrel değişiklikler yapabileceği gibi inflamasyona veya travmaya sekonder de değişiklikler izlenebilir.

ASCUS'lu kadınların %10 ile 20'si CIN-1, %3-5'inde CIN-2 ve CIN-3'e ilerleme riski bulunmaktadır (43,44). ASCUS tanılı hastalarda HPV varlığı konfirme edilmeli, HPV DNA testi yok ise bir yıl sonra smear yeniden alınmalıdır (45,46).

ASCUS (+) HPV (+) pozitif ise kolposkopik muayene önerilmektedir. ASCUS (+) HPV (-) negatif ise üç yıl sonra kotest tekrar edilmelidir (47).

ASC-H: Son derece nadir görülen bu durumda kolposkopik muayene ile alınan biyopside H-SIL ekarte edilmelidir.

L-SIL: PAP smear testinde %2 oranında gözlenen ve HPV inflamasyonu ile ilişkili olan L-SIL CIN 1 ve hafif displazi içermekte olup squamöz hücrel karsinoma (SCC) progresyon oldukça düşüktür ve iki yıl içerisinde lezyonların %85'ten fazlası gerilemekte veya kaybolmaktadır.

L-SIL durumunda kolposkopik muayene yapılmalı ancak 25 yaş altındaki kadınların büyük çoğunluğunda lezyonların kendiliğinden gerileyebilirdi için vajinal

smear ile sitoloji takibi yapılabilir. Postmenopozal kadınlarda L-SIL'de 6-12 ay sonra sitoloji tekrarı, HPV DNA bakılması veya direk kolposkopik değerlendirme yapılması önerilmektedir (33).

H-SIL: Servikal SCC'ye ilerleme riski oldukça yüksek olan H-SIL'de HPV enfeksiyon oranı ile ilişkili bir durum olup CIN 2, CIN 3 ve karsinoma in situyu içermektedir.

H-SIL tespit edilen tüm kadınlara kolposkopik değerlendirme yapılmalı ve gerekirse de biyopsi alınmalı, ayrıca 25 yaş üstü kadınlarda gör ve tedavi et prensibi çerçevesinde loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü (LEEP) uygulanması düşünülmelidir (48).

SCC: PAP smearde oldukça nadir gözlenen bu durumda SCC genellikle ileri evrededir.

AGC: PAP smear testlerinin %0,3'de ve genellikle 35 yaş altında karşılaşılabilen bu durum endoservikal ve endometriyumdan kaynaklanan inflamasyondan farklı ancak adenokarsinom olmayan displastik hücreleri tariflemektedir. AGC tanılı kadınların 1/3'ünde squamöz hücre anormallikleri de bulunmaktadır. AGC de kendi arasında üçe ayrılmaktadır.

1. AGC-EC: Endoservikal hücre kaynaklı ve endometrium kanseri (EK) ile ilişkisi düşük olan atipik glandüler hücreler

2. AGC-EM: Endometriyal hücre kaynaklı ve EK ile ilişkisi yüksek olan atipik glandüler hücreler

3. AGC-NOS: Sınıflandırılmayan atipik glandüler hücreler

Adenokarsinoma İn situ (AIS): Prevalans binde 1,1 olan, 30-40 yaş arasında izlenen ve squamöz lezyonlarla da ilişkisi olan AIS'de Hr-HPV serotipleri önemli bir risk faktörüdür.

Adenokarsinom: Genellikle endoservikal kanalda ortaya çıkan nadiren SCJ'de lokalize olan adenokarsinom AIS'nin invaziv bir formu olup, endometriyal glandüler hücrelerden kaynaklanmaktadır.

PAP smear test anormalliği kadınlarda düzensiz menstrüasyon ve ara lekelenme şeklinde kanama, lökore, disparoni gibi semptomlarla ortaya çıkabildiği gibi asemptomatik de olabilir ve en yaygın nedeni de HPV infeksiyonlarıdır (49).

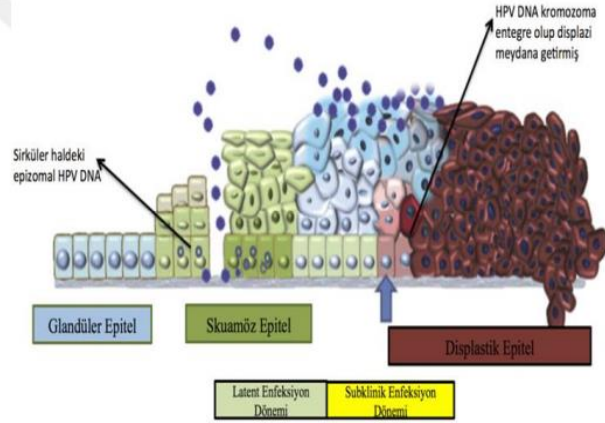
2.8. HPV

CC'nin primer etkeni olan HPV virusu, papilomaviridae ailesine ait çift sarmallı, dairesel 8000 baz çiftli, zarfsız bir DNA virusu olup 100'den fazla tipi bulunmaktadır (14). Cinsel yolla bulaşan HPV infeksiyonları 25 yaş altındaki kadınlarda %20 civarında görülmekte olup partner sayısı, ilk koit yaşı ve cinsel partnerinin HPV pozitif olması riski artırmaktadır (50). HPV tutulum bölgelerine göre mukazol ve kutanöz tip olarak ikiye, onkojenik risk potansiyeline göre de düşük, orta ve yüksek riskli olmak üzere üçe ayrılmaktadır (51). Onkojenik risk potansiyeline göre HPV tipleri Tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 7. Onkojenik risk potansiyeline göre HPV tipleri

	HPV tipleri
Düşük Riskli	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81
Orta Riskli	26, 34, 53, 57, 66, 83
Yüksek Riskli	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82

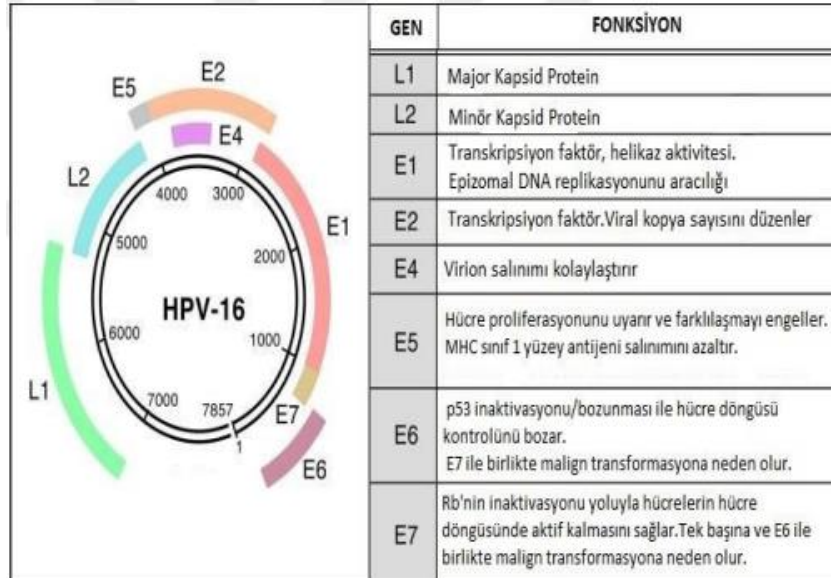
HPV ağız, farenks, akciğer ve ürogenital bölge kanserlerinde bir etken olup HPV 16 CC'in %55'inde, CIN-3 lezyonlarının %45'inde bulunmaktadır. Aynı zamanda HPV 16 ürogenital sistem ve orofarenks kanserlerinde de en çok karşılaşılan ajandır. İkinci en sık tespit edilen ajan ise HPV 18'dir (33). HPV servikste SCJ'de hasar görünen epitel bölgesinden girerek bazal tabakadaki hücreleri infekte etmekte ve viral genomlar düşük kopya sayılarında epizomlar olarak kalmaktadır. Bu enfeksiyon konakçıda neredeyse hiçbir semptoma neden olmamakta ve infeksiyonların büyük bir kısmı klirens uğramakta iken, çok az bir kısmı persiste etmektedir (29). Squamöz epitel hücrelerinde HPV virusu kopyalanmakta ve salınmakta, bazal tabakadaki kök hücrelerin infeksiyonu sonucu kalıcı hale gelmektedir (Şekil 10) (52).



Şekil 10. HPV'nin karsinogenez sürecinin şematik gösterilmesi

HPV virionlarının ektoserviksten SCJ'de çok katlı epitelin bazal laminasına erişebilmek için bu mikrotravmaların gerektiği düşünülmektedir. İnfekte olmuş bazal hücreler enfeksiyonun rezervuarını oluşturmaktadır. HPV'nin genomunda replikasyon için yedi erken (E) faz iki geç (L) faz geni bulunmakta olup, konak genomuna entegrasyon öncesi belirli bir süre konak hücresinde epizom olarak kalabilmektedir (51).

HPV Evre 1 genlerinin fonksiyonları Şekil 11'de gösterilmiştir.



Şekil 11. HPV genomunun haritası ve genlerin temel işlevleri

Alt bazal katmanda Hr- HPV enfeksiyonunda eksprese olan E6 ve E7 hücre çoğalmasını ve amplifikasyonunu uyarmaktadır. Hücre siklusunun S ve G2 fazında eksprese edilen E4 HPV'nin paketlenmesini sağlayan L1 ve L2 proteini üretimini artırmaktadır. Her ne kadar HPV genellikle SCJ'deki epitel hücrelerini infekte etse de endoservikal kolumnar epitel de infekte edebilmektedir. L1 ve L2 kapsid proteinler aracılığı ile bazal hücrelere bağlanan HPV, gen ekspresyonu ile squamöz epitelin yapısını değiştirerek viral yükün tamamını epitele aktarmaktadır. E6 ve E7 proteinleri Hr- HPV'nin onkojenik aktivitesini sağlamakta olup E6 p53, E7 ise retinoblastoma proteinini aktive ederek apoptozu engellemekte, mitozu artırmakta ve kontrolsüz hücre çoğalmasını başlatmaktadır (53,54).

HPV ile enfekte hücreler bazal tabakadan yüzeyel tabakaya ulaşınca kadar immun sistemden korunmakta olup herhangi bir değişiklik olmamaktadır. Hr-HPV'ye karşı immun yanıt en erken bir yıl sonunda, düşük riskli HPV'ye karşı yanıt ise hemen oluşmakta olup serum antikor titreleri 15 yıla kadar aynı seviyede kalabilmektedir. İlk oluşan Ig M ve Ig A'dan önce Ig M ardından Ig A kaybolmakta, Ig G ise kalıcı olarak kalmaktadır. Serum Ig G konsantrasyonları seksüel partner sayısı ile ve HPV DNA ile korele olup, viral klirens hücresel immünite ile sağlanmaktadır (51). HPV interferon salınımını azaltarak IL-10 ve transforming growth faktör beta 1 (TGF-B1) düzeylerini artırarak infekte hücrede yüzey antijen değişikliğine neden olup konakçı bağışıklık sistemden korunmaya çalışmaktadır. Böylece HPV persiste hale dönüşebilmekte ve CC gelişmesine neden olmaktadır (55). HPV'ler antijenik özelliklerinden ziyade DNA özelliklerine göre sınıflandırıldıkları için serotip yerine genotip olarak tanımlanmaktadır. HPV'deki L1 gen diziminin bilinen bir HPV genotipinden %10'dan fazla farklılık varsa yeni bir HPV genotipini %2 ile %10 arasında bir fark varsa bir alt tipi, %2'den az bir fark varsa bir HPV varyantı olarak tanımlanmaktadır (56,57). HPV'de intra ve intergenomik farklılıklar nadir olduğu için toplumsal HPV taramalarında HPV DNA PCR kullanılmaktadır. PCR ile, DNA'nın logaritmik artışı ile 30 döngü sonrası bir milyondan fazla DNA örneği elde edilebilmektedir.

2.8.1. HPV enfeksiyonu izlemi

HPV insan genital sisteminde görülen en yaygın enfeksiyonlardan biri olup en sık bulaş yolu cinsel ilişki olsa da direk cildin genital teması ile de bulaşmaktadır. Cinsel aktif kadınların %70'i tüm hayatları boyunca HPV ile karşılaşmaktadır. HPV

enfeksiyonuna en çok cinsel olarak aktif 18-30 yaş arasında gözlenmekte olup 30 yaşından sonra ise azalmaktadır. CC daha ileri yaşlarda görüldüğü için HPV enfeksiyonundan CC başlangıcına kadar belirli bir dönem geçmektedir. Mukokutanöz membranları da infekte edebilirken HPV enfeksiyonlarının çoğu iyileşebilir olup, el ve ayaklarda, orofaringeal bölgede siğillere neden olmakta ve bu kozmetik açıdan da bir sorun teşkil etmektedir. Bu siğiller bir ile beş yıl arasında kendiliğinden veya tedavi ile düzelmektedir. HPV enfeksiyonunun persistansı onkojenik türüne bağlıdır ve servikal SCJ'de metaplastik aktivitenin en yüksek olduğu puberte ve gebelik döneminde enfeksiyon meydana gelmektedir (58). HPV enfeksiyonunun prognozu, HPV tipi, viral yük ve konakçı hücreye DNA'nın entegrasyonu yanında konakçının immun sistemi, OKS kullanıp kullanmadığı, parite sayısı ve sigara içip içmediği belirleyicidir. Ayrıca beslenme şekli (sebze ve meyveden fakir) ve cinsel yolla bulaşan hastalık (Chlamidya trachomatis ve HSV-2) varlığı da etkilemektedir (4). HPV enfeksiyonunda herhangi bir hastalık belirtisinin olmadığı ve sadece tarama testleri ile HPV pozitifliğinin saptandığı latent evre, SIL'in gözle görülen subklinik evre ve siğil veya CC'nin izlendiği klinik evre olmak üzere üç evresi vardır (4). Latent dönemde hiçbir sitolojik ve morfolojik bulgu görülmediği sadece PCR ile HPV DNA saptanabilmektedir. Subklinik evrede kolposkopik olarak sitolojik ve morfolojik değişimler izlenebilir. CIN'in görüldüğü subklinik dönemde olguların 1/3'ünde aşırı proliferasyona bağlı servikal değişiklikler çıplak gözle görülebilmektedir. HPV enfeksiyonunun karakteristik bulgusu olan koilositoz malign özellik göstermeyip ölü veya ölmekte olan stratum granülozadaki düzensiz nükleuslu hiperkromatik partiküllü vakuollü hücrelerdir (56). Genellikle HPV inflamasyonu asemptomatik olup gözlenen klinik tablolarda virüs tipi (HPV-16 ve 18 en riskli), lezyonun geliştiği bölge (solunumsal papillomatozis), konakçının immun durumu (AIDS'te tehlike ağır) ve infekte olan epitelin intakt olmasına bağlı değişmektedir. HPV enfeksiyonunda virüs önce stratum germinatumdaki hücrelerin bazal laminasını infekte etmektedir. Hr-HPV (+) pozitif sitomorfolojisi normal olan kadınların beş yıl içerisinde 1/3'ünde CIN-2 veya CIN-3 gelişebilmektedir. HPV negatif, ASC-US veya hafif displazi izlenen kadınlarda CIN-2 ve CIN-3 riski düşüktür (59-61).

2.9. Servikovajinal mikrobiyota

İlk olarak Lederberg ve McCray tarafından tanımlanan mikrobiyota kavramı aynı vücut alanında kommersal, sinbiyotik ve patojenik mikroorganizmalardan oluşan

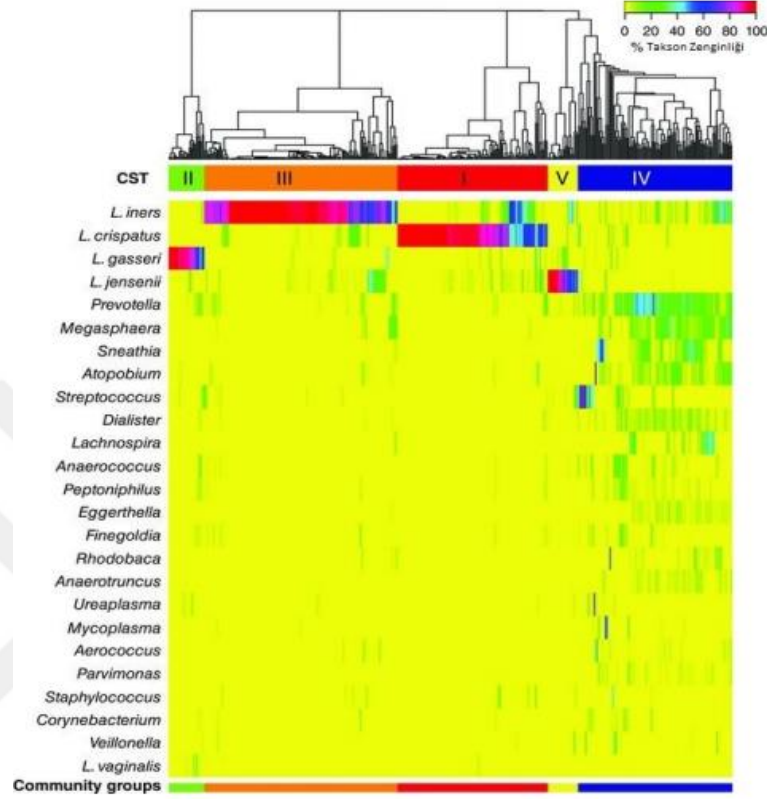
ekolojik bir topluluktur. Mikrobiyotanın büyük kısmını bakteriler oluştururken, virüsler mantarlar ve arkealar da bulunmaktadır. Doğumu takiben cilt ve gastrointestinal sistemde (GİS) oluşmasını besleyen mikrobiyotanın esas görevi sindirim ve immün sistem oluşumunda ve gelişmesinde, patojen ajanların dokulara girişinin engellenmesinde ve sistemler arasında ilişkinin sağlanmasında (özellikle GİS mikrobiyotası) görev almaktadır (62-64). VM cilt ve GİS mikrobiyotası gibi doğumla birlikte başlamakta ve doğum tipine (vajinal doğum ve sezaryen) göre de değişmektedir (65-67). Tıpkı vajinal anatomi ve fizyolojinin değişmesi gibi hormonal değişikliklere bağlı olarak puberte, gebelik ve menopozda da değişkenlik göstermektedir (68-70). VM konakçının ürogenital sistemini etkileyebileceği gibi konakçının ürogenital sisteminden de etkilenebilmektedir (7,8). Doğumla birlikte ürogenital sistem maternal yolla geçen östrojenden etkilenmekte olup, vajen mukozasında glikojen içeriğinden dolayı ilk 24 saatte laktobasillus türleri kolonize olmaktadır (68,71). VM'deki özellikle laktobasillerin ürettiği bakteriyostatik ve bakterisidal ürünler vajen ph'sını düşürerek bakteriyel vajinozis (BV), mantar, seksüel yolla bulaşan hastalıklara ve üriner sistem infeksiyonlarına karşı koruyucu özellik göstermektedir (9,72-74).

Reproduktif dönemdeki kadınlarda Ravel ve ark. 2011 yılında başlıca beş tür bakteri topluluğu tanımlamışlar ve CST olarak isimlendirmişlerdir (9). CST tipleri Tablo 8'de sunulmuştur.

Tablo 8. CST ve Lactobacillus türleri

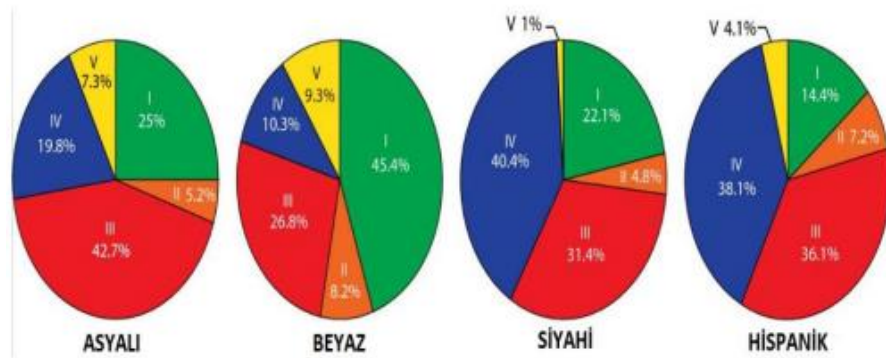
CST	MİKROBİYATA
CST - I	Lactobacillus crispatus
CST- II	Lactobacillus gasseri
CST- III	Lactobacillus iners
CST- IV	Gardnerella, Atopobium, Mobiluncus, Megasphaera, Prevotella, Streptococcus, Mycoplasma, Ureaplasma, Dialister, Bacteroides
CST- V	Lactobacillus jensenii

CST-1, 2, 3 ve 5’de hakim olan mikroorganizmalar *Lactobacillus* spp iken CST 4’te ise *Gardnerella*, *Prevotella*, *Megasphaera*, *Sneathia*, *Mobiluncus*, *Atopobium* ve *Clostridium* gibi anaerob mikrobiyal bir karışım bulunmaktadır (Şekil 11) (9,10).



Şekil 12. Vajinal mikrobiyota CST haritası

Etnisite de CST türlerini etkilemekte olup CST- 4 siyahî ve İspanyol kökenli kadınlarda daha sıktır (Şekil 12) (9).



Şekil 13. CST'lerin etnik gruplara göre dağılımı

CST-4'teki anaerob bakteri topluluğuna bağlı vajinal ph artmakta BV'ye yatkınlık nedeni ile CST-4 moleküler BV olarak da adlandırılmaktadır (75-77). Her tip CST için baskın bir lactobacillus türü bulunmakta olup Tip 1 için L. crispatus; Tip 2 için L. gasseri; Tip 3 için L. iners ve Tip 5 için ise L. jensenii hakimiyeti mevcuttur (34). L. crispatus sağlıklı kadınlarda sık bulunurken, L. iners L. crispatustan daha az laktik asit ürettiği için BV gelişimi için riskli kadınlarda bulunmaktadır (78-83).

Çalışmalar arasında L. hakimiyeti açısından birtakım farklılıkların nedeni etnik köken farklılığı, beslenme ve genetik faktörler, menstrüel düzensizlik, genetik ve OKS kullanımını olabilir (22,83).

CST çalışmaları çoğunlukla batı popülasyonu bazlı ve beyaz Kafkas ırkında yapılmıştır. Bu çalışmalarda reproduktif çağıdaki beyaz kadınlarda L. crispatus hakimiyeti %70 iken; Afrika kökenli kadınlarda %25-50 oranında olup bu eksiklik BV için riskli olan heterojen vasıflardaki servikovajinal mikrobiyotayı içermektedir. Kısaca Afrika kökenli kadınlar BV ve cinsel yolla bulaşan hastalıklara daha yatkındırlar (84).

Lactobacillus türleri D ve L olmak üzere iki farklı izomer üretmektedir. Laktik asitin D-izomeri L. jensenii, L. crispatus ve L. gasseri tarafından sentezlenmekte iken L-izomeri ise L. iners ve disbiyotik anaerob mikroorganizmalar tarafından sentezlenmektedir (85). D-izomeri vajinal disbiyozise karşı koruyucudur (11). Laktobasillerin laktik asit üretimi yanında antimikrobiyal etkili bakteriyosin ve biyosümfaktan gibi peptidler de üretmektedir. Sadece L-izomeri sentezleyebilen L. iners hidrojen peroksit üretmez iken, Gardnerella vaginalisin sentezleyip salgıladığı vaginolizine benzer, epitelde gözenek oluşturan bir sitotoksin olan inerolizin üretmektedir (11,12). VM'de eğer L. crispatus hakimiyeti varsa mukozal epitel bütünlüğü korunmuş iken, L. iners hakimiyetinde bu koruyucu epitel tabaka harabiyete uğramıştır. Bu epitelyal harabiyette HPV başta olmak üzere fırsatçı viral ve bakteriyel mikroorganizmaların enfeksiyon yapmasına olanak tanımakta, SIL ve CC gelişmesi için de risk oluşturmaktadır (11-13).

CST'ler menstrüel dönemden, cinsel alışkanlıklardan, cinsel ilişki sırasında kayganlaştırıcı kullanılmasından ve kişisel hijyenden etkilenmektedir. VM dinamik olup CST'ler kendi içinde grup değiştirebilmektedir. En sık gözlenen geçiş CST- 3'ün

CST-4'e geçişi olup *L. iners* diğer *Lactobacillus*lara göre anaerobik patojenleri daha az inhibe etmektedir (86). HPV (+) CST-4'te oksidatif stresi gösteren indirgenmiş ve oksitlenmiş glutasyon metabolitleri azalmıştır. Bu da hücrelerin membran lipidlerinde, proteinlerde ve DNA'sında irreversible hasara neden olmakta ve HPV'nin hücreye adhezyonunu ve hasarını kolaylaştırmaktadır (54,87,88).

VM'yi kişisel hijyen, koitus, RİA kullanımı, medroksiprogesteron asetat (MPA) içeren OKS ve sigara etkilemektedir. MPA'lı OKS'ler servikovajinal epitelde değişiklikler yaparak epitel bütünlüğünü bozmakta ve VM'yi değiştirmektedir. OKS ve sigara ile CC arasında kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır (53,54,59,60,89,90). Özellikle kronik OKS kullanımı servikte inflamatuvar sitokinlerin oranını değiştirerek kronik bir inflamasyon oluşmasına ve bu da DNA hasarı ile potansiyel kanserojen değişikliklere neden olabilmektedir (91). OKS kullanımı ile BV prevalans ve insidans ile rekürrens oranı azalmaktadır (92). Cinsel ilişki sıklığı ve partner sayısı artışı ile vajinal duş VM'yi etkilemekte ve BV riskini artırmaktadır (93). VM'nin oluşmasında ve korunmasında östrojen hormonunun çok önemli bir rolü bulunmakta olup, menstrüasyon esnasında daha az steril olan VM gebelik döneminde ise daha az sterildir (52,94-96).

Gebelikte artan estradiol (E2) bağlı VM de etkilenmekte vajinal epiteldeki glikojen artışı *Lactobasillerin* büyümesini artırmaktadır (98). Postmenopozal dönemde ise yukarıdaki değişikliklerin aksine azalan östrojen ile servikovajinal epitelde glikojen azalmakta ve dolayısıyla *Laktobasillerin* sayısı azalmaktadır (98-100).

Puberte öncesi VM'yi *Enterobacterraceae* ve anaerobik *Staphylococcaceae* oluşturmakta iken pubertenin başlaması ile artan E2 servikovajinal epitelyal hücrelerde glikojen birikimini artırmakta, alfa amilaz tarafından glikojen (*Lactobasilluslar* için seçici besinler olan) maltotiaz ve alfa-dekstrinlere dönüştürülmektedir. Artan *laktobasiller* vajinal pH'yı düşürmekte, servikal mukus vizkozitesini oluşturmakta ve SJC epiteline mikroorganizmaların tutunmasını engellemektedir (11). VM, genetik ve etnisitenin yanında endojen ve ekzojen birçok faktörden etkilenmekte olup kadınlar arasında farklılık göstermektedir (101).

Sigara içen kadınların servikal mukuslarında nikotin ve kotinin bulunmuş olup antiöstrojenik etki ile vajinal amin birikimine neden olmaktadır ve BV'ye yatkınlık oluşturmaktadır (102). Sigara adet ortası ve sonrası luteal dönemde E2 düzeylerini

düşürmektedir (103,104). Endojen E2 eksikliği vajinal mikrobiyotada Lactobacillusları azaltmaktadır. Ayrıca sigara içen kadınlarda vajinal sekresyonda benzopiren diol epoksit (BPDE) bulunmakta ve BPDE’de laktobasillerde bakteriyofaj indüksiyonunu artırmakta ve vajinal laktobasillerin sayısını azaltmaktadır (105,106). Sigara içen erkeklerin servikal sıvısında ve kadınların servikovajinal sıvısında nikotin ve metaboliti kotinin gözlenmiştir (107).

Sigara Hr-HPV’li servikovajinal epitel hücrelerinde onkojenik E6 transkripsiyonunda artış, p53’ün seviyesi ile aktivitesinde azalmaya neden olmakta ve CC gelişme riskini artırmaktadır (108-110). Sigara CST’den 4’te artışa neden olmakta, BV gelişim riskini artırmakta, inflamatuvar sitokinleri azaltıp nötrofil ve makrofajların fonksiyonlarını bozup konjenital bağışıklığı azaltmakta ve GIS’teki mikrobiyomu da değiştirmektedir (106,111).

Vajen ekosistemi içerisinde epitel hücrelerinin yanında nötrofiller, makrofajlar, dentritik hücreler, Langerhans hücreleri, NK, B ve T lenfositler gibi konjenital ve edinsel bağışıklık hücreleri bulunmaktadır (112). Servikovajinal epitelin lamina propriasında CD3 (+) ve CD8 (+) lenfositler ile birlikte CD68 (+) lenfositler de bulunmaktadır. Monositler, makrofajlar ile dentritik hücreler ve CD14 (+) pozitif hücreler vajinal ekosistemde en yaygın antijen sunan hücrelerdir (113-115). BV ile HPV enfeksiyonu arasındaki yakın ilişki metagenomik veriler ile gösterilmektedir (116).

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile CST 4 arasında bir ilişki bulunmakta olup CST 4 hakimiyetinde cinsel yolla bulaşan hastalıklar artmaktadır. Bu nedenle CST 4 hakimiyeti olan kadınların yakın takibi önerilmektedir (117). CST 4 hakimiyetinde artmış BV riski enfeksiyonu HPV’nin prevelansını, insidansını ve persistansını artırmakta ve CIN gelişmesi ile de yakından ilişkilendirilmektedir (118,119).

Vücudun değişik bölgelerindeki mikrobiyota değişikliği sağlığın bir göstergesi olarak kabul edilmekte iken, VM değişikliği ise disbiyoz olarak kabul edilmektedir. Normal VM’deki hakim olan laktobasillerin sayesinde oluşan düşük vajinal pH, HPV’nin servikovajinal epitele penetrasyonunu önlemek için bir bariyer fonksiyonu görevi görmektedir (120). CST 4 hakimiyetinde oluşan BV ile birlikte birtakım

anaerob mikroorganizmalar bu koruyucu bariyeri bozmakta ve HPV'nin bazal hücrelere penetrasyonunu kolaylaştırmaktadır (121).

VM'deki değişiklikler anaerobik mikroorganizma artışı ve gelişen BV sonucunda immün sistem zayıflamakta, servikovajinal mukozal savunma bozulmakta, müsin parçalayıcı enzimler artmakta, vajinal pH yükselmekte, sitokinler artmakta ve kronik inflamasyon gelişerek HPV persistansı artışına ve HPV klirensinin ise azalmasına neden olmaktadır. VM oluşurken etnik ve sosyodemografik farklılıklar HPV enfeksiyon şiddetini de etkilemektedir (122). VM HPV enfeksiyonlarının kontrolünün sağlanmasında çok önemli olup, ortamdaki mikroorganizmaları HPV enfeksiyonuna karşı yönetebilir. VM değişikliği servikal mukus ve koruyucu bariyer değişikliklerin HPV enfeksiyonu sonuçları üzerine etkisi netleştirilmemiştir. HPV enfeksiyonunun VM'deki immünolojik etkisi ve nasıl modüle edildiği tam olarak bilinmemektedir. Servikovajinal bölgeler arasındaki kompartmanlarda farklılıklar olduğu düşünülmektedir (52). Sağlıklı bir VM tanımlanması menstrüasyon siklusu ve yaş gibi farklı değişkenlerden etkilendiği için oldukça zordur (22). CC araştırmalarında servikovajinal mikroçevrenin metabolik profili konakçı HPV mikrobiyom arasındaki metabolik iletişimin anlık görüntüsünü sağlamakta, servikovajinal örneklerde HPV persistansı ve SIL'in ilerlemesi hakkında bilgi vermekte, VM bileşimi hakkında öngörü sağlamaktadır.

CC mikroçevrede IL-10 ve TGF-B1 gibi immün baskılayıcı sitokinler HPV enfeksiyonunun persistansını ve infeksiyitesini artırmaktadır. CST'deki değişimler bu immünespresif sitokinlerin ekspresyonunu desteklemektedir (123). CST 1-2-3-5 türlerinin hakimiyeti servikovajinal bölgede noninflamatuvar bir durumla ilişkilidir. CST 4 hakimiyeti ve buna bağlı gelişebilen BV ise inflamasyona bağlı epitelyal DNA hasarı yapabilmekte, E6 ve E7 ekspresyonu ve apoptozun inhibisyonuna ve kontrolsüz hücre çoğalması ile anöploidi ve kromatin anormalliklerini yaparak CIN ve CC gelişmesine neden olabilmektedir (22). Lactobacillus spp CC tümör öncüsü hücreler üzerine sitotoksik etki yapmakta, kontrolsüz hücre proliferasyonu inhibe etmekte ve çoğalan hücreleri de lizise uğratmaktadır (124).

Yakın gelecekte nükleer ve hücre kültür spektroskopisi çalışmaları VM bileşiminin daha da iyi tanımlanmasını sağlayacağı ümit edilmektedir. HPV'nin persistansına (mukoçip ve metabomik ileri teknoloji sayesinde) neden olabilecek bir

mikroorganizmanın tanımlanması VM içeriğini manüple edebilecek probiyotiklere dayalı tedavi stratejileri geliştirilmektedir (52).

Son 10 yıldır araştırmalar VM'deki değişkenliği ve karmaşıklığı aydınlatmaya çalışsa da; VM'deki bazı mikroorganizmalar; HPV enfeksiyonuna neden olurken, bazı bakteri türlerinin de HPV enfeksiyonunu nleyebileği ve HPV'nin klirensini artırabileği düşünülmektedir (13).

VM içeriği HPV'nin persistansı ve CIN'lerin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynadığı düşünüldüğü için biz bu tıpta uzmanlık tez çalışmasında HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif olan kadınlarda VM'nin HPV'yi persiste etmesinde herhangi bir rolünün olup olmadığını araştırmayı amaçladık.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra, Kadın Hastalıkları Kliniği'nde yapılan prospektif bir tıpta uzmanlık tez çalışması olan bu araştırma, 2024 Helsinki Deklarasyon ilkelerine uygun olarak yapılmış ve çalışma sürecinde araştırmacılar arasında herhangi bir çıkar çatışması yaşanmamıştır.

Prospektif bir kohort araştırması olan bu tez çalışması, 15 Mart 2024 -15 Ağustos 2024 tarihleri arasında yapılmış olup, Hr-HPV enfeksiyonu olan ve bir yıl sonraki kontrollerinde de Hr-HPV negatif olan (n=49) ve Hr-HPV pozitif olan (n=49) toplam 98 kadın araştırmaya dahil edilmiştir.

Dahil edilme kriterleri

- Yaş aralığının 30 – 65 arası olması,
- Herhangi bir jinekolojik şikayet olmaması,
- Son bir ay içinde herhangi bir antibiyotik, probiyotik, kortikosteroid kullanılmaması,
- İmmünsüpresyon tedavi almamış olmak,
- HPV aşısı yapılmamış olması,
- Katılımcıların verilerinin hastane otomasyon sisteminde tam olması.

Hariç tutulma kriterleri

- Yaşın 25'den küçük, 65'den büyük olması,
- HPV tanı ve tarama testlerini kabul etmeyenler,
- Herhangi bir jinekolojik semptomun olması,
- Son bir ay içinde herhangi bir antibiyotik kullanılması,
- İmmünsüpresyon tedavi almış olmak,
- HPV aşısı yapılmış olması,
- Katılımcıların verilerinin hastane otomasyon sisteminde eksik olması.

3.1. Veri toplanması

Araştırmaya dahil edilen katılımcılardan yaşı, vücut kitle indeksi (VKİ), gebelik, doğum, düşük, dış gebelik ve küretaj sayısı, eğitim durumu (okur-yazar değil, ilköğretim, lise, üniversite), ekonomik düzey (düşük, orta, yüksek), yaşadığı yer (köy, ilçe, il), meslek (ev hanımı, memur, işçi), doğum şekli, sistemik herhangi bir hastalık olup olmadığı, ailede kronik bir hastalık varlığı, sigara kullanımı, alkol kullanımı, ilaç alışkanlığı gibi sosyodemografik veriler, kontrasepsiyon yöntemi, partner sayısı ve ilk menstruasyon yaşı verileri veri tabanına kaydedildi. VKİ ise boyun metre cinsinden karesinin vücut ağırlığına bölünmesi şeklinde hesaplandı.

Veriler, hastane otomasyon sistemi elektronik veri tabanından ve Tıbbi Patoloji Departmanı arşivinden elde edilmiştir. Vajinal smear örnekleri, sertifikalı ve deneyimli patologlar tarafından değerlendirilmiştir. Vajinal kanaması olan hastalara, son 48 saatte cinsel birlikteliği olanlara, son 72 saatte vajinal duş alanlara ve intravajinal tedavi görenlere VS testi yapılmamıştır.

3.2. VS alınması

Kliniğimizde VS tarama testleri, 21 yaş üzerindeki ve/veya en az üç yıl cinsel ilişki öyküsü olan kadınlar için, hastanemizin jinekoloji polikliniklerine başvurduklarında önerilmektedir. VS testi için hasta, muayene masasında lithotomi pozisyonunda iken spekulum yerleştirildikten sonra smear fırçası servikal dış ostium SCJ'da 360° saat yönünde tek taraflı döndürülerek alınan örnekler bir cam slayta veya kapalı bir kutuya aktarılarak patoloji laboratuvarına değerlendirilmek üzere gönderilmektedir. Konvansiyonel değerlendirme için bir cam slayta yayma yapılarak örnekler sabitlenir. Sıvı bazlı yöntemde ise sitobrush yardımı ile alınan örnek HPV DNA testi için koruyucu sıvıya konulup Patoloji departmanına transfer edilmektedir. Patoloji laboratuvarında Papanicolau (PAP) boyası ile boyanan preparatlar, Bethesda 2014 sınıflamasına göre patoloji uzmanları tarafından ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirilmektedir.

3.3. Değerlendirme

HPV DNA örnekleme için kullanılan sıvı bazlı sitoloji örnekleri, referans ortam olarak STM (Digene/Qiagen, Courtaboeuf, Fransa) ve esasen alkol bazlı bir

fiksatif olan Novaprep® HQ+ Orange ortamında, üretici önerilerine uygun olarak seyreltilmiştir.

Örneklerden 250 mikrolitre Eppendorf tüplerine alınmış, üzerine 450 µL Buffer ATL eklenmiş, 30 µL protein çözültüsü eklenmiş, 5 saniye vortex edilerek santrifüj işlemi yapılmış ve örnekler 56°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra 200 µL mutlak alkol eklenmiş ve karışım, spin kolonları üzerinde yıkama tamponları I ve II kullanılarak iki kez yıkanmıştır. Ardından, örnekler 3 dakika santrifüj edilerek, 150 µL yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

Viral DNA'nın izolasyonu, üreticinin talimatlarına göre Q1-Acube Cannet cihazında gerçekleştirilmiş ve HPV viral DNA varlığı, AuRA PCR platformu kullanılarak Q1A screen PPV PCR testi ile belirlenmiştir. HPV pozitif örneklerde HPV türleri, HPV Sign® Q24 Complete Real-Time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kiti ve pirosekanslama yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen tüm vajinal sürüntüler (ESwab® taşıma ortamı, Copan Italia, Brescia, İtalya) rutin olarak öncelikle genital yayma şeklinde lama yayılarak gram boyama ile mikroskopik değerlendirmeye hazır hale getirilmiştir. Gram boyama ile değerlendirmede; vajen florasında laktobasillerin varlığı, polimorfonükleer nötrofillerin (PMN) epitel hücrelerine oranı ve "clue cell" araştırılmıştır. Laktobasillerin predominant olması, PMN ve skuamöz epitel hücreleri oranının 1'i geçmemesi normal vajen florası olarak değerlendirilmiştir. Özellikle küçük kokobasillerle çevrelenmiş epitel hücreleri var ise "clue cell" olarak tanımlanmıştır.

Vajinal sürüntüler kültür gram-pozitif, gram-negatif etkenlerin ve mayaların tespiti için %5 koyun kanlı agar (RTA, Türkiye), gram-negatif etkenlerin tespiti için eozin metilen mavisi agar (RTA, Türkiye) ve *Neisseria gonorrhoeae* tespiti için çikolata agar (RTA, Türkiye) ve üzerine ekildi ve 18-24 saat boyunca 35°C'de inkübe edilmiştir.

Agar plaklarında üreme gözlenen örneklerde izolatların tanımlanması matris destekli lazer desorpsiyon-iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) (Vitek® MS MALDI-TOF sistemi, bioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için, agar plağında gözlenen mikrobiyal büyümenin bir miktarı MALDI-TOF hedef plağına alınarak üzeri 1 µl matris

solüsyonu ile kaplandı ve hava ile kurutmuştur. Hedef plaka daha sonra MALDI-TOF MS cihazına yerleştirildi ve tanımlama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Organizma ile oluşturulan spektrum ile Vitek® MS sistemi veri tabanı spektrumları arasındaki belirli tepe noktalarının varlığı ya da yokluğu açısından benzerliği için yüzde olasılık hesaplanmaktadır. Bu şekilde gelişmiş bir algoritma aracılığıyla spektrum sınıflandırılmakta ve organizma tanımlanmaktadır.

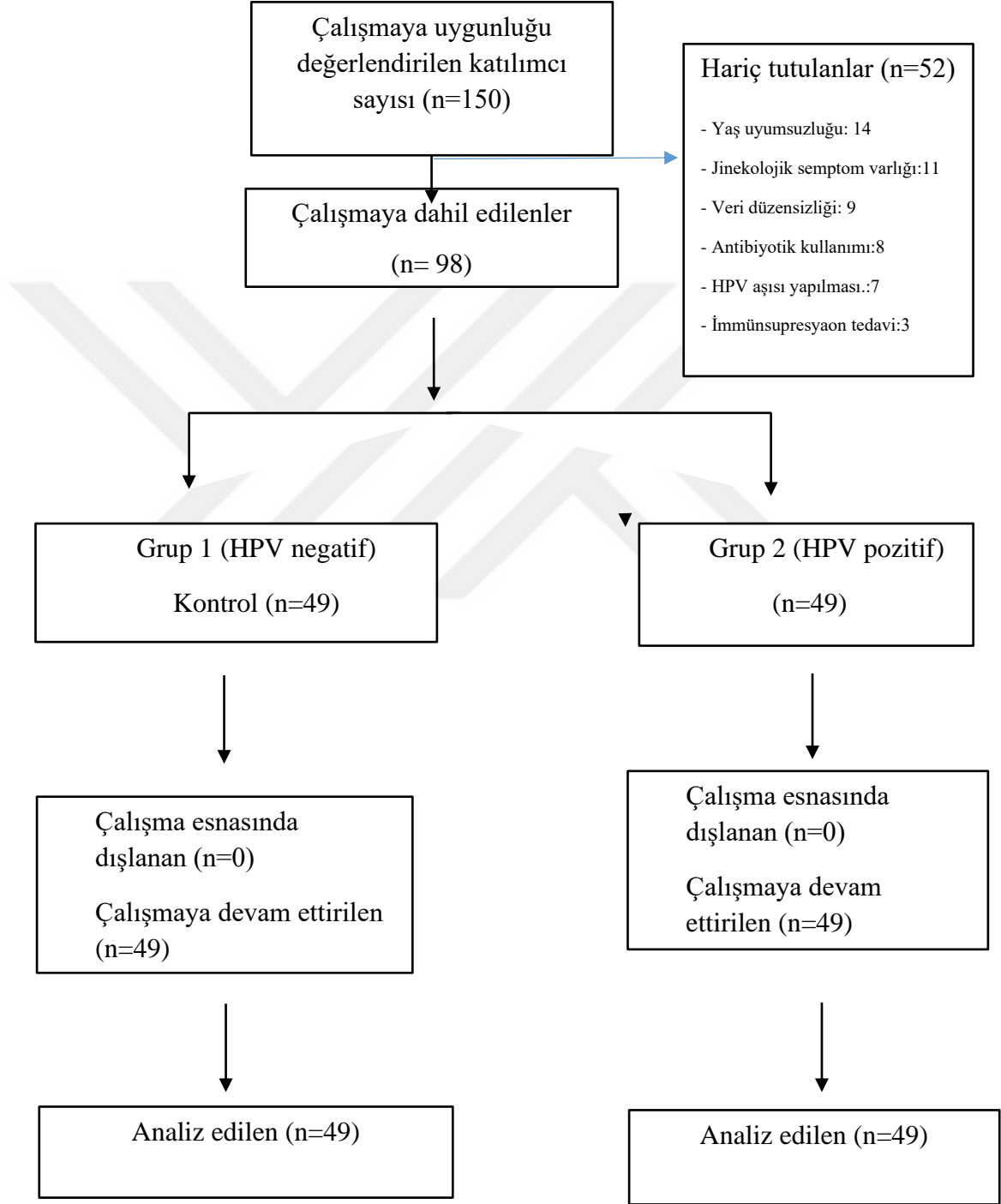
3.4. İstatiksel yöntem

Örneklem büyüklüğünün hesaplanmasında G Power programı kullanıldı. Normal popülasyonda vajinal mikrobiyotanın %95 ini laktobasiller oluşturmaktadır. İki grup arasında %20'lik değişim anlamlı kabul edildiğinde alfa 0.05, beta 0.2, güç %80 olarak belirlendiğinde her grup için 49 hasta olmak üzere toplam hasta sayısı 98 olarak hesaplanmıştır.

Veriler SPSS 25.0 istatistik yazılımı kullanılarak analiz edildi. Ölçüm verilerine varyans homojenliği ve normallik testleri uygulandı. Veriler normal dağılıma uyuyorsa, istatistiksel olarak ortalama \pm standart sapma (Ortalama \pm SD) kullanılarak tanımlandı. Normallik ve varyans homojenliği kriterlerini karşılayan veriler için iki grup arasındaki karşılaştırmalar için iki bağımsız örneklem t-testi kullanıldı. Veriler normallik ve varyans homojenliği kriterlerini karşılamıyorsa, istatistiksel tanımlama için medyan (25. yüzdilik, 75. yüzdilik) [M (P25, P75)] kullanıldı. Grup karşılaştırmaları için parametrik olmayan testler kullanıldı; iki grup arasındaki karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verileri oranlarla temsil edildi ve gruplar arasındaki karşılaştırma için Ki-kare testi veya Fisher'in kesin olasılık yöntemi kullanıldı. Testlerimizde $p < 0,05$ durumunda istatistiksel anlamlılık var olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Hr-HPV infeksiyonu olan ve bir yıl sonraki kontrollerinde de Hr-HPV negatif olan (n=49) ve Hr-HPV pozitif olan (n=49) toplam 98 kadın araştırmaya dahil edilmiştir.



şekil 14. Çalışmamızın Akış şeması

Tablo 9. HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif katılımcıların sosyodemografik ve klinik özellikleri

		Grup 1 (HPV Negatif, n=49)	Grup 2 (HPV Pozitif, n=49)	p
Yaş (yıl)		44,92±7,87	47,67±9,49	0,121
VKI (Vücut Kitle İndeksi, kg/m²)		26,68±4,71	26,05±4,43	0,501
Gebelik Sayısı		2,0 (1,5-3,0)	2,0 (1,0-3,0)	0,879
Doğum Sayısı		2,0 (1,0-3,0)	2,0 (1,0-2,5)	0,794
Düşük Sayısı		0 (0-1,0)	0 (0-0)	0,153
Dış gebelik Sayısı		0 (0-0)	0 (0-0)	0,155
Küretaj Sayısı		0 (0-0)	0 (0-0)	0,115
Eğitim Seviyesi (n, %)	Okur-yazar değil	0(%0)	0(%0)	0,404
	İlkokul	4(%8,2)	5(%10,2)	
	Lise	27(%55,1)	30(%61,2)	
	Üniversite	18(%36,7)	14(%28,0)	
Ekonomik Düzy (n, %)	Düşük	19(%38,8)	13(%26,5)	0,430
	Orta	22(44,9)	26(%53,1)	
	Yüksek	8(516,3)	10(%20,4)	
Yaşadığı Yer (n, %)	Köy	7(%4,3)	9(%18,4)	0,417
	Kasaba	15(%30,6)	17(%34,7)	
	Şehir	27(%55,1)	23(%46,9)	
Meslek (n, %)	Ev Hanımı	13(%26,5)	11(%22,4)	0,580
	Memur	16(%32,7)	21(%42,9)	
	İşçi	20(%40,8)	17(%34,7)	
Doğum Şekli (n,%)	Doğum yapmamış	9 (%18,3)	11 (%22,4)	0,665
	Vajinal doğum	19 (%38,8)	19 (%38,8)	
	Sezaryen	14 (%28,6)	13 (%24,5)	

	Vajinal doğum+Sezaryen	7 (%14,3)	6 (%12,2)	
Sistemik Hastalık (n,%)	Hipertansiyon	5 (%10,2)	7 (%14,2)	0,143
	Guatr	6 (%12,2)	4 (%8,1)	
	Migren	2 (%0,4)	2 (%4,1)	
	DM	0 (%0)	5 (%10,2)	
	Astım	2 (%4,1)	3 (%6,1)	
Ailede Hastalık (n,%)	Endometrium kanseri	2 (%4,1)	3 (%6,1)	0,632
	Meme kanseri	3 (%6,1)	5 (%10,2)	
	Serviks kanseri	1 (%2,0)	1 (%2,0)	
Sigara (n,%)		11 (%22,4)	18 (%36,7)	0,184
Sigara,paket(yıl)		11,17±3,7	14,5±4,5	0,324
Alkol(n,%)		8(%16,3)	6(%12,2)	0,774
Kontrasepsiyon (n,%)	Kullanmıyor	16 (%32,7)	23 (%46,9)	0,195
	Geri Çekme	11 (%22,4)	13 (%26,5)	
	Kondom	8 (%16,3)	6 (%12,2)	
	OKS	0 (%0)	1 (%2,0)	
	Rahim içi araç	8 (%16,3)	2 (%4,1)	
	Bilateral tüp Ligasyonu	6 (%12,2)	4 (%8,2)	
Cinsel partner Sayısı		1 (1,0-3,0)	2 (1,0-3,5)	0,143
İlk Menstruasyon yaşı		13,6±1,4	13,6±1,5	0,840

Tablo 9’da HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif katılımcıların sosyodemografik yapısı ve obstetrik özellikleri sunulmuştur. Gruplar arasında yaş (44,92±7,87 vs 47,67±9,49; p=0,121), VKİ (26,68±4,71 vs 26,05±4,43 p=0,501), gebelik sayısı [2 (1,5-3) vs 2 (1-3); p=0,879], doğum sayısı [2 (1-3) vs 2 (1-2,5); p=0,794], düşük sayısı

[0 (0-1) vs 0 (0-0); p=0,153], dış gebelik sayısı [0 (0-0) vs 0 (0-0); p=0,155], küretaj sayısı [0 (0-0) vs 0 (0-0); p=0,115], eğitim düzeyi [okur-yazar değil 0 (%0), ilköğretim 4 (%8,2), lise 27 (%55,1), üniversite 18 (%36,7) vs okur-yazar değil 0 (%0), ilköğretim 5 (%10,2), lise 30 (%61,2), üniversite 14 (%28,0); p=0,404], ekonomik düzey [düşük 19 (%38,8), orta 22 (%44,9), yüksek 8 (%16,3) vs düşük 13 (%26,5), orta 26 (%53,1), yüksek 10 (%20,4); p=0,430], yaşadığı yer [köy 7 (%14,3), ilçe 15 (%30,6), il 27 (%55,1) vs köy 9 (%18,4), ilçe 17 (%34,7), il 23 (%46,9); p=0,417], meslek [ev hanımı 11 (%22,4), memur 21 (%42,9), işçi 17 (%34,7) vs ev hanımı 13 (%26,5), memur 16 (%32,7), işçi 20 (%40,8); p=0,580], doğum şekli [yapmamış 9 (%18,3), normal vajinal doğum 19 (%38,8), sezaryan 14 (%28,6), normal doğum + sezaryan 7 (%14,3) vs yapmamış 11 (%22,4), vajinal doğum 19 (%38,8), sezaryan 13 (%24,5), normal doğum + sezaryan 6 (%12,2); p=0,665], sistemik hastalık [HT 5 (%10,2), guatr 6 (%12,2), migren 2 (%0,4), DM 0 (%0), astım 2 (%4,1) vs HT 7 (%14,2), guatr 4 (%8,1), migren 2 (%4,1), DM 5 (%10,2), astım 3 (%6,1); p=0,143], ailede hastalık varlığı [endometriyum kanseri 2 (%4,1), meme kanseri 3 (%6,1), serviks kanseri 1 (%2), vs endometriyum kanseri 3 (%6,1), meme kanseri 5 (%10,2), serviks kanseri 1 (%2); p=0,632], sigara kullanımı [11 (%22,4) vs 18 (%36,7); p=0,184], sigara paket/yıl (11,17±3,7 vs 14,5±4,5; p=0,324), alkol kullanımı [8 (%16,3) vs 6 (%12,2); p=0,774], kontrasepsiyon yöntemi [kullanmıyor 16 (%32,7), geri çekme 11 (%22,4), kondom 8 (%16,3), OKS 0 (%0), RİA 8 (%16,3), BTL 6 (%12,2) vs kullanmıyor 23 (%46,9), geri çekme 13 (%26,5), kondom 6 (%12,2), OKS 1 (%2), RİA 2 (%4,1), BTL 4 (%8,2); p=0,195], cinsel partner sayısı [1 (1-3) vs 2 (1-3,5); p=0,143] ve ilk menstruasyon yaşı (13,6±1,4 vs 13,6±1,5; p=0,840) açısından karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 10. HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif kadınların CST sonuçlarının karşılaştırılması

	HPV (-) negatif (n=49)	HPV (+) pozitif (n=49)	p
CST 1	4 (%8,2)	3 (%6,1)	0,085
CST 2	9 (%18,4)	0 (%0)	
CST 3	1 (%2)	15 (%30,6)	
CST 4	10 (%20,4)	14 (%28,6)	
CST 5	0 (%0)	4 (%8,2)	
Kategorize edilemeyen	17 (%34,7)	9 (%18,4)	
Diğer Laktobasiller	8 (%16,3)	4 (%8,2)	

CST: Community State Type

Katılımcıların CST sonuçları Tablo 10’da gösterilmiştir. HPV negatif ve pozitif kadınlar arasında CST 1 [4 (%8,2) vs 3 (%6,1)], CST 2 [9 (%18,4) vs 0 (%0)], CST 3 [1 (%2) vs 15 (%30,6)], CST 4 [10 (%20,4) vs 14 (%28,6)], CST 5 [0 (%0) vs 4 (%8,2)], kategorize edilemeyen [17 (%34,7) vs 9 (%18,4)] ve diğer laktobasillerin [8 (%16,3) vs 4 (%8,2)] varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,085). HPV pozitif kadınlarda CST 3 ve 4 daha yüksek oranda gözlenmiştir.

Tablo 11. HPV 16 ve/veya 18 pozitifliği ile diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları

	HPV 16 ve/veya 18 pozitif (n=15)	Diğer Yüksek Risk HPV pozitifliği (n=34)	p
CST 1	0 (%0)	3 (%8,8)	0,111
CST 2	0 (%0)	0 (%0)	
CST 3	6 (%40)	9 (%26,5)	
CST 4	6 (%40)	10 (%29,4)	
CST 5	1 (%6,7)	3 (%8,8)	
Kategorize edilemeyen	0 (%0)	7 (%20,6)	
Diğer Laktobasiller	2 (%13,3)	2 (%5,9)	

CST: Community State Type

Tablo 11’de HPV 16 ve/veya 18 pozitifliği ile diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları özetlenmiştir. HPV 16 ve/veya 18 pozitifliği ile diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınlar arasında CST 1 [0 (%0) vs 3 (%8,8)], CST 2 [0 (%0) vs 0 (%0)], CST 3 [6 (%40) vs 9 (%26,5)], CST 4 [6 (%40) vs 10 (%29,4)], CST 5 [1 (%6,7) vs 3 (%8,8)], kategorize edilemeyen [0 (%0) vs 7 (%20,6)] ve diğer laktobasillerin [2 (%13,3) vs 2 (%5,9)] varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,111). HPV 16 ve/veya 18 pozitif kadınlarda CST 3, CST 4 ve diğer Laktobasiller istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan oranda daha fazla tespit edilmiştir.

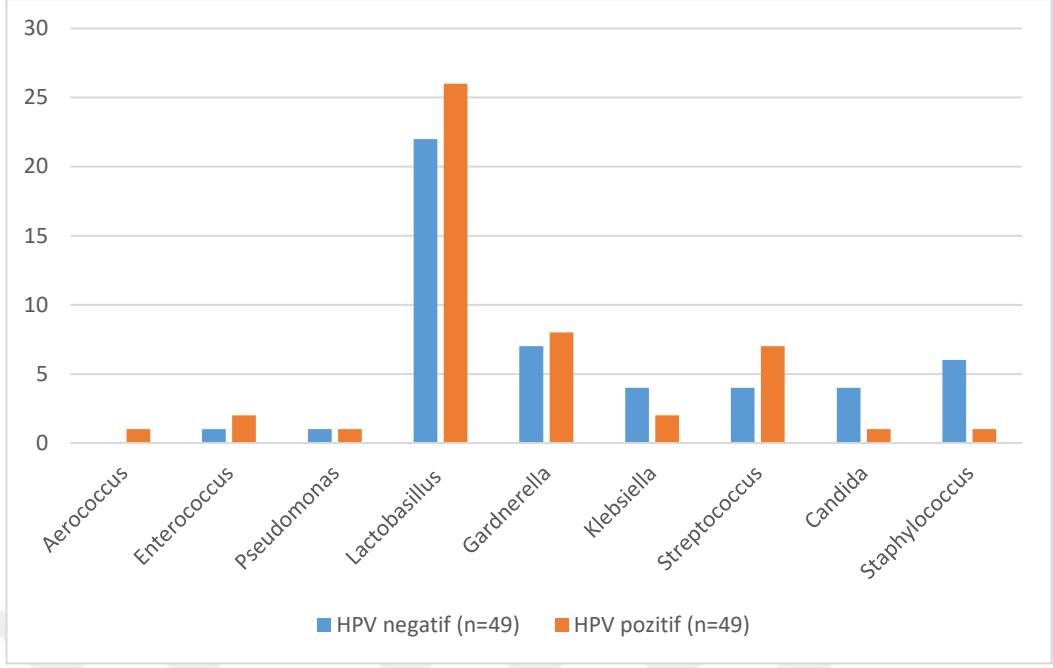
Tablo 12. Tek HPV pozitifliği ve multiple HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları

	Tek HPV pozitifliği (n=23)	Multiple HPV pozitifliği (n=26)	p
CST 1	0 (%0)	3 (% 11,5)	0,002*
CST 2	0 (%0)	0 (%0)	
CST 3	11 (%47,8)	4 (% 15,4)	
CST 4	8 (%34,8)	8 (%30,8)	
CST 5	0 (%0)	4 (% 15,4)	
Kategorize edilemeyen	4 (% 17,4)	3 (% 11,5)	
Diğer Laktobasiller	0 (%0)	4 (% 15,4)	

CST: Community State Type

*İstatistiksel olarak anlamlı

Tek HPV pozitifliği ve multiple HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları Tablo 12’de verilmiştir. Tek ve multiple HPV pozitifliği olan kadınlar arasında CST 1 [0 (%0) vs 3(% 11,5)], CST 2 [0 (%0) vs 0 (%0)], CST 3 [11 (%47,8) vs 4 (% 15,4)], CST 4 [8 (%34,8) vs 8 (%30,8)], CST 5 [0 (%0) vs 4(% 15,4)], kategorize edilemeyen [4 (% 17,4) vs 3 (%11,5)] ve diğer laktobasillerin [0 (%0) vs 4 (% 15,4)] varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0,002). Tek HPV pozitif olan kadınlarda CST 3 ve CST 4 hakimiyeti bulunmakta iken ve multiple HPV pozitif olan kadınlarda CST 5 ve diğer Laktobasillerin hakimiyeti mevcuttur.



Şekil 15. Katılımcıların cins düzeyinde mikrobiyotalarının karşılaştırılması

Şekil 15’te çalışmaya dahil edilen HPV negatif ve HPV pozitif kadınların cins düzeyinde VM’nin karşılaştırılmasının sonuçları verilmiştir. Aerococcus [0 (%0) vs 1 (%2,04)], Enterococcus [1 (%2,04) vs 2 (%4,08)], Pseudomonas [1 (%2,04) vs 1 (%2,04)], Lactobacillus [22 (%44,9) vs 26 (%53,06)], Gardnerella [7 (%14,2) vs 8 (%16,32)], Klebsiella [4 (%8,16) vs 2 (%4,08)], Streptococcus [4 (%8,16) vs 7 (%14,2)], Candida [4 (%8,16) vs 1 (%2,04)] ve Staphylococcus [6 (%12,24) vs 1 (%2,04)] açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,301$). Her iki grupta da Lactobacillus cinsi hakimiyeti bulunmaktadır.

5. TARTIŞMA

SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesinde gerçekleştirilen prospektif bir araştırma olan bu uzmanlık tezinde HPV negatif (Grup 1, n=49) ve HPV pozitif (grup 2, n=49) toplam 98 katılımcının sosyodemografik ve klinik verileri ile servikovajinal mikrobiyota örnekleri analiz edilmiştir. Sadece HPV 16 yedi katılımcıda saptanırken, sadece HPV 31 üç katılımcıda, HPV 52 iki katılımcıda, HPV 59 üç katılımcıda ve geri kalan 34 katılımcıda ise birden fazla yüksek riskli HPV tipi saptanmıştır. HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif katılımcıların sosyodemografik ve klinik özellikleri ile CST sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. HPV 16 ve/veya 18 pozitif kadınlarda diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınların CST sonuçları açısından CST 3, CST 4 ve diğer Laktobasiller istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan oranda daha fazla tespit edilmiştir. Tek HPV pozitif olan kadınlarda CST 3 ve CST 4 hakimiyeti bulunmakta iken ve multiple HPV pozitif olan kadınlarda CST 5 ve diğer diğer Laktobasillerin hakimiyeti mevcudiyeti anlamlı bulunmuştur. Katılımcıların cins düzeyinde mikrobiyata açısından bir fark bulunamamış olup Lactobacillus cinsi hakimiyeti tespit edilmiştir.

İnsan mikrobiyomu vücudumuzdaki simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılan bir kavram olup 2008'de İnsan Mikrobiyomu Projesi ile ilk defa farklı vücut bölgelerindeki mikrobiyomları tanımlanmıştır (64). Kadın VM'deki Lactobasillus türleri incelenmiş ve CST tanımlamaları yapılmıştır. VM'nin normal olmasının HPV gibi prekanseröz enfeksiyonlara karşı koruyucu olabileceği düşünülmüştür (9). Glikojeni metabolize eden Lactobasillusların vajinada pH'yı düşürdüğü ve G. vaginalis ve C. albicans gibi patojenlerin çoğalmasını engellediği gözlemlenmiştir (125). Sigara HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif kadınlarda biyojenik amin ve fosfolipid konsantrasyonunu değiştirerek CST'nin içeriğinin değişmesine neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca inflamatuvar sitokinler üzerinden nötrofillerin ve makrofajların fonksiyonunu bozarak konjenital bağışıklık üzerinde olumsuz etki gözlenmekte ve sonuçta VM'de Lactobasillus sayısını azaltmaktadır (111). OKS'ler genital sistem epiteli ve bağışık hücreli üzerinden mekanizması tam olarak bilinmeyen bir yolla BV'de ve tekrarlayan BV riskinde %35'lere varan bir azalma sağlamaktadır (92). ACOG 30 yaş altındaki kadınlarda kansorejen riski çok düşük olan geçici HPV enfeksiyonunu tespit ettiği için HPV taramasını rutin olarak önemsememektedir (126).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) araştırmasına göre kadınların 1/3'ünde BV olduğu ve BV'nin de PID, HIV ve cinsel yolla bulaşan diğer hastalıklara yakalanma ve bulaş riskinde artışa neden olduğu intrauterin enfeksiyon, düşük, preterm doğum ve EMR gibi olumsuz obstetrik sonuçlara neden olabileceği gözlenmiştir (127).

Kuzey Amerikalı dört farklı etnik gruba (beyaz, siyah, Hispanik ve Asyalı) ait 396 asemptomatik kadının CST'lerinin değerlendirildiği bir çalışmada gruplar arasında CST dağılımı ve vajinal pH farklı bulunmuştur (9). Birleşik Devletlerdeki bir çalışmada Afrikalı ve Avrupalı kadınlarda VM'nin farklı olduğu, Afrika kökenlilerde Laktobasillusların daha az olduğu, CST 1 Avrupalı kadınlarda en yaygın tip iken Afrika kökenli kadınlarda ise CST 4'ün en yaygın tip olduğu tespit edilmiştir (128). BV prevalansını ırk ve etnisite etkilemekte olup Afrika'da BV prevalansı yüksek iken, Asya ve Avrupa'da ise daha düşüktür. Çevresel faktörlerin VM'yi etkileyerek BV riskini arttırdığı düşünülmektedir (129,130). Çalışmamıza dahil ettiğimiz katılımcıların tamamı beyaz Türk ırkına mensup olduğu için VM etnisite ve ırk açısından karşılaştırılmamıştır.

Literatürde VM ile Hr-HPV (+)'liği arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalar sınırlıdır. Hr-HPV (+) pozitif 20 ve Hr-HPV (-) negatif 20, toplam 40 kadının değerlendirildiği bir çalışmada; pozitif olan kadınlarda Actinobacteria spp arttığı gösterilmiştir. HPV (-) negatif kadınlarda *L. crispatus*, *L. jensenii* ve *L. helveticus* baskın olarak bulunmuştur (124). Normal servikovajinal sitolojiye sahip 38 HPV (+) pozitif ve 32 HPV (-) negatif kadının VM karşılaştırılması HPV (+) pozitif olan kadınlarda *L. gasseri* ve *G. vaginalis* sıklığı artmış olarak bulunmuştur (131). Hr-HPV 16 ve 18 pozitif enfeksiyonlu 90 kadın ile 45 kontrol grubunun karşılaştırıldığı bir çalışmada Bacteroidaceae, Erysipelotrichaceae, Helicobacteraceae, Neisseriaceae, Streptococcaceae ve Fusobacterium düzeyleri Hr-HPV 16 ve 18'de yüksek olarak bulunmuştur (132).

Hr-HPV (+) pozitif 20 kadın ile 20 kontrol kadının VM bileşimi karşılaştırılmış, pozitif grupta Firmicutes azalırken Acinebacteria artmış, cins düzeyinde de kontrol grubu Lactobacillustan zengin iken, Hr-HPV (+) pozitif grubu Gardnerella ve Bifidobacterium düzeyleri artmış olarak bulunmuştur. Tür düzeyinde ise *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. helveticus* kontrol grubunda artmış ve yazarlar VM

değişikliklerinin Hr-HPV infeksiyonunun fizyopatolojisini netliğe kavuşturmak için önemli olduğunu, Hr-HPV infeksiyonu ve CC tanı ve tedavisinde umut verici olabileceğini iddia etmişlerdir (124).

Kore Genom Epidemiyolojisi Çalışması kapsamında 23 HPV (+) pozitif ve 45 HPV (-) negatif 68 kadının analizinde *Fusobacteria*'nın bir biyobelirteç olabileceği HPV (+) pozitif kadınların daha düşük *Lactobasillus*a sahip olduğu gözlenmiştir (133). Başka bir çalışmada sitolojisi normal 70 kadın (HPV (+) pozitif, n=32 ve HPV (-) negatif, n=38) değerlendirilmiş HPV (+) pozitif olanlarda VM'de daha fazla biyolojik çeşitlilik tespit edilmiştir. HPV (+) pozitiflerde *L. gasseri* ve *Gardnerella vaginalis* daha fazla oranda tespit edilmiştir (131). Çalışmamızda HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif kadınların CST tipleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamış ancak, HPV pozitif kadınlarda CST 3 ve 4 daha yüksek oranda gözlenmiştir.

HPV infeksiyonu ile VM arasındaki zamansal ilişkiyi değerlendiren bir çalışmada 32 kadın yaklaşık 16 hafta boyunca iki haftada bir vajinal kültür örnekleri alınarak CST ile HPV remisyon arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. HPV (+) pozitifliğine geçişte CST-4 daha yüksek bulunurken, HPV klirensi en fazla CST 2'de izlenmiştir (22).

HPV (+) pozitif SIL (-) negatif ve SIL (+) pozitif kadınlar arasında VM açısından bir fark bulunamamış olup VM değişikliğinin HPV infeksiyonunda etken olduğu düşünülmektedir (134). SCJ'nin HPV ile infeksiyonu sonrası *L. crispatus* hakimiyeti *L. iners*'e dönüşmektedir (123). HPV infeksiyonun SIL'e doğru ilerlemesi ile *Sneathia* ve *Fusobacterium* türlerinin hakimiyeti artmakta olup TGFB-1 ve IL-10'un makrofajlardan sekresyonu artmaktadır (135).

HPV (+) pozitif 35 kadının L-SIL durumuna göre değerlendirildiğinde VM'de herhangi bir anlamlı değişiklik saptanmamış iken, HPV (-) negatif kadınlarda L-SIL ve CC karşılaştırılmasında VM'de bir farklılık bulunmuştur (134). Normal servikovajinal sitolojili kadınlarda *L. crispatus* ve *iners* hakimiyeti söz konusu iken, SIL'li kadınlarda *Sneathia* spp, CC'li kadınlarda ise *fusobacterium* spp hakimiyeti bulunmuştur (123).

Sağlıklı 70 kontrol, HPV (+) pozitif + L-SIL'li 95 kadın ve HPV (+) pozitif + H-SIL'li 85 toplam 250 kadının VM'sı değerlendirildiğinde; kontrol grubunda *L. crispatus*, *L. iners* ve *L. taiwanensis* artmış iken; *G. vaginalis* ve *L. Acidophilus*

izlenmemiştir (136). L-SIL’li kadınlarda *L. crispatus* kontrole göre daha az iken *L. acidophilus* ve *L. iners* baskın bulunmuştur. H-SIL grubunda ise *G. vaginalis* ve *L. acidophilus* artmış; *L. iners*, *L. crispatus* ve *L. taiwanensis* ise düşük seviyelerde bulunmuştur. Yazarlar HPV infeksiyonu ile CIN arasında bir ilişkinin olduğunu; *L. iners*, *L. crispatus* ve *L. taiwanensis* azlığı ve *G. vaginalis* hakimiyetinin HPV persistansı, CIN gelişimi ve CC’nin bir kofaktör olabileceğini iddia etmişlerdir (135,136).

CIN 1 ile HPV koenfeksiyonu ve *Ureoplasma parvum* arasında bir korelasyon olduğu, CIN şiddeti arttıkça VM çeşitliliğinin artıp *Lactobacillus* türlerinin hakimiyetinin azaldığı gösterilmiştir (60,98). CST 4, HPV ‘den bağımsız olarak hastalık şiddeti ile ilişkili bulunmuştur (100,123). HPV (+) pozitif bayanlarda *Atopobium vaginae*, *Anaerococcus tetradius*, *Fusobacterium* türleri, *Streptococcus agalactiae*, *Sneathia* spp ve *Peptostreptococcus anaerobius* artan neoplastik progresyon ile ilişkili bulunmuştur (123,137).

L-SIL, H-SIL ve CC’li kadınların 16S RNA gen dizisi ile VM değerlendirildiğinde HPV’den bağımsız hastalık şiddeti ilerledikçe VM’de değişikliğin arttığı görülmüştür. H-SIL’de *Sneathia sanguinegens*, *Anaerococcus tetradius* ve *Peptostreptococcus anaerobius* artarken *L. jensenii* seviyeleri azalmıştır. CIN şiddeti arttıkça VM’de çeşitlilik artmakta bu durumda HPV persistansında önemli bir rol aldığı düşünülmektedir (99). Bu çalışmalar ile HPV ve SIL pozitif kadınlardaki VM değişikliklerinin HPV infeksiyonundan mı yüksek SIL’den mi kaynaklandığını ayırt etmek oldukça güçtür (134).

L-SIL, H-SIL ve sağlıklı 250 kadın VM’nin değerlendirildiği bir çalışmada; sağlıklı kadınlarda *L. crispatus*, *L. İners* ve *L. taiwanensis* düzeyleri artarken, *G. vaginalis* ve *L. acidophilus* izlenmemiştir. L-SIL’li kadınlarda *L. acidophilus* ve *iners* hakimiyeti, H-SIL’li kadınlarda ise *G. vaginalis* ve *L.acidophilus* hakimiyeti saptanmıştır. Bu çalışma VM ile HPV arasındaki bir etkileşimin SIL ve CC gelişmesinde bir faktör olduğunu düşündürmektedir (136). Çalışmamızda SIL açısından VM değerlendirmesi veri eksikliğinden dolayı yapılamamıştır.

G. vaginalis hakimiyeti ile birlikte *L. crispatus*, *L. iners* ve *L. taiwanensis* azlığına özgü bakteriyel disbiyozisin serviks neoplazilerinde HPV’ye bir kofaktör olabileceği düşünülmektedir (136). CIN’i olan 70 ve 50 sağlıklı Koreli kadının VM’si

incelendiğinde *Atophium vaginae* ve *G. vaginalis* CIN riski ile bağlantılı bulunmuştur. Yazarlar bakteriyel disbiyozu ve HPV kombinasyonunu serviks neoplazisi için bir risk faktörü olduğunu ileri sürmüşlerdir (100).

Hr-HPV ile CIN 2 arasındaki olası bir ilişki durumu değerlendirildiğinde VM çeşitliliği ile CIN'in şiddeti ve oksidatif DNA hasarı arasında bir ilişki için kanıtlar bulunmuştur (138).

Bu prospektif kohort çalışmasının güçlü bir özelliği katılımcıların sosyodemografik ve klinik özellikleri açısından gruplar arasında homojenizasyonun sağlanması nedeni ile bias oranının düşük olması, bir diğer güçlü yanı da çalışmadaki katılımcıların Türkiye'nin orta Anadolu bölümünü temsil ettiği için araştırmadan çıkan sonuçların Türkiye geneline uyarlanabilmesidir. Çalışmanın en önemli limitasyonu ise tersiyer bir referans merkezinde yapılmış olmasıdır.

6. SONUÇ

1. HPV (-) negatif ve HPV (+) pozitif katılımcıların sosyodemografik ve klinik özellikleri ile CST sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

2. HPV 16 ve/veya 18 pozitif kadınlarda diğer yüksek risk HPV pozitifliği olan kadınlara göre CST sonuçları açısından CST 3, CST 4 ve diğer Laktobasiller istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan oranda daha fazla tespit edilmiştir.

3. Tek HPV pozitifliği olan kadınlarda CST 3 ve CST 4 hakimiyeti bulunmakta iken ve multiple HPV pozitif olan kadınlarda CST 5 ve diğer Laktobasillerin hakimiyeti mevcudiyeti istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4. Katılımcıların cins düzeyinde mikrobiyata açısından bir fark bulunamamış olup Lactobacillus cinsi hakimiyeti tespit edilmiştir.

KAYNAKÇA

1. Bhatla N, Aoki D, Sharma DN, Sankaranarayanan R. Cancer of the cervix uteri: 2021 update. *Int J Gynaecol Obstet*. Ekim 2021;155(Suppl 1):28-44.
2. 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.
3. 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.
4. Castellsagué, X., Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecologic oncology*, 2008. 110(3): p. S4-S7.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Farage M, Maibach H. Lifetime changes in the vulva and vagina. *Arch Gynecol Obstet*. 01 Ocak 2006;273(4):195-202.
9. Ravel, J., et al., Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011. 108(supplement_1): p. 4680-4687.
10. 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.
11. Amabebe, E. and D.O. Anumba, The vaginal microenvironment: the physiologic role of lactobacilli. *Frontiers in medicine*, 2018. 5: p. 181.
12. Petrova, M.I., et al., *Lactobacillus iners*: friend or foe? *Trends in microbiology*, 2017. 25(3): p. 182-191.
13. Castanheira, C.P., et al., Microbiome and cervical cancer. *Pathobiology*, 2021. 88(2): p. 187-197.
14. Beksaç, M.S., A. Ayhan, and H. Hassa, Jinekoloji: Üreme endokrinolojisi & İnfertilite. *Jinekolojik Onkoloji*, 2006.
15. Berek, J.S., *Berek&Novak's Gynecology_14ed.pdf*.

16. Asetik asit (VIA) ve Lugol solüsyonu (VILI) ile gözle muayenenin anatomik ve patolojik temeli [İnternet]. [a.yer 17 Eylül 2023]. Erişim adresi: <https://screening.iarc.fr/viavilichap1.php?lang=6>
17. Joanna, Cervical cancer screening. *Ginekologia Praktyczna*. 14(1): p. 10-14.
18. Fish, C.R. Handbook of Colposcopy: Diagnosis and Treatment of Lower Genital Tract Neoplasia and HPV Infections. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1990. Elsevier.
19. Deng H, Mondal S, Sur S, Woodworth CD. Establishment and Optimization of Epithelial Cell Cultures from Human Ectocervix, Transformation Zone and Endocervix. *J Cell Physiol*. Haziran 2019;234(6):7683-94.
20. Deng H, Hillpot E, Mondal S, Khurana KK, Woodworth CD. HPV16-Immortalized Cells from Human Transformation Zone and Endocervix are More Dysplastic than Ectocervical Cells in Organotypic Culture. *Sci Rep*. 18 Ekim 2018;8:15402.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. RICHART, R.M., Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 1967. 10(4): p. 748-784.
25. 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.
26. 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.
27. Moscicki, A.-B., et al., Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine*, 2012. 30: p. F24-F33.
28. Rose, W.A., et al., Commensal bacteria modulate innate immune responses of vaginal epithelial cell multilayer cultures. *PloS one*, 2012. 7(3): p. e32728.
29. Doorbar, J., Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical science*, 2006. 110(5): p. 525-541.
30. Stanley, M., Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecologic oncology*, 2010. 117(2): p. S5-S10.

31. 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.
32. Ferris, D., et al., Long-term study of a quadrivalent human papillomavirus vaccine. *Pediatrics*, 2014. 134(3): p. e657-e665.
33. Hoffman, B.L., et al., *Williams gynecology*. 2016: cGraw-Hill Education.
34. Ries, L.A., et al., *SEER cancer statistics review, 1975-2003*. 2006.
35. Kamal M. Pap Smear Collection and Preparation: Key Points. *Cytojournal*. 29 Mart 2022;19:24.
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. 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.

45. 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.

46. 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.

47. Mhatre, M., et al., Cervical intraepithelial neoplasia is associated with genital tract mucosal inflammation. Sexually transmitted diseases, 2012. 39(8): p. 591.

48. 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.

49. Mayer C, Mahdy H. Abnormal Papanicolaou Smear. İçinde: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

50. Santella B, Schettino MT, Franci G, De Francis P, Colacurci N, Schiattarella A, vd. Microbiota and HPV: The role of viral infection on vaginal microbiota. J Med Virol. Eylül 2022;94(9):4478-84.

51. Taşkıran Ç, Güner H. Serviks kanseri epidemiyolojisi ve Human Papilloma Virüs. Uzmanlık Sonrası Eğitim ve Güncel Gelişmeler Dergisi. 2007;4(1):11-9.

52. Torcia, M.G., Interplay among vaginal microbiome, immune response and sexually transmitted viral infections. International journal of molecular sciences, 2019. 20(2): p. 266.

53. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, vd. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. Vaccine. 20 Kasım 2012;30:F55-70.

54. De Marco, F., Oxidative stress and HPV carcinogenesis. Viruses, 2013. 5(2): p. 708-731.

55. Wang X, Huang X, Zhang Y. Involvement of Human Papillomaviruses in Cervical Cancer. Front Microbiol. 28 Kasım 2018;9:2896.

56. Avcı GA, Bozdayı G. Human Papillomavirus. Kafkas Journal of Medical Sciences. 01 Kasım 2013;(3):136-44.

57. Molijn A, Kleter B, Quint W, Doorn LJ van. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. Journal of Clinical Virology. 01 Mart 2005;32:43-51.

58. OKUNADE KS. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. J Obstet Gynaecol. Temmuz 2020;40(5):602-8.

59. 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.

60. 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.
61. 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.
62. Lederberg J, McCray AT. 'Ome Sweet 'Omics-- A Genealogical Treasury of Words.
63. Cénit MC, Matzaraki V, Tigchelaar EF, Zhernakova A. Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 01 Ekim 2014;1842(10):1981-92.
64. Peterson, J., et al., The NIH human microbiome project. *Genome research*, 2009. 19(12): p. 2317-2323.
65. 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.
66. Lau, A.W.Y., et al., The chemistry of gut microbiome in health and diseases. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 2021. 4(1).
67. Lee, L.-H., et al., Human microbiome: Symbiosis to pathogenesis. 2021, *Frontiers Media SA*. p. 605783.
68. Farage, M. and H. Maibach, Lifetime changes in the vulva and vagina. *Archives of gynecology and obstetrics*, 2006. 273(4): p. 195-202.
69. Hickey, R.J., et al., Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective. *Translational Research*, 2012. 160(4): p. 267-282.
70. 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.
71. Widdowson, E.M., Changes in body proportions and composition during growth. *Scientific foundations of pediatrics*, 1974: p. 153-163.
72. 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.
73. 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.
74. Gerstner, G., et al., Vaginal organisms in prepubertal children with and without vulvovaginitis. *Archives of gynecology*, 1982. 231(3): p. 247-252.
75. Fitzmaurice, C., et al., The global burden of cancer 2013. *JAMA oncology*, 2015. 1(4): p. 505-527.

76. De Villiers, E.-M., et al., Classification of papillomaviruses. *Virology*, 2004. 324(1): p. 17-27.
77. 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.
78. Aroutcheva, A., et al., Defense factors of vaginal lactobacilli. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2001. 185(2): p. 375-379.
79. 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.
80. Reid, G., et al., [31] Biosurfactants produced by *Lactobacillus*, in *Methods in enzymology*. 1999, Elsevier. p. 426-433.
81. McMillan, A., et al., Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011. 86(1): p. 58-64.
82. 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.
83. 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.
84. Onywera H, Williamson AL, Mbulawa ZZA, Coetzee D, Meiring TL. The cervical microbiota in reproductive-age South African women with and without human papillomavirus infection. *Papillomavirus Res*. 13 Nisan 2019;7:154-63.
85. Witkin SS, Mendes-Soares H, Linhares IM, Jayaram A, Ledger WJ, Forney LJ. Influence of vaginal bacteria and D- and L-lactic acid isomers on vaginal extracellular matrix metalloproteinase inducer: implications for protection against upper genital tract infections. *mBio*. 06 Augustos 2013;4(4):e00460-13.
86. Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis. *Microbiome*. 12 Nisan 2013;1:12.
87. 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.
88. 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.
89. Zur Hausen, H., Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature reviews cancer*, 2002. 2(5): p. 342-350.

90. Fichorova, R.N., et al., The contribution of cervicovaginal infections to the immunomodulatory effects of hormonal contraception. *MBio*, 2015. 6(5): p. e00221-15.
91. Balkwill, F. and A. Mantovani, Inflammation and cancer: back to Virchow? *The lancet*, 2001. 357(9255): p. 539-545.
92. 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.
93. 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.
94. Gajer, P., et al., Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Science translational medicine*, 2012. 4(132): p. 132ra52-132ra52.
95. 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.
96. 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.
97. 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.
98. 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.
99. Mitra, A., et al., Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Scientific reports*, 2015. 5(1): p. 1-11.
100. 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.
101. Zhou, X., et al., Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology*, 2004. 150(8): p. 2565-2573.
102. 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.
103. 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.

104. Westhoff, C., et al., Predictors of ovarian steroid secretion in reproductive-age women. *American journal of epidemiology*, 1996. 144(4): p. 381-388.
105. 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.
106. 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.
107. 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.
108. 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.
109. 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.
110. 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.
111. Mason, M.R., et al., The subgingival microbiome of clinically healthy current and never smokers. *The ISME journal*, 2015. 9(1): p. 268-272.
112. Lee, S.K., et al., Immune cells in the female reproductive tract. *Immune network*, 2015. 15(1): p. 16-26.
113. 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.
114. 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.
115. 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.
116. 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.
117. Martin HL Jr, Richardson BA, Nyange PM, Lavreys L, Hillier SL, Chohan B, vd. Vaginal *Lactobacilli*, Microbial Flora, and Risk of Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Sexually Transmitted Disease Acquisition. *The Journal of Infectious Diseases*. 01 Aralık 1999;180(6):1863-8.

118. Guo YL, You K, Qiao J, Zhao Y m, Geng L. Bacterial vaginosis is conducive to the persistence of HPV infection. *Int J STD AIDS*. Ağustos 2012;23(8):581-4.
119. Peters N, Van Leeuwen AM, Pieters WJ, Hollema H, Quint WG, Burger MP. Bacterial vaginosis is not important in the etiology of cervical neoplasia: a survey on women with dyskaryotic smears. *Sex Transm Dis*. 1995;22(5):296-302.
120. BORGDORFF, Hanneke, et al. Cervicovaginal microbiome dysbiosis is associated with proteome changes related to alterations of the cervicovaginal mucosal barrier. *Mucosal immunology*, 2016, 9.3: 621-633.
121. Stoyancheva G, Marzotto M, Dellaglio F, Torriani S. Bacteriocin production and gene sequencing analysis from vaginal *Lactobacillus* strains. *Arch Microbiol*. 01 Eylül 2014;196(9):645-53.
122. Lin D, Kouzy R, Abi Jaoude J, Noticewala SS, Delgado Medrano AY, Klopp AH, vd. Microbiome factors in HPV-driven carcinogenesis and cancers. *PLoS Pathog*. 04 Haziran 2020;16(6):e1008524.
123. Audirac-Chalifour A, Torres-Poveda K, Bahena-Román M, Téllez-Sosa J, Martínez-Barnette J, Cortina-Ceballos B, vd. Cervical Microbiome and Cytokine Profile at Various Stages of Cervical Cancer: A Pilot Study. *PLoS One*. 26 Nisan 2016;11(4):e0153274.
124. Fang B, Li Q, Wan Z, OuYang Z, Zhang Q. Exploring the Association Between Cervical Microbiota and HR-HPV Infection Based on 16S rRNA Gene and Metagenomic Sequencing. *Front Cell Infect Microbiol*. 21 Haziran 2022;12:922554.
125. 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.
126. Randel, A., ACOG releases guidelines on cervical cancer screening. *American Family Physician*, 2013. 88(11): p. 776-777.
127. Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, McQuillan G, Kendrick J, Sutton M, vd. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sex Transm Dis*. Kasım 2007;34(11):864-9.
128. Fettweis JM, Brooks JP, Serrano MG, Sheth NU, Girerd PH, Edwards DJ, vd. Differences in vaginal microbiome in African American women versus women of European ancestry. *Microbiology (Reading)*. Ekim 2014;160(Pt 10):2272-82.
129. 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.
130. 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.

131. Gao W, Weng J, Gao Y, Chen X. Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 10 Haziran 2013;13:271.
132. Zeng M, Li X, Jiao X, Cai X, Yao F, Xu S, vd. Roles of vaginal flora in human papillomavirus infection, virus persistence and clearance. *Front Cell Infect Microbiol.* 04 Ocak 2023;12:1036869.
133. Lee JE, Lee S, Lee H, Song YM, Lee K, Han MJ, Sung J, Ko G. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort. *PLoS One.* 2013 May 22;8(5):e63514. doi: 10.1371/journal.pone.0063514. PMID: 23717441; PMCID: PMC3661536.
134. Nieves-Ramírez ME, Partida-Rodríguez O, Moran P, Serrano-Vázquez A, PérezJuárez H, Pérez-Rodríguez ME, vd. Cervical Squamous Intraepithelial Lesions Are Associated with Differences in the Vaginal Microbiota of Mexican Women. *Microbiol Spectr.* 9(2):e00143-21.
135. Castanheira, C.P., et al., *Microbiome and cervical cancer.* *Pathobiology*, 2021. 88(2): p. 187-197.
136. Kwasniewski, W., et al., *Microbiota dysbiosis is associated with HPV-induced cervical carcinogenesis.* *Oncology letters*, 2018. 16(6): p. 7035-7047.
137. 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.
138. Piyathilake CJ, Ollberding NJ, Kumar R, Macaluso M, Alvarez RD, Morrow CD. Cervical Microbiota Associated with Higher Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women Infected with High-Risk Human Papillomaviruses. *Cancer Prev Res (Phila).* Mayıs 2016;9(5):357-66.