

Complimentary and personal copy for Finzer P, Küppers V, Griesser H.

Brought to you by Thieme

www.thieme.com

Dysbiotic Co-Factors in Cervical Cancer. How the Microbiome Influences the Development of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)

**OPEN
ACCESS**

**Geburtshilfe und
Frauenheilkunde**

2023

10.1055/a-2044-0162

This electronic reprint is provided for non-commercial and personal use only: this reprint may be forwarded to individual colleagues or may be used on the author's homepage. This reprint is not provided for distribution in repositories, including social and scientific networks and platforms.

Copyright & Ownership

© 2023. Thieme. All rights reserved.

The journal *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* is owned by Thieme.

Georg Thieme Verlag KG,
Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany
ISSN 0016-5751

 **Thieme**

Dysbiotic Co-Factors in Cervical Cancer. How the Microbiome Influences the Development of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)

Dysbiotische Co-Faktoren des Zervixkarzinoms. Der Einfluss des Mikrobioms auf die Entstehung zervikaler intraepithelialer Neoplasien (CIN)

**OPEN
ACCESS**

Authors

Patrick Finzer^{1,2}, Volkmar Küppers³, Henrik Griesser⁴

Affiliations

- 1 dus.ana Düsseldorf Analytik, Praxis für medizinische Mikrobiologie und Laboratoriumsmedizin, Düsseldorf, Germany
- 2 Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
- 3 Zytologisches Labor, Dysplasie-Sprechstunde, Praxis für Frauenheilkunde & Geburtshilfe, Düsseldorf, Germany
- 4 Fachabteilung Pathologie und Zytodiagnostik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln, Germany

Key words

vaginal microbiome, HPV infection, CIN lesion

Schlüsselwörter

vaginales Mikrobiom, HPV-Infektion, CIN-Läsionen

received 9.12.2022

accepted after revision 20.2.2023

published online 4.5.2023

Bibliography

Geburtsh Frauenheilk

DOI 10.1055/a-2044-0162

ISSN 0016-5751

© 2023. The Author(s).

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany

Correspondence

Priv.-Doz. Dr. Dr. med. Patrick Finzer
dus.ana Düsseldorf Analytik, Praxis für medizinische
Mikrobiologie und Laboratoriumsmedizin
Immermannstraße 65 A
40479 Düsseldorf, Germany
gyn@dus-ana.de



Deutsche Version unter:
<https://doi.org/10.1055/a-2044-0162>.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) infection is a necessary but not sufficient condition for the development of cervical cancer. The dysbiotic shift in the cervicovaginal microbiome appears to be a major co-factor in carcinogenesis. New analytical methods, such as next-generation sequencing (NGS), can be used to detect all of the vaginal microorganisms present and therefore identify individual therapeutic options. The relationship of bacterial vaginosis and carcinogenesis, as well as possible indications for the use of microbiome analysis, will be discussed.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Infektion mit humanen Papillomaviren (HPV) ist für die Entstehung des Zervixkarzinoms eine notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung. Die dysbiotische Verschiebung des zervikovaginalen Mikrobioms stellt offensichtlich einen wesentlichen Co-Faktor in der Karzinogenese dar. Neue Analysemethoden, wie das Next-Generation-Sequencing (NGS), erlauben die Bestimmung der Gesamtheit der vaginalen Mikroorganismen und damit die Ableitung individueller Therapieoptionen. Der Zusammenhang von bakterieller Vaginose und Karzinogenese sowie mögliche Indikationen für den Einsatz der Mikrobiom-Analyse werden diskutiert.

Introduction

Following the introduction of organized cancer screening for cervical carcinoma (“CC”) in 2020, a so-called co-test is performed on all women from the age of 35 every three years as part of cervical cancer screening. This means that a cervical smear sample is assessed cytologically and laboratory testing is performed for the genetic detection of the various high-risk types of human papillomavirus (HPV). Annual cytology screening continues to be performed in women under 35 years of age who are screened. In all women with cytological findings of confirmed or suspected high-grade dysplasia, a colposcopy is mandatory, irrespective of the HPV test result. In the majority of cases, tissue is removed from the cervix for histological examination [1].

Genetic material, particularly from high-risk types of HPV, is detectable in tumor tissue in almost all cases of cervical carcinoma. In this context, HPV-mediated carcinogenesis is mainly induced by the two viral oncoproteins E6 and E7. These oncoproteins drive the infected cells into an unregulated cell cycle and cause cell proliferation with the accumulation of genetic abnormalities in the epithelium [2].

However, HPV infection is not sufficient for the development of cervical cancer, because more than 90% of these infections are transient and resolve on their own (known as “clearance”) [3]. Of course, other factors are required for cancer or precancer to develop in the infected epithelium. An important prerequisite is a persistent HPV infection in the mucosal epithelia for many years. In recent years, the microbiome has been shown to be another important factor in the persistence of HPV infection and the development of cervical intraepithelial neoplasia (CIN).

It is therefore useful to test the vaginal microbiome – in addition to testing for HPV – if certain clinical questions or constellations of findings arise from the cervical cancer screening examination.

Bacterial Vaginosis Predisposes to HPV Infections and CIN Lesions

It has long been known that abnormal cytological findings are more common in women with disturbed vaginal flora [4], suggesting a link between bacterial vaginosis (BV) and the development of cervical cancer. In about half of cases, a disturbance of the vaginal environment leads to symptoms such as discharge that smells like ammonia and signs of inflammation, such as redness, itching, and a burning sensation. The vaginal pH is elevated and there are characteristic “clue cells” in the smear preparation [5]. BV is the most common vaginal disease in women of childbearing age and may be associated with gynecologic and obstetric complications, for example the spread of inflammation to the upper genital tract (“pelvic inflammatory disease [PID]”), cervicitis, premature birth, and chorioamnionitis.

Although scientific studies use different criteria to diagnose BV, several meta-analyses still show a clear association between the occurrence of bacterial vaginosis and CIN lesions [6, 7]. In addi-

tion, it has also been confirmed that the prevalence of HPV is significantly higher in women with BV than in women without the disease [7].

New Technical Possibilities

It is not always easy to detect BV. In addition to microscopy, the cultivation of potential pathogens traditionally plays a major role in detecting possible pathogens with antibiotic testing (sensitivity testing) [8].

However, not all pathogens associated with BV can be grown in standard culture media. As a result, relevant microorganisms in bacterial vaginosis, such as *Atopobium* or *Mobiluncus*, usually cannot be detected. These pathogens must be detected by molecular genetic analysis, for example by means of polymerase chain reaction (“PCR”).

In addition, microorganisms are cultured in conventional medical microbiology with the aim of isolating, if possible, one or more potentially pathogenic agents from the microbial colony. The growth of other remaining microbes is deliberately suppressed by the selective media used. In the process, information about other pathogens, such as the protective *Lactobacillus* species, is usually lost.

However, culture and PCR do not in any case provide information on the relative quantitative composition of the mucosal flora, i.e. the microbiome. This is only possible through the use of next-generation sequencing (NGS), in which genes from all given microorganisms can be sequenced simultaneously. For this purpose, the microbial gene sequences obtained are compared with extensive databases, which makes it possible to determine the percentage (“abundance”) of individual species.

The Vaginal Microbiome

NGS data obtained from the vaginal microbiome revealed that it is organized into so-called “community state types” (CST) [10]. Among them, four CSTs are dominated by single *Lactobacillus* species: *L. crispatus* (CST I), *L. gasseri* (CST II), *L. iners* (CST III), and *L. jensenii* (CST V). For example, *L. crispatus* dominance is associated with a healthy vaginal microbiome, high production of lactate, and the formation of protective peptides.

CST IV, on the other hand, is characterized by the extensive loss of *Lactobacilli*, with mostly anaerobic bacteria, such as *Gardnerella*, *Atopobium*, *Mobiluncus*, or *Prevotella* being detected in larger or dominating quantities. As a result, the microbiome becomes more diverse, i.e., the *Lactobacilli* disappear or lose their dominance and are replaced by numerous other bacterial species. This increase in diversity can be calculated mathematically and is expressed as alpha diversity or the Shannon index.

In more recent studies, this medically important group is further subdivided into A–C, depending on the predominant constellation of pathogens, although it can be assumed that there are many more subgroups [11, 12] – see ► **Table 1**.

► **Table 1** Differentiation of community state type (CST) IV, according to the “Valencia” classification [11].

CST IV-A: high/moderate relative abundance of <i>G. vaginalis</i> and BVAV1*
CST IV-B: high/moderate relative abundance of <i>G. vaginalis</i> and <i>A. vaginae</i>
CST IV-C: low relative abundance of <i>G. vaginalis</i> , BVAB1*, and <i>Lactobacillus</i> spp., and
C0: relatively similar proportion of <i>Prevotella</i> spp.
C1: dominated by <i>Streptococcus</i> spp.
C2: dominated by <i>Enterococcus</i> spp.
C3: dominated by <i>Bifidobacterium</i> spp.
C4: dominated by <i>Staphylococcus</i> spp.

* BVAV1: bacterial vaginosis associated bacterium 1

Loss of *Lactobacillus* dominance signals a medically relevant miscolonization or dysbiosis, as group IV is also associated with an altered vaginal pH and an increased Nugent score as an indication of the presence of bacterial vaginosis [10].

CST III is also medically significant because *L. iners* has some peculiarities: it produces only small amounts of lactate and apparently few or no protective peptides. That is why it is also called the “poisoned apple”, which mostly indicates a microbiome in transition: out of or into a dysbiosis or CST IV [13].

The menstrual cycle is considered to be a significant factor in the change of the colonization type: during ovulation, CST stability is the greatest, whereas with menstruation, it decreases the most. In addition, sexual activity is a factor in microbiome change, as is hygiene behavior (alkaline soaps, etc.).

Dysbiotic Factors for Viral Persistence and the Development of CIN Lesions

The previously described association of dysbiosis or BV and HPV infection or cervical intraepithelial neoplasia (CIN) has now been substantiated and clarified by numerous robust NGS studies [6, 14].

Lactobacillus dominance apparently goes hand in hand with natural clearance of HPV. The main species found is *L. crispatus* [15]. In a longitudinal study, *L. gasseri* also showed increased clearance of HPV [16]. A *Lactobacillus*-dominated microbiome also showed a higher likelihood of regression of CIN2 lesions in a follow-up study; slower regression was seen with *Lactobacillus* loss, typically with an increase in BV pathogens [17]. Dominance of *L. crispatus* demonstrated the most rapid regression of CIN lesions [17]. Thus, while *Lactobacilli* are protective, *Gardnerella* and increased microbial diversity are associated with CIN2 progression [18]. *L. iners*, on the other hand, is an exception among *Lactobacilli*: it was found in increased numbers in HPV-positive women and in women with dysplasia [19].

Thus, for both HPV infection and persistence as well as the development and progression of CIN lesions, the vaginal microbiome exhibits a typical pattern similar to that of bacterial vaginosis: Loss of *Lactobacillus* dominance, increased microbial diversity with evidence of typical anaerobic bacteria (CST IV)[17]; in addition,

L. iners (CST III) is associated with the development of CIN lesions [19], possibly also because it indicates a transient microbiome that can cross over into CST IV [13].

Potential Mechanisms of the Vaginal Microbiome in Viral Infection and the Development of CIN Lesions

The complexity of the cervicovaginal microenvironment in HPV infection or CIN lesion is determined not only by the local microbiome but also by its interplay with the patient’s epithelial and immunologic defenses.

Lactobacilli produce numerous protective peptides and metabolites. The focus is on lactic acid (lactate), which is produced by metabolizing glycogen. This inhibits the attachment and growth of pathogenic bacteria, especially BV-associated pathogens [20]. D- or L-lactate isomers are produced; the D-form is mainly produced by *L. crispatus*, *L. jensenii*, and *L. gasseri*, whereas the L-form is produced by *L. iners* and anaerobic pathogens. Thus, in patients with predominant *L. iners* colonization, L-lactate predominates, leading to the activation of metalloproteinase 8 (MMP8) and thereby facilitating the entry of HPV into basal keratinocytes [21]. In contrast, if *L. crispatus* dominates, the viscosity of the cervicovaginal mucus increases, which in turn promotes the attachment of HP viruses [20, 22].

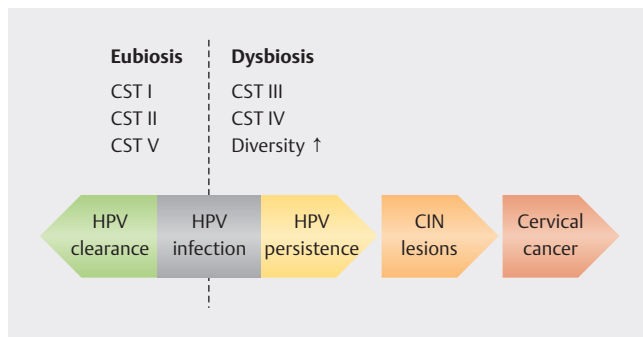
Other factors expressed by *Lactobacilli* to defend against pathogenic bacteria are bacteriocidal and bacteriostatic peptides. Bacteriocin, for example, exerts an inhibitory effect on typical pathogens, especially *Gardnerella vaginalis* [20]. Hydrogen peroxide (H₂O₂) attacks bacteria such as *Prevotella* and *Gardnerella*, which themselves do not produce protective enzymes to degrade this molecule. Such mechanisms thus provide protection of the cervical epithelium and prevent pathogens such as HPV from accessing basal keratinocytes [23].

Due to the decline of *Lactobacilli* with bacterial vaginosis or CST IV, not only do pathogenic anaerobic bacteria become predominant, but the aforementioned defense mechanisms (lactate, bacteriocin, etc.) also stop working. This allows pathogenic microorganisms to colonize the epithelium and promote inflammation through the synthesis of proinflammatory cytokines [24]. In this way, the integrity of the epithelium is damaged and the susceptibility of HPV infection is significantly increased; thus, the persistence of inflammation fosters HPV persistence. When the associated inflammation becomes chronic, this enables the development and persistence of CIN lesions and promotes their progression. In this context, the development of cervical cancer is apparently accompanied by a similar dysbiotic microbiome shift as occurs in the development of CIN lesions [14] – see ► **Fig. 1**.

Towards Individualized Therapy

Microbiome analysis allows not only the detection of a possible dysbiosis, but also helps to determine an individualized therapy.

In cases of severe dysbiosis or bacterial vaginosis, antibiotic therapy is often recommended [25]. This can be modified according to the prevailing spectrum of pathogens (see ► **Fig. 1**).



► **Fig. 1** Schematic representation of the influence of dysbiotic miscolonization on HPV infection, CIN progression and the development of cervical cancer. While the normal Lactobacillus-dominated vaginal microbiome (CST I, II, and V – “eubiosis”) allows clearance of HPV infection, loss of Lactobacillus dominance (CST IV) – and an increase in diversity – or dominance with *L. iners* (CST III) are associated with persistence of HPV, development and progression of CIN lesions, and the development of cervical cancer.

In contrast to classical microbiology, microbiome analysis provides information on the percentage of individual pathogens: hence Gardnerella dominance is treated with different antibiotics than a high abundance of enterococci.

However, antibiotic therapy is associated with a high relapse rate [25]. Administration of *L. crispatus* after antibiotic treatment with metronidazole can significantly reduce the recurrence of bacterial vaginosis [26]. Therefore, restoration or normalization of the vaginal microbiome is considered a promising strategy. The administration of live vaginal lactobacilli (probiotics) has been shown to be effective in the treatment of bacterial vaginosis: longer treatments (1–3 months) have even been shown to be superior to antibiotics in recent meta-analyses [27]. Because *L. iners* indicates a transient microbiome, probiotic stabilization may be advisable in CST III, another individualized, therapeutically useful result of microbiome analysis. Other preclinical studies have demonstrated the anti-tumorigenic effects of probiotics [28]. In addition, there is also clinical evidence that probiotics promote the regression of CIN lesions [29].

Other studies have also demonstrated the efficacy of probiotics. These are mostly carbohydrates that support the growth of beneficial microorganisms in the vagina as selectively as possible. Examples are fructo-oligosaccharides (FOS) or gluco-oligosaccharides (GOS), which promote the growth of lactobacilli, whereas *G. vaginalis* cannot use these sugars as an energy source [30]. Intravaginally administered GOS significantly improved the Nugent score in BV patients after metronidazole administration [23].

An interesting perspective is offered by the administration of lactoferrin, a human peptide secreted on various mucous membranes. This molecule plays an important role in fighting off bacteria as well as numerous viruses. Interestingly, lactoferrin is also active against HPV [31]. An intravaginal application study demonstrated that the composition of the microbiome changes in BV patients: there is a decline in Gardnerella and Prevotella and an increase in Lactobacilli [32].

Indication for Analyzing the Microbiome

From a clinical point of view, there are two main indications for microbiome analysis, the aim being to reduce the cancer risk by restoring the cervicovaginal flora.

The first is a **persistently positive HPV test result**, which is detected during a screening examination with the co-test in women 35 years of age and older, in cases where neither a positive smear test nor a dysplastic or malignant lesion can be detected colposcopically and/or histologically. The goal is to downregulate HPV expression in the epithelium by normalizing (through eubiosis or lactobacillus dominance) the resident bacterial flora and to prevent new infection or the development of dysplastic epithelial changes.

At the same time, it is reasonable to undertake microbiome analysis in cases of HPV-induced **low-grade epithelial lesions or equivocal findings** in women under 35 years of age where surgical treatment by excision (“conization”) is not (yet) indicated. In such cases, the tendency of epithelial lesions to regress is high and current studies suggest that the elimination of existing dysbiosis is likely to have a positive preventive and protective effect. The curtailment of sometimes prolonged HPV persistence in the absence of histo- or cytomorphologic correlates, or the persistence of low-grade HPV-induced epithelial lesions may therefore shorten the surveillance period and the number of repeat colposcopies. This would improve the quality of life of the affected patients and save valuable resources for the healthcare system.

Conclusion

Persistent HPV is a necessary but not sufficient prerequisite for the development of cervical cancer. The dysbiotic shift in the vaginal microbiome appears to be a major co-factor in carcinogenesis. A systematic review of the literature and meta-analysis examined the association between cervicovaginal lactobacilli and genital high-risk HPV infections, CIN, and cervical cancer. Eleven studies with 1230 female patients were evaluated [33]. The results of this meta-analysis confirm the role of lactobacilli in preventing high-risk HPV infection and the resulting cervical preneoplasia and neoplasia.

Analysis of the vaginal microbiome by modern NGS methodology identifies the entire microbial community and the percentages of individual pathogens, which in turn assists with the selection of individualized therapy and may serve as a prophylactic measure against progressive cancerous epithelial transformation.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References/Literatur

- [1] Beckmann MW, Stübs FA, Koch MC et al. Diagnosis, therapy and follow-up of cervical cancer. Guideline of the DGGG, DKG and DKH (S3-level, AWMF registry No. 032/O330L, May 2021) – Part 1 with recommendations on epidemiology, screening, diagnostics and therapy. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2022; 82: 139–180. doi:10.1055/a-1671-2158
- [2] Wilting SM, Steenbergen RDM. Molecular events leading to HPV-induced high-grade neoplasia. *Papillomavirus Res* 2016; 2: 85–88. doi:10.1016/j.pvr.2016.04.003
- [3] Plummer M, Schiffman M, Castle PE et al. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis* 2007; 195: 1582–1589. doi:10.1086/516784
- [4] Guijon F, Paraskevas M, Rand F et al. Vaginal microbial flora as a cofactor in the pathogenesis of uterine cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet* 1992; 37: 185–191. doi:10.1016/0020-7292(92)90379-w
- [5] Mendling W. Die bakterielle Vaginose – nach 60 Jahren immer noch ein Rätsel. *Frauenarzt* 2017; 58: 225–228
- [6] Gillet E, Meys JFA, Verstraelen H et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e45201. doi:10.1371/journal.pone.0045201
- [7] Liang Y, Chen M, Qin L et al. A meta-analysis of the relationship between vaginal microecology, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Infect Agent Cancer* 2019; 14: 29. doi:10.1186/s13027-019-0243-8
- [8] Mendling W. Diagnostik und Therapie beim Symptom Fluor. *Frauenarzt* 2018; 59: 120–128
- [9] Curry KD, Wang Q, Nute MG et al. Emu: species-level microbial community profiling of full-length 16S rRNA Oxford Nanopore sequencing data. *Nat Methods* 2022; 19: 845–853. doi:10.1038/s41592-022-01520-4
- [10] Ravel J, Gajer P, Abdo Z et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 (Suppl 1): 4680–4687. doi:10.1073/pnas.1002611107
- [11] France MT, Ma B, Gajer P et al. VALENCIA: a nearest centroid classification method for vaginal microbial communities based on composition. *Microbiome* 2020; 8: 166. doi:10.1186/s40168-020-00934-6
- [12] Symul L, Jeganathan P, Costello EK et al. Sub-communities of the vaginal ecosystem in pregnant and non-pregnant women. *bioRxiv* 2022. doi:10.1101/2021.12.10.471327
- [13] Petrova MI, Reid G, Vanechoutte M et al. Lactobacillus iners: Friend or Foe? *Trends Microbiol* 2017; 25: 182–191. doi:10.1016/j.tim.2016.11.007
- [14] Lin D, Kouzy R, Jaoude JA et al. Microbiome factors in HPV-driven carcinogenesis and cancers. *PLoS Pathog* 2020; 16: e1008524. doi:10.1371/journal.ppat.1008524
- [15] Di Paolo M, Sani C, Clemente AM et al. Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk human papillomavirus infection. *Sci Rep* 2017; 7: 10200. doi:10.1038/s41598-017-09842-6
- [16] Brotman RM, Shardell MD, Gajer P et al. Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection. *J Infect Dis* 2014; 210: 1723–1733. doi:10.1093/infdis/jiu330
- [17] Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep* 2015; 5: 16865. doi:10.1038/srep16865
- [18] Usyk M, Zolnik CP, Castle PE et al. Cervicovaginal microbiome and natural history of HPV in a longitudinal study. *PLoS Pathog* 2020; 16: e1008376. doi:10.1371/journal.ppat.1008376
- [19] Piyathilake CJ, Ollberding NJ, Kumar R et al. Cervical microbiota associated with higher grade cervical intraepithelial neoplasia in women infected with high-risk human papillomaviruses. *Cancer Prev Res (Phila)* 2016; 9: 357–366. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-15-0350
- [20] Dai W, Du H, Li S et al. Cervicovaginal microbiome factors in clearance of human papillomavirus infection. *Front Oncol* 2021; 11: 722639. doi:10.3389/fonc.2021.722639
- [21] Witkin SS, Mendes-Soares H, Linhares IM et al. 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* 2013; 4: e00460–13. doi:10.1128/mBio.00460-13
- [22] Nunn KL, Wang YY, Harit D et al. Enhanced trapping of HIV-1 by human cervicovaginal mucus is associated with lactobacillus crispatus-dominant microbiota. *mBio* 2015; 6:e01084–15. doi:10.1128/mBio.01084-15
- [23] Mitra A, MacIntyre DA, Marches JR 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: 58. doi:10.1186/s40168-016-0203-0
- [24] Mitchell C, Marrazzo J. Bacterial vaginosis and the cervicovaginal immune response. *Am J Reprod Immunol* 2014; 71: 555–563. doi:10.1111/aji.12264
- [25] Paavonen J, Brunham RC. Bacterial vaginosis and desquamative inflammatory vaginitis. *N Engl J Med* 2018; 379: 2246–2254. doi:10.1056/NEJMra1808418
- [26] Cohen CR, Wierzbicki MR, French AL et al. Randomized trial of lactin-V to prevent recurrence of bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2020; 382: 1906–1915. doi:10.1056/NEJMoa1915254
- [27] Liu HF, Yi N. A systematic review and meta-analysis on the efficacy of probiotics for bacterial vaginosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2022; 26: 90–98. doi:10.26355/eurrev_202201_27752
- [28] Jahanshahi M, Dana PM, Badehnoosh B et al. Anti-tumor activities of probiotics in cervical cancer. *J Ovarian Res* 2020; 13: 68. doi:10.1186/s13048-020-00668-x
- [29] Verhoeven V, Renard N, Makar A et al. Probiotics enhance the clearance of human papillomavirus-related cervical lesions: a prospective controlled pilot study. *Eur J Cancer Prev* 2013; 22: 46–51. doi:10.1097/CEJ.0b013e328355ed23
- [30] Rousseau V, Lepargneur JP, Roques C et al. Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe* 2005; 11: 145–153. doi:10.1016/j.anaerobe.2004.12.002
- [31] Mistry N, Drobni P, Näslund J et al. The anti-papillomavirus activity of human and bovine lactoferrin. *Antiviral Res* 2007; 75: 258–265. doi:10.1016/j.antiviral.2007.03.012
- [32] Pino A, Giunta G, Randazzo CL et al. Bacterial biota of women with bacterial vaginosis treated with lactoferrin: an open prospective randomized trial. *Microb Ecol Health Dis* 2017; 28: 1357417. doi:10.1080/16512235.2017.1357417
- [33] Wang H, Ma Y, Li R et al. Associations of cervicovaginal lactobacilli with high-risk human papillomavirus infection, cervical intraepithelial neoplasia, and cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2019; 220: 1243–1254. doi:10.1093/infdis/jiz325

Dysbiotische Co-Faktoren des Zervixkarzinoms. Der Einfluss des Mikrobioms auf die Entstehung zervikaler intraepithelialer Neoplasien (CIN)

Dysbiotic Co-Factors in Cervical Cancer. How the Microbiome Influences the Development of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)




Autorinnen/Autoren

Patrick Finzer^{1,2}, Volkmar Küppers³, Henrik Griesser⁴

Institute

- 1 dus.ana Düsseldorf Analytik, Praxis für medizinische Mikrobiologie und Laboratoriumsmedizin, Düsseldorf, Germany
- 2 Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaus-hygiene, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany
- 3 Zytologisches Labor, Dysplasie-Sprechstunde, Praxis für Frauenheilkunde & Geburtshilfe, Düsseldorf, Germany
- 4 Fachabteilung Pathologie und Zytodiagnostik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln, Germany

Schlüsselwörter

vaginales Mikrobiom, HPV-Infektion, CIN-Läsionen

Key words

vaginal microbiome, HPV infection, CIN lesion

eingereicht 9.12.2022

akzeptiert nach Revision 20.2.2023

online publiziert 4.5.2023

Bibliografie

Geburtsh Frauenheilk

DOI 10.1055/a-2044-0162

ISSN 0016-5751


© 2023. The Author(s).

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany

Korrespondenzadresse

Priv.-Doz. Dr. Dr. med. Patrick Finzer
dus.ana Düsseldorf Analytik, Praxis für medizinische
Mikrobiologie und Laboratoriumsmedizin
Immermannstraße 65 A
40479 Düsseldorf, Germany
gyn@dus-ana.de

 English version at:
<https://doi.org/10.1055/a-2044-0162>.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Infektion mit humanen Papillomaviren (HPV) ist für die Entstehung des Zervixkarzinoms eine notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung. Die dysbiotische Verschiebung des zervikovaginalen Mikrobioms stellt offensichtlich einen wesentlichen Co-Faktor in der Karzinogenese dar. Neue Analysemethoden, wie das Next-Generation-Sequencing (NGS), erlauben die Bestimmung der Gesamtheit der vaginalen Mikroorganismen und damit die Ableitung individueller Therapieoptionen. Der Zusammenhang von bakterieller Vaginose und Karzinogenese sowie mögliche Indikationen für den Einsatz der Mikrobiom-Analyse werden diskutiert.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) infection is a necessary but not sufficient condition for the development of cervical cancer. The dysbiotic shift in the cervicovaginal microbiome appears to be a major co-factor in carcinogenesis. New analytical methods, such as next-generation sequencing (NGS), can be used to detect all of the vaginal microorganisms present and therefore identify individual therapeutic options. The relationship of bacterial vaginosis and carcinogenesis, as well as possible indications for the use of microbiome analysis, will be discussed.

Einleitung

Nach Einführung der organisierten Krebsfrüherkennung (oKFE) für das Zervixkarzinom („ZK“) in 2020 wird bei allen Frauen ab dem 35. Lebensjahr in einem 3-jährigen Intervall im Rahmen der Zervixkarzinomfrüherkennungsuntersuchung ein sogenannter Co-Test durchgeführt. Dies bedeutet, dass sowohl ein Zervixabstrichpräparat zytologisch begutachtet als auch eine Laboruntersuchung für den genetischen Nachweis der verschiedenen Hochrisiko-Typen des humanen Papillomavirus (HPV) durchgeführt wird. Bei den unter 35-jährigen Vorsorgeteilnehmerinnen erfolgt weiterhin das jährliche zytologische Screening. Bei allen Frauen mit dem zytologischen Befund einer höhergradigen Dysplasie oder dem Verdacht auf eine solche Dysplasie ist unabhängig vom HPV-Testergebnis eine kolposkopische Abklärungsuntersuchung vorgeschrieben; in diesem Rahmen erfolgt in der Mehrzahl der Fälle auch eine Gewebentnahme von der Zervix für die histologische Befunderhebung [1].

Genetisches Material insbesondere von Hochrisiko-HPV-Typen ist in fast allen Fällen eines Zervixkarzinoms im Tumorgewebe nachweisbar. Die HPV vermittelte Karzinogenese wird dabei vor allem durch die beiden viralen Onkoproteine E6 und E7 induziert. Diese treiben die infizierten Zellen in den unregelmäßigen Zellzyklus und erzeugen eine Zellvermehrung mit Akkumulation genetischer Aberrationen im Epithel [2].

Eine HPV-Infektion ist jedoch für die Entstehung des Zervixkarzinoms nicht ausreichend, denn über 90% dieser Infektionen sind transient und bilden sich von selbst zurück („Clearance“) [3]. Offensichtlich bedarf es weiterer Faktoren, damit im infizierten Epithel ein Karzinom oder eine Karzinomvorstufe entsteht. Eine wichtige Voraussetzung ist die jahrelange Persistenz der HPV-Infektion in den Schleimhautepithelien. In den letzten Jahren hat sich das Mikrobiom als ein weiterer wichtiger Faktor für die Persistenz von HPV-Infektionen und die Entstehung von zervikal-intraepithelialen Neoplasien (CIN) erwiesen.

Die Bestimmung des vaginalen Mikrobioms ist daher – neben der Testung auf HPV – bei bestimmten klinischen Fragestellungen und Befundkonstellationen im Rahmen der Zervixkarzinom-Vorsorgeuntersuchungen sinnvoll.

Die bakterielle Vaginose begünstigt HPV-Infektionen und CIN-Läsionen

Schon seit Längerem ist bekannt, dass auffällige zytologische Befunde vermehrt bei Frauen mit gestörter Vaginalflora nachweisbar sind [4], was auf einen Zusammenhang von bakterieller Vaginose (BV) und der Entstehung des Zervixkarzinoms hindeutet. Dabei führt die Störung des vaginalen Milieus in etwa der Hälfte der Fälle zu Symptomen wie ammoniakalisch riechendem Ausfluss und Entzündungszeichen wie Rötung, Jucken und Brennen. Es finden sich ein erhöhter vaginaler pH und charakteristische „Clue-cells“ im Abstrichpräparat [5]. Die BV ist die häufigste vaginale Erkrankung der Frauen im gebärfähigen Alter und kann mit gynäkologischen und geburtshilflichen Komplikationen einhergehen, zum Beispiel die Ausbreitung der Entzündung auf den oberen Genitaltrakt („Pelvic Inflammatory Disease [PID]“), Zervizitis, Frühgeburten und Chorioamnionitis.

Ogleich wissenschaftliche Studien unterschiedliche Kriterien zur Diagnose einer BV verwenden, zeigen dennoch mehrere Metaanalysen einen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem Auftreten bakterieller Vaginosen und CIN-Läsionen [6, 7]. Darüber hinaus bestätigt sich auch, dass die Prävalenz von HPV bei Frauen mit einer BV signifikant höher war als bei Frauen ohne diese Erkrankung [7].

Neue technische Möglichkeiten

Der Nachweis einer BV ist nicht immer einfach. Neben der Mikroskopie spielt die Anzucht potenzieller Keime traditionell eine große Rolle, um gegebenenfalls einen Keimnachweis mit antibiotischer Austestung (Empfindlichkeitstestung) zu erhalten [8].

Jedoch sind nicht alle Keime, die mit einer BV einhergehen, auf üblichen Kulturmedien anzüchtbar. Deshalb lassen sich relevante Mikroorganismen der bakteriellen Vaginose, wie beispielsweise *Atopobium* oder *Mobiluncus*, üblicherweise nicht nachweisen. Diese Keime müssen durch eine molekulargenetische Analyse nachgewiesen werden, etwa mittels einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

Hinzu kommt, dass in der konventionellen medizinischen Mikrobiologie die Mikroorganismen mit dem Ziel angezüchtet werden, aus der mikrobiellen Gemeinschaft möglichst einen – oder mehrere – potenziell pathogene Erreger zu isolieren. Das Wachstum der übrigen Mikroben wird dabei durch die verwendeten selektiven Medien bewusst unterdrückt. Dabei gehen Informationen über andere Keime, etwa zu den protektiv wirkenden *Lactobacillus*-Spezies, meist verloren.

Anzucht und PCR liefern jedoch in keinem Fall Informationen zur relativen quantitativen Zusammensetzung der Schleimhautflora, also des Mikrobioms. Dies ist nur möglich durch Einsatz des Next-Generation-Sequencings (NGS), bei dem Gene aller gegebenen Mikroorganismen gleichzeitig sequenziert werden können. Hierfür werden die gewonnenen mikrobiellen Gensequenzen mit umfangreichen Datenbanken abgeglichen, wodurch der prozentuale Anteil („Abundanz“) einzelner Spezies bestimmt werden kann [9].

Das vaginale Mikrobiom

NGS-Daten zur Untersuchung des vaginalen Mikrobioms ergaben, dass sich dieses in sogenannten „Community State Types“ (CST) organisiert [10]. Dabei werden 4 CSTs von einzelnen *Lactobacillus*-Spezies dominiert: *L. crispatus* (CST I), *L. gasseri* (CST II), *L. iners* (CST III) und *L. jensenii* (CST V). *L. crispatus*-Dominanz geht beispielsweise einher mit einem gesunden vaginalen Mikrobiom, hoher Produktion von Lactat und der Bildung protektiver Peptide.

Der CST IV zeichnet sich hingegen durch den weitgehenden Verlust von *Lactobacillus* aus, wobei zumeist anaerobe Bakterien wie *Gardnerella*, *Atopobium*, *Mobiluncus* oder *Prevotella* in größeren Anteilen bzw. dominierend nachweisbar sind. Dadurch wird das Mikrobiom vielfältiger bzw. diverser, d.h., die *Lactobacillus* verschwinden oder verlieren ihre Dominanz und werden durch zahlreiche andere Bakterien-Spezies ersetzt. Diese Zunahme der Diversität lässt sich mathematisch berechnen und wird als alpha-Diversität oder Shannon-Index angegeben.

► **Tab. 1** Differenzierung des Community State Type (CST) IV, nach „Valencia“ [11].

CST IV-A: hohe/moderate relative Abundanz von *G. vaginalis* u. BVAV1*

CST IV-B: hohe/moderate relative Abundanz von *G. vaginalis* und *A. vaginae*

CST IV-C: niedrige relative Abundanz von *G. vaginalis*, BVAV1* und *Lactobacillus* spp. und
 C0: relativ ähnlicher Anteil von *Prevotella* spp.
 C1: dominiert von *Streptococcus* spp.
 C2: dominiert von *Enterococcus* spp.
 C3: dominiert von *Bifidobacterium* spp.
 C4: dominiert von *Staphylococcus* spp.

* BVAV1: Bacterial Vaginosis Associated Bacterium 1

In neueren Untersuchungen wird diese medizinisch bedeutende Gruppe weiter unterteilt in A–C, je nach vorherrschender Keimkonstellation, wobei von noch deutlich mehr Untergruppen ausgegangen werden kann [11, 12] – siehe ► **Tab. 1**.

Der Verlust der *Lactobacillus*-Dominanz signalisiert eine medizinisch relevante Fehlbesiedelung bzw. Dysbiose, denn die Gruppe IV geht auch mit einem veränderten vaginalen pH und einem erhöhten Nugent-Score als Hinweis auf das Vorliegen einer bakteriellen Vaginose einher [10].

Auch CST III ist medizinisch bedeutsam, da *L. iners* einige Besonderheiten aufweist: er produziert nur geringe Mengen von Lactat und offensichtlich wenig bis keine protektiven Peptide. Deswegen wird er auch als „vergifteter Apfel“ bezeichnet, der zumeist auf ein Mikrobiom des Überganges hinweist: aus einer Dysbiose bzw. CST IV heraus oder in diese hinein [13].

Als wesentlicher Faktor für die Veränderung des Besiedlungstyps gilt der menstruelle Zyklus: während der Ovulation ist die CST-Stabilität am größten, wohingegen sie mit der Menstruation am stärksten abnimmt. Darüber hinaus ist die sexuelle Aktivität ein Faktor für eine Mikrobiom-Änderung, ebenso wie das Hygieneverhalten (alkalische Seifen etc.).

Dysbiotische Faktoren für Viruspersistenz und Entstehung von CIN-Läsionen

Der bereits beschriebene Zusammenhang von Dysbiose bzw. BV und HPV-Infektion bzw. zervikaler intraepithelialer Neoplasie (CIN) wurde inzwischen durch zahlreiche fundierte NGS-Studien untermauert und präzisiert [6, 14].

Lactobacillus-Dominanz geht offensichtlich mit einer natürlichen Clearance von HPV einher. Dabei wird vornehmlich *L. crispatus* gefunden [15]. In einer longitudinalen Studie zeigte auch *L. gasseri* eine erhöhte Clearance von HPV [16]. Ein *Lactobacillus*-dominiertes Mikrobiom zeigte in einer Follow-up-Studie auch eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass CIN2-Läsionen sich zurückbildeten; eine langsamere Rückbildung wurde bei *Lactobacillus*-Verlust festgestellt, typischerweise mit Zunahme von BV-Keimen [17]. Dominanz von *L. crispatus* zeigte dabei die schnellste Regression von CIN-Läsionen [17]. Während *Lactobacillen* also protektiv wirken, gehen *Gardnerella* und eine erhöhte mikrobielle Diversität

mit einer CIN2-Progression einher [18]. *L. iners* bildet hingegen unter den *Lactobazillen* eine Ausnahme: er wurde bei HPV-positiven Frauen und bei Frauen mit Dysplasien vermehrt gefunden [19].

Sowohl für die HPV-Infektion und -Persistenz als auch Entstehung und Fortschreiten der CIN-Läsionen weist das vaginale Mikrobiom also ein typisches Muster auf, das dem der bakteriellen Vaginose ähnelt: Verlust der *Lactobacillus*-Dominanz, Zunahme der mikrobiellen Diversität mit dem Nachweis typischer anaerober Bakterien (CST IV) [17]; darüber hinaus ist auch *L. iners* (CST III) mit der Entstehung von CIN-Läsionen vergesellschaftet [19], möglicherweise auch deshalb, weil er ein transitorisches Mikrobiom anzeigt, das in den CST IV übergehen kann [13].

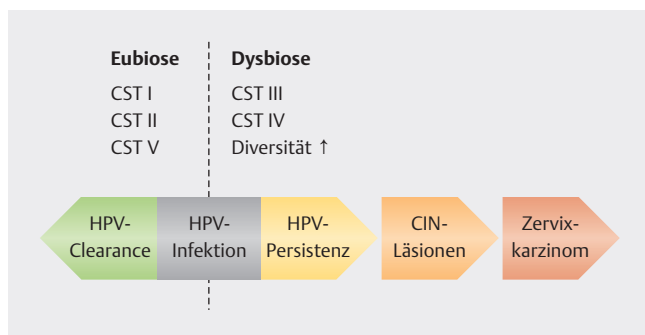
Potenzielle Mechanismen des vaginalen Mikrobioms bei der viralen Infektion und der Entstehung der CIN-Läsionen

Die Komplexität des zervikovaginalen Mikroenvironments bei der HPV-Infektion bzw. CIN-Läsion wird nicht nur durch das lokale Mikrobiom bestimmt, sondern auch durch ein Zusammenspiel mit den epithelialen und immunologischen Abwehrreaktionen der Patientin.

Lactobazillen produzieren zahlreiche protektive Peptide und Stoffwechselprodukte. Im Vordergrund steht die Milchsäure (Lactat), die durch Verstoffwechslung von Glykogen produziert wird. Diese hemmt die Anheftung und das Wachstum pathogener Bakterien, besonders der BV-assoziierten Keime [20]. Produziert werden die Isomere D- bzw. L-Lactat; die D-Form wird dabei im Wesentlichen von *L. crispatus*, *L. jensenii*, und *L. gasseri* hergestellt, wohingegen die L-Form von *L. iners* und anaeroben Keime produziert wird. Bei Patientinnen mit vorherrschender *L. iners*-Besiedelung überwiegt somit das L-Lactat, was zur Aktivierung der Metalloproteinase 8 (MMP8) führt und dadurch die Aufnahme von HPV in die basalen Keratinozyten erleichtert [21]. Herrscht *L. crispatus* hingegen vor, nimmt die Viskosität des zervikovaginalen Mukus zu, was wiederum die Anheftung der HP-Viren daran fördert [20, 22].

Weitere Faktoren, die von *Lactobazillen* zur Abwehr pathogener Bakterien exprimiert werden, sind bakteriozid und bakterio-statisch wirkende Peptide. Bacteriocin beispielsweise zeigt eine hemmende Wirkung auf typische pathogene Keime, insbesondere *Gardnerella vaginalis* [20]. Hydrogenperoxid (H₂O₂) greift Bakterien wie beispielsweise *Prevotella* und *Gardnerella* an, die selbst keine protektiven Enzyme produzieren, um dieses Molekül zu degradieren. Solche Mechanismen sorgen also für den Schutz des zervikalen Epithels und verhindern den Zugang von Pathogenen wie HPV zu den basalen Keratinozyten [23].

Durch den Rückgang der *Lactobazillen* im Rahmen einer bakteriellen Vaginose bzw. CST IV werden nicht nur pathogene anaeroben Bakterien vorherrschend, sondern es kommen auch die genannten Abwehrmechanismen (Lactat, Bacteriocin etc.) zum Erliegen. Dadurch können pathogene Mikroorganismen das Epithel kolonisieren und eine Entzündung mit Synthese proinflammatorischer Zytokine begünstigen [24]. Auf diese Weise wird die Integrität des Epithels geschädigt und die Empfänglichkeit einer HPV-



► **Abb. 1** Schematische Darstellung des Einflusses der dysbiotischen Fehlbesiedelung auf die HPV-Infektion, CIN-Progression und Entstehung des Zervixkarzinoms. Während das normale Lactobazillus-dominierte vaginale Mikrobiom (CST I, II und V – „Eubiose“) die Clearance der HPV-Infektion ermöglicht, hängt der Verlust der Lactobacillus-Dominanz (CST IV) – und Zunahme der Diversität – bzw. die Dominanz mit *L. iners* (CST III) mit der Persistenz von HPV, der Entstehung und Progredienz von CIN-Läsionen sowie der Entstehung von Zervixkarzinomen zusammen.

Infektion deutlich erhöht; das Fortbestehen der Entzündung begünstigt also die HPV-Persistenz. Wird die begleitende Entzündung chronisch, ermöglicht dies die Entstehung und Persistenz von CIN-Läsionen und begünstigt deren Fortschreiten. Die Entstehung des Zervixkarzinoms wird dabei offensichtlich von einer gleichartigen dysbiotischen Mikrobiom-Verschiebung begleitet wie die Entstehung der CIN-Läsionen [14] – siehe ► **Abb. 1**.

Ableitung einer Individualisierten Therapie

Die Mikrobiom-Analytik erlaubt nicht nur die Bestimmung einer möglichen Dysbiose, sondern auch die Ableitung einer individualisierten Therapie.

Bei hochgradigen Dysbiosen bzw. bakteriellen Vaginosen ist eine antibiotische Therapie oftmals angeraten [25]. Diese lässt sich entsprechend dem vorherrschenden Keimspektrum (siehe ► **Abb. 1**) modifizieren. Die Mikrobiom-Analyse liefert – im Gegensatz zur klassischen Mikrobiologie – Angaben zu den prozentualen Anteilen einzelner Keime: eine Gardnerella-Dominanz wird demzufolge antibiotisch anders behandelt als der hochabundante Nachweis von Enterokokken.

Die antibiotische Therapie ist jedoch mit einer hohen Rückfallquote behaftet [25]. Die Gabe von *L. crispatus* nach antibiotischer Behandlung mit Metronidazol kann das Wiederauftreten der bakteriellen Vaginose signifikant reduzieren [26]. Daher gilt die Wiederherstellung bzw. Normalisierung des vaginalen Mikrobioms als aussichtsreiche Strategie. Die Gabe lebender vaginaler Lactobazillen (Probiotika) hat sich als wirksam in der Therapie der bakteriellen Vaginose erwiesen: Längere Behandlungen (1–3 Monate) zeigen sich sogar in aktuellen Metaanalysen der Antibiose überlegen [27]. Da *L. iners* ein transitorisches Mikrobiom anzeigt, kann bei CST III eine probiotische Stabilisierung ratsam sein, ein weiteres individualisiertes, therapeutisch nutzbares Ergebnis der Mikrobiom-Analyse. In weiteren präklinischen Studien wurden antitumorogene Aktivitäten von Probiotika gezeigt [28]. Es gibt darüber hinaus

auch klinische Hinweise, dass Probiotika die Rückbildung von CIN-Läsionen begünstigen [29].

Darüber hinaus konnte in weiteren Studien die Wirksamkeit von Präbiotika gezeigt werden. Dies sind zumeist Kohlenhydrate, die möglichst selektiv das Wachstum von günstigen Mikroorganismen in der Vagina unterstützen. Beispiele dafür sind Fructo-Oligosaccharide (FOS) oder Gluco-Oligosaccharide (GOS), die das Wachstum von Lactobazillen begünstigen, wohingegen *G. vaginalis* diese Zucker nicht als Energiequelle nutzen kann [30]. Intravaginal gegebenes GOS erbrachte bei BV-Patientinnen nach Metronidazol-Gabe eine deutliche Verbesserung des Nugent-Scores [23].

Eine interessante Perspektive eröffnet die Gabe von Lactoferrin, ein humanes Peptid, das auf unterschiedlichen Schleimhäuten des Körpers sezerniert wird. Dieses Molekül spielt bei der Abwehr von Bakterien, aber auch zahlreichen Viren, eine wichtige Rolle. Interessanterweise besitzt Lactoferrin auch Aktivität gegen HPV [31]. In einer intravaginalen Anwendungsstudie konnte gezeigt werden, dass sich die Mikrobiom-Komposition bei BV-Patienten ändert: Rückgang von Gardnerella und Prevotella und Zunahme von Lactobazillen [32].

Indikation zur Bestimmung des Mikrobioms

Aus klinischer Sicht bestehen 2 Hauptindikationen für eine Bestimmung des Mikrobioms mit dem Ziel einer Senkung des Krebsrisikos durch Sanierung der zervikovaginalen Flora.

Einerseits ist dies ein **persistierend positiver HPV-Test-Befund**, der im Rahmen der Vorsorgeuntersuchung mit dem Co-Test bei Frauen ab dem 35. Lebensjahr festgestellt wurde, in den Fällen, in denen weder ein positiver Abstrichbefund nachgewiesen noch eine dysplastische oder malignitätsverdächtige Läsion kolposkopisch und/oder histologisch nachgewiesen werden kann. Das Ziel ist es, durch die Normalisierung (Eubiose bzw. Lactobazillus-Dominanz) der ortsständigen bakteriellen Flora eine Bewältigung der HPV-Manifestation im Epithel zu begünstigen und einer Neuinfektion oder Entstehung dysplastischer Epithelveränderungen vorzubeugen.

Andererseits besteht ein sinnvoller Ansatz der Mikrobiom-Analyse bei Fällen, in denen HPV-induzierte, **niedriggradige Epithelläsionen oder zweifelhafte Befunde** bei Frauen vor dem 35. Lebensjahr festgestellt werden und die Indikation zu einer operativen Sanierung durch eine Exzision („Konisation“) nicht oder noch nicht induziert ist. In derartigen Fällen ist die Rückbildungstendenz epithelialer Läsionen hoch und eine positive präventive und protektive Wirkung durch die Beseitigung einer bestehenden Dysbiose nach aktueller Studienlage wahrscheinlich. Die Verkürzung zum Teil langdauernder HPV-Persistenzen bei fehlendem histo- oder zytomorphologischem Korrelat bzw. die Persistenz niedriggradiger HPV-induzierter Epithelläsionen kann somit die Dauer der Kontrolluntersuchungen und Anzahl der wiederholt notwendigen, kolposkopischen Kontrollen verkürzen. Für die betroffenen Patientinnen würde dies ein Gewinn von Lebensqualität und für das Gesundheitssystem die Einsparung wertvoller Ressourcen bedeuten.

Schlussfolgerung

Die Persistenz von HPV ist notwendig für die Entstehung des Zervixkarzinoms, aber nicht ausreichend. Die dysbiotische Verschiebung des vaginalen Mikrobioms stellt offensichtlich einen wesentlichen Co-Faktor in der Karzinogenese dar. In einer systematischen Aufarbeitung der Literatur und einer Metaanalyse wurde die Assoziation von zervikovaginalen Lactobazillen mit genitalen High-Risk-HPV-Infektionen, einer CIN und eines Zervixkarzinoms untersucht. Es wurden 11 Studien mit 1230 Patientinnen ausgewertet [33]. Die Ergebnisse dieser Metaanalyse bestätigen die protektive Bedeutung von Lactobazillen beim Schutz vor einer Infektion mit High-Risk-HPV und den dadurch verursachten Präneoplasien und Neoplasien der Zervix.

Die Analyse des vaginalen Mikrobioms durch die moderne NGS-Methodik erfasst die gesamte mikrobielle Gemeinschaft und deren prozentualen Anteil, was zur Ableitung einer individuellen Therapie beiträgt und zur Prophylaxe einer progressiven karzinogenen Epitheltransformationen dienen kann.

Interessenkonflikt

Die Autorinnen/Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

References/Literatur

- [1] Beckmann MW, Stübs FA, Koch MC et al. Diagnosis, therapy and follow-up of cervical cancer. Guideline of the DGGG, DKG and DKH (S3-level, AWMF registry No. 032/O33OL, May 2021) – Part 1 with recommendations on epidemiology, screening, diagnostics and therapy. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2022; 82: 139–180. doi:10.1055/a-1671-2158
- [2] Wilting SM, Steenbergen RDM. Molecular events leading to HPV-induced high-grade neoplasia. *Papillomavirus Res* 2016; 2: 85–88. doi:10.1016/j.pvr.2016.04.003
- [3] Plummer M, Schiffman M, Castle PE et al. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis* 2007; 195: 1582–1589. doi:10.1086/516784
- [4] Guijon F, Paraskevas M, Rand F et al. Vaginal microbial flora as a cofactor in the pathogenesis of uterine cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet* 1992; 37: 185–191. doi:10.1016/0020-7292(92)90379-w
- [5] Mendling W. Die bakterielle Vaginose – nach 60 Jahren immer noch ein Rätsel. *Frauenarzt* 2017; 58: 225–228
- [6] Gillet E, Meys JFA, Verstraelen H et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e45201. doi:10.1371/journal.pone.0045201
- [7] Liang Y, Chen M, Qin L et al. A meta-analysis of the relationship between vaginal microecology, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Infect Agent Cancer* 2019; 14: 29. doi:10.1186/s13027-019-0243-8
- [8] Mendling W. Diagnostik und Therapie beim Symptom Fluor. *Frauenarzt* 2018; 59: 120–128
- [9] Curry KD, Wang Q, Nute MG et al. Emu: species-level microbial community profiling of full-length 16S rRNA Oxford Nanopore sequencing data. *Nat Methods* 2022; 19: 845–853. doi:10.1038/s41592-022-01520-4
- [10] Ravel J, Gajer P, Abdo Z et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 (Suppl 1): 4680–4687. doi:10.1073/pnas.1002611107
- [11] France MT, Ma B, Gajer P et al. VALENCIA: a nearest centroid classification method for vaginal microbial communities based on composition. *Microbiome* 2020; 8: 166. doi:10.1186/s40168-020-00934-6
- [12] Symul L, Jeganathan P, Costello EK et al. Sub-communities of the vaginal ecosystem in pregnant and non-pregnant women. *bioRxiv* 2022. doi:10.1101/2021.12.10.471327
- [13] Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M et al. *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? *Trends Microbiol* 2017; 25: 182–191. doi:10.1016/j.tim.2016.11.007
- [14] Lin D, Kouzy R, Jaoude JA et al. Microbiome factors in HPV-driven carcinogenesis and cancers. *PLoS Pathog* 2020; 16: e1008524. doi:10.1371/journal.ppat.1008524
- [15] Di Paolo M, Sani C, Clemente AM et al. Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk human papillomavirus infection. *Sci Rep* 2017; 7: 10200. doi:10.1038/s41598-017-09842-6
- [16] Brotman RM, Shardell MD, Gajer P et al. Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection. *J Infect Dis* 2014; 210: 1723–1733. doi:10.1093/infdis/jiu330
- [17] Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep* 2015; 5: 16865. doi:10.1038/srep16865
- [18] Usyk M, Zolnik CP, Castle PE et al. Cervicovaginal microbiome and natural history of HPV in a longitudinal study. *PLoS Pathog* 2020; 16: e1008376. doi:10.1371/journal.ppat.1008376
- [19] Piyathilake CJ, Ollberding NJ, Kumar R et al. Cervical microbiota associated with higher grade cervical intraepithelial neoplasia in women infected with high-risk human papillomaviruses. *Cancer Prev Res (Phila)* 2016; 9: 357–366. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-15-0350
- [20] Dai W, Du H, Li S et al. Cervicovaginal microbiome factors in clearance of human papillomavirus infection. *Front Oncol* 2021; 11: 722639. doi:10.3389/fonc.2021.722639
- [21] Witkin SS, Mendes-Soares H, Linhares IM et al. 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* 2013; 4: e00460–13. doi:10.1128/mBio.00460-13
- [22] Nunn KL, Wang YY, Harit D et al. Enhanced trapping of HIV-1 by human cervicovaginal mucus is associated with *Lactobacillus crispatus*-dominant microbiota. *mBio* 2015; 6–e01084–15. doi:10.1128/mBio.01084-15
- [23] Mitra A, MacIntyre DA, Marches JR 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: 58. doi:10.1186/s40168-016-0203-0
- [24] Mitchell C, Marrazzo J. Bacterial vaginosis and the cervicovaginal immune response. *Am J Reprod Immunol* 2014; 71: 555–563. doi:10.1111/aji.12264
- [25] Paavonen J, Brunham RC. Bacterial vaginosis and desquamative inflammatory vaginitis. *N Engl J Med* 2018; 379: 2246–2254. doi:10.1056/NEJMra1808418
- [26] Cohen CR, Wierzbicki MR, French AL et al. Randomized trial of lactin-V to prevent recurrence of bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2020; 382: 1906–1915. doi:10.1056/NEJMoa1915254
- [27] Liu HF, Yi N. A systematic review and meta-analysis on the efficacy of probiotics for bacterial vaginosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2022; 26: 90–98. doi:10.26355/eurrev_202201_27752

- [28] Jahanshahi M, Dana PM, Badehnoosh B et al. Anti-tumor activities of probiotics in cervical cancer. *J Ovarian Res* 2020; 13: 68. doi:10.1186/s13048-020-00668-x
- [29] Verhoeven V, Renard N, Makar A et al. Probiotics enhance the clearance of human papillomavirus-related cervical lesions: a prospective controlled pilot study. *Eur J Cancer Prev* 2013; 22: 46–51. doi:10.1097/CEJ.0b013e328355ed23
- [30] Rousseau V, Lepargneur JP, Roques C et al. Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe* 2005; 11: 145–153. doi:10.1016/j.anaerobe.2004.12.002
- [31] Mistry N, Drobni P, Näslund J et al. The anti-papillomavirus activity of human and bovine lactoferricin. *Antiviral Res* 2007; 75: 258–265. doi:10.1016/j.antiviral.2007.03.012
- [32] Pino A, Giunta G, Randazzo CL et al. Bacterial biota of women with bacterial vaginosis treated with lactoferrin: an open prospective randomized trial. *Microb Ecol Health Dis* 2017; 28: 1357417. doi:10.1080/16512235.2017.1357417
- [33] Wang H, Ma Y, Li R et al. Associations of cervicovaginal lactobacilli with high-risk human papillomavirus infection, cervical intraepithelial neoplasia, and cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2019; 220: 1243–1254. doi:10.1093/infdis/jiz325