



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
КАТЕДРА ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
СБАЛАГ „МАЙЧИН ДОМ“

Д-Р САШО ИВАНОВ ГЕОРГИЕВ

ПРОУЧВАНЕ ЧЕСТОТАТА, РАЗПРЕДЕЛЕНИЕТО НА
ТИПОВЕТЕ И КЛИНИЧНИ ПРОМЕНИ ПРИ НРV
ИНФЕКЦИЯ ПО ВРЕМЕ НА БРЕМЕННОСТ

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане
на образователна и научна степен «ДОКТОР»

Област на висше образование: Здравеопазване и спорт

Професионално направление: Медицина

Научна специалност: Акушерство и гинекология

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:
ПРОФ. Д-Р ВИКТОР ЗЛАТКОВ, ДМ

София / 2017 г.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АФ	Алкална фосфатаза
ДНК	Дезокси рибонуклеинова киселина
ГГТП	Гама-глутамилтранспептидаза
ИХХ	Имуно хистохимия
К.б.	Кило бази
НК	Нуклеинова киселина
ППОМ	Преждевременно пукнат околоплоден мехур
РМШ	Рак на маточната шийка
РНК	Рибонуклеинова киселина
СГОТ	серумна глутамин оксо ацил трансфераза
СГПТ	серумна глутаминова пируват трансминаза
СЗО	Световна здравна организация
СУЕ	Скорост утаяване на еритроцити
IL 12	Интралевкин 12
Ig A	Имуноглобулин А
EDTA	Етилендиамин тетраоцетна киселина
CIN	Целвикална интерепителна неоплазия
CIS	Carcinoma in situ
HPV	Human papilloma virus
HSIL	High-grade squamous intraepithelial lesion
ISH	In situ хибридизация
LSIL	Low-grade squamous intraepithelial lesion
PCR	Полимеразна верижна реакция
TP53	Tumor protein 53 gene

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Човешкият папилома вирус (HPV) се счита за един от най-широко разпространените човешки вируси сред сексуално активното население на планетата.

До момента се съобщава за около 200 различни типа HPV, от които над 60-70 засягат гениталния тракт /129, 69, 80/. Приема се, че около 16% от световната популация е носителка на HPV. Съгласно едно проучване на K.J Syrjanen /156/ близо 80% от жените са изложени на риск от HPV инфекция. Последниците от инфекция с HPV са свързани с доброкачествени и злокачествени заболявания при жените и по-рядко при мъжете /51/. Отделните типове показват различна вирулентност. Основно се разделят на **високо рискови** (16, 18, 31, 45, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 и др.) и **ниско рискови** (1, 2, 4, 6, 8, 10, 11, 42, 44, 53, 58 и др.).

Бременността, явяваща се като временно имуносупресирано състояние на организма, представлява особен интерес за проучване на развитието и последствията от генитална HPV инфекция, тъй като съществува вероятност за HPV индуцирани клинични усложнения при протичане на бременността и раждането, както и риск от предаване на инфекцията от майката на плода. Установено е, че при бременните жени честота на HPV инфекция е по-висока отколкото при небременните и варира от 5.5% до 65% /106/.

Цервикалната инфекция на бременни с високорискови HPV типове се асоциира с възникване на предракови интраепителни неоплазии, аномалии в плацентата, преждевременно раждане и спонтанни аборти в първия и втория триместър от бременността /173/.

Физиологичните промени, които настъпват в организма на майката по време на бременността, като имунологични и хормонални изменения, създават условия за модулиране на вирусните нива и повлияване хода на HPV инфекцията, като улесняват растежа, развитието или повторната поява на лезии и/или генитални брадавици. По време на бременността гениталните кондилومي имат склонност към нарастване и могат да достигнат значителни размери поради засилена васкуларизация и хормонални и имунологични изменения, които могат дори да доведат до създаване на механична обструкция на родовия канал /55/.

Други актуални въпроси касаят скрининговите програми при бременните целящи да идентифицират HPV позитивните бременни и да

проследят статуса на инфекцията, усложнения на бременността, вертикалната трансмисия на HPV инфекция от майката на плода и други. Значителният дял на разпространение на HPV инфекция сред бременни е показателно за необходимостта за провеждане на скрининг с цел превенция на възникване на малигнени състояния на маточната шийка /112/.

До сега не са правени системни проучвания за честотата на HPV инфекция, разпределението на вирусните типове и индуцираните клинични промени при бременни. Липсват сведения за общото разпределение на HPV сред българската популация, а данните за разпределение на типовете HPV са твърде ограничени, въпреки че в България е установена една от най-високите честоти на разпространение на рак на шийката на матката в Европейския съюз.

За да се намали вероятността от възникване на усложнения от HPV инфекция по време на бременността, както и риска от вертикална вирусна трансмисия при новородените, е необходимо провеждането на задълбочени изследвания за разпространението и последствията от HPV инфекция при български пациентки. **Интересни въпроси с противоречиви отговори в някои от досегашните проучвания в литературата са:**

- Кои са основните фактори водещи до по-висок риск за предаване и разпространение на инфекцията с HPV?
- Кои са преобладаващите високо рискови типове HPV сред българските пациентки по време на бременност?
- Какви са диагностичните възможности на класическите и съвременните методи за откриване на HPV инфекция?.
- Каква е честотата на персистенция или елиминиране на HPV инфекция при бременната след нейното проследяване в постпарталния период?
- Има ли доказателства за вирусна HPV трансмисия от майката на плода?

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел на настоящия дисертационен труд е: С ПОМОЩТА НА СЪВРЕМЕННИ ДИАГНОСТИЧНИ МЕТОДИ ДА ПРОУЧИМ РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО И КЛИНИЧНАТА ЗНАЧИМОСТ НА ОСНОВНИТЕ РИСКОВИ ТИПОВЕ НА HPV ИНФЕКЦИЯТА НА МАТОЧНАТА ШИЙКА ПРИ БРЕМЕННИ ЖЕНИ.

За изпълнението на тази цел си поставихме **задачи**:

1. Да анализираме проучените анамнестични, клинични и лабораторни данни за здравното състояние на изследваните пациентки.
2. Да сравним тежестта на цитологичните, колпоскопските и хистологични находки на маточната шийка по време и 6-8 седмици след приключване на бременността.
3. Оценка динамиката на HPV статус на изследваните пациентки.
4. Да изследваме за наличие на вертикална трансмисия на HPV инфекция от майка на новородено.
5. Да проучим клиничната значимост на цитологичното и колпоскопско изследване с HPV статуса на маточната шийка по време и след приключване на бременността
6. Да предложим алгоритъм на поведение при бременни с HPV инфекция.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. КЛИНИЧЕН МАТЕРИАЛ

Проучването включва 227 бременни жени (между 18 и 49 г.) и 54 новородени. Бременните и родилите жени бяха предварително уведомени за целите на изследването и са дали устно съгласие. Материалът е събран за период от 2010 г. до 2016 год. на база преминали пациентки през МЦ „Майчин дом“, като бременностите бяха проследявани в СБАЛАГ „Майчин дом“.

Всички изследвани бременни жени, на базата използвания набор от HPV типове бяха разделени на ДВЕ основни групи:

- HPV (+) пол. пациентки с начална бременност - 87 жени, от тях 87, явили се на контролен преглед средно 6-8 седмици след приключване на бременността, и
- HPV (-) отр. пациентки с начална бременност – 140 жени, от тях 140, проконтролирани за същи период след завършване на бременността, които са приети за контролна група.

По време на проучването, от по-горе обособените групи се обособиха в зависимост от приложените допълнителни изследвания, следните подгрупи:

1. Клинично-лабораторни изследвания:
 - а. Анамнеза и гинекологичен статус – при всички изследвани жени
 - б. Лабораторен минимум при 227 жени.
2. Цитологичното изследване на маточната шийка (Pap-тест): при 227 пациентки (от тях 227 бременни и при 227 небременни (поспартум)).
3. Колпоскопска оценка: при 227 пациентки (от тях 227 бременни и 227 след приключване на бременността).
4. Хистологично изследване (след прицелна биопсия и конизация): при 7 жени (от тях 1 бременна и 6 жени след бременност).
5. От групата на родилите HPV позитивните жени, допълнително се изследваха 54 новородени за HPV носителство на базата използвания набор от китове.

2. МЕТОДИ

Представената разработка е осъществена с помощта на клинични, икономоскопски, инструментални, лабораторни, морфологични, вирусологични и статистически методи.

Гинекологична анамнеза и статус

В рамките на клиничното проучване беше отделено внимание на следните данни:

- възраст на пациентката
- паритет: брой на раждания и аборти
- срок на аменореята или фазата на цикъла
- субективни оплаквания за генитален флуор и кървене
- тютюнопушене - над 10 цигари дневно
- антиконцепция
- предходни терапевтични въздействия върху маточната шийка
- палпаторен статус

Лабораторни показатели.

Кръвни:

- хемограма: хемоглобин, хематокрит, левкоцити и СУЕ
- биохимия: кръвна захар, креатинин, общ белтък, албумин
- чернодробни ензими: СГОТ, СГПТ, АФ, ГГТП

В урината:

- албумин, захар, билирубин, уробилиноген, кетотела и седимент

Специализирани акушеро-гинекологични изследвания

- *Цитологичен метод*
- *Колпоскопски метод*

Методи осигуряващи материал за хистологично изследване

- *Прицелна биопсия*

Конизация на маточната шийка

Ултразвуков метод

Специализирани вирусологични изследвания

- *HPV - типизация, чрез ДНК – амплификация*

Статистически методи

А. Описателни методи и методи за оценка

- Вариационен анализ на количествени променливи – средна стойност, стандартно отклонение, минимум, максимум
- Честотен анализ на качествени променливи (номинални и рангови), които включват абсолютни честоти, относителни честоти (в проценти), кумулативни относителни честоти (в проценти)

Б. Описателна статистика:

- Едномерно честотно разпределение за категорийни и количествени променливи;
- Двумерно честотно разпределение за категорийни променливи;

В. Графичен анализ:

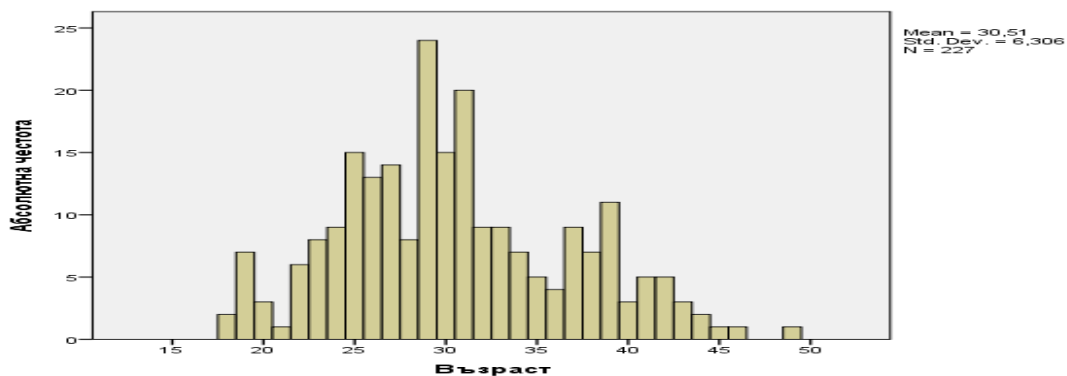
Г. Статистически методи за проверка на хипотези:

- Тест на Колмогоров-Смирнов – изследване на нормалност на разпределението при количествени променливи; използван само за възрастта
- χ^2 тест и разновидностите му (формула на Пирсън, Линеен коефициент или Екзактен метод на Фишер) в зависимост от вида на двумерните честотни таблици за изследване на зависимости между категориини променливи;
- Непараметричен Тест на Уилкоксън за за изследване на взаимодействия между количествени и категорийни зависими променливи; преди и след бременност HPV
- Непараметрични Тестове на Ман-Уитни и Крускал-Уолис за изследване на взаимодействия между количествени и категорийни независими променливи.

IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. Анамнестични и клинични данни

Обхванат е контингент от 227 жени между 18 и 49 години, със средна възраст 30,51 години при стандартно отклонение 6.306 (Фигура 1).



Фиг. № 1. Разпределение по възраст на изследваната група бременни.

На таблица 1 може да се види разпределението по възрастовите групи.

Таблица. 1

Разпределение на пациентките по възрастови групи

Възрастови периоди	Брой	%
под 20 години	9	3,95
20-29 години	101	44,5
30-39 години	96	42,3
над 40 години	21	9,25
Общо	227	100

Най- много изследвани бременни са във възрастовата група между 20-39 години (86,8%), което е в съответствие с данните на Националния статистически институт (НСИ) касаещи раждаемостта в страната.

Срокът на бременността, в които бременните жени бяха включени в нашето изследване е показан на таблица 2.

Таблица 2

Разпределение на пациентките според срока на бременността (по ултразвук)

Срок (г.с.)	Брой (N=)	Процент (%)
под 12	200	88.2
12-20	26	11.4
21-26	1	0.44
27-32	0	0
33-38	0	0
над 38	0	0
Общо	227	100

Преобладават жените в първата половина на бременността (99,6%), което е свързано с ранното им обхващане съгласно доболничната програма на НЗОК за майчино здравеопазване.

Важен рисков фактор за изява на HPV инфекция и предраковите изменения на маточната шийка е **броя на прекараните бременности**, като рисков фактор е посочено в литературата, че засяга жените имали повече от 5 бременности.

Таблица 3

Разпределение на жените по броя на бременностите

Поредност на бременността	Брой аборти	Общо бременности	Брой изследвани бременни	
1-ва	0	1	N= 125	55.0%
1-ва	1	2	N= 17	7.50%
2-ра	0	2	N= 57	25.0%0
2-ра	1	3	N= 15	6.70%
2-ра	2	4	N= 2	0.90%
3- та	0	3	N= 11	4.90%
Общо			N= 227	100.0%

Тяхното разпределение е показано на таблица №. 3 При 125 от изследваните жени (55.0%) , това е първа бременност, при 74 (32.6%) втора и само за 28 жени (12.4) това е трета или следваща бременност.

Прави впечатление, че съобразно трайните социални и урбанистични в нашето съвремие повечето са пациентки са с едно или две раждания 95.2%,

което ги определя като ниско рискови. И тук данните не се различават от демографските данни от тези на НСИ.

В групата на жените, за които това е втора бременност (74 броя) 17 споделят за един предшестващ аборт (7.5%), а в групата на жените с три бременности, от които една настояща (28 броя) 3 са имали и предшестващ аборт (10.7%).

Тази честотата на регистрираните предшестващи аборти отговаря на съвремените тенденции вследствие на социално-икономическата и демографска криза.

Изтъква се възможността за връзка на неоплазията с половата активност и ползването на антиконцепция. С оглед на това е проведена анкета по тези проблеми, която показва голямо разнообразие на използваните средства, което ни накарва да се въздържим от интерпретацията на резултатите.

Интерес за нас представляваше и информацията за прекараните от пациентката терапевтични въздействия върху маточната шийка, където едва 12 пациентки (5.2%) съобщават за осъществена предходна физикална деструкция.

Тютюнопушенето е друг важен фактор свързан с понижаване на локалния имунитет, поради преобладаващата екскреция на цианидите чрез цервикалната слуз.

В нашето проучване трайни навици свързани с пушенето преди и по време на бременността (повече от 10 цигари дневно) споделят 43 жени от 227 или 18.9% изследваните бременни (Табл. 4.)

Таблица № 4

Разпределение на пушачите в отделните възрастови групи

Възрастови периоди	Брой пушачки	%	Брой непушачки	%	Общо
под 20 годни	1	11.11	8	88.89	9
м/у 20-29 години	23	22.77	78	77.23	101
м/у 30-39 години	16	16.67	80	83.33	96
над 40 години	3	14.29	18	85.71	21
Общо	43	18.94	184	81.06	227

4.1.2. Лабораторни данни

С оглед на по пълното обективизиране здравното състояние на всички обхванати в проучването пациентки бяха изследвани минимума от лабораторни показатели включващи основни показатели на хемограмата, биохимията и урината като част от програмата „Майчино здравеопазване“: Липсата на отклонения в референтните стойности на тези показатели ни позволи по сигурно да изключим наличието на придружаващи остри или хронични състояния, които биха компрометирали изпълнението на поставените цели и задачи (Табл. 5)

Таблица № 5

Резултати от средните стойности и стандартните отклонения на изследваните лабораторни показатели

Лабораторни показатели	Изследвани бременни жени	
	(Средна стойност)	(\pm SD)
хемограма		
хемоглобин	116	8.173
хематокрит	0,43	0,987
левкоцити	9,04	1,678
СУЕ/ CRP	22.30	8.449
Тромбоцити	268.05	56.60
Биохимия		
кръвна захар	4,59	0,591

Изводи:

- Независимо дали са налице различия в анамнестичните, клиничните и лабораторните резултати в проучената от нас група пациентки, всички отклонения включително и в случаите, при които са налице различни рискови фактори се движеха в границите на нормата за съответния показател.
- Това ни даде основание да приемем, че се касае за клинично здрави жени, при които надеждно сме обективизирали, дори физиологичните тенденции и промени и по този начин сме гарантирали отсъствието на друга патология, която да опорочи анализа на същественния диагностичен комплекс.

4.2. ЦИТОЛОГИЧНИ КОЛПОСКОПСКИ И ХИСТОЛОГИЧНИ НАХОДКИ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА ПО ВРЕМЕ НА БРЕМЕННОСТТА

4.2.1 Цитологични находки

Цитологичното изследване (Pap теста) се използва, както за скрининг, така за диагностика на различните болестни процеси на маточната шийка. По време на бременност, той е най-слабо инвазивно изследване на маточната шийка при който се взима клетъчен материал за морфологична оценка.

Една от характерните особености на на PAP теста е свързана с неговата диагностичната точност. В някои случаи тя може да бъде компрометирана по време на бременността, както поради технически трудности при вземането на пробата, така и заради физиологичните промени на цервикалните клетки настъпили под влиянието на хормоните. В частност се наблюдава изобилие на дегенерирали клетки от децидуа, които морфологично приличат на клетки суспектни за клетъчен атипизъм. Посочва се, че разликата помежду им е основно по отношение на техния увеличен клетъчен размер /77/. Независимо от тези ограничения, цитологичното изследване заедно с колпоскопията се счита за най-успешната програма за превенция.

Една от задачите на настоящата работа е с помощта на цитологичния Pap тест да определим здравния статус на маточната шийка на изследваната група жени по време и след бременността.

Резултатите са показани на таблица 6.

Цитологичните находките при бременните бяха разделени в 6 клинични групи, както е описано в глава „Материали и методи”, като цитонамазка беше провеждана по време на бременността и след нейното приключване.

Таблица № 6

Резултати от проведения Pap тест на изследваната група жени по време и след бременността.

Находка	През бременността №227	Относителен дял (%)	След раждане № 227	Относителен дял (%)
PAP I	57	25,1 %	17	7,5
PAP II	160	70,5 %	165	72,7
PAP IIIA	10	4,4 %	40	17,6
PAP IIIB	0	0	5	2.2
PAP IV	0			
PAP V	0			
Общо	227	100,0	227	100

При повечето от тях бяха установени нормални находки, както по време на бременността – Pap I (25.1%) и Pap II 70.5%), така и след раждане, съответно - 7.5% и 72.7%. (таблица № 6).

От друга страна е налице утежняване на цитологичната находка след приключване на бременността, като дискариотичните находки (Pap IIIA и Pap IIIB са нарастнали от 4.4 до 19.8% (таблица № 6).

Данните за броя на бременните с цитологична находка на PAP I и PAP II, както и тези с PAP IIIA и PAP IIIB, бяха обработени статистически спрямо данните за пациентките след приключване на бременността. Установена бе статистически значима разлика по отношение на повишение броя на патологични находки след приключване на бременността - $P < 0.0001$.

Допълнително беше анализирана динамиката на цитологичната находка установена по време на бременността и тази след раждане спрямо начина на родоразрешение, което е показано на (таблица № 7).

Таблица № 7

Сравнение на данните от цитологичната находка по време на бременността и след раждане спрямо начина на родоразрешение.

Начин на родоразрешение	SC N= 61	PN N= 162
Утежняване на цитологичната находка	15 (24%)	24 (14.8%)
Регресия на цитологичната находка	2 (3.3%)	2 (1.2%)

В проучваната от нас група беше наблюдавана значително по-голяма честота на утежняване на цитологичната находка преди и след приключване на бременността сред групата на жените родили със секцио (24%) спрямо групата на родилите per vias 14.8%.

Допълнително (Табл. 8), проучихме връзката между тежестта на цитологичните находки по време и след приключване на бременността в зависимост прирастеността към тютюнопушене - един от предразполагащите фактори към изява на цервикалната HPV инфекция.

Таблица № 8

Сравнение на данните от цитологичната находка по време на бременността и след раждане според тютюнопушене.

Тютюнопушене	Непушачки N= 184	Пушачки N= 43
Нормална цитологичната находка	167 (90.8%)	17 (39.5%)
Утежняване на цитологичната находка	15 (8.2%)	26 (60.5%)
Регресия на цитологичната находка	2 (1.0%)	0 (0%)

В изследваната от нас група на бременни жени 184 не са пушачки, а 43 съобщават за тютюнопушене. Резултатите показват, че само при две жени от групата на непушачките се наблюдава регресия на находките от цитологичното изследване. Същевременно е налице статистически значимо утежняване на цитологичния статус на цервикса в групата на пушачките ($P < 0.0001$).

При разглеждане на разпределението на промените в цитологичната находка само в групата на пушачките спрямо начина на раждане с цел да прецени тежестта на тютюнопушенето като допълнителен предразполагащ фактор, нашето изследване не установи статистически значима разлика, което показва, че двата фактора не действат синхронно в посока утежняване на цитологичната находка..

Обсъждане

Рутинният цитологичен скрининг на бременните открива патологични промени в порядъка от 0,35 до 1,6 % в намазките на изследваните пациентки. Златков-дис /112, 130, 163/ Към този сравнително нисък процент трябва да се отнасяме много внимателно, тъй като често различните степени на дискариоза могат да агравират или да се съчетават с белезите за HPV-инфекция, а честотата на тези промени може да стигне и до 10 % от всички цитонамазки. Златков-дис /98,119/

През последните години тенденцията жените да реализират първата си бременност в по-късна възраст се свързва и с по-честа аномална цитологична находка, особено в началото на бременността. Повечето автори посочват, че тези находки най-често регресират след края на бременността /89. 101/.

От друга страна в дисертационния труд на В. Златков /175/ тази тенденция не се установява при изследваната популация от български жени с начална бременност. Като възможна причина за тази разлика авторът посочва спецификите на подбраната група и краткия период между първичния и контролния преглед.

В нашите резултати се наблюдава съвсем противоположна тенденция, за нарастване честотата на патологичните находки след приключване на бременността. Обяснение за това може да се търси с наличието на HPV инфекция в изследваната група. Посочва се, че при сравняване на HPV и CIN измененията, папиломната инфекция се характеризира най-често със зрели плоски клетки, показващи амфилофилна цитоплазма, докато клетките при CIN са предимно незрели с оскъдна цианофилна цитоплазма, което създава трудности в диференциално диагностичен план.

Според Dodin-Dewailly et al. /176/ позитивната предиктивна стойност на цитологичното изследване да открива папиломните лезии е относително по-слаба от тази при разпознаването на дискариотичните изменения. Това се дължи от една страна на факта, че не винаги експресията на вируса засяга отделната клетка, от друга - поразените от вируса клетки може да не са

попаднали в дадената намазка. Същевременно оцветяването с хемалаум-еозин е с по-слаби възможности от оригиналното оцветяване по Papanicolaou, даващо възможност за по доброто идентифициране на дискератоцитите и кондилوماتозните парабазални клетки.

Подобна взаимовръзка се установява и от други автори, които подчертават, че по-тежките цитологични промени са на фона на инфекция с високо-рискови HPV типове / 172/.

Резултатите от нашето проучване показва, че е налице утежняване на цитологичната находка преди и след приключване на бременността сред групата на жените родили със секцио (24%) спрямо групата на родилите per vias 14.8%. Тези данни съвпадат с резултатите на SM Chung и сътр./52/, които намират статистически значима разлика в посока намаляване тежестта на цитологичните изменения при бременни с раждания протекли по нормален механизъм спрямо тези със цезарево сечение. с динамиката на наши резултати.

Тази интересна асоциация между начина на родоразрешение и тежестта на цитологичните находки те свързват с възможността за провокиране на възпалителни промени в цервикса вследствие на подценяваната травмата от механичната дилатация на маточната шийка в случаите с неподготвени родови пътища, в сравнение с бременностите завършили с вагинално раждане. Като допълнителен механизъм авторите коментират и засиления репаративен имунологичен отговор след раждането по нормален механизъм водещо до по- бърза цитологична регресия. Посочва се, че оптималния срок на поспарталната колпоскопска оценка е от 8-12 седмици след вагинално раждане когато повечето от репарационните механизми са приключили / 24., 148, 155, 52/.

Изводи

- *Налице е статистически значима разлика, която показва промяна тежестта на цитологичните находки след приключване на бременността, като те са основно за сметка на нискостепенните изменения.*
- *Установена е статистически значима разлика в посока утежняване тежестта на цитологичните изменения по време и след приключване на бременността при жени родили по абдоминален път спрямо тези родоразрешени по нормален механизъм, както и на пушачки сравнени с тези бременни, които непушат.*
- *В тази връзка анализът на получените резултати поставят въпроса, доколко жените родили чрез цезарово сечение и злоупотребяващи с никотин представляват рискова група и изискват по-нататъшно активно проследяване.*

4.2.2. Колпоскопски находки

Съществува универсален консенсус, за ролята на вторичната профилактика. Системното провеждане на скринингови програми при жените намалява риска от заболяване и смъртността от рак на маточната шийка. Естествено, това не се дължи само на откриването, но и на последващото отстраняване на откритите преракови цервикални изменения. Няма скринингови програми които откриват точно и само жените с преканцерозни лезии. При всички модерни скринингови стратегии съществуват фалшиво положителни и фалшиво отрицателни резултати.

Колпоскопското изследване е неизменна част от протокола на предраковия скрининг на маточната шийка /90/. То позволява да селектират тези пациентки, които се нуждаят от лечение, и да уточни начина на лечение.

На пациентките, насочени за колпоскопия, трябва да се спести страхът и стресът, свързани с това изследване. Те трябва да бъде добре информирани преди, по време и след колпоскопското изследване. По този начин при жените с CIN се намалява психосоциалният морбидитет.

Пълното колпоскопско изследване включва наблюдение върху оргиналния плосък епител, върху цялата зона на трансформация, върху границата между плосък и цилиндричен епител (ГПЦЕ) и колкото се може повече върху ендоцервикалния епител. Най-важната процедура е уточняването на ГПЦЕ. Когато тя е изцяло видима и се вижда цялата лезия, колпоскопското изследване се смята за адекватно.

Колпоскопията е напълно безопасна процедура, която може да бъде извършена на всяка жена по време на бременността независимо от гестационния срок. В популацията на бременните жени, това изследване се препоръчва основно, като референт на патологичните резултати при цитологичния скрининг /61, 65, 89, 101, 114, 122, 123, 159 , 32/ показват високата му чувствителност за откриване на раков процес и даже в случаите след няколко поредни негативни цитологични находки. В тази връзка скрининговото използване на колпоскопията, представлява интерес за ежедневната гинекологична практика.

Нашето проучване включваше колпоскопско изследване на всичките 227 бременни. При 219 от тях колпоскопската находка по време на бременност не показва отклонения, а при 8 беше определена като анормална таблица №. 9.

Таблица № 9

Колпоскопски находки в изследваната група жени по време на бременността и след раждане

Находка	По време на бременност N =227	След раждане % N =227
Нормална	219 (96.5%)	194 (85.4)
Анормална	8 (3.5%)	33 (14.6)
Общо	100 %	100 %

Контролният колпоскопски преглед след приключване на бременността (таблица № 9) показва, че има увеличение на тежестта на анормалните находки от 3.5% на 14.6%, като такава е намерена при 33 от проследяваните жени при повторни прегледи след раждане е за сметка на възпалителните, HPV и нискостепенните CIN изменения. И тук, както и при цитологичните изследвания се наблюдава статистически значима разлика по отношение на повишение броя на патологични находки след приключване на бременността - $P < 0.0001$.

За да се направи по-обстойна оценка, кои допълнителни фактори имат отношение към промените на цервикалния епител, беше потърсена връзка между колпоскопските находки и начина на родоразрешение и тютюнопушенето (таблици 10 и 11).

Таблица № 10.

Сравнение на данните от колпоскопската находка по време на бременността и след раждане спрямо начина на родоразрешение.

Начин на родоразрешение	SC N= 61	PN N= 162
Нормална колпоскопска находка към анормална	6 (9.8%)	18 (11.1%)
Анормална колпоскопска находка към нормална	1 (1.6%)	2 (1.2%)

В проучваната от нас група не се наблюдава тенденция за значими промени в колпоскопската находка в зависимост от начина на родоразрешение.

Допълнително (табл. 11), проучихме връзката между колпоскопските находки по време и след приключване на бременността в зависимост от пристрастеността към тютюнопушене - един от предразполагащите фактори към изява на цервикалната HPV инфекция.

Таблица № 11.

Сравнение на данните от цитологичната находка по време на бременността и след раждане според тютюнопушене.

Тютюнопушене	Непушачки N= 181	Пушачк и N= 40
Нормална колпоскопска находка	171 (94.4%)	19 (47.5%)
Нормална колпоскопска находка към анормална	8 (4.4%)	21 (52.5%)
Анормална колпоскопска находка към нормална	3 (1.6%)	0 (0%)

Резултатите показват, че само при три жени от групата на непушачките се наблюдава промяна на колпоскопската находка от анормална по време на бременността към нормална след раждане. Същевременно е налице статистически значимо по-честа неблагоприятна колпоскопска находка на в групата на пушачките ($P < 0.0001$).

Обсъждане

Оценката на колпоскопската находка дава възможност за навременна интервенция или терапия особено в ранните срокове на бременността. Според Baldauf и съавтори /33/ по отношение на крайната хистологична диагноза колпоскопията по време на бременност дава правилна оценка за състоянието на цервикса в 72.6% от случаите, хипердиагностициране в 17.6% и фалшиво отрицателни находки в 9.8% от случаите. Така имайки предвид, че целта на колпоскопските изследвания е да изключи наличието на инвазивни карциноми на маточната шийка те могат да се приемат за достатъчно точни и възпроизводими /65/.

За да се извърши качествена колпоскопска оценка на маточната шийка, се изисква добра видимост на ГПЩЕ. Според Ostergard /123,124/ - при бременните жени ендоцервикалната локализация на тази граница е в 58 %, и нейната честота не се различава съществено от тази на небременните. Въпреки това хипертрофията на маточната шийка, зейването на цервикалния канал и паритета на жената позволяват сравнително лесно нейната визуализация от опитен колпоскопист. /65, 123, 124/.

Колпоскопската находка пряко корелира с цитологичната находка и в контекста на наблюдаваните тенденции в настоящето проучване може да се отбележи, че по време на бременността са регистрирани значително по-малко абнормни находки (3.5%) спрямо тези след приключване на бременността (14.6%). По време на бременност се засилват процесите на епидермизация, водещи до интерпретирането на нормалната ЗТ като атипична или на просто атипичния епител като засилен атипичен епител

/115/. Тези данни са в посока съобщаваната от Nahhas et al. /115/ прогрес в динамиката на HPV-измененията по време на бременност при 73 пациентки, при които липсва съществена регресия в находките след раждане, като повечето от тях запазват наблюдаваните находки и 4 месеца след приключването на бременността.

В тази връзка може да се допусне, че едни и същи фактори стоят в основата на негативните промени на цитологичните и колпоскопски находки по време и след приключване на бременността. Като такива следва да се посочат статуса по отношение на HPV инфекцията, тютюнопошене, начин на родоразрешение, промискуитет и др.

Във комбинация със цитологията и хистологичното изследване, колпоскопията е ключов фактор, диагнозата и лечението на цервикалните лезии. Диагностичната стойност на колпоскопията зависи от това дали изследването е адекватно или не, но окончателното колпоскопско изследване е в състояние да уточни 4 различни находки: нормални находки; доброкачествени промени; промени изискващи хистологично уточняване и суспектни лезии, изискващи потвърждаване или изключване на инвазивни лезии.

Изводи

- *Има статистически значима разлика по отношение на аномалните колпоскопски находки по време на бременността и такива след раждане, като се отбелязва увеличение на честотата им в проучваната група е за сметка на възпалителните, HPV и нискостепенните CIN изменения.*
- *Неблагоприятните промени в колпоскопските находки са по-чести при жените, които пушат в сравнение с непушачките, което прави препоръчително тази тенденция да бъде коментирана с оглед ограничаване на рисковите им навици.*

4.2.3. Хистологични находки

Вторичната профилактика на рак на маточната шийка, предполага използването на различни диагностични скрининг методи, за своевременно откриване на предраковите и ранните ракови изменения преди клиничната поява на самото заболяване. Значимостта на тази предклинична диагноза се състои във възможността за своевременно откриване и последващо пълно излекуване при запазване фертилните възможности на жената или прилагане на т.нар. „консервативна“ радикалност.

С оглед на поставените цел и задачи на изследването бе направена оценка на получените резултати, в зависимост от хистологичната находка.

В изследваната от нас група жени по време на бременността и след раждане само 9 пациентки бяха индицирани за провеждане на хистологично изследване.

При 3 от тях след раждането, на основание получените резултати се проведе деструктивно лечение чрез лазерна вапоризация на наличните изменения (табл. 12).

Установените от нас изменения бяха нискостепенни, както при първичния така и при контролния преглед след бременността. На тази база при задоволителна колпоскопска находка (видима граница плосък/цилиндричен епител и видима изцяло лезия) извършихме тъканна деструкция чрез лазерна вапоризация на установените изменения. Последващото наблюдение на тези жени показва комплетна санация и нормализиране на резултатите от цитологичното и колпоскопско изследване.

Табл. № 12

Пациентки при които е проведена Lazzer-коагулация

Находки	През бременността	След раждане
Случай 1. Пациентка 34 години		
Хистология	Дисплазия I-II ст.	Дисплазия II ст.
Цитология	РАР II –гр.	РАР III а –гр-
Колпоскопия	ЗТ	АЗТ
Случай 2. Пациентка 41 години		
Хистология	Койлоцитна дисплазия	Койлоцитна дисплазия
Цитология	РАР II –гр.	РАР III а –гр-
Колпоскопия	ЗТ	АЗТ
Случай 3. Пациентка 22 години		
Хистология	Нормална	Папилома коли утери
Цитология	РАР II –гр.	РАР III а –гр-
Колпоскопия	ЗТ	АЗТ

По време на проучването се наложи да се извърши разширена биопсия под формата на бримкова ексцизия (LEEP/LLETZ –техника) или хирургическа конизация при 6 жени. Индикациите и резултатите от проведените изследвания по време и след приключване на бременността са показани на табл. 13:

Прави впечатление, че при всичките 6 случая се наблюдава утежняване на диагностичните находки след раждане, което е основание за извършване на посочената диагностично/терапевтична процедура. Това съвпада с нашите данни за по-тежки цитологични и колпоскопски находки при общата група пациентки. Същевременно, те съвпадат с данните от на В.Златков /175/, който в проведените биопсични изследвания установява

утежняване на хистологичните находки при контролния преглед след прекъсване на бременността при пациентки с начална бременност .

Допълнително трябва да посочим, че всички пациентки с конизация на маточната шийка останаха на диспансерен учет и към момента на обобщаване на резултатите като при нито една от тях не се установиха усложнения или резидуална болест.

Табл. № 13

Пациентки при които е извършена широка биопсия (LEEP / Letzz техника и хирургическа конизация на маточната шийка)

Находки	През бременността	След раждане	Резултат от конизацията
Случай 1. Пациентка 18 години			
Хистология	Нормална	CIN III	CIN II
Цитология	РАР III а –гр	РАР III б –гр-	
Колпоскопия	ЗТ	АЗТ	
Случай 2. Пациентка 37 години			
Хистология	CIN II	CIN III	CIN III
Цитология	РАР III а –гр.	РАР III б –гр-	
Колпоскопия	АЗТ	АЗТ	
Случай 3. Пациентка 39 години			
Хистология	CIN II	CIN III	Карцином insitu
Цитология	РАР II –гр.	РАР IIIб –гр-	
Колпоскопия	АЗТ	АЗТ	
Случай 4. Пациентка 26 години			
Хистология	CIN I	CIN III	CIN III
Цитология	РАР III а –гр.	РАР III б –гр-	
Колпоскопия	ЗТ	АЗТ	
Случай 5. Пациентка 30 години			
Хистология	CIN I	CIN III	Хроничен цервицит
Цитология	РАР III а –гр.	РАР III б –гр-	
Колпоскопия	АЗТ	АЗТ	
Случай 6. Пациентка 28 години			
Хистология	Нормална	CIN III	CIN II
Цитология	РАР III а –гр.	РАР III б –гр-	
Колпоскопия	ЗТ	АЗТ	

Обсъждане.

Критерий за хистологична патология или т.нар. в литературата "златен стандарт" е честотата (разпространеността) на атипичните (HPV и CIN лезии), и патологичните (PMШ) епителни находки.

Тъканните промени на маточната шийка, срещащи се по време на бременност и след раждане, не са патогномонични състояния само за тях, но се наблюдават по-често в този период от живота на жената, отколкото извън бременност. Те корелират със стимулиращото действие и нивото на репродуктивните хормони и се проявяват с различни общи и микроскопски изменения. /58/.

Хистологичните промени по време на бременност се проявяват основно в три насоки: децидуализация, микрогландуларна ендоцервикална хиперплазия и феномена на Arias-Stella.

Децидуализацията на стромата - локално или дифузно, се среща при една трета от изследваните пациентки и изчезва около 2 месеца след раждане или прекъсване на бременността. Измененията в маточната шийка обикновено са локални, и те могат да бъдат разположени в ендо-и ектоцервикса, като микроскопски - клетките са грубовато широки с бледи, кръгли ядра и проминиращи нуклеоли. /26,27, 128/

"Микрогландуларният" вид на ендоцервикална хиперплазия се дължи на вторичното жлезно образуване, вследствие влиянието на репродуктивните хормони. Между жлезните епителни елементи има клетки с характеристика на резервни, а понякога могат да бъдат разпознати и плоскоклетъчни, метапластични елементи. Това е много важно да се знае поради възможността да се сбърка с по-тежък тъканен атипизъм. В тези случаи липсата на неправилни ядра и митотични фигури са основните диференциално диагностични белези /26, 27/.

Макар и по-рядко, ендоцервикалните жлези могат да покажат особеностите на Arias-Stella промените. Характеризират се с едри хиперхромни ядра, на фона на леко повишена секреторна активност. Различаването от жлезната атипия е трудно, но наличието на изобилие от цитоплазма и липса на митотични фигури са опорната точка при отхвърлянето на малигнения процес /26, 27/.

Други особености на хистологичните находки по време на бременност се свързва с влиянието на HPV-инфекция. Тя предизвиква пролиферация на инфектираните клетки от базалния слой на многослойния епител с участието на субепителната строма, като времето за инкубацията е от 3 седмици до 8 месеца (средно 3 месеца). Съгласно критериите на Meisels, HPV-измененията се проявяват основно под три форми екзофитна (от 6,6 до 12,4%), плоска (от 69,0 до 78,9%) и инвертна/ендофитна (от 14,5 до 18,6%), в зависимост от локализацията и посоката на растеж. /12/.

Обръща се внимание на съчетанието на папиломните лезии с цервикалната интраепителна неоплазия, както и с възможността за

многоогнищна изява на находките. В тази връзка се подчертава, че съществува голяма разлика в оценките на различните патолози при идентифициране на CIN лезиите от HPV-индуцираните промени. Важно е да се знае, че хистологичната находка при папиломната инфекция за разлика от различният по степен атипизъм при CIN, включва и следните морфологични елементи: папиломатоза, базално-клетъчна хиперплазия, акантоза, пара- и хиперкератоза, коилоцитоза, дискератоза и многоядреност /12, 81/.

Изводи:

- *В нашето проучване при сравнението на хистологичните находки по време на бременността и след раждането, контролният преглед показва тенденция за увеличаване тежестта на измененията при родилите.*
- *Малкият брой случаи не позволява да се направят значими изводи, въпреки това прави впечатление асоциацията на хистологичните промени с морфологични данни за HPV инфекция в случаите с нискостепенните находки завършили с деструктивна терапия.*

4.3. РЕЗУЛТАТИ ОТ HPV ТИПИЗАЦИЯ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЖЕНИ И НОВОРОДЕНИ

Съгласно поставената цел и задачи ние проучихме HPV статус на изследваните 227 пациентки, преди и след приключване на бременността като освен разпространението на различните типове по време на бременността ние оценихме неговото влияние върху протичането на бременността и следродовия период.

Приложи се Geno Flow HPV Array test, използвайки комерсиален кит (DiagCor, Hon Kong, China) върху ДНК изолирана от цервикален клетъчен материал на сух памучен тампон или в течна среда. Типизацията чрез хибридизация се извърши за следните 33 типа: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 84. Същите в зависимост от онкологичния им потенциал бяха разделени в три групи – с нисък, среден и висок онкологичен риск. (вж. глава Материали и методи)

Разпространението на вирусната инфекция в групата на изследваните жени (табл. 14) показва, че HPV инфекция е установена при 87 (38.32%) жени по време на бременността, докато след приключването на бременността позитивна HPV типизация се запазва при 68 (29.95%) жени. Липсата на позитивна HPV типизация при 19 от жените не показва статистически

значима разлика ($P=0,07$), но насочва към такава. Когато се вземе предвид и находката, че при още 23 бременни със смесена инфекция от ниско, средно и високо-рискови типове HPV, след приключване на бременността повторното изследване показва липса на някои от тях, можем да говорим за статистически значимо намаление на вирусната инфекция ($P= 0.0001$).. Това поставя отново въпроса за ролята на бременността, като важен фактор благоприятстващ развитието на инфекцията.

Таблица № 14

Разпространението на HPVs типове в групата на изследваните жени по време и след приключване на бременността.

№	Типове HPVs								
	През бременността				След раждане				
	Нисък риск	Среден риск	Висок риск	HPV - Асоциирани промени	Нисък риск	Среден риск	Висок риск	HPV - Асоциирани промени	PN/SC
1. СВ			16	Pap II			16	Pap III a	SC
2. К К	6		58	Pap II	6		58	Pap II	PN
3. Ж Ж			31	Pap II			31	Pap III a	SC
4. БД			33, 56	Pap III a			33, 56	Pap III в	PN
5. Т В			52, 56	Pap II			56	Pap II	SC
6. Т К			45	Pap II			-	Pap I	SC
7. Б Т			18, 56	Pap II			18, 56	Pap III a	PN
8. ВГ			16, 59	Pap II			16, 59	Pap III a	PN
9. В Н			58	Pap II			-	Pap II	PN
10. Б К			16	Pap III a			16	Pap III в	SC
11. К С			16	Pap II			16	Pap III a	PN

12. К П	6			Рар II	6			Рар II; кондилом и-ВПО	SC
13. Г Г			52	Рар II			52	Рар III а	PN
14. Р Т	6			Рар I				Рар II	PN
15. Д Д	72	53	45, 66, 68	Рар II	-	-	45,68	Рар II	PN
16. М К		53		Рар II		-		Рар II	SC
17. А3			16	Рар II			16	Рар III в	SC
18. В К			18,58	Рар II			18,58	Рар III а	PN
19. Е Н			45	Рар II			-	Рар II	PN
20. Б Б			16	Рар II			16	Рар III а	PN
21. М А	6			Рар I	6			Рар II кондилом и-ВПО	SC
22. Д Г	6			Рар I	-			Рар II	PN
23. Ц В			66, 68	Рар II			66	Рар II	PN
24. А Б			16	Рар III а			16	Рар III b,	PN
25. С С		53		Рар III а		53		Рар II	PN
26. Н К	6			Рар I	-			Рар I	PN
27. К И	6			Рар II	6			Рар II	SC
28. А Г		53		Рар I		-		Рар II	PN
29. Т К			16, 31	Рар II			16, 31	Рар III а	PN
30. П З	6, 42		33	Рар II	6		33	Рар III а	SC
31. Е С	56	53	40, 61	Рар I	56	-	40	Рар III а	SC

32. В П	11, 70		31, 52	Рар I	11		31	Рар III а кондилом и-ВПО	SC
33. Н Ц	11, 42	53	31, 45	Рар II	11, 42	53	31, 45	Рар II	PN
34. С Г	11		31	Рар II	11		31	Рар III а	SC
35. Д Ц			66, 68	Рар II			66	Рар II	SC
36. Е Т	6, 84, 26			Рар II	6			Рар II	SC
37. С Д			35	Рар II			-	Рар II	PN
38. Ж К			52	Рар II			52	Рар III а	SC
39. Р Р	42		16, 56	Рар II	-		16, 56	Рар III а	PN
40. Х Б			18	Рар II			18	Рар III а	PN
41. В Й	43,44 , 84,26	53	56,66 ,68	Рар II	-	53	56, 66,	Рар III а	PN
42. Ю С	6			Рар II	-			Рар II	SC
43. Р И	57, 71			Рар II	71			Рар II	SC
44. Т С	42		18, 45	Рар II	-		18	Рар III а	PN
45. А А			52, 56	Рар II			52, 56	Рар II	PN
46. В П	70		31, 52	Рар II	-		31	Рар III а	PN
47. А З	42			Рар II	-			Рар II	SC
48. А С		82		Рар II		-		Рар I	PN
49. В С		53	45	Рар II		53	45	Рар III а	PN
50. М Г		82	56	Рар III а		-	56	Рар II	SC
51. С К			45	Рар I			45	Рар II	PN

52. М Ж		53		Рар II		-		Рар II	PN
53. В Г	11,40 ,81		16	Рар II			16	Рар III а ППИОМ В 36 г.с.	PN
54. Л Г	42, 43, 44			Рар II	43, 44			Рар II	PN
55. М И	57, 71		16	Рар II	71		16	Рар II	PN
56. А В	56			Рар III а	56			Рар III в ППИОМ В 35 г.с.	PN
57. И Д	6			Рар II	6			Рар II кондилом и - ВПО	SC
58. И Н			16	Рар II			16	Рар III а	PN
59. М А	43, 44, 54, 55			Рар II	44, 54			Рар II	PN
60. Д К			16	Рар II			16	Рар III а	PN
61. П Й		81	59	Рар II		-	59	Рар II	SC
62. Н К	84, 26	53, 82	51, 59	Рар II	84	53, 82	51, 59	Рар II	PN
63. Д Т	6, 42, 43		16	Рар II	6		16	Рар III а ППИОМ В 36 г.с.	PN
64. Н Т	6, 42, 43		16, 18	Рар III а	-		16, 18	Рар III в	PN
65. Х Ц			39	Рар II				Рар II	PN
66. Х Х	11		31,56	Рар II			31,56	Рар III а ППИОМ В 36 г.с.	PN
67. Н Д	11		39	Рар II	-		39	Рар II	SC
68. А Д	40, 66			Рар II	-	-		Рар II	PN

69. Т В	70	53		Pap II	-	-		Pap II	SC
70. Е А	40, 61			Pap I	-			Pap II	PN
71. М М	11, 57		52	Pap II	11, 57		52	Pap II ППОМ В 36 г.с.	SC
72. С Н	70, 54, 26		58	Pap II	54		58	Pap II	PN
73. Р Я	42		31, 45	Pap III a	42		31, 45	Pap III a	PN
74. Ц Н	6			Pap I	6			Pap II	PN
75. PP		53		Pap II				Pap II	PN
76. М Ч	42	53	66, 68	Pap II	42	53	66, 68	Pap II Abr.place ntae 36г.с.	SC
77. Е К			52, 58	Pap I			52, 58	Pap II	PN
78. М Х			18, 45	Pap II			18, 45	Pap III a	PN
79. М Ш			52	Pap I			52	Pap II	PN
80. Н К		82	59	Pap II		82	59	Pap II	PN
81. Ц Г			66, 68	Pap II			66, 68	Pap II ППОМ В 36 г.с.	PN
82. Т В	70			Pap II	-			Pap II	PN
83. Н К			16	Pap II			16	Pap III a	PN
84.ДЗ	11		33	Pap II	-		33	Pap III a	PN
85. Ж Г	11			Pap II	11			Pap II кондилом и-ВПО	SC
86.М Ш	11		52	Pap II	11		52	Pap III a	PN
87. Н Х			16	Pap II			16	Pap III a	PN

Водещите молекулярно биологични техники са свързани с откриване на HPV's след ензимно умножаване на ДНК специфични фрагменти от вирусната НК. Това е в основата на т.нар. полимеразна верижна реакция (PCR) и нейните различни разновидности, като тази амплификация се постига чрез използване от една (PCR) до три (MPCR) двойки специфични олигонуклеотидни “зародиши” (праймери). Основният недостатък на тези методики е свързан с риска от фалшиво позитивни резултати. Посочва се, че масовият скрининг за HPV крие риск от свръхдиагноза и дисстрес сред позитивните пациентки особено при жените под 30 год. възраст, при които HPV инфекцията е по-честа и преходна (80% от случаите), а рака на маточната шийка е отн. рядък.

В тази връзка проучихме честотата на папиломната инфекция сред нашите бременни жени под и над 30 годишна възраст (Табл. 15).

Табл. № 15

Разпределение на HPV типове по време на бременността в групата до и след 30 годишна възраст.

HPV инфекция по време на бременността		
Тип HPV инфекция	До 30 години включително N=55	Над 30 години N= 32
Високо рискови	22 (40%)	12 (37,5%)
Средно рискови	4 (7,3%)	2 (6,3%)
Ниско рискови	13 (23,6%)	5 (15,6%)
Висок + среден + нисък	4 (7,3%)	2 (6,3%)
Висок + среден	1 (1,8%)	3 (6,3%)
Висок + нисък	11 (20%)	7 (9,4%)
Среден + нисък	0	1 (3,1%)
ОБЩО високо и средно рискови	42 (76,4%)	27 (84,4%)
ОБЩО нисък риск	13 (23,6%)	5 (15,6%)

Анализът на данните показва, че ако се сравнят пациентките с високо- и среднорискови типове в двете групи, спрямо тези при които има само нискорискови типове, липсва статистически значима разлика ($p < 0.4241$). Все пак се отчита, че в групата на пациентките под 30 години процентно високо и среднорисковите са по-малко, отколкото при пациентките над 30 години.

Друг факт, който трябва да се отбележи е, че няма статистически значима разлика, свързана с начина на раждане, и намаляването на честотата на вирусната инфекция ($P = 0.7863$). От общо 59 жени родили по нормален механизъм при 14 (23.73%) е установена липса на вирусна инфекция след раждането, а в групата на 28-те жени родили със секцио HPV след раждането не се установяват при 5 от тях (17.86%).

При родилите по нормален механизъм, това касае случаи с № 9, 14, 19, 22, 26, 28, 37, 48, 52, 65, 68, 70, 75 и 82, където по време на бременността са регистрирани HPV типове от целия спектър – ниско рискови -6, 40, 61, 66 и 70; среднорискови-53 и 82 и високорискови – 35, 39, 45 и 58. При жените родили с цезарово сечение, петте случая са с № 6, 16, 42, 47 и 69. При тях се запазва, както широтата на спектъра, така и до известна степен и видовете диагностицирани HPV типове където по време на бременността са регистрирани – нискорискови - 6, 42 и 70; среднорисковия-52 и високорисковия - 45.



Интерес за нас представляваше и наличието на различни клинични прояви, които могат да се свържат с ролята на HPV инфекцията и нейното влияние върху протичането на бременността и следродовия период.

Наличие на вулварни кондилони (ВПО) се установи само при 5 жени (5.75%) в пуерпералния период, при три от тях (случаи № 12, 21 и 57) по време и след приключване на бременността се установиха предимно нискорискови типове 6, а при 1 жена (№ 85) – 11 тип. При една родилка (№32), типовото разнообразие беше значително и освен нискостепенните 11 и 31, по време на бременността бяха установени и два високорискови типа – 70 и 52, които липсваха в послеродовия период.



Пряката връзка на HPV инфекцията с промени в цитологичната находка, трудно може да бъде оценена, независимо че цитологичните промени асоцииращи се с HPV I– койлоцити, дискератоцити, кондилوماتозни парабазални клетки и многоядреност, могат да се срещнат до 10% от находките /8/.

В нашето проучване, по време на бременността от 87-те жени положителни при извършената HPV типизация само при 8 (9.2%) се установиха асоциирани промени в цервикалната намазка и то, като нискорискови – III-A гр. по Pap. След приключване на бременността, жените с клетъчна дискариоза са общо 37 (42.5%), от тях – 31 с ниска степен – III-A гр. по Pap и 6 - с промени от висока степен– Pap III-B.

Прави впечатление, че при една съществена част от пациентките 36 от 87 на фона на налични, основно високорискови типове има неблагоприятна прогресия на цитологичния статус при 30 от I^{-ва} и II^{-ра} група към III-A (5 родили с цезарово сечение и 25 по нормален механизъм) и една до III-B (родила чрез цезарово сечение). При други 5 жени утежняването на цитологичната находка след раждане е от III-A до III-B, като в четири от тези случаи раждането е станало по вагинален път, а едно по абдоминален.

Неблагоприятната промяна на цитологичната находка при налична HPV инфекция след приключване на бременността показва статистически значима разлика, спрямо тази по време на бременността (P = 0.0001). Може да се приеме, че бременността и вирусната инфекция взаимно допринасят за развитието на патологични промени на цервикалните клетки.

Само при две пациентки (случай № 25 и 50) е регистрирана промяна в обратна посока, като при едната са регистрирани среднорискови типове, а при другата смесена инфекция с високорискови и среднорискови типове.

При друга една (случай № 73) контаминирана по време на бременността с типове 42 (нискорисков), 31 и 45 (високорискови) е налице запазване след раждането, както на нискостепените дискариотични промени (III а гр. Pap), така и вирусното носителство.



Други клинични промени свързани с клиничен риск от носителството на папиломни вируси е възможността за латентна инфекция на амниона и от там по-висока честота на случаите с преждевременно пукнат околоплоден мехур (ППОМ).

В нашето проучване случаите с ППОМ (преди 37 г.с.) са 6 или 6.9% от всичките 87 бременни позитивни за различни HPV типове. В тази група, с изключение на случай № 56 при всички останали жени бяха регистрирани високорискови типове HPV (16, 31, 56, 66, 68) като при пет от тях инфекцията беше от смесен тип и съдържаше и нискорискови типове.

От петте от жени, които са родили по нормален механизъм, при три от тях е установена Pap III-A (№ 53, 63 и 66), при една – III-B (№ 56) и една е с нормална находка (Pap II). След цезарово сечение само една жена с ППОМ има лека дискариоза – III-A гр. Pap като при нея високорисковите типове HPV – 66 и 68 персистират преди и след раждане.

Само за пълнотата при оценка на изследването ще споменем, че при случай №76, завърши с преждевременно отплевване на плацентата в 36 г.с., но връзката с HPV инфекция би била спекулативна.

4.3.1.HPV вирусна инфекция по време на бременност - честота и разпределение по типове.

Разпространението на вирусната инфекция в групата на изследваните жени (табл. 16) показва, че по време на бременността HPV инфекция е била установена при 87 (38%) от всичките 227 бременни жени.

При 41 от тях самостоятелно, само с един тип, както следва: нискорискови - 13 (от тях 9 бр тип 6 и по един 11, 42, 56 и 70), със среден риск – 7 (тип 53 – 5 бр и тип 82 - 2 бр.) и 21 -с висок риск (10 бр. - 16 тип, по 3 бр. – 45 и 52 тип, и по 1 бр. от 18, 31, 35, 39 и 58 тип).

Асоциация от повече от два вирусни типа се намери при останалите 46 бременни, засегнати от човешкия папиломен вирус, както следва: най-честа е комбинацията от ниско и високорискови при 18 бременни, високорискови при – 12 жени, при 6 - асоциацията от трите типа (нисък, среден и висок риск), при други 6 бременни нискорискови, комбинацията среден и висок риск се среща при 3 жени и при 1 нисък и среден риск.

Девет от бременните жени имаха 4 и повече типа, като впечатлява пациентка № 42 с 8 типа: 4 бр. - нискорискови (25, 43, 44 и 84), един среднорисков – 35 и три високорискови – 56, 66 и 68.

Таблица № 16

Честота на регистрираните HPVs типове при изследваните бременни жени съобразно онкологичната им значимост

По групи	Разпределение на HPV типове в групата на 87 позитивни бременни жени	Процент
Високорискови типове	62	71,3 %
Среднорискови типове	17	19,5 %
Нискорискови типове	44	50,6 %

В групата на бременните при 62 от тях е установена вирусна инфекция от високорисковорискови типове, среднорисковите типове са 17 и нискорискови при 44 (таблица 16). Общата бройка засегнати от вирусната инфекция според регистрираните типове надвишава 87, защото при някои бременни беше установена смесена инфекция с различни типове вируси.

По честота най-разпространени са:

- от нискорисковите: 6 тип -14 бр. (20,5%), 11 тип – 10 бр. (14,7%), 42 тип – 9 бр. (13,2%), 26,43 и 70 тип – 4 бр. (5,9%), 71, 84, 40, 57 и 44 тип – 3 бр. (2,9%), 54 и 56 по – 2 бр. (2,9%), 55,66,61,31, и 72 – 1 бр. (1,4%).
- от среднорисковите: 53 тип 13 бр. (72,2%), 82 тип 4 бр. (22,2 %) 81 тип – 1 бр. (5, 56%).
- от високорисковите типове са: 16 тип -17 бр. (19,3%), 52 тип -10 бр. (11,36%), 56 и 45 тип по 9 бр. (10,2%), 31 тип 8 бр. (9%), 18, 66 и 68 тип по 6 бр. (6,8%), 58 тип – 5 бр. (5,68%), 33 и 59 тип по 3 бр. (3,4%), 39 тип - 2 бр. (2,27%), 40, 61, 35 и 51 по 1 бр. (1,13%).

Вижда се, че преобладават високорисковите типове HPV, като при 14 пациентки инфекцията беше смесена и бяха установени и ниско рискови типове, а при 4 пациентки среднорискови. При шест от пациентките с HPV инфекция бяха установени и трите типа папилома вируси. Общо са описани 13 високорискови типове, което свидетелства за една много висока хетерогенност. Тя може да бъде обяснена с по- висок промискуитет и други рискови фактори опосредстващи вирусната инфекция като тютюнопушенето, което е характерно за българската популация. Най- често при бременните с HPV инфекция се срещаше тип 16 (17 от 62 пациентки – 27%), следван от типове 52, 31 и 18.

Интересен факт е, че има характерни популационни различия в честотата на вирусните типове. Така например Sowjanya и съавтори /151/ представя данни за Индия, където освен тип 16 с висока честота се срещат типовете 18, 33, 35 и 45, които не са характерни за изследваната от нас извадка. За китайската популация най-често срещаните се типове след 16-ти са 52, 58 и 18 /97/. Много сходно на намереното от нас разпределение е описано при пациенти в Румъния /166/.

4.3.2. HPV вирусна инфекция в послеродовия период - честота и разпределение по типове.

В следродовия период положителен тест за HPV инфекция запазиха 71 от бременните жени (таблица 17). При 40 от тях самостоятелно, само по един тип, както следва: нискорискови – 11 бр. (от тях 7 бр тип 6, 3 бр. - тип 56 и 1 бр. тип 11), със среден риск – 3 бр. (тип 53 – 2 бр и тип 71 - 1 бр.) и 26 -с висок риск (11 бр. - 16 тип, по 3 бр. – 52 тип, по 2 бр. 18, 31, 39 и 66 тип и по 1 бр. 33, 45, 59 и 74 тип).

Смесена инфекция с повече от два HPV типа се намери при останалите 31 родилки, както следва: най-честа е комбинацията от високорискови при – 13 жени и ниско с високорискови при 10 родилки. Комбинацията от трите типа (нисък, среден и висок риск) се среща при 3 типа, а при други 3, вирусните типове бяха от среден и висок риск. Ниско рисковите типове се установиха само при 2 родилки.

Три от родилите жени имаха 4 и повече типа, както следва: № 33 с 5 типа: 4 бр. - нискорискови (11 и 42), един среднорисков – 53 и два високорискови – 31 и 45; № 62 – 5 типа, нискорисков – 84 тип, среднорискови - 53, 82 и високорискови – 51 и 59, и № 76 с 4 типа по един ниско (42) и среднорисков (53) и два високорискови (66, 68).

На таблица 17 е показана честотата на типовете HPV след раждане, по групи, в зависимост от онкологичния риск, като и тук броят на диагностицираните типове надхвърля броя на инфектираните жени.

Таблица №17

Честота на регистрираните HPVs типове при изследваните жени след приключване на бременността съобразно онкологичната им значимост

	Разпределение на HPV типове в групата на 71 позитивни родилки	Процент
Високо рискови типове	57	65,5 %
Средно рискови типове	7	8,0 %
Ниско рискови типове	26	29,9 %

По честота най-разпространени типове са:

- от ниско рисковите: 6 тип -10 бр. (33,3%), 11 тип – 6 бр. (20,0%), 42 тип – 3 бр. (10,0%), 56,71, 44 и 54 тип – 2 бр. (6,66%), 43, 84 и 57 и 44 тип – 1 бр. (3.33%). HPV типове 26, 31, 40, 55, 61, 66, 70 и 72 – които бяха идентифицирани по време на бременността не са намерени при родилките при повторния тест.
- от средно рисковите: 53 тип 8 бр. (75,0%), 82 тип 4 бр. (25 %). HPV 81 тип не е установен при изследваните жени след раждане.
- от високорисковите типове са: 16 тип -17 бр. (22,3%), като намерените бройки са същите както и по време на бременността. HPV 31 тип 8 бр. (10,5%), 52 и 56 тип -7 бр. (9,2%), 18, 45 и 66 тип по 6 бр. (7,9%), 58 и 59 тип по 4 бр. (5,2%), 33 и 68 тип – 3 бр. (3,9%), 39 тип 2 бр. (2,6%), 39 тип - 2 бр. (2,3%), 40, 71 и 51 по 1 бр. (1,3%). Типове 61 и 35, които са установени при единични пациентки по време на бременността, не са намерени при същите пациентки след раждане.

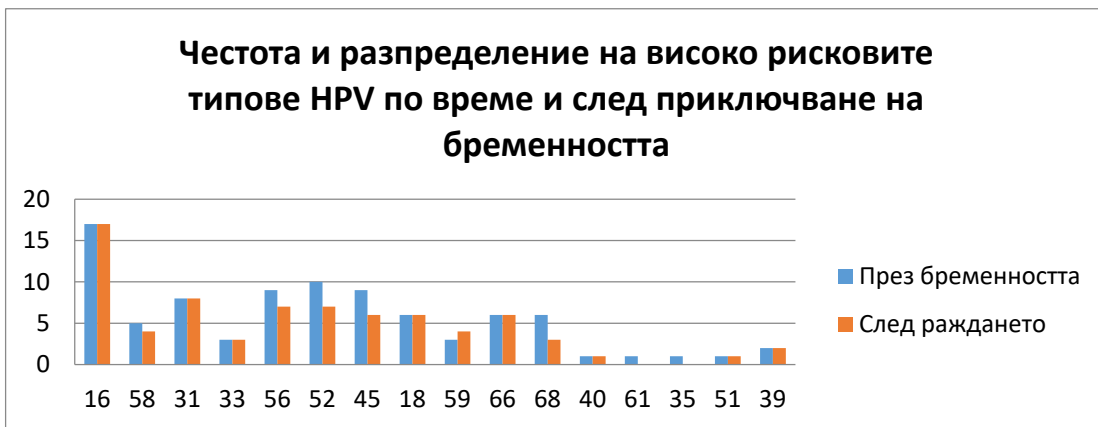
Прави впечатление понижението на честотата на вирусната инфекция, което се отнася и за трите типа – високо-, средно- и нискорискови. И след бременността преобладават високо рисковите типове HPV, като при 7 пациентки инфекцията беше смесена и бяха установени и ниско рискови типове, а при 4 пациентки средно рискови.

При три от пациентките с HPV инфекция бяха установени и от трите типа папилома вируси. При 19 жени, които са били диагностицирани с HPV инфекция по време на бременността, след раждане инфекция не е била установена. В тези случаи е логично е да се приеме, че понижение честотата на вирусната инфекция се дължи на приключване на бременността и промяната в хормоналния и имунен статус на жената.

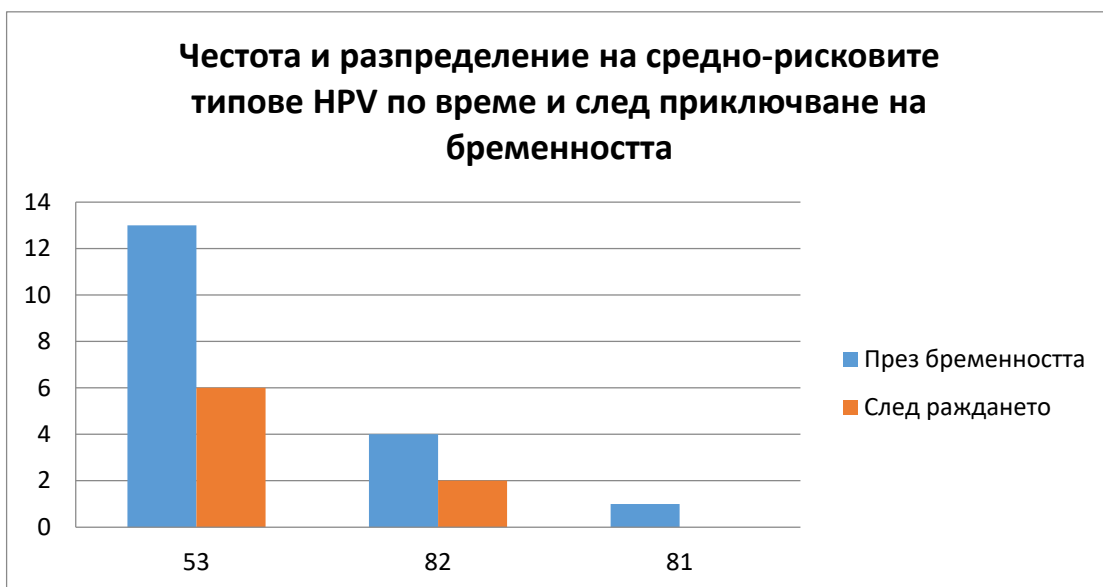


Обобщените данни от настоящето проучване представят една по висока честота на HPV вирусната инфекция по време на бременността, която е статистически значима ($P < 0,005$) сравнена с находката при същите жени след приключване на бременността. Това касае всичките типове HPV регистрирани в изследваната група. Статистическите анализи са извършени с Wilcoxon Signed Ranks Test.

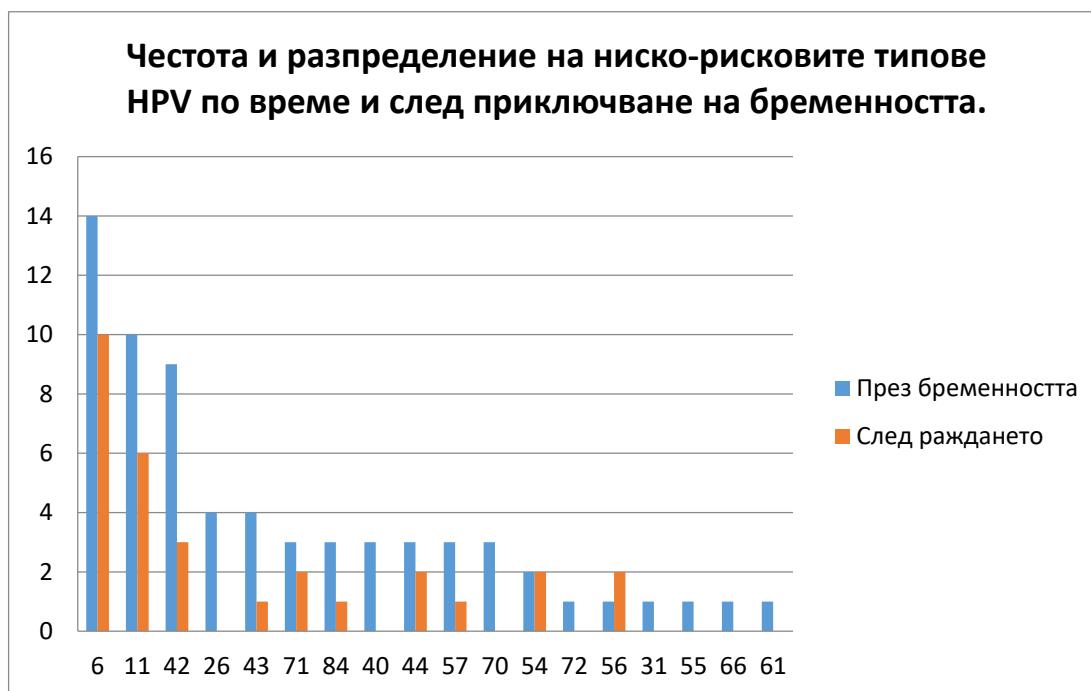
Тази разлика по отношение на отделните типове, съобразно онкологичната им значимост е показана следващите графики (фиг. 2, 3 и 4)



Фигура 2. Честота и разпределение на високо рисковите типове HPV по време и след приключване на бременността.



Фигура 3. Честота и разпределение на средно рисковите типове HPV по време и след приключване на бременността.



Фигура 4. Честота и разпределение на ниско рисковите типове HPV по време и след приключване на бременността.

4.3.3. HPV вирусна инфекция и тютюнопушене

Връзката между тютюнопушенето и предразположението към инфекцията с HPV е отбелязана в редица проучвания. В предходни точки на настоящето проучване беше отбелязано, че този вреден навик е свързан с утежняване на цитологичната и колпоскопска находка, както по време на бременността, така и след приключването, което имаше статистически значима асоциация. Така, следвайки логиката, една от задачите е да бъде проверено и влиянието на тютюнопушенето върху честотата на вирусната инфекция и нейната прогресия.

На таблица 18 е показана корелацията между декларираните анамнестични данни за тютюнопушене (над 10 цигари дневно) и HPV статуса на жената по време на бременността и след нейното приключване.

Таблица № 18

Връзка между тютюнопушене и HPV инфекция по време на бременността и след приключването и.

Тютюнопушене	Жени по време на бременност				Жени след раждане			
	HPV -	%	HPV +	%	HPV -	%	HPV +	%
Група 1. Не	164	99,4	20	32,3	169	97,6	15	49.1
Група 2. Да	1	0.6	42	67.7	1	2.4	42	50.9
Общо	165	100	62	100	170	100	57	100

Намерените данни са силно обезпокоителни. От 43 пушачки по време на бременността и след приключването и, при 42 са установени високо рискови типове HPV, или това са 97% от случаите. Всички статистически обработки на наличните данни, показват, че тютюнопушенето опосредства HPV инфекцията, като неговото негативно влияние показва много висока статистическа значимост – $P=0.0001$.

4.3.4. Проучване вертикалната трансмисия на HPV вирусна инфекция между майка и новородено

В настоящето проучване при 54 новородени от майки с регистрирана HPV инфекция беше проведено изследване с оглед проследяване на вертикалната трансмисия.

Само при 5 новородени (9.26%) бяха намерени HPV типове, които присъстват и при майката, като може да се приеме, че те са предадени по време на родовия процес (табл. 19).

Таблица № 19.

Вертикална трансмисия на HPV инфекцията от майката към детето в изследваната група.

№	Обект на изследването	Типове HPV			Начин на раждане
		Висок риск	Среден риск	Нисък риск	
Случай 1 Ж.Ж.	Майка	31			SC
	Новородено	31			
Случай 2 В.Г.	Майка	16		11, 40, 81	PN
	Новородено	16			
Случай 3 А.В.	Майка	56			PN
	Новородено	56			
Случай 4 Д.Т.	Майка	16		6, 42, 43, 70, 71	PN
	Новородено	16		6,71	
Случай 5 Н.Т	Майка	16, 18		6, 42, 43	PN
	Новородено	16, 18			

Прави впечатление, че при всичките 5 случая се намират предимно високорисковите типове HPV (16, 18, 31 и 56), които присъстват и при майката и за които може да се приеме, че са предадени по време на родовия процес. При 3 от случаите майките са контаминирани допълнително и с ниско рисковите типове (6, 11, 40, 42, 43, 70, 71 и 81).

Въпреки това, заради малкия обем на извадката не може да се правят аргументирани заключения в тази насока. Уместно е изследванията

насочени към този проблем да се продължат, за да прецени необходимо ли е по-специално поведение по време на раждането и действия по отношение на новороденото касаещи профилактика на вирусната инфекция.

Обсъждане

Честотата на гениталната HPV инфекция при жената трудно може да бъде определена, тъй като различните клинични прояви не подлежат на задължително съобщаване и контрол не само в България. За това допринася преобладаването на субклиничните и латентни форми на инфекция, ниската чувствителност и специфичност на класическите и дискутабилните възможности на многобройните нови молекулярно-биологични диагностични техники.

По този начин, докато острите кондилиоми се наблюдават наблюдават в 1% сред сексуално активната популация, при молекулярните изследвания се установява асимптомно носителство между 5-20% от жените в сексуално активна възраст между 15-49 год. възраст и до 30% от бременните. Съобщава се, че около 60% от женското население се среща с HPV инфекция поне един път в живота си, като при повечето от тях инфекцията е преходна. Понастоящем се приема, че HPV инфекция е най-разпространеното СТЗ по света, като броят на засегнатите се оценява на около 300 млн. души /9/.

Добре известно е, че годишно новозаболените от рак на маточната шийка са над 0.5 млн. жени като 80% от тях са регистрирани в развиващите се страни. Повече от половината от тях се асоциират с различните клинични форми на HPV инфекция. Високата заболеваемост от рак на маточната шийка се свързва с разпространението на различните генотипове в различните региони и страни по света.

Класически са данните на Clifford и сътр. /54/, които показаха, че докато процентното разпределение на ниско- и високорисковите HPV типове в четири от световните региони не се различават съществено, напр. за Африка (региона под Сахара) - ниско рисковите са 41%, а високо рисковите – 56%; за Азия - ниско рисковите са 33%, а високо рисковите – 61%; за Южна Америка - ниско рисковите са 32%, а високо рисковите – 66% и за Европа - ниско рисковите са 29%, а високо рисковите – 68%. Те посочват разпространението на HPV генотипа за отделните страни, където при нискорисковите HPV вируси преобладават 6, 11, 42 и 41, докато групата на високорисковите се срещат 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 56 и 58. В тези случаи наличието на HPV типове 16 и 18 в 60% от случаите се свързва с HPV асоцииран рак на маточната шийка.

Установено е, че при бременните жени честота на HPV инфекция е висока отколкото при небременните и варира от 5.5% до 65% /106/. Данните от настоящето проучване, където се установява наличие на различни HPV типове в 38.32% в българската популация на здрави бременни жени

представя една висока честота на вирусната инфекция в българската популация.

В своето проучване, П. Грозданов /2/ оценява честотата на 6 HPV типа, като в него са включени 128 пациентки разделени в четири групи: една – здрави и три с различни степени на тъканен атипизъм (лек, умерен и тежък). Контролната група от клинично здравите пациентки показва висока степен на инфектираност достигаща 20% от пациентките, като се срещат най-често типове HPV 16 и HPV 6, а не се срещат HPV 11 и HPV 18. Тези данни се различават от литературните, където се посочва, че по света при здрави жени преобладава носителство на HPV 18. Авторът посочва, че при умерените дисплазии (CIN 2) доминира HPV 16, а при тежките (CIN 3) е налице голямо типово разнообразие с доминиране на HPV 16, 6 и 33.

Тези данни за честотата и типовото разпределение сред българската популация са близки до данните съобщавани от Georgiev et al. /72/ и се различават значително от тези на Драганов и сътр /6/, където на базата на 160 пациентки се установява 82.5% заразеност, която в зависимост от тежестта на лезиите, най-често се установяват HPV 16 (34.8%), HPV 6 (11.5%) и HPV 11/18 (6.8%).

Разликата в резултатите от посочените проучвания може да се дължи на различията в чувствителността на подобрите праймери използвани за генотипирането и броя на вирусните копия съдържащи се в съответния участък на измененията.

В мета-анализ публикуван от Bruni и съавтори /41/ включващ над един милион жени средната честота на HPV инфекцията е около 11%, като най-висока честота е отбелязана за Африка 24%, Източна Европа 21% и Латинска Америка 16%. Ако в групата на изследваните в нашето проучване жени изключим тези при които са установени средно и ниско рискови типове HPV и оставим само тези с високо рисковите – общо 62, то честотата ще бъде определена на 27%, което е сравнимо с данните за Балканския географски регион.

Инфекцията с човешки папиломен вирус е една от най-честите полово предавани инфекции. Нейното влияние върху бременността е важен и все още не добре изяснен медицински проблем. Промененият имунен и хормонален статус на бременните жени може да благоприятства инфекцията. Търси се връзката между латентните, субклинични и клиничните прояви на болестта, и риска за ранни и късни усложнения при новородените. Важен въпрос е и възможността за ранна диагностика на тази инфекция.

По време на бременността гениталните кондилиоми имат склонност към нарастване и могат да достигнат значителни размери, поради засилена васкуларизация и хормонални и имунологични изменения, които могат да доведат дори до създаване на механична обструкция на родовия канал /55/.

В нашето проучване наличие на вулварни кондилиоми се установи само при 5 жени жени (5.75%) в пуерпералния период, при три от тях (№ 12, 21 и 57) по време и след приключване на бременността се установиха само нискорискови типове 6, а при 1 жена (№ 85) – 11 тип. При една родилка (№32), типовото разнообразие беше значително и освен нискостепенните 11 и 31, по време на бременността бяха установени и два високорискови типа – 70 и 52, които липсваха в послеродовия период. Клиничната характеристика на установените кондилиоми не беше свързана с оплаквания от страна на жените.

Цервикалната инфекция на бременни с високорискови HPV типове се асоциира с възникване на предракови интраепителни неоплазии, аномалии в плацентата, преждевременно раждане и спонтанни аборти в първия и втория триместър от бременността /173/.

Оценката на цервикалната цитология показва, че в основата на патологичните находки стои доказаната HPV инфекция, като превесът е на типовете HPV16 и 18. По отношение на видовете HPV преимуществено застъпени при бременните жени са високорискови генотипове, идентифицирани предимно във втори триместър на бременността - 23.8% сравнено с 13.2%; за първи триместър, 17.4% за трети триместър и 15.1% в постпарталния период. Високорисковите типове – HPV 16 и HPV 18 са преобладавали като находка през трети триместър на бременността /88/.

В нашето проучване, по време на бременността от 87-те жени с HPV типизация само при 8 (9.2%) се установиха нискостепенни цитологични находки (III-A). След приключване на бременността, жените с клетъчна дискариоза са 37 (42.5%), от тях – 31 с ниска степен (III-A) и 6 - с промени от висока степен (Pap III-B), като преобладават случаите родили по нормален механизъм (29 срещу 6)

Обобщените резултати показват, че неблагоприятната промяна на цитологичната находка при налична HPV инфекция след приключване на бременността е със статистически значима разлика ($p= 0.0001$), което подкрепя тезата, че бременността и вирусната инфекция взаимно допринасят за развитието на по-тежки морфологични промени на епителните цервикални клетки.

Нашите данни се подкрепят от проучването на P. Grozdanov et al. /75/, където се изследва честотата и HPV типовото разпределение сред пациентки с различна степен на цервикален цитологичен атипизъм. От взетите 355 проби, в 217 (61%) авторите установяват позитивен тест за наличие на папиломна ДНК. От тях при 164 пациентки (46% от всички и 76% от позитивните за HPV) те диагностицират само един тип, а при други 53 проби (15% от всички пациентки и 24% от позитивните) са намерени два или повече папиломни вида. Типовото вирусно разпределение показва преобладаване на тип 16 - 99 проби (34.6% от всички и 45.6% от позитивните), тип 33 – 30 проби, съответно - 10.5 и 13.8%, тип 31 – 21 проби

(7.3 и 9.7%), тип 6 – 17 проби (5.9 и 7.8%), тип 58 – 15 проби (5.2 и 6.9%), тип 52 – 12 проби (4.2 и 5.5%), тип 18 – 12 проби (3.8 и 5.1%) и др.

Доказано е, че HPV инфектира плацентата, но не е изяснен пътят на заразяване, като има няколко хипотетични възможности: чрез асцендиране на инфекцията, чрез инфекция на яйцеклетката или зиготата преди или в ранните етапи на имплантацията, чрез заразяване на яйцеклетката от сперматозоид с латентна HPV инфекция /168, 164/.

Важен клиничен проблем е дали риска за латентна инфекция на амниона може да се свърже с повишен риск от предтерминно раждане или други усложнения на бременността при жените с HPV инфекция.

В нашето проучване случаите с ППОМ (преди 37 г.с.) са 6 или 6.9% от всичките 87 бременни позитивни за различни HPV типове предимно високорискови. Според J.N. Hong et al. /83/, които представят данни от изследването на група от 2686 бременни жени, не са налице обективни доказателства, че HPV инфекцията е свързана с повишен риск за преждевременно раждане, но въпреки това авторите не изключват категорично риска за възможни усложнения. В тази връзка, тъй като има сравнително малко проучвания по въпроса се счита, че са необходими допълнителни данни за изясняване на потенциалните рискове от HPV инфекцията по отношение на преждевременното раждане.

Данните за риска от предаване на HPV инфекцията от майката на новороденото (вертикална трансмисия) са противоречиви и в различните източници варират от 1-5% до 40-80%. /127/. Установено е, че при положителна проба за HPV при бременните изследването на букална

л

и

г Нашето проучване на 54 новородени от майки с регистрирана HPV инфекция само при 5 новородени (9.26%) бяха намерени HPV типове. Прави впечатление, че при всичките 5 случая се намират предимно високорисковите типове HPV (16, 18, 31 и 56), които присъстват и при майката и за които може да се приеме, че са предадени по време на родовия процес. Въпреки това, заради малкия обем на извадката не може да се правят аргументирани заключения в тази насока, но при клиничното проследяване на децата до този момент не се установяват данни за случай с проявена клиника на ларингеална папиломатоза.

При обсъждането пътищата за заразяване се задава въпроса има ли връзка между начина на родоразрешение и риска за инфектиране на новороденото. Рискът от вертикално предаване на HPV ДНК от HPV заразна майка на новороденото се увеличава, когато бебето е родено вагинално при преминаване през инфектирана шийка на матката. Този начин на заразяване се предполага, че може да е причина за тежкото, но рядко заболяване папиломатоза на ларинкса. Изборът на цезарово сечение не може да предотврати предаването на вируса от HPV-позитивни майки.

е

н

о

т

о

Няма достатъчно доказателства, за да се препоръча задължително цезарово сечение за всички HPV ДНК-позитивни майки /102/.

Проследяването на деца родени по вагинален път от HPV заразени майки, установява липсата на персистираща инфекция при бебетата, 6 месеца след раждането, като може да се предположи временно носителство, а не трайна вертикална инфекция /127/.

Данните за установяване на вертикалното предаване на HPV от майката на плода са непоследователни и оскъдни. Вертикално предаване може да се установи по асцендентен (цервикален) или хематогенен път (трансплацентарно). Потенциален начин за инфекция на фетуса се свързва със заразна сперма при оплождането /86/.

Различни проучвания имат за цел да се определи честотата на човешкия папиломен вирус (HPV) в плацентата, в коластрата и кръв от пъпната връв на раждащи жени и техните новородени. Биопсии са събрани от 150 плаценти, по майчината страна, 150 от феталната страна, 138 кръвни проби от пъпната връв и 118 от коластрата. HPV е бил открит в 4% (6/150) от случаите на страна от плацента на майката, при 3,3% (5/150) от фетална страна, при 2,2% (3/138) в кръвта от пъпната връв и в 0,84% (1/118) в коластрата проби /160, 92/.

Установено е, че инфекцията с HPV в майчиното мляко е рядка. Най-вероятно е заразената майка да предава HPV на новородено чрез плацентата или кръв от пъпната връв /170/.

Изводи

- *Разпространението на вирусните типове в групата на изследваните жени показва, че HPV инфекция по време на бременността е установена при 87 (38.32%) жени, докато след нейното приключване позитивна HPV типизация се запазва при 68 (29.95%) жени. Липсата на някои от HPV типовете в пуерпералния период, при други 23 бременни със смесена инфекция ни дава основание да посочим, че е налице статистически значимо намаление на вирусната инфекция ($p = 0.0001$).*
- *В групата на бременните под 30 години, се отчита по-нисък процент на високо- и среднорисковите типове, в сравнение с пациентките над 30 години.*
- *Не се установява статистически значима разлика, свързана с начина на раждане и намаляването честотата на различни HPV типове ($p = 0.7863$). От всички 87 бременни - 59 жени са родили по нормален механизъм, от тях след раждането - при 14 (23.73%) е установена липса на вирусна инфекция, докато в групата на 28-те жените родили със секцио, те са 5 случая или 17.86%.*
- *Ниска е честотата на случаите с клинично изяви вулварни кондиломи (5.75%). Такива се откриват само при 5 жени в*

пуерпералния период, като при тях се установяват предимно нискорискови типове 6 и 11 тип.

- Нисък е клиничния риск за латентна инфекция на амниона свързана с установяване на папиломни вируси. В нашето проучване честотата на случаите с ППОМ (предимно 35-36 г.с.) е 6.9% (6 от 87 позитивни бременни), като при всички бяха регистрирани високорискови типове HPV (16, 31, 56, 66, 68).
- В нашето проучване, по време на бременността от 87-те жени с HPV типизация само при 8 (9.2%) се установиха нискорискови цитологични находки (III-A). След приключване на бременността, жените с клетъчна дискардиоза са 37 (42.5%), от тях – 31 с ниска степен (III-A) и 6 - с промени от висока степен (Pap III-B), като преобладават случаите родили по нормален механизъм (29 срещу 6)
- Обобщените резултати показват, че неблагоприятната промяна на цитологичната находка при налична HPV инфекция след приключване на бременността е със статистически значима разлика ($p = 0.0001$), което подкрепя тезата, че бременността и вирусната инфекция взаимно се допълват за развитието на по-тежки морфологични промени на епителните цервикални клетки.
- В групата на бременните при 62 от тях е установената вирусна инфекция от високорисковите типове, среднорисковите типове са 17 и ниско рискови при 44. При 41 от случаите HPV инфекция е причинена, само от един тип, докато при останалите 46 бременни се намери смесена инфекция (от два до 8 типа).
По честота най-разпространени са: от нискорисковите - 6 тип (20.5%), 11 тип (14.7%), 42 тип (13.2%), 26, 43 и 70 тип (по 5.9%), 71, 84, 40, 57 и 44 тип (по 2.9%), 54 и 56 (по 2.9%) и 55, 66, 61, 31, 72 (по 1.4%); от среднорисковите - 53 тип (72.2%), 82 тип (22.2%) и 81 тип (5.56%); от високорисковите типове са 16 тип (19.3%), 52 (11.36%), 56 и 45 тип (по 10.2%), 31 тип (9%), 18, 66 и 68 тип (по 6.8%), 58 (5.68%), 33 и 59 тип (по 3.4%), 39 тип (2.27%) и 40, 61, 35 и 51 (по 1.13%).
- В следродовия период положителен тест за HPV инфекция запазиха 71 от бременните жени. При 40 от тях самостоятелно, само по един тип, при останалите 31 родилки - смесена инфекция от два до четири HPV типа
По честота най-разпространени типове са: от нискорисковите - 6 (33.3%), 11 (20.0%), 42 (10.0%), 56, 71, 44 и 54 тип (по 6.66%), 43, 84 и 57 и 44 (по 3.33%); от среднорисковите - 53 тип (75.0%), 82 (25%); от високорисковите типове - 16 (22.3%), 31 тип (10.5%), 52 и 56 (по 9.2%), 18, 45 и 66 (по 7.9%), 58 и 59 (по 5.2%), 33 и 68 (по 3.9%), 39 (2.6%), 39 тип (2.3%), 40, 71 и 51 (по 1.3%).

- Данните от анамнезата, показват статистическа значимост ($p= 0.0001$) на взаимовръзката тютюнопушене с установената HPV инфекция, като от 43 пушачки по време на бременността и в следродовия период, при 42 в 97% от случаите са установени високо рискови типове HPV.
- При 54 новородени от майки с регистрирана HPV инфекция при 5 новородени (9.26%) бяха намерени предимно високорискови типове HPV (16, 18, 31 и 56), които присъстват и при майката и за които може да се приеме, че са предадени по време на родовия процес.

4.4. ДИАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМОСТ НА ЦИТОЛОГИЧНОТО И КОЛПОСКОПСКО ИЗСЛЕДВАНЕ В ЗАВИСИМОСТ ОТ HPV СТАТУСА

С оглед поставената цел на изследването да проучим разпространението и клиничната значимост на HPV инфекция на маточната шийка при бременни жени си поставихме задача да обективизираме диагностичните възможности на приложените методи за ранна диагностика на цервикалните изменения. Като критерий за оценка или т.нар. «златен стандарт» използвахме положителния резултат (за средно и високорискови онкологични типове) от HPV теста.

Тези данни сравнихме с обобщените класификационни находки за резултати от цитологичното и колпоскопско изследване посочени в глава „Материал и методики“. За целта цитонамазките бяха разделени в две групи: нормални (Pap I и II) и атипични / дискариотични (III-A и по-тежка степен). А колпоскопските находки бяха групирани в три подгрупи - нормални, атипични и суспектни за неоплазия, съобразно посочените по-долу критерии:

Група – Нормални колпоскопски находки

- колпоскопия: оригинален плосък епител, цилиндричен епител, нормална зона на трансформация
- колпоскопия: различни други находки, като възпаление, ендометриоза, полипи и др.

Група – Анормални колпоскопски находки

- дискретни, нежни анормални колпоскопски находки - плосък оцетно-бял епител, пунктирана зона, мозайка
- колпоскопия: по тежките варианти на анормалните колпоскопски находки, както и участъците със съдов атипизъм или йод-негативност, в или извън ЗТ

Група - Колпоскопски находки суспектни за инвазивен карцином

4.4.1. Диагностична сигурност на цитологичния метод

Връзката между HPV инфекцията и цитологичните промени не е еднозначна. Въпреки, че като цяло се приема, че човешките папиломни вируси са необходимо, но недостатъчно условие за появата на клетъчен полиморфизъм, корелацията между резултатите от двата скринингови метода е обект на различни проучвания /59, 163/.

В проучването на Moscicki et al. /111/ се подчертава, че бременността не увеличава прогресията на пре-неопластичните цервикални находки. Авторите обсъждат целесъобразността от провеждането на цитологични изследвания по време на бременността, като смятат, че използването на ДНК тестове за определяне наличието на HPV инфекция е препоръчително в диагностичен план.

Оценка възможностите на проведеното цитологично изследване да диагностицира морфологични промени асоцииращи се с наличие на HPV инфекция се извърши на база сравняване на резултатите от двата тест представени в таблица 20.

Данните от настоящето проучване показват, че по време на бременността при 217 (95.59%) пациенти цитологичната находка е била определена като PAP I и PAP II. От тях 156 (71.9%) са определени като истински негативни (ИН) за липсата на позитивност за HPV инфекция или с наличие на ниско-рискови типове. При останалите 61 пациентки (28.1%) от тази група са намерени средно и високо-рискови типове HPV, които се явяват фалшиво отрицателни (ФН) поради липса на дискариотични промени, които да се асоциират с позитивния HPV тест. При десет от пациентките (4.41%) е определена цитологична находка PAP III-A, която при две (20%) се оценява като фалшиво позитивни (ФП) т.е липсва HPV инфекция, а при останалите осем (80%) се приемат за истински позитивни (ИП) поради наличието на средно и високо-рискови типове (табл 20).

Таблица № 20.

Сравнение на данните от проведения Pap тест и HPV тестване по време на бременността.

Цитологични находки	РЕЗУЛТАТИ от ДНК теста за HPV (бременни)				Общо
	Отрицателен тест		Положителен тест		
Pap тест	Негативни за HPV	Ниско рискови HPV типове	Средно рискови	Високо рискови	
PAP I	47 (82.4%)	4 (7%)	1 (1.8%)	5 (8.8%)	57 (100%)
PAP II	91 (56.9%)	14 (8.8%)	5 (3.1%)	50 (31.2%)	160 (100%)

РАР III-A	2 (20%)	0	1 (10%)	7 (70%)	10 (100%)
РАР III-B	0	0	0	0	0
РАР IV	0	0	0	0	0
РАР V	0	0	0	0	0
Общо	140 (61.7%)	18 (7.9%)	7 (3.1%)	62 (27.3%)	227 (100%)

На основание на представените резултати за групата на бременните жени се намериха следните стойности на категориите отразяващи акуратността на цитологичното изследване да диагностицира пациентките за наличие или отсъствие HPV инфекция, както следва: фалшиво позитивни (ФП) – 2 (0.9%), фалшиво-негативни (ФН) - 61 (26.9%), истински позитивни (ИП) - 8 (3.5%), истински негативни (ИН) – 156 (68.7%); чувствителност- 11.59% ; специфичност - 98.73%; Pr.v.(+) - 80.0%, Pr.v.(-) - 71.89%; Ефикасност – 72.2%.



За да се оцени динамиката на цервикалните промени на фона на HPV статуса и влиянието на бременността същите показатели бяха анализирани в изследваната група жени след раждане (табл 21).

Таблица № 21

Сравнение на данните от проведения Рар тест и HPV тестване в послеродовия период.

Цитологични находки	РЕЗУЛТАТИ от ДНК теста за HPV (родилки)				Общо
	Отрицателен тест		Положителен тест		
Рар тест	Негативни за HPV	Ниско рисков HPV типове	Средно рискови	Високо рискови	
<i>РАР I</i>	17 (100%)	0	0	0	17 (100%)
<i>РАР II</i>	133 (80.6%)	10 (6.1%)	1 (0.6%)	21 (12.7%)	165 (100%)
РАР III-A	9 (22.5%)	0	0	31 (77.5%)	40 (100%)
РАР III-B	0	0	0	5 (100%)	5 (100%)
РАР IV	0	0	0	0	0
РАР V	0	0	0	0	0
Общо	159 (70%)	10 (4.4%)	1 (0.5%)	57 (25.1%)	227

При 182 (80.18%) пациенти цитологичната находка е била определена като PAP I и PAP II. От тях 160 (87.9%) са ИН, тъй като са негативни за HPV инфекция или за наличие на ниско-рискови типове. Останалите 22 пациентки (12.1%) са определени като ФН поради наличие на средно и високо-рискови типове HPV. Други 45 (19.82%) от пациентките са с цитологична находка PAP III-A и PAP III-B, от които ФП са 9 пациентки (22.5%) поради липса на HPV инфекция, а в останалите - 36 пациентки (77.5%) е свързана с наличието на високо-рискови типове, които са ИП.

На основание на представените резултати за изследваната група жени след раждане се намериха следните стойности на категориите отразяващи акуратността на цитологичното изследване да диагностицира пациентките за наличие или отсъствие HPV инфекция, както следва: фалшиво позитивни (ФП) – 9 (3.9%), фалшиво-негативни (ФН) - 22 (9.7%), истински позитивни (ИП) - 36 (15.9%), истински негативни (ИН) – 160 (70.5%); чувствителност- 62.07%; специфичност - 94.67 %; Pr.v.(+) - 80.00%, Pr.v.(-) - 87.91%; Ефикасност – 86.3%.

Обсъждане

В литературата е представена разнообразна оценка на параметрите свързана с дизайна на проучванията, размера на групите и други фактори. Като цяло се приема, че се наблюдава високо ниво на фалшиво негативни (ФН) цитологични данни /120/.

В групата на 69-те бременни жени, при които има регистрирана вирусна инфекция с високо и средно рискови типове HPV, нормална цитологична находка е определена при 61 (88.4%), докато за патологична, описана като PAP III-A при 8 (11.6%). Тези данни са в подкрепа на мнението на много автори, които обръщат внимание, че наличието на HPV инфекция не е задължително свързано с неблагоприятни промени на цервикалните клетки. От тази гледна точка, ДНК базирания скрининг тест за HPV, като част от профилактиктивна програма по време на бременността си заслужава да бъде назначаван само при наличие аномални цитологични находка имайки предвид, че в нашето проучване негативния тест за HPV е установен при 160 (87.9%) от бременните жени. Липсата на категорична връзка на HPV статуса с цитологичните промени на цервикалните клетки се потвърждава и от наблюдаваната статистически значима разлика ($p=0.023$) при сравняване наличието на патологични находки при липсата на вирусна инфекция (2 от 158 бременни) и при наличието на такава (8 от 69 бременни).

След приключване на бременността се наблюдава още по-подчертана статистически значима разлика ($p= 0,0001$) в наличието на патологични находки при липсата на вирусна инфекция (9 от 169 бременни) и при наличието на такава (36 от 58 бременни табл. 21)

Липса на корелация между цитологичния резултат и приложените молекулярно-биологични тестове отчитат Златков и сътр. /10/, които

намират, че DNA-HPV теста е позитивен при 73.1% (n=120) от случаите с негативен Pap тест (I-II гр.) от изследваните 164 жени. Подобни са данни и за положителните за E6/E7 mRNA теста – 60.8% (14 от 23) жени, при които се намира нормална цитологична находка. Това потвърждава нашите данни, че цитологичното изследване е с ниска диагностична стойност (чувствителност) за откриване на HPV инфекцията. И докато при ДНК тестовете, това е обяснимо, имайки предвид необходимостта от продължително персистиране на вируса за иницииране на канцерогенезата, то случаите с нормален цитологичен резултат и позитивност на РНК-теста означава, че този процес е стартирал, но все още няма морфологична изява на ниво единични клетки от повърхностния епител, които се ексфолират при пробовземането на материала.

Категориите отразяващи акуратността на цитологичното изследване и връзката му с HPV инфекцията по време на бременността и след раждане са сравнени в таблица 22.

Таблица № 22.

Сравнение на акуратността на цитологичното изследване за откриване на HPV инфекцията по време на бременността и след раждане.

Категории	По време на бременността	След раждане
Истински позитивни	8 (3.5%)	36 (15.9%)
Фалшиво позитивни	2 (0.9%)	9 (3.9%)
Фалшиво негативни	61 (26.9%)	22 (9.7%)
Истински негативни	156 (68.7%)	160 (70.5%)
Чувствителност	11.59%	62.07%
Специфичност	98.73%	94.67%
Положителна прогнозна стойност PPV	80%	80%
Отрицателна прогнозна стойност NPV	71.89%	87.91%
Ефективност	72.2%	86.3%

Диагностичната чувствителност на цитологичните изследвания да откриват HPV позитивни пациентки е много по-голяма след раждане в сравнение на намерената по време на бременността – 62% спрямо 11.59%. Въз основа на тази високата специфичност може да се приеме, че при нормални резултати от цитологични изследвания не е целесъобразно пациентките да се насочват за ДНК изследвания за HPV инфекция. Друг показател, който е важно да бъде обсъден е ефективността на теста. По принцип тя се влияе от честотата (преобладаването) на заболяването. При сравними параметри по отношение на чувствителност и специфичност ефективността на даден тест ще нараства с намаляване на преобладаването на заболяването. Това може да обясни, защо ефективността на теста след раждане е по-висока (86.3%) спрямо тази по време на бременност (72.2%),

като се отчита, че HPV вирусната инфекция е по-рядка в послеродовия период вероятно следствие инволюция на измененията на база промяна в хормоналния статус и клетъчно-медиацията на имунитет.

4.4.2. Диагностична сигурност на колпоскопското изследване

В клиничната практика най-важно за оценката на взаимовръзката между човешкия папиломен вирус и пре-неопластичните и неопластични лезии на маточната шийка е наличието на обективни критерии, които да показват кога и кои изменения ще прогресират, регресират или стационарират.

В нашето проучване се потвърди, че цитологичното изследване е с ниска диагностична стойност за откриване на HPV инфекция. В тази връзка е необходимо да се оцени ролята на колпоскопското изследване, като алтернативен метод за клинична диагноза на папиломните лезии. В своята монография И. Каргъзов и А. Карагъзов /177/ посочват, че в зависимост от конкретната ситуация колпоскопията се явява водещ или подчинен на цитологията филтърен метод. В това отношение изследването на бременните жени е добър пример за приложение на колпоскопията като втори филтър, с който се цели намаляване процента на излишните биопсии.

Оценка възможностите на проведеното колпоскопско изследване да диагностицира морфологични промени асоцииращи се с HPV инфекция се са представени в таблица 23.

Таблица № 23.

Сравнение на данните от колпоскопското изследване и HPV тестуване по време на бременността.

Колпоскопски находки	РЕЗУЛТАТИ от ДНК теста за HPV (бременни)				
	Отрицателен тест		Положителен тест		Общо
	Негативни за HPV	Ниско рискови HPV типове	Средно рискови	Високо рискови	
Нормални	139 (63.5%)	18 (8.2%)	6 (2.7%)	56 (25.6%)	219 (100%)
Аномални	1 (12.5%)	0	1 (12.5%)	6 (75.0%)	8 (100%)
Суспектни за Нео	0	0	0	0	0
Общо	140 (61.7%)	18 (7.9%)	7 (3.1%)	62 (27.3%)	227 (100%)

Данните от настоящето проучване показват, че по време на бременността при 219 (96.47%) пациенти колпоскопската находка е била определена като нормална. От тях 157 (71,7%) са ИН защото са негативни за HPV инфекция или е установено наличие на ниско-рискови типове.

Останалите 62 пациентки (28,3%) се явяват ФН, тъй като са намерени средно и високо-рискови типове HPV. При осем (3.52%) от пациентките е определена анормална колпоскопска находка, от които една (12.5%) е ФП поради липса на HPV инфекция, а при останалите седем (87,5%) са ИП заради наличието на средно и високо-рискови типове (табл. 23).

На основание на представените резултати за групата на бременните жени се намериха следните стойности на категориите отразяващи акуратността на колпоскопското изследване да диагностицира пациентките за наличие или отсъствие HPV инфекция, както следва: фалшиво позитивни (ФП) – 1 (0.4%), фалшиво-негативни (ФН) - 62 (27.3%), истински позитивни (ИП) - 7 (3.1), истински негативни (ИН) – 157 (69.2%); чувствителност- 10.14% ; специфичност - 99. 37%; Pr.v.(+) - 87.5%, Pr.v.(-) - 71.69%; Ефикасност – 72.24%.



За да се оценят промените в колпоскопските находки на фона на HPV статуса и влиянието на бременността същите показатели бяха анализирани в изследваната група жени след раждане (табл 24).

При 194 (85.46%) пациентки тя е определена като нормална. От тях 165 (85,1%) са ИН, определени като негативни за HPV инфекция или с наличие на ниско-рискови типове. Като ФН са оценени останалите 29 пациентки (14,9%), при които са намерени средно и високо-рискови типове HPV. Други 33 (14.54%) от пациентките са с анормална колпоскопска находка, при които 4 (12%) са ФП на фона на липсваща HPV инфекция, а в останалите 29 (88%) са налице високо-рискови типове и се явяват ИП.

Таблица № 24.

Сравнение на данните от колпоскопското изследване и HPV тестване в послеродовия период.

Колпоскопски находки	РЕЗУЛТАТИ от ДНК теста за HPV (родилки)				Общо
	Отрицателен тест		Положителен тест		
	Негативни за HPV	Ниско рискови HPV типове	Средно рискови	Високо рискови	
Нормални	155 (79.9%)	10 (5.1%)	1 (0.5%)	28 (14.5%)	194 (100%)
Анормални	4 (2.5%)	0	0	29 (75.0%)	33 (100%)
Суспектни за Нео	0	0	0	0	0
Общо	159 (70.0%)	10 (4.5%)	1 (0.4%)	57 (25.1%)	227 (100%)

На основание на представените резултати за изследваната група жени след раждане се намериха следните стойности на категориите отразяващи акуратността на колпоскопското изследване да диагностицира пациентките за наличие или отсъствие HPV инфекция, както следва: фалшиво позитивни (ФП) – 29 (12.8%), фалшиво-негативни (ФН) - 4 (1.8%), истински позитивни (ИП) - 29 (12.8), истински негативни (ИН) – 165 (72.6%); чувствителност- 87.88%, специфичност - 85.05%; Pr.v.(+) - 50.0%, Pr.v.(-) - 97.63%; Ефикасност – 85.5%.

Категориите отразяващи акуратността на колпоскопското изследване и връзката му с HPV инфекцията по време на бременността и след раждане са показани на таблица 25 .

Таблица № 25.

Сравнение на акуратността на колпоскопското изследване за откриване на HPV инфекцията по време на бременността и след раждане.

Категории	По време на бременността	След раждане
Истински позитивни	7 (3,1%)	29 (12,8%)
Фалшиво позитивни	1 (0,4%)	29 (12,8%)
Фалшиво негативни	62 (27,3%)	4 (1,8%)
Истински негативни	157 (69,2%)	165 (72,2%)
Чувствителност	10,14 %	87,88%
Специфичност	99,37 %	85,05%
Положителна прогнозна стойност PPV	87,5%	50%
Отрицателна прогнозна стойност NPV	71,69%	97,63%
Ефективност	72,24%	85,5%

Обсъждане

Колпоскопското изследване – нативна и разширена колпоскопия с използване на оцетна киселина и Луголов разтвор беше проведено при всичките 227 жени по време и след приключване на бременността.

Анализът на данните по време на бременността показва, че преобладават нормалните колпоскопски находки – 219 (96.48%) срещу статистически значимо по нисък дял на аномалните – 8 бр. (3.52%). Подобна тенденция е налице и при резултатите от колпоскопското изследване на родилите жени, където нормалните находки са 194 бр. (85.5%), а аномалните колпоскопски находки са 33 бр. (14.5%). И тук, след раждането както при цитологичното изследване, колпоскопското

изследване показва по-високи диагностичните възможности в пуерпералния период, което е статистически значимо ($p=0001$) и отразява динамиката на находките по-време и след бременността.

Според Карагъзов и сътр. /12/ честотата на колпоскопските атипични находки се установява в границите от 5- до 20%, сред които честота на колпоскопските HPV находки е в границите на 2.68 до 5.51%, а на тези които се асоциират с пре-неопластични изменения от 0.5 до 1.6%/

Повечето от проучванията не дават висока оценка за специфичността и чувствителността на колпоскопското изследване за откриване на HPV инфекцията. Те посочват, че пряка зависимост между наличието на аномална колпоскопска находка и вирусна инфекция обикновено не е статистически значима /118/.

Подобни резултатите съобщава и В. Златков /7/, който отчита липсата на значима статистическа разлика в честотата на нормални (51.3%) и аномални находки (48.7%) при изследване на бременни жени с начална бременност, в сравнение с тези след приключване на бременността, където нормалните са 58.7%, а аномални колпоскопски находки - 41.3%.

Той посочва, че по-високата чувствителност на колпоскопския метод се движи в границите от 72.1 до 90%, спрямо 30 - 58.3% при цитологичния метод. Същевременно, потвърждава по-голямата специфичност на цитологичното изследване (90.6- 98.3%) сравнена с тази на колпоскопското (69.2 - 81.2%).

Изводи

- *В групата на 69-те бременни жени, при които има регистрирана вирусна инфекция с високо и средно рискови типове HPV, нормална цитологична находка е определена при 61 (88.4%), докато за патологична, описана като PAP III-A и по-тежка, едва при 8 (11.6%), което показва липсата на категорична връзка ($p=0.023$) на HPV статуса с цитологичните промени на цервикалните клетки.*
- *Същата зависимост подкрепена със статистически значима разлика ($p= 0,0001$) се наблюдава и след приключване на бременността, което потвърждава, че HPV инфекция вероятно е необходимо, но недостатъчно условие за появата на клетъчен полиморфизъм (атипизъм) на цервикалните клетки.*
- *Анализът на резултатите от колпоскопското изследване по време на бременност показва, че преобладават нормалните колпоскопски находки – 219 (96.48%) срещу статистически значимо по нисък дял на аномалните – 8 бр. (3.52%).*
- *Подобна тенденция е налице и при резултатите от колпоскопското изследване на родилите жени, където*

нормалните находки са 194 бр. (85.5%), а аномалните колпоскопски находки са 33 бр. (14.5%). И тук, след раждането както при цитологичното изследване, колпоскопското изследване показва по-високи диагностичните възможности в пуерпералния период, което е статистически значимо ($p=0001$) и отразява утежнената динамика на находките по-време и след бременността.

- Пряка зависимост между наличието на аномална колпоскопска находка и вирусна инфекция не е статистически значима.
- Обобщеният анализ потвърждава ниската диагностична значимост на цитологичното и колпоскопско изследване за откриване на морфологични промени свързани с наличието на цервикална HPV инфекция.

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Здравното състояние на маточната шийка по време на бременност е важен проблем в акушеро-гинекологичната практика, поради добре известната роля на хормоналните промени, водещи до трудности в диагностичната интерпретация на находките.

Както нашето, така и множество други проучвания показват, че честотата на предраковите изменения на маточната шийка по време на бременност не се различава съществено от тази при небременните жени. В тази връзка си поставихме задача да оценим дали са налице рискови фактори, които да се асоциират с тези промени или самата бременност трябва да се приеме като възможност за обособяване на рискова група изискваща организация на профилактична програма.

Нашето изследване на базата на анамнестични, клинични и лабораторни изследвания установи, че проучената от нас група бременни са клинично здрави жени. Всички отклонения включително и при тези при които се установяваха някои различия или рискови фактори се движеха в границите на нормата за съответния показател. Това ни даде основание да гарантираме липсата на друга патология, която би опорочила анализа на проведените диагностични изследвания.

Предлагани са и се прилагат различни диагностични методи за оценка състоянието на цервикалната лигавица. За съжаление, малко от тях изпълняват самостоятелно всички изисквания за качествен и ефективен скрининг.

Цитологичното изследване продължава да бъде водещият тест за оценка здравното състояние на епитела на маточната шийка по-време на бременност, поради висока специфичност, независимо от ниската чувствителност. Установената статистически значима разлика, която показва промяна тежестта на цитологичните находки след приключване на бременността е за сметка основно на ниско степенните изменения. Подобна значима разлика в посока утежняване тежестта на цитологичните изменения по време и след приключване на бременността се намира и при жени родили по абдоминален път спрямо тези родразрешени по нормален механизъм, както и на пушачки сравнени с тези бременни, които непушат.

В тази връзка анализът на получените резултати поставят въпроса, доколко жените родили чрез цезарово сечение и злоупотребяващи с никотин представляват рискова група и изискват по-нататъшно активно проследяване.

Ролята на колпоскопското изследване като референт на патологичните цитонамазки е добре известна. В нашето проучване, както и след приложение на цитологичния метод установихме статистически значимо утежняване на находките след приключване на бременността като тази тенденция е за сметка на възпалителните, HPV и нискостепенните CIN изменения. Същевременно се запазва и неблагоприятната тенденция за

утежняване на колпоскопските находки при жените, които пушат в сравнение с непушачките.

Хистологичното изследване продължава да е т. нар. "златен стандарт" при оценка възможностите на различните методики. В нашето проучване „страхът“ от приложение на прицелна биопсия от страна на пациентките е в основата на малкия брой случаи, при които си позволихме да използваме методиката и то след приключване на бременността. Това не ни позволява да направим значими изводи, но въпреки това прави впечатление асоциацията на хистологичните промени с морфологични данни за HPV инфекция в случаите с нискостепенните находки завършили с деструктивна терапия.

Намерените от нас статистически значими разлики в цитологичните, колпоскопските и единичните хистологични находки между групата от бременни и контролния преглед след приключване на бременността още веднъж обръщат внимание върху необходимостта от комплексно прилагане и на трите методики. Въпреки това имайки предвид актуалната хипотеза за механизма на цервикалната онкогенеза, проучването на HPV-инфекцията чрез ДНК тестване се явява съществен момент при оценка на различните предракови изменения.

В тази връзка, типизацията за наличието на основните онкогенни HPV генотипа се приема като обективен тест, чрез които бихме намалили субективните грешки при използване на досегашните класически методи за диагноза.

В проведеното от нас проучване с цел изясняване HPV статуса на 227 бременни жени и динамичното му проследяване в ранния пуерперален период показва, че разпространението на HPV инфекция по време на бременността достига 87 (38.32%) жени, докато след нейното приключване позитивна HPV типизация се запазва при 68 (29.95%) жени. Липсата на някои от HPV типове в пуерпералния период, при други 23 бременни със смесена инфекция ни дава основание да посочим, че е налице статистически значима инволюция на вирусната инфекция ($p = 0.0001$).

Не се установява статистически значима разлика, свързана с начина на раждане и намаляването честотата на различни HPV типове ($p = 0.7863$). Ниска е честотата на случаите с клинично изяви вулварни кондилони - 5 (5.75%) жени в пуерпералния период. Нисък е клиничният риск за латентна инфекция на амниона от носителството на папиломни вируси. В нашето проучване честотата на случаите с ППОМ (предимно 35-36 г.с.) е 6.9% (6 от 87 позитивни бременни), като при всички бяха регистрирани високорискови типове HPV (16, 31, 56, 66, 68).

Пряката връзка на HPV инфекцията с промени в цитологичната находка, трудно може да бъде оценена. Въпреки това обобщените резултати в нашето проучване показват, че неблагоприятната промяна на цитологичната находка при налична HPV инфекция след приключване на бременността е със статистически значима разлика ($p = 0.0001$), което

подкрепя тезата, че бременността и вирусната инфекция взаимно допринасят за развитието на по-тежки морфологични промени на епителните цервикални клетки.

В групата на бременните при 62 от тях е установената вирусна инфекция от високорисковите типове, среднорисковите типове са 17 и ниско рискови при 44. При 41 от случаите HPV инфекция е причинена, само от един тип, докато при останалите 46 бременни се намери смесена инфекция (от два до 8 типа).

По честота най-разпространени са: от нискорисковите - 6 тип (20.5%), 11 тип (14.7%), 42 тип (13.2%), 26, 43 и 70 тип (по 5.9%), 71, 84, 40, 57 и 44 тип (по 2.9%), 54 и 56 (по 2.9%) и 55, 66, 61, 31, 72 (по 1.4%); от среднорисковите - 53 тип (72.2%), 82 тип (22.2%) и 81 тип (5.56%); от високорисковите типове са 16 тип (19.3%), 52 (11.36%), 56 и 45 тип (по 10.2%), 31 тип (9%), 18, 66 и 68 тип (по 6.8%), 58 (5.68%), 33 и 59 тип (по 3.4%), 39 тип (2.27%) и 40, 61, 35 и 51 (по 1.13%).

В следродовия период положителен тест за HPV инфекция запазиха 71 от бременните жени. При 40 от тях самостоятелно, само по един тип, при останалите 31 родилки - смесена инфекция от два до четири HPV типа

По честота най-разпространени типове са: от ниско-рисковите - 6 (33.3%), 11 (20.0%), 42 (10.0%), 56, 71, 44 и 54 тип (по 6.66%), 43, 84 и 57 и 44 (по 3.33%); от среднорисковите - 53 тип (75.0%), 82 (25%); от високорисковите типове - 16 (22.3%), 31 тип (10.5%), 52 и 56 (по 9.2%), 18, 45 и 66 (по 7.9%), 58 и 59 (по 5.2%), 33 и 68 (по 3.9%), 39 (2.6%), 39 тип (2.3%), 40, 71 и 51 (по 1.3%).

Анализът на анамнестичните данни, показват че тютюнопушенето опосредства HPV инфекцията, като неговото негативно влияние показва много висока статистическа значимост ($p=0.0001$). От 43 пушачки по време на бременността и в следродовия период, при 42 са установени високо рискови типове HPV, или 97% от случаите.

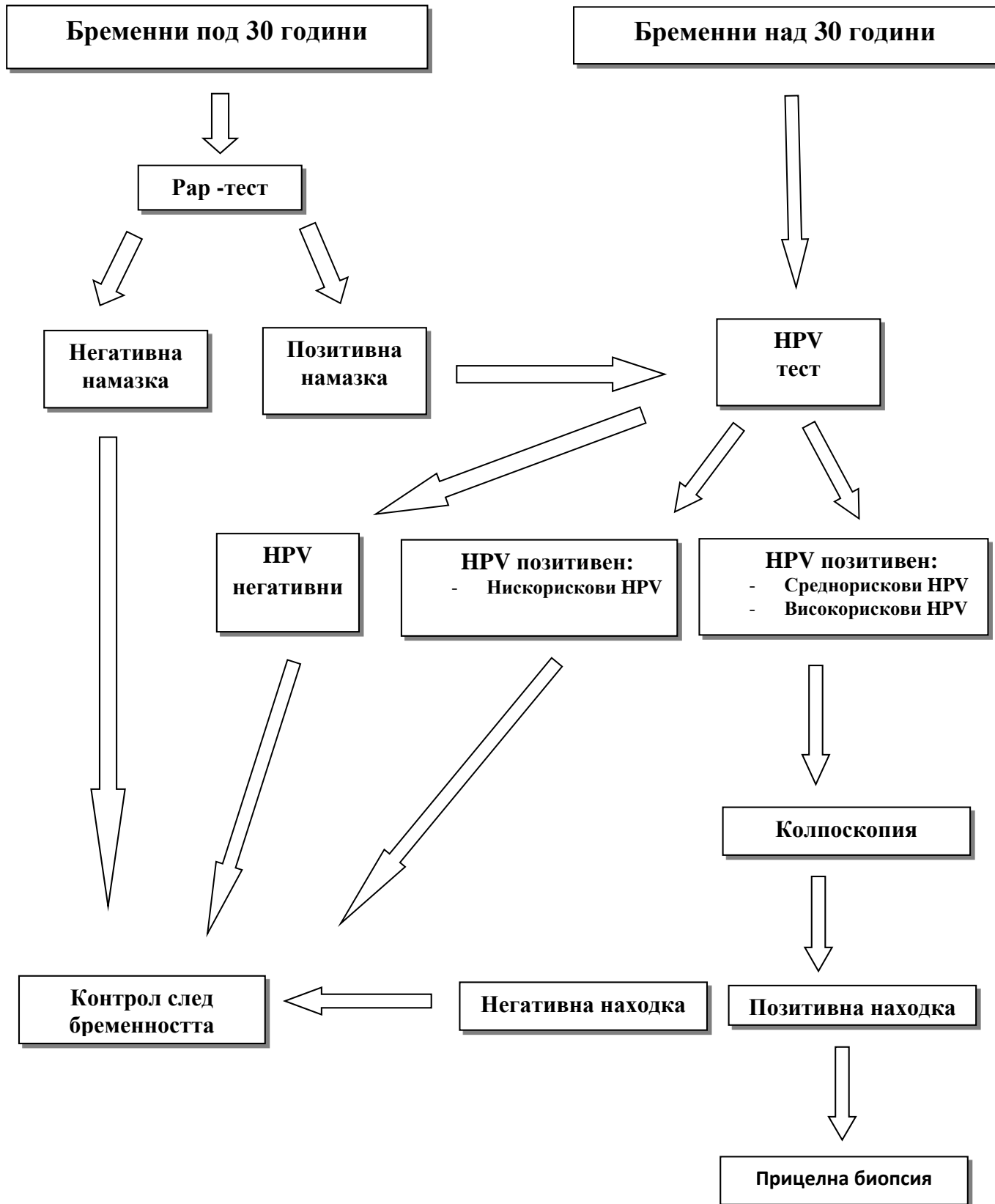
При 54 новородени от майки с регистрирана HPV инфекция при 5 новородени (9.26%) бяха намерени предимно високорискови типове HPV (16, 18, 31 и 56), които присъстват и при майката и за които може да се приеме, че са предадени по време на родовия процес.

Проучването потвърждава ниската специфичност и чувствителност, както на цитологичното, така и на колпоскопско изследване за откриване на HPV инфекцията. И тук, двете методик показва по-високи диагностичните възможности в пуерпералния период, което е статистически значимо ($p=0.0001$) и отразява утежняването на находките след бременността.

В обобщение на всичко посочено по-горе, предлагаме следната схема на възможностите за цервикален скрининг при бременните жени, който може да се използва в ежедневната акушеро-гинекологична практика.

Основни принципи за нейното съставяне са свързани, както с резултатите от нашето изследване, така и от литературните данни за все по нарастващата диагностична значимост на HPV - ДНК тестовете, при жените над 30 годишна възраст.

АЛГОРИТЪМ



VI. ИЗВОДИ

- 1. Обхванат е контингент от 227 бременни жени между 18 и 49 годишна възраст (ср. 30.51 г.), от тях – 110 под 30 год. (48.45%) и 117 – над 30 год. или (51.55%). Преобладават бременните в първата половина на бременността (99.6%), като при всички - различията в анамнестичните, клиничните и лабораторните резултати се движеха в границите на нормата за съответния показател.*
- 2. Нашето проучване установи статистически значимо увеличаване честотата на атипичните цитологични ($p < 0.0001$) и колпоскопските находки ($p < 0.0001$) след приключване на бременността в сравнение с резултатите по време на бременността, като те са за сметка на възпалителните, HPV и нискостепенните CIN изменения.*
- 3. Подобни неблагоприятни статистически значими промени в динамиката на цитологичните ($p < 0.0001$) и колпоскопски находки ($p < 0.0001$) преди и след раждане при жените, при пушеци в сравнение с непушачки, както и при цитологичните изменения по време и след приключване на бременността при жени родили по абдоминален път (24%), спрямо тези родразрешени по нормален механизъм (14.8%).*

4. *Разпространението на вирусните типове в групата на изследваните жени показва, че HPV инфекция по време на бременността е установена при 87 (38.32%) жени, докато след нейното приключване позитивна HPV типизация се запазва при 68 (29.95%) жени. Липсата на някои от HPV типовете в пуерпералния период, при други 23 бременни със смесена инфекция ни дава основание да посочим, че е налице статистически значимо намаление на вирусната инфекция ($p= 0.0001$).*
5. *В групата на бременните под 30 години, се отчита по-нисък процент на високо- и среднорисковите типове, в сравнение с пациентките над 30 години, като не се установява статистически значима разлика, свързана с начина на раждане и намаляването честотата на различни HPV типове ($p= 0.7863$).*
6. *Нисък е клиничния риск за латентна инфекция на амниона свързана с установяване на папиломни вируси. В нашето проучване честотата на случаите с ППОМ (предимно 35-36 г.с.) е 6.9% (6 от 87 позитивни бременни), като при всички бяха регистрирани високорискови типове HPV (16, 31, 56, 66, 68).*
7. *В групата на бременните типовото разпределение показва, че при 62 от тях, тя е свързана с високорисковите типове като преобладават 16, 52, 56, 45, 31 и др., при 17 – среднорискови (53, 82 и 81) и ниско рискови при 44 (6, 11, 42 и др.). При 41 от случаите HPV инфекция е причинена, само от един тип, докато при останалите 46 бременни се намери смесена инфекция (от два до 8 типа).*

8. В следродовия период положителен тест за HPV инфекция запазиха 71 от бременните жени. При 40 от тях самостоятелно, само по един тип, при останалите 31 родилки - смесена инфекция от два до четири HPV типа. По честота най-разпространени са: от нискорисковите - 6, 11, 42 и др., от среднорисковите - 53 и 82; а от високорисковите типове - 16, 31, 52, 56, 18, 45, 66 и др.
9. При 54 новородени от майки с регистрирана HPV инфекция при 5 новородени (9.26%) бяха намерени предимно високорискови типове HPV (16, 18, 31 и 56), които присъстват и при майката и за които може да се приеме, че са предадени по време на родовия процес.
10. Нашето проучване потвърждава ниската диагностична значимост на цитологичното и колпоскопско изследване за откриване на морфологични промени свързани с наличието на цервикална HPV инфекция.

VII. ПРИНОСИ

СПРАВКА

за приносите в дисертационния труд

1. За пръв път в България извършихме проучване разпространението на високо, средно и нискорисковите генотипове HPV сред бременни жени.
2. За пръв път в България оценихме динамиката на HPV статуса за високо, средно и нискорисковите генотипове преди и след приключване на бременността.
3. За пръв път у нас констатирахме взаимовръзката на някои клинично индуцирани промени и рискови фактори свързани с наличие на HPV инфекция по време на бременност и в пуерпералния период.
4. За пръв път в България изследвахме за наличие на вертикална трансмисия на HPV инфекция от майка на новородено.
5. За пръв в България проучихме клиничната значимост на цитологичното и колпоскопско изследване при жени с положителен HPV статус на маточната шийка по време и след приключване на бременността.
6. На основание на получените резултати предложихме оптимизирана схема за цервикална онкопрофилактика при бременни с HPV инфекция.

Реализирани за периода научни публикации:

-С. Георгиев, В. Златков Проучване честотата на ХПВ инфекция, разпределение на вирусите типове и индивидуалните клинични промени при бременни. Честота на вирусно предаване от майката към плода. Medical брой 6 юни 2014, стр 68-71.

-С. Георгиев, Human papilloma virus. Medical брой 10 октомври 2014, стр 74-76.

-С. Георгиев, Ал. Савов, П. Костова, В. Златков. ХПВ инфекция и бременост. Medical брой 40 април 2017. стр. 76/77.

-С. Георгиев, В. Златков. Оценка на ефективността на SILAUT вагинален крем при лечение на лезии с ХПВ патология. Medical брой 40. стр. 78-80.

-С. Георгиев, Ал. Савов, П. Костова, В. Златков ДИАГНОСТИЧНА ЗНАЧИМОСТ НА ЦИТОЛОГИЧНОТО И КОЛПОСКОПСКОТО ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА ОЦЕНКА ХПВ СТАТУСА НА МАТОЧНАТА ШИЙКА ПРИ БРЕМЕННИ. Акушерство и гинекология 2017. Брой 56, 3'2017. стр. 4-8.

С. Георгиев, Ал. Савов, П. Костова, В. Златков ОСОБЕНОСТИ НА НРV ИНФЕКЦИЯТА ПРИ БРЕМЕННИ. Акушерство и гинекология 2017. Брой 56, 5'2017. стр. 41-45.

-

-Georgiev Sasho, Savov Alexey, Kostova Petya, Frandeva Bella, Kostov Ivan, Zlatkov Victor. Frequency and characteristics of HPV cervical infection during pregnancy and postpartum and the role of smoking as a predisposing factor. "Доклади на БАН" 2017г. (прието за печат Протокол № 8/26.09.2017).

Участия в научни прояви:

-СИМПОЗИУМ АКУШЕР-ГИНЕКОЛОЗИ

23 април 2016г., ж-л „RIU Pravets Resort Golf & SPA”, гр. Правец

Поведение на ХПВ вирусите- разбирането днес

Модератор: проф. Д-р Асен Николов, д.м.н.

(ХПВ инфекция и бременност – др. С. Георгиев СБАЛАГ „Майчин дом“, София)

**-XX-та ЮБИЛЕЙНА НАЦИОНАЛНА ГИНЕКОЛОГИЧНА
КОНФЕРЕНЦИЯ**

Х. „Рила“, Боровец, 16-18.03.2017.

**ПРОУЧВАНЕ ЧЕСТОТАТА НА ХПВ ИНФЕКЦИЯ И ИНДУЦИРАНИ
КЛИНИЧНИ ПРОМЕНИ ПРИ БРЕМЕННИ**

(С. Георгиев, А. Савов, В. Златков, София)

Спечелен научн Грант, свързан с темата на дисертационния труд – **№ 34-Д по проект № 26–Д към МУ София** и тема на Гранта „Проучване честотата на ХПВ инфекция, разпределение на вирусните типове и индуцираните клинични промени при бременни. Честотата на вирусно предаване от майката към плода.“

Оценка от класирането - висока.