

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Gintautas Domža

**ŽMOGAUS PAPILOMOS VIRUSO INFEKCIJOS ĮTAKA
NĖŠČIOSIOS ORGANIZMO APSAUGINĖMS SISTEMOMS**

Daktaro disertacija

Biomedicinos mokslai, medicina (07 B)

Vilnius, 2011

Disertacija parengta 2004–2008 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto
Akušerijos ir Ginekologijos klinikoje bei Vilniaus universiteto Onkologijos instituto
Mokslinių tyrimų centre

Disertacijos vadovė

prof. dr. Janina Didžiapetrienė (Vilniaus universiteto Onkologijos institutas;
biomedicinos mokslai, medicina - 07B)

Mokslinis konsultantas

prof. dr. Gražina Drąsutienė (Vilniaus universitetas; biomedicinos mokslai, medicina
- 07B)

Kalbos redaktorė

Gražina Pruskuvienė

TURINYS

SANTRUMPOS.....	5
1. ĮVADAS.....	6
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	9
2.1. Žmogaus papilomos virusas ir jo paplitimas.....	9
2.1.1. ŽPV paplitimas.....	9
2.1.2. ŽPV pažeidimų lokalizacija.....	14
2.1.3. ŽPV plitimo keliai.....	15
2.1.4. ŽPV infekcijos eiga.....	15
2.2. Nėštumas ir gimdos kaklelio vėžys.....	19
2.2.1. ŽPV ir nėštumas.....	21
2.3. Oksidacinis stresas, žmogaus papilomos virusas ir nėštumas.....	23
2.3.1. Laisvųjų radikalų formavimasis, funkcijos ir jų sukelti efektai	23
2.3.2. Oksidacinis stresas.....	25
2.3.3. Oksidacinis stresas ir nėštumas.....	25
2.3.4. Oksidacinis stresas, gimdos kaklelio vėžys ir ŽPV.....	26
2.4. Imuninė sistema ir žmogaus papilomos virusas.....	30
2.4.1. Imuninė sistema ir ŽPV infekcija.....	30
2.4.2. Nėštumas, ŽPV infekcija ir imuninis atsakas.....	31
3. TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI.....	34
3.1. Tiriamųjų kontingentas.....	34
3.2. Infekuotumo ŽPV nustatymas bei atskirų tipų ŽPV identifikavimas.....	35
3.3. Antioksidacinės sistemos būklės vertinimas.....	36
3.4. Vietinio imuniteto atsako vertinimas.....	39
3.5. Statistinės analizės metodai.....	40
4. REZULTATAI.....	41
4.1. Bendrosios charakteristikos.....	41
4.2. Nėščiųjų infekuotumas ŽPV bei atskirų tipų ŽPV.....	44
4.3. Nėščiųjų rizika užsikrėsti ŽPV.....	47
4.4. ŽPV infekcijos įtaka nėščiųjų antioksidacinės sistemos būklei ir lipidų peroksidacijos intensyvumui.....	49
4.5. ŽPV infekcijos įtaka vietinio imuniteto atsakui.....	56

5. REZULTATŲ APTARIMAS.....	61
6. IŠVADOS.....	72
7. DARBO PRAKTINĖ REIKŠMĖ.....	73
8. LITERATŪRA.....	74
9. PUBLIKACIJOS IR PRANEŠIMAI KONFERENCIJOSE.....	90
10. PRIEDAI.....	91

SANTRUMPOS

ASCUS – nenustatytos kilmės atipinės plokščiojo epitelio ląstelės
BAA – bendrasis antioksidacinis aktyvumas
CIS – karcinoma *in situ*
CTL – citotoksiniai T limfocitai
DNR – deoksiribonukleorūgštis
DTNB – 5,5' - ditiobis(2-nitrobenzoinė rūgštis)
E1 - E7 – funkciniai viruso genai
EDTA – etilendiamintetraacto rūgštis
ELISA – imunofermentinis metodas
GR – glutationo reduktazė
GSH – redukuotas glutationas
GSSG – oksiduotas glutationas
GSH+GSSH – bendrasis glutationas
HSIL – didelio laipsnio plokščialąsteliniai intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai
 γ IFN – γ interferonas
IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13 – interleukinai
L1 ir L2 – struktūriniai viruso kapsidės genai
LR – laisvieji radikalai
LSIL – nedidelio laipsnio plokščialąsteliniai intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai
MDA – malono dialdehidas
MHC – didysis audinių suderinamumo kompleksas
NADPH – redukuotas nikotinamidadenino fosfatas
NK – naturalūs kiliai
Pap tepinėlis – *Papanicolaou* citologinis gimdos kaklelio tepinėlis
PGR – polimerazės grandininė reakcija
SSA – sulfosalicilo rūgštis
TBR – tiobarbitūrinė rūgštis
Th; CD4+ – T limfocitai helperiai
TMB – tetrametilbenzidino tirpalas
TNF – naviko nekrozės veiksnys
ŽIV – žmogaus imunodeficito virusas
ŽPV – žmogaus papilomos virusas

1. ĮVADAS

Darbo aktualumas

Žmogaus papilomos virusas (ŽPV) labiausiai pasaulyje paplitusi lytiniu keliu perduodama infekcija. Yra nustatyta, kad apie 70 proc. seksualiai aktyvios populiacijos susiduria su šia infekcija [1]. ŽPV paplitimo dažnis tarp nėščiųjų svyruoja nuo 5,5 iki 65,0 proc. [2]. Šį skirtumą gali sąlygoti įvairūs veiksniai, kurie priklauso ir nuo geografinės vietovės, t.y. atskirose šalyse viruso paplitimas nėra vienodas. Taigi yra svarbu turėti kiekvienai šaliai būdingus ŽPV paplitimo duomenis.

Lietuvoje ŽPV paplitimo tyrimai pradėti apie 2000 metus. Nustatyta, kad tarp tirtų sveikų moterų (n=1120) apie vienas ketvirtadalis infekuotas didelės rizikos ŽPV. Dažniausiai tai jaunos ir mažesnį išsilavinimą turinčios moterys [3]. Kad ŽPV susijęs su gimdos kaklelio vėžio rizika, yra daugybė įrodymų. Apie tokią riziką liudija ir rezultatai, gauti tiriant sergančiąsias gimdos kaklelio vėžiu Lietuvoje [4]. Lietuvoje sergamumas gimdos kaklelio vėžiu yra vienas didžiausių Europoje [5]. Didelis ŽPV paplitimas, matyt, ir sąlygoja didelį sergamumą gimdos kaklelio vėžiu Lietuvoje bei mirtingumą nuo jo [6]. Pažymėtina, kad neabejotinos įtakos šiems rodikliams turi nepakankama pirminė bei antrinė gimdos kaklelio vėžio profilaktika.

Apie nėščiųjų infekuotumą ŽPV pasaulyje duomenų nėra daug. Be to, kaip jau buvo minėta, tie duomenys nėra vienodi, kadangi įvairiose šalyse infekuotumą ŽPV gali lemti skirtingi veiksniai, tarp jų seksualinė elgsena, gimdymų dažnis, požiūris į kontraceptines priemones. Todėl svarbu nustatyti ŽPV paplitimą tarp nėščiųjų Lietuvoje ir palyginti gautus duomenis su esamais kitose šalyse ir regionuose.

Viena vertus, nėštumo metu vykstantys fiziologiniai procesai moduliuoja apsaugines organizmo sistemų (imuninės ir antioksidacinės) funkcijas ir gali didinti infekuotumo ŽPV riziką bei sudaryti geresnes sąlygas virusui išlikti (persistuoti) gimdos kaklelio epitelio ląstelėse ir infekcijai progresuoti, antra vertus, ŽPV infekcija taip pat gali daryti įtaką minėtų sistemų veiklai. Todėl svarbu nustatyti ne tik nėščiųjų infekuotumą ŽPV, bet ir įvertinti šios infekcijos įtaką minėtoms organizmo apsauginėms sistemoms. Juolab kad yra duomenų, jog oksidacinis stresas, besiformuojantis nėštumo metu, gali sąlygoti įvairias nėštumo komplikacijas. Gilėjant oksidaciniam stresui nėštumo metu, vystosi nėščiųjų hipertenzinės būklės,

preeklampsija, gestacinis diabetas. Oksidacinis stresas atsiliepia ir vaisiaus vystymuisi [7–9].

Citokinių produkcijos (koncentracijos) pokyčiai bei jų funkcinis aktyvumas yra svarbūs veiksniai vertinant vietinio imuniteto dinamiką nėštumo metu. Duomenų apie interleukinų koncentracijos pokyčius ir sąsajas su ŽPV infekcija nėštumo metu neradome. Pagal sekretuojančių citokinių pobūdį imuninį atsaką reguliuojantys T limfocitai helperiai (Th) skirstomi į du potipius (Th1 ir Th2), kurie slopina vienas kito aktyvumą. Interleukinas-12 (IL-12) yra vienas iš pagrindinių veiksnių, skatinančių Th1 atsaką, o produkuojamas Th2 limfocitų interleukinas-10 (IL-10) šį atsaką slopina. Kai yra virusinė infekcija, atpažįstant ir naikinant virusų pažeistas ląsteles ypač svarbios Th1 limfocitų funkcijos ir jų sintetinami citokinai, todėl tikslinga tyrinėti šių interleukinų pokyčius nėščiųjų organizme priklausomai nuo infekuotumo ŽPV.

Darbo tikslas

Nustatyti ŽPV infekcijos įtaką nėščiosios organizmo antioksidacinės sistemos būklei bei įvertinti vietinio imuniteto atsaką į šią infekciją.

Darbo uždaviniai

1. Nustatyti tiriamųjų infekuotumą ŽPV ir ŽPV, kuriuo jos infekuotos, tipą bei palyginti tiriamųjų infekuotumą ŽPV esant pirmajam ir esant trečiajam jų nėštumo trimestrai;
2. Ištirti antioksidacinės sistemos būklę nėštumo metu priklausomai nuo ŽPV infekcijos;
3. Ištirti vietinį imunitetą rodančių interleukinų (IL-10 ir IL-12) koncentracijų pokyčius nėštumo metu priklausomai nuo ŽPV infekcijos.

Darbo naujumas

Atsižvelgiant į tai, kad Lietuvoje yra didelis sergamumas gimdos kaklelio vėžiu bei mirtingumas nuo jo, mūsų nustatytas nėščiųjų infekuotumas ŽPV bei identifikuoti jo tipai leidžia įvertinti infekuotumo ŽPV pokyčius nėštumo metu didelės gimdos kaklelio vėžio rizikos populiacijoje ir sudaro galimybę palyginti gautus duomenis su kitų šalių autorių gautais duomenimis.

Įrodyta, kad nėštumo metu moterims vystosi oksidacinis stresas, kurio lygis nepriklauso nuo infekotumo ŽPV.

Nustatyta, kad IL-10 ir IL-12 koncentracijos pokyčiai gimdos kaklelio nuoploose (vietinis imunitetas) susiję su Th1 ir Th2 limfocitų funkcija ir priklauso nuo infekotumo ŽPV.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Žmogaus papilomos virusas ir jo paplitimas

Šiandien neabejojama, kad tam tikrų tipų ŽPV yra vienas iš pagrindinių rizikos veiksnių gimdos kaklelio vėžiui vystytis [10, 11]. Pasaulyje yra apie 630 mln. infekuotų ŽPV asmenų, 70 proc. lytiškai aktyvių asmenų susiduria su šia infekcija [12, 13].

ŽPV - *Papillomaviridae* šeimos virusas, neturintis apvalkalėlio. ŽPV DNR yra dvigrandė, žiedo formos, uždara, sudaryta iš apytiksliai 7200-8000 bazių porų. Virusas savo struktūroje turi struktūrinius (L1 ir L2) ir funkcinis (E1 ir E7) genus. E6 ir E7 genai pasižymi stipriu onkogeniniu potencialu. Dabar yra žinoma daugiau kaip 120 tipų ŽPV, tarp kurių apie 40 infekuoja lytinių organų gleivinę ir/ar odą. Jie gali sukelti gerybines odos papilomas arba ikivėžines gimdos kaklelio būkles, taip pat ir vėžį.

2.1.1. ŽPV paplitimas. ŽPV infekcija yra dažniausiai lytiškai plintanti infekcija. Didžiausias šios infekcijos paplitimas nustatytas tarp jaunesnių nei 25 metų lytiškai aktyvių moterų [14, 15]. ŽPV užsikrečiama jau lytinio gyvenimo pradžioje, dėl to šis virusas paplitęs ir tarp lytiškai aktyvių paauglių [16, 17]. Vyresnėms nei 30 metų moterims rizika užsikrėsti ŽPV ženkliai mažėja [18–20]. Taip yra todėl, kad jaunų moterų gimdos kaklelio transformacijos zona yra gimdos kaklelio makštinėje dalyje, čia mažai gaminama apsauginių gleivių, silpniau nei suaugusių moterų veikia vietinis imuninis atsakas, o transformacijos zona yra jautri įvairių veiksnių poveikiui, taigi susidaro palankios sąlygos ŽPV įsiskverbti į šią zoną ir ten persistuoti [21].

Ši lytiniu keliu perduodama infekcija, kuri siejama su onkogeninių tipų - 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52 ir kt. - ŽPV. 16 ir 18 tipų ŽPV yra vertinamas kaip pagrindinis gimdos kaklelio vėžio rizikos veiksnys. Infekuotumas 16 ir 18 tipų ŽPV išsivysčiusiose Europos šalyse, Šiaurės Amerikoje ir Australijoje siekia 74–77 proc., kiek mažesnis - Afrikoje, Azijoje, Pietų ir Centrinėje Amerikoje - 65–70 proc. Šių tipų ŽPV 41–67 proc. atvejų nustatytas *Pap* tepinėlyje esant didelio laipsnio plokščiaklaidiniams intraepiteliniams gimdos kaklelio pokyčiams (angl. *High grade intraepithelial lesion, HSIL*), 16–32 proc. atvejų - esant nedidelio laipsnio plokščiaklaidiniams intraepiteliniams gimdos kaklelio pokyčiams (angl. *Low grade intraepithelial lesion, LSIL*) ir 6–27 proc. - esant nenustatytos kilmės atipinių

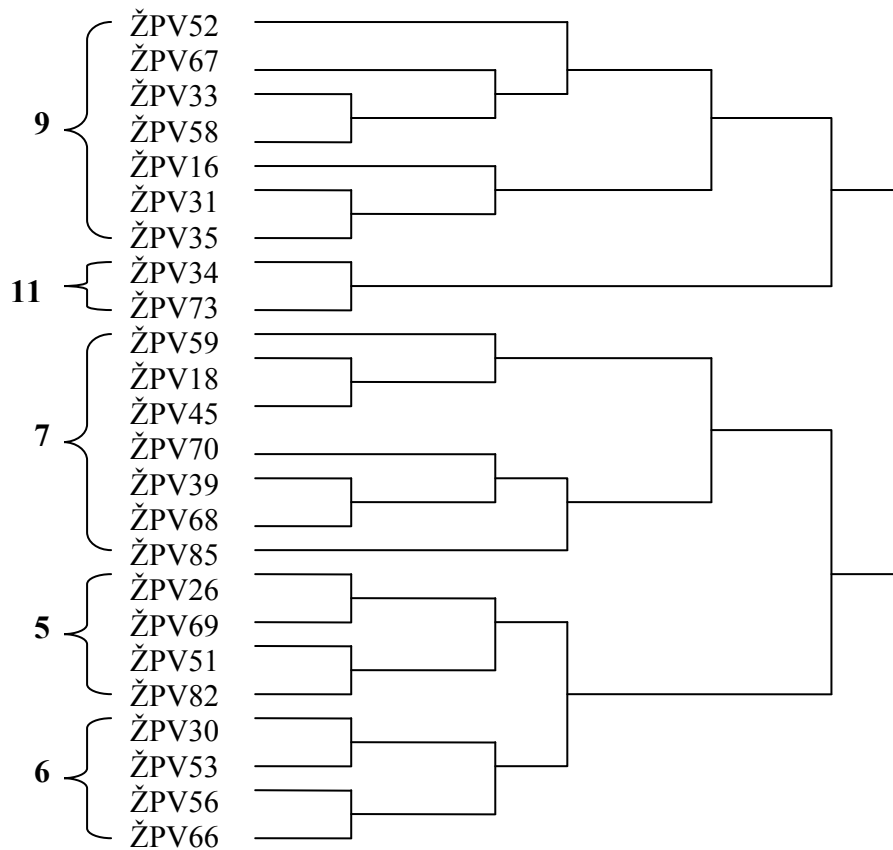
plokščiojo epitelio ląstelių (angl. *Atypical cells undertermined significance, ASCUS*). Taigi 16 ir 18 tipų ŽPV dažniau nustatomas esant žymiam gimdos kaklelio pažeidimų laipsniui. Atsižvelgiant į regionus panašiu dažnumu nustatyti ir kitų tipų (31, 33, 35, 45, 52 ir 58) ŽPV. Su pastarųjų tipų ŽPV siejamas gimdos kaklelio vėžys, o su 6 ar 11 tipų ŽPV - anogenitalinės srities karpos ar papilomos [22]. Manoma, kad fiziologinė gimdos kaklelio būklė gali turėti įtakos tam tikrų tipų ŽPV paplitimui tam tikru amžiaus tarpsniu [23]. Infekuotumas didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV, kaip ir bendrasis infekuotumas ŽPV, dažniau nustatomas jaunesnėms moterims. Užsikrėtus netgi vieno didelės rizikos tipo ŽPV apie pusę moterų nustatoma įvairių citologinių gimdos kaklelio epitelio pakitimų [24].

Pastaruoju metu, remiantis sukauptais epidemiologiniais ir eksperimentiniais duomenimis, konstatuota, kad neigiamas ŽPV poveikis gimdos kakleliui glaudžiai susijęs su virusų filogenetinėmis (t.y. evoliucinėmis) savybėmis. Tarptautinio vėžio tyrinėjimo centro (Lionas, Prancūzija) inicijuota darbo grupė, išanalizavusi esamus duomenis, pateikė naują ŽPV klasifikacijos schemą, kuri paremta ŽPV filogenetiniais skirtumais. ŽPV yra suskirstyti į 4 grupes: ŽPV, infekuojantys gimdos kaklelio gleivinę ir sukeltys gimdos kaklelio patologiją, priklauso *alfa* genčiai ir yra vienoje evoliucijos medžio šakoje (2.1.1.1 pav.) [25].

Minėta darbo grupė pateikė išvadas apie tai, kad persistuojanti 16 tipo ŽPV (*alfa* genties 9 rūšis) infekcija yra stiprus žmogaus kancerogenas, o 18 tipo ŽPV (*alfa* genties 7 rūšis) yra ypač svarbus adenokarcinomos atvejais. Papildomi minėtos *alfa* genties 7 rūšies (45 tipo ŽPV) bei 9 rūšies (31, 33, 35, 52 ir 58 tipų ŽPV) tipų ŽPV kartu su minėtais 16 ir 18 tipų ŽPV yra svarbūs etiologiniai veiksniai, susiję su vėžiu. Tik keletui procentų moterų, sergančių gimdos kaklelio vėžiu, identifikuojami *alfa*-5/51 tipo ŽPV, *alfa*-6/56 tipo ŽPV ir *alfa*-7/39 bei 59 tipų ŽPV genotipai. Retai, sergant gimdos kaklelio vėžiu, nustatomi 53 bei 66 tipų ŽPV (*alfa*-6). Tik pavienių tyrimų rezultatai liudija, kad 70 (*alfa*-7) bei 67 (*alfa*-9) tipų ŽPV gali būti susiję su gimdos kaklelio vėžiu.

Taigi, formuluojant tolesnių tyrimų eigą, pažymima, kad viena iš tyrimų kryptų galėtų būti ŽPV tipų, nustatytų sergant gimdos kaklelio vėžiu, palyginimas tarp žmogaus imunodeficito virusu (ŽIV) infekuotųjų ir neinfekuotųjų, kadangi įrodytas 26 tipo ŽPV (*alfa*-5) kancerogeniškumas esant imunosupresijai. Svarbūs taip

pat molekuliniai tyrimai, kurių rezultatais remiantis būtų siekiama nustatyti ribą tarp didelės ir mažos onkogeninės rizikos tipų ŽPV [25].



2.1.1.1 pav. *Alfa* genties ŽPV, infekuojantys gimdos kaklelio gleivinę (adaptuota pagal 25]

Pastaba. 5 – *alfa* genties 5 rūšis, kurią sudaro 26, 69, 51 ir 82 tipų ŽPV; 6 – *alfa* genties 6 rūšis, kurią sudaro 30, 53, 56 ir 66 tipų ŽPV; 7 – *alfa* genties 7 rūšis, kurią sudaro 59, 18, 45, 70, 39, 68 ir 85 tipų ŽPV; 9 – *alfa* genties 9 rūšis, kurią sudaro 52, 67, 33, 58, 16, 31 ir 35 tipų ŽPV; 11 – *alfa* genties 11 rūšis, kurią sudaro 34 ir 73 tipų ŽPV.

Epidemiologiniai duomenys, gauti tyrinėjant *alfa* genties ŽPV ir jų vaidmenį kancerogenezeje, pradėti kaupti apie 2005 metus. Tarptautinio vėžio tyrinėjimo centro duomenimis, yra 13 didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV, kurie pažeidžia gleivinę, ir dviejų tipų (5 ir 8) ŽPV, kurie pažeidžia odą, o 6 ir 11 tipų ŽPV buvo priskirti galbūt onkogeniniams [26]. Duomenys apie įvairių tipų ŽPV galimą onkogeninį poveikį papildomi kasmet. 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ir 66 tipų ŽPV kancerogeniškumas įrodytas. Įvairių autorių duomenimis, į šį sąrašą

siūloma įtraukti ir kitų tipų - 26, 53, 55, 68, 73, 82, 83 - ŽPV, tačiau minėtas Tarptautinio vėžio tyrinėjimo centras šių duomenų dar nepatvirtino [25, 27]. Pakoreguoti naujausi rezultatai apie ŽPV genotipus, siejamus su gimdos kaklelio vėžiu, pateikti 2.1.1.1 lentelėje.

Lietuvoje ŽPV infekcijos paplitimo tyrimai tarp sveikų moterų atlikti M. Kliučinsko ir R. Nadišauskienės [31]. Didžiausią infekuotųjų didelės onkogeninės rizikos ŽPV dalį sudarė 20–24 metų amžiaus moterys (31,3 %, n=256). Vertinant didelės onkogeninės rizikos ŽPV paplitimą tarp tirtų atskirų amžiaus grupių moterų didžiausias paplitimas nustatytas tarp jaunesnių nei 19 metų amžiaus tyrimo dalyvių.

Vilniaus universiteto Onkologijos institute Ž. Gudlevičienė tyrė ŽPV paplitimą tarp sergančiųjų gimdos kaklelio vėžiu ir ikivėžinėmis ligomis [32]. Tyrimų rezultatai parodė, kad moterų, sergančių gimdos kaklelio vėžiu, infekuotumas ŽPV yra 92 proc. Vyrauja 16 tipo ŽPV. Rečiau negu kai kuriose kitose šalyse nustatytas 18 tipo ŽPV. Esant LSIL ŽPV identifikuotas 46,7 proc., o HSIL - 79,3 proc. tirtųjų. Moterų, kurioms nustatytas ASCUS, infekuotumas ŽPV (23,8 %) buvo artimas moterų, kurių citologinis tepinėlis buvo be pokyčių, infekuotumui (21,4 %) (2.1.1.2 lent.).

2.1.1.1 lentelė. Metaanalizės duomenys, gauti tiriant ŽPV DNR gimdos kaklelio vėžio atvejais ir nesant gimdos kaklelio patologijos [25, 28–30]

ŽPV tipas	Invazinis gimdos kaklelio vėžys			Patologijos nenustatyta		
	n	infekuotumas (proc.)	95% PI	n	infekuotumas (proc.)	95% PI
16	14595	54.4	53.6÷55.2	76385	2.6	2.5÷2.8
18	14387	15.9	15.3÷16.5	76385	0.9	0.8÷1.0
33	13827	4.3	4.0÷4.6	74141	0.5	0.4÷0.5
45	9843	3.7	3.3÷4.1	65806	0.4	0.4÷0.4
31	11960	3.5	3.2÷3.9	74076	0.6	0.6÷0.7
58	10157	3.3	2.9÷3.6	72877	0.9	0.8÷1.0
52	9509	2.5	2.2÷2.8	69030	0.9	0.8÷1.0
35	9507	1.7	1.5÷2.0	74084	0.4	0.3÷0.4
59	6972	1.0	0.8÷1.3	64901	0.3	0.2÷0.3
51	7339	0.7	0.5÷0.9	67139	0.6	0.6÷0.7
56	7427	0.7	0.5÷0.9	68121	0.5	0.5÷0.6
39	7078	0.6	0.5÷0.9	64521	0.4	0.3÷0.4
68	6723	0.5	0.3÷0.7	63210	0.3	0.2÷0.3
73	5837	0.5	0.3÷0.7	44063	0.1	0.1÷0.1
66	6664	0.3	0.2÷0.5	59774	0.4	0.3÷0.4
70	5159	0.2	0.1÷0.4	35014	0.3	0.3÷0.3
82	5352	0.1	0.1÷0.3	42536	0.1	0.0÷0.1
6	9911	0.5	0.4÷0.7	58370	0.3	0.2÷0.3
53	nėra duomenų			44,058	0.4	0.4÷0.4
26				44,098	0.0	0.0÷0.1
85	neanalizuota			9,622	0.1	0.1÷0.1
67				18,041	0.0	0.0÷0.0
34				42,588	0.0	0.0÷0.1
30				8,773	0.0	0.0÷0.1
97				neanalizuota		

Pastaba. *PI* – pasikliautinis intervalas, *n* – atvejų skaičius.

2.1.1.2 lentelė. Moterų infekuotumas ŽPV [32]

Tirtosios moterys	Infekuotos ŽPV		Neinfekuotos ŽPV		χ^2, p
	n	proc.	n	proc.	
ASCUS	5	23,8	16	76,2	$\chi^2=48,95; p<0,0001$
LSIL	7	46,7	8	53,3	
HSIL	23	79,3	6	20,7	
Nėra citologinių pokyčių	71	21,4	261	78,6	
Iš viso	106	26,7	291	73,3	

Pastaba. *n* – atvejų skaičius, *ACUS* - nenustatytos kilmės atipinės plokščiojo epitelio ląstelės, *LSIL* - nedidelio laipsnio plokščialąsteliniai intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai, *HSIL* - didelio laipsnio plokščialąsteliniai intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai.

Kauno medicinos universiteto (dabar Lietuvos sveikatos mokslų universiteto) Akušerijos ir ginekologijos klinikoje K. Jarienė ir bendraautorai tyrė ŽPV infekcijos sąlygotus gimdos kaklelio citologinius pokyčius. ŽPV dažniausiai nustatytas esant LSIL ir HSIL. Tarp moterų, kurioms nebuvo nustatyta intraepitelinio gimdos kaklelio pokyčių, didelės rizikos ŽPV dažnis yra 18,6 proc., o moterims esant LSIL šis dažnis siekia 55,1 proc., HSIL atvejais - 87,8 proc. [33, 34].

2.1.2. ŽPV pažeidimų lokalizacija. ŽPV gali pažeisti bet kurią odos ar gleivinės vietą, ypač jeigu yra mikrotraumų. Didelės onkogeninės rizikos ŽPV padidina gimdos kaklelio neoplazijos ir vėžio riziką. Yra duomenų apie sąsają tarp ŽPV ir nosiaryklės vėžio, kuris dominuoja tarp vyrų [35]. Apie 15–30 proc. galvos-kaklo navikų atvejų taip pat siejami su ŽPV infekcija [36]. Nustatyta, kad apie 80 proc. moterų ir apie 50 proc. vyrų bent vieną kartą buvo infekuoti ŽPV [37]. ŽPV vyrams gali sukelti lytinių takų kondilomas, o onkogeniniai virusai - varpos ar tiesiosios žarnos vėžį. Varpos ŽPV infekcija dažnai nustatoma tarp heteroseksualių vyrų nepriklausomai nuo amžiaus. Be to, analinės srities ŽPV infekcija bei intraepitelinė neoplazija yra dažna ir tarp ŽIV infekuotų, ir tarp ŽIV neinfekuotų vyrų, kurie lytiškai santykiauja su vyrais [38]. Tarp gėjų vyrų analinės srities vėžys nustatomas 17 kartų dažniau nei tarp heteroseksualių [39].

2.1.3. ŽPV plitimo keliai. Daugėja įrodymų, kad ŽPV plinta ne tik lytiniu keliu. Pastaruoju metu teigiama apie galimą vertikalųjį ŽPV perdavimo kelią - iš motinos naujagimiui. Nėščios moterys, infekuotos ŽPV virusu, nejaučia jokių klinikinių simptomų. Gimdymo metu ŽPV užsikrėtęs naujagimis gali sirgti besikartojančia gerklų papilomatoze [40].

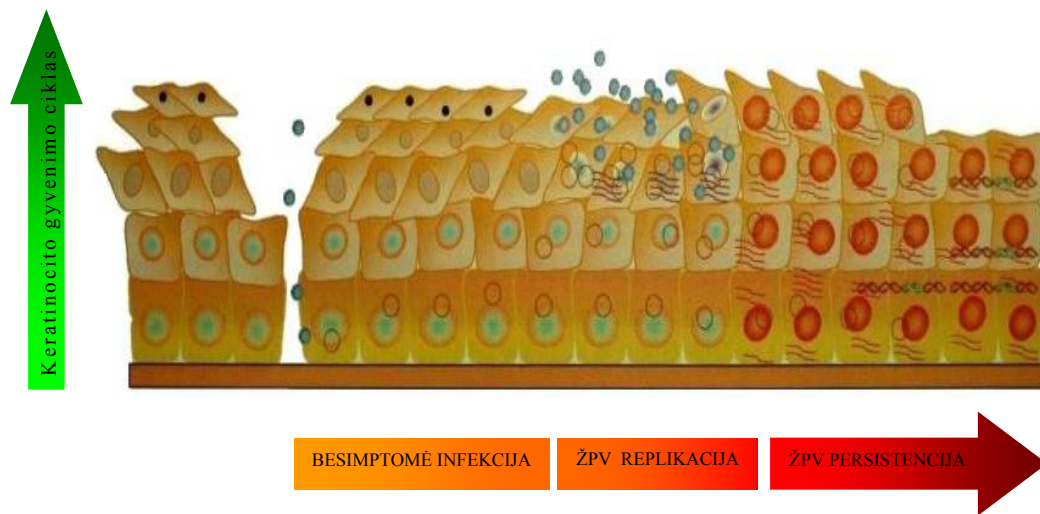
2005 metais atlikta sisteminė literatūros, kurioje aprašomas vertikalusis ŽPV plitimo kelias, apžvalgos analizė [40]. Joje teigiama, kad bendrasis ŽPV perdavimo dažnis iš motinos naujagimiui yra 6,5 proc. ŽPV infekuotų moterų naujagimiams virusas nustatomas nuo 4 iki 72 proc. atvejų, o neinfekuotų ŽPV moterų naujagimiams - nuo 0,6 iki 20 proc. atvejų. Didesnė rizika naujagimiui užsikrėsti šiuo virusu yra gimstant natūraliais takais nei per cezario pjūvio operaciją. Apžvalgos autoriai pažymi, kad tyrėjai buvo pasirinkę skirtingas grupes, naudojo skirtingą ŽPV nustatymo metodiką, ėmė nevienodus mėginius, kas galėjo sąlygoti nevienareikšmius duomenis.

Atlikus išsamią analizę duomenų, gautų homogeniškų tyrimų (naujagimiams mėginiai iš nosiaryklės ir lytinių takų gleivinės buvo imami iš karto po gimimo bei praėjus 1, 3, 6, 12 ir 24 mėnesiams) metu, ŽPV buvo infekuotos 21,6 proc. tirtų nėščių moterų. Motinos ŽPV perdavimo dažnis naujagimiui buvo 9,4 proc. Dažniausiai nustatyti 6/11, 16, 18 ir 31 tipų ŽPV. Nosiaryklėje ŽPV buvo nustatytas 51,6 proc. naujagimių. Pažymėtina, kad infekuotos motinos ir naujagimio ŽPV gali būti skirtingo tipo, kas leidžia įtarti, kad virusas pateko iš užterštos aplinkos. Infekuotų ŽPV moterų naujagimiams virusas nustatytas 19,7 proc. atvejų, o neinfekuotų ŽPV moterų naujagimiams - 16,9 proc. atvejų [41].

Tyrinėjamas transplacentinis (hematogeninis) viruso perdavimo kelias. 2005–2007 metais atlikto tyrimo metu ŽPV buvo nustatomas medžiagoje, paimtoje iš nėščiosios lytinių takų bei periferinio moters kraujo, iš naujagimio burnos gleivinės bei nosiaryklės, taip pat iš virkštelės kraujo ir placentos. Tirtos tik ŽPV infekuotos moterys. To paties tipo ŽPV nustatytas tirtų moterų lytiniuose takuose ir placentoje. Tai patvirtina hematogeninį ar transamnioninį viruso perdavimo būdą. Transplacentiniu keliu virusas perduotas 24,5 proc. naujagimių [42].

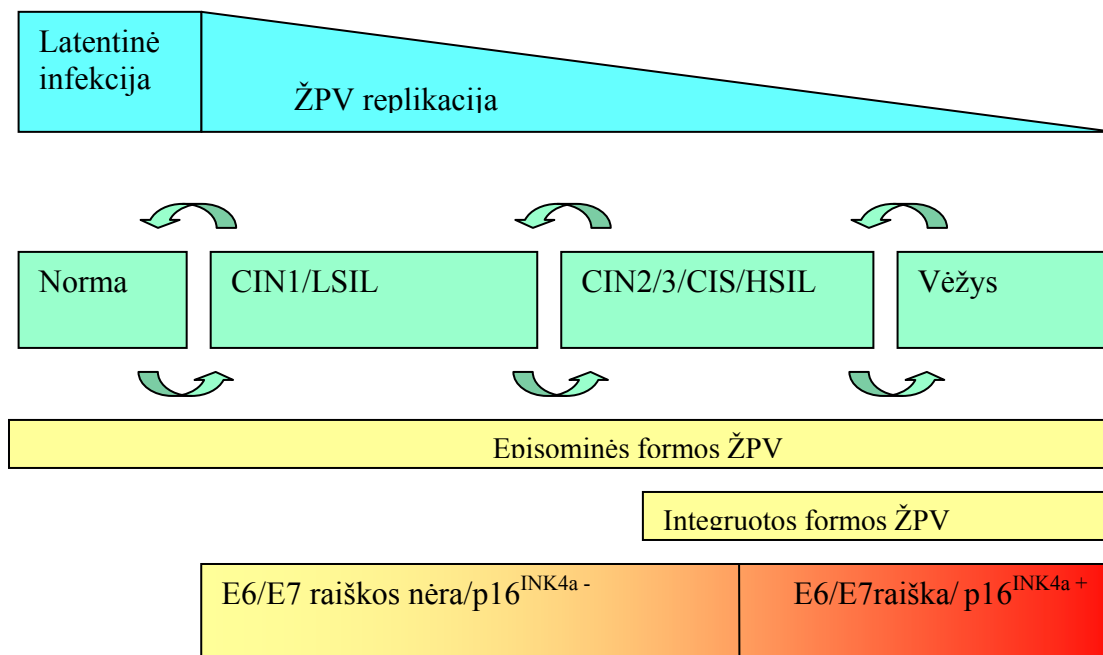
2.1.4. ŽPV infekcijos eiga. Dažniausiai ŽPV infekcija yra laikina. 70 proc. naujai infekuotų moterų pasveiksta per 1 metus; 90 proc. - per 2 metus [43]. ŽPV į gimdos

kaklelio epitelio bazinio sluoksnio ląsteles patenka per epitelio mikropaužidimus (2.1.4.1 pav.).



2.1.4.1 pav. ŽPV infekcijos eiga (adaptuota pagal [46])

Virusas infekuotoje ląstelėje gali būti episominės ar integruotos į ląstelės genomą formos. Ištirta, kad virusas integruojasi į šeimininko ląstelę dar nesant intraepitelinio gimdos kaklelio pokyčių. Esant nežymaus laipsnio gimdos kaklelio displazijai nustatyta viruso integracija į šeimininko genomą rodo galimą greitą displazijos progresavimą. Kai kurių autorių duomenimis, esant nežymiai gimdos kaklelio displazijai, nustačius integruotą formą ŽPV, rizika susirgti gimdos kaklelio vėžiu didėja iki 60 kartų. Progresuojant intraepiteliniams gimdos kaklelio pokyčiams daugėja integruotų viruso formų. Esant gimdos kaklelio vėžiui - integruotų formų ŽPV yra apie 98 proc. [44–46] (2.1.4.2 pav.).



2.1.4.2 pav. ŽPV poveikis gimdos kaklelio intraepitelinių pokyčių progresijai (adaptuota pagal [46])

Intraepitelinių gimdos kaklelio pokyčių vystymasis iki vėžio - daugiapakopis procesas, besiformuojantis per 12–15 metų [47]. Apie 10 proc. moterų, infekuotų didelės rizikos tipų ŽPV, atsiranda intraepitelinių gimdos kaklelio pokyčių, kurių negydant apie 20–30 proc. moterų gali formuotis invazinis gimdos kaklelio vėžys [48]. Virusui išnykus intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai regresuoja ar visai išnyksta. Nepaisant to, kad citologiniai gimdos kaklelio pokyčiai, sąlygoti ŽPV infekcijos, dažniau nustatomi jaunesnio amžiaus moterims [49], ŽPV infekcija dažniau progresuoja vyresnėms moterims, turinčioms didesnę lytinių partnerių skaičių bei užsikrėtusioms kelių tipų virusais. ŽPV paplitimas didėjant moters amžiui mažėja, o jo išlikimas dažnėja [23]. Yra nustatyti veiksniai, susiję su ŽPV persistencija ir kancerogeneze. Dažniau gimdos kaklelio vėžys išsivysto rūkančioms, sudėtinės kontraceptines tabletes vartojančioms, užsikrėtusioms kita lytiškai plintančia infekcija moterims bei moterims, kurių imuninės sistemos funkcijos nusilpusios. Didelės onkogeninės rizikos ŽPV infekcija yra dažnesnė tarp moterų, kurioms konstatuota imunosupresija [50]. Pacientams, kurių tyrimai dėl ŽIV yra teigiami, anogenitalinės srities neoplazija yra susijusi su žemu T limfocitų ($CD4^+$) kiekiu ir 5 kartus dažnesnė nei pacientams, kurių tyrimai yra ŽIV neigiami [51]. Asmenims, kuriems transplantuoti organai, taikomas imunosupresinis gydymas ne tik apsaugo nuo transplantato atmetimo reakcijos, bet kartu ir padidina imlumą įvairioms

infekcijoms. Taigi pacientėms, kurioms taikomas minėtas gydymas, dažniau nustatoma ir ŽIV infekcija, kuri siejama su didesne gimdos kaklelio intraepitelinės neoplazijos ir vėžio rizika [50].

Apibendrinamoji išvada

ŽPV yra lytiniu ir kontaktiniu (nelytiniu) keliais perduodama infekcija, turinti įtakos anogenitalinės srities, gimdos kaklelio, burnos ertmės, nosiaryklės, odos intraepiteliniams pakitimams bei vėžiui formuotis. Žinios apie ŽPV dažnį, jo tipų paplitimą, infekcijos progresavimą bei pašalinimą iš organizmo tarp bendrosios populiacijos asmenų, įvairių autorių duomenimis, nėra tapatūs, nes užsikrėsti ŽPV bei infekcijai plisti turi reikšmės lytinis elgesys, socialinis, ekonominis ir kultūrinis šalies lygis, akušeriniai bei ginekologiniai veiksniai.

2.2 Nėštumas ir gimdos kaklelio vėžys

Literatūros duomenų apie gimdos kaklelio vėžį ir nėštumą yra nedaug. Dažniausiai pateikiami atskiri ligos atvejai arba nedidelių tyrimų rezultatai [52–54]. Paprastai gimdos kaklelio vėžys analizuojamas kartu su ikivėžinėmis gimdos kaklelio būklėmis. Tarp moterų, kurioms pirmą kartą diagnozuotas gimdos kaklelio vėžys, nėščiųjų, įvairių autorių duomenimis, yra nuo 1 proc. iki 3 proc. Intraepitelinį gimdos kaklelio pokyčių nėštumo metu randama nuo 1 proc. iki 8 proc. moterų [55].

Gimdos kaklelio vėžys nėštumo metu, vieno autorių duomenimis, diagnozuojamas santykiu 1:1200–10 000, kitų - 1:100–1500 [56, 57]. Pažymėtina, kad gimdos kaklelio vėžys, nustatytas praėjus 6 mėn. po nėštumo nutraukimo ar 12–18 mėn. po gimdymo, taip pat priskiriamas prie navikų, susijusių su nėštumu. Gimdos kaklelio vėžys ir nėštumas - dilema ir gydytojui, ir pacientei, kadangi veiksmingas vėžio gydymas kelia pavojų nėštumui. Po gydymo dažniausiai nebelieka galimybės pastoti ir išnešioti vaisių.

Bendrojoje populiacijoje net iki 20 proc. nėščiųjų intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai nustatomi nėštumo metu [58], nes nėštumas dalį moterų priverčia pirmą kartą kreiptis į ginekologą ir atlikti *Pap* tepinėlį. Pažymėtina, kad fiziologiniai gimdos kaklelio pokyčiai nėštumo metu apsunkina intraepitelinį gimdos kaklelio pokyčių diagnostiką. Su nėštumu susiję citologiniai gimdos kaklelio pakitimai - bazinio ląstelių sluoksnio, endocervikinių liaukų hiperplazija, *Arias–Stella* reakcija, trofoblasto ląstelės tepinėlyje - fiziologiniai pakitimai, kurie gali būti palaikyti karcinoma *in situ* (CIS) ar net invazine gimdos kaklelio adenokarcinoma. Paėmus nėščiai moteriai *Pap* tepinėlį, patologą būtina informuoti apie nėštumo laiką. Kolposkopinį gimdos kaklelio vaizdą taip pat keičia nėštumui būdingi pokyčiai. Pagrindinis kolposkopijos tikslas - ekskliuduoti invazinį gimdos kaklelio vėžį. Fiziologiniai gimdos kaklelio pokyčiai (decidualizacija, edema, padidėjusi vaskuliarizacija) dažniausiai būna hiperdiagnostikos priežastis. Kolposkopija, neatliekant tikslinės biopsijos, neleidžia tiksliai įvertinti gimdos kaklelio gleivinės pažeidimo laipsnio. Tačiau šis tyrimas išlieka pakankamai tikslus nėštumo metu – kolposkopijos išvados sutampa su biopsijos medžiagos tyrimo rezultatais 73–95 proc. atvejų. Esant pakitimų *Pap* tepinėlyje nėštumo metu diagnozei nustatyti rekomenduojama atlikti kolposkopiją ir tikslinę gimdos kaklelio biopsiją, o ŽPV tipų

nustatymas padėtų įvertinti gimdos kaklelio intraepitelinių pokyčių progresavimo riziką ir palengvintų pasirinkti gydymo taktiką nėštumo metu ir po gimdymo [59, 60].

Nėštumo metu diagnozuoti intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai 10–70 proc. atvejų regresuoja arba išnyksta, išlieka - 25–47 proc. atvejų ir progresuoja - 3–30 proc. atvejų. Priežiūros taktika nėštumo metu konservatyvi. Kai konstatuojami pakitimai *Pap* tepinėlyje bei kolposkopijos metu, o gimdos kaklelio biopsijos medžiagoje nerandama pokyčių - citologinį tyrimą rekomenduojama kartoti ne anksčiau nei praėjus 6–12 savaičių po gimdymo. Esant CIN II bei CIN III rekomenduojama nėštumo metu kartoti *Pap* tepinėlį ir kolposkopiją ne dažniau nei kas 12 savaičių. Gimdos kaklelio biopsija rekomenduojama tik intraepiteliniams gimdos kaklelio pokyčiams progresuojant. Nustačius CIS dažniausiai nėščiosios tik stebimos, nors kai kurie autoriai rekomenduoja atlikti gimdos kaklelio konizaciją [55, 59–61].

Nėštumas ir gimdos kaklelio piktybiniai navikai yra vienu metu vykstantys sudėtingi procesai, sąsaja tarp kurių reikalauja tolesnių tyrimų.

Buvo manoma, kad nėštumas stimuliuoja gimdos kaklelio vėžio progresavimą. Atlikti kai kurių autorių [62] tyrimai parodė, kad priklausomai nuo ligos stadijos bei taikomo gydymo ir nėščių, ir nenėščių moterų ligos prognozė nesiskiria. Moterų, sergančių gimdos kaklelio vėžiu, išgyvenamumas nepriklauso nuo nėštumo laiko, kuriam esant buvo nustatytas gimdos kaklelio vėžys. Tačiau pacienčių, kurioms gimdos kaklelio vėžys diagnozuotas po gimdymo (ypač gimdžiusių natūraliu būdu), išgyvenamumas blogesnis nei moterų, kurioms gimdos kaklelio vėžio diagnozė buvo nustatyta nėštumo metu ir atliktas cezario pjūvis. Galutinių išvadų A. Soodas (*A. Sood*) ir bendraautoriai nepateikė, nes į tyrimą buvo įtrauktas mažas moterų skaičius. Taigi, jei gimdos kaklelio vėžys nustatomas nėštumo metu, gydymo taktika priklauso nuo nėštumo laiko, ligos stadijos, naviko histologinės struktūros ir pačios pacientės sprendimo. Jei I ar II stadijos gimdos kaklelio vėžys nustatytas antrajame ar trečiajame nėštumo trimestre taikomas ligos išplitimą atitinkantis gydymas (galimas ir nėštumo nutraukimas) [63]. Kai gimdos kaklelio vėžys yra nustatytas pirmajame nėštumo trimestre ar navikas didesnis nei 4 cm bei yra metastazių regioniniuose limfmazgiuose - gydymo atidėti nerekomenduojama [60]. Iki šiol nėra vieningo standarto, kaip gydyti gimdos kaklelio vėžį esant nėštumui, ir dėl daugelio klausimų dar diskutuojama [64].

Gimdymo metu sergančioms gimdos kaklelio vėžiu moterims galimos su naviku susijusios komplikacijos (pvz., gimdos kaklelio plyšimas naviko infiltrato vietoje). Esant invaziniam gimdos kaklelio vėžiui didėja ir savaiminio persileidimo grėsmė. 30–40 proc. atvejų, esant gimdos kaklelio vėžiui, nėštumas baigiasi persileidimu ar priešlaikiniu gimdymu.

Atsiradus pagalbinėms reprodukcijos technologijoms, moterų gimdymo amžiaus riba prasitęžė. Todėl galima daryti prielaidą, jog vyresnio amžiaus moterims nėštumo metu gimdos kaklelio vėžys gali būti diagnozuojamas dažniau, nes moters amžius yra vienas iš vėžio rizikos veiksnių [65]. Taigi ŽPV infekcija, ikivėžinės gimdos kaklelio būklės ir gimdos kaklelio vėžys nėštumo metu tampa vis aktualesne problema.

2.2.1. ŽPV ir nėštumas. Literatūros duomenys apie ŽPV paplitimą tarp nėščių moterų nėra vienareikšmiai. Vieni tyrėjai nenustatė statistiškai reikšmingo ŽPV paplitimo skirtumo tarp nėščių ir nenėščių moterų, kiti tyrėjai, atlikę sisteminę kiekybinę literatūros duomenų analizę, konstatavo, kad ŽPV paplitimas svyruoja nuo 5,5 iki 65,0 proc. [2]. Toks didelis infekuotumo ŽPV diapazonas galėtų būti paaiškinamas tuo, kad ŽPV paplitimas priklauso nuo geografinės zonos populiacijos kultūrinių, socialinių bei ekonominių įpročių. Virusų paplitimui įtakos turi ir seksualinis elgesys, taip pat taikomi skirtingi ŽPV nustatymo metodai, kurių jautrumas skiriasi.

Austrijoje, ištyrus 147 nėščias moteris, ŽPV nustatytas 24,6 proc. moterų; ŽPV paplitimas mažėja tarp vyresnių nei 25 metų nėščių moterų [66]. Turkijoje atliktas tyrimas, kurio metu lyginta ŽPV paplitimas tarp nėščių ($n=164$) ir nenėščių ($n=153$) moterų: infekuotumas ŽPV siekė atitinkamai 29,2 ir 19,6 proc. [67]. Japonijoje atlikto tyrimo metu ($n=1183$) ŽPV konstatuotas 22,6 proc. tarp jaunesnių nei 25 metų amžiaus ir 11,3 proc. tarp vyresnių nei 25 metų amžiaus moterų [68]. Mažesnis nėščių moterų infekuotumas ŽPV yra Ispanijoje - 6,5 proc. ($n=54/828$) [42]. Didelis infekuotumas ŽPV nustatytas Ugandoje. Į tyrimą buvo įtrauktos 987 pirmą kartą besiruošiančios gimdyti moterys: ŽPV identifikuotas iki 60 proc. nėščiųjų [69].

Skirtingų tipų ŽPV turi tik atskiram tipui būdingą poveikį gimdos kaklelio patologijai atsirasti, todėl yra svarbu žinoti, kokių tipų ŽPV vyrauja nėštumo metu; yra duomenų, kad nėščiųjų kraujyje padidėjusi estrogenų ir progesterono

koncentracija ir/ar padidėjusi šių hormonų receptorių raiška gimdos kaklelio epitelio ląstelėse netiesiogiai aktyvina funkcinių ŽPV genų raišką [70].

Identifikuotų ŽPV tipų nėštumo metu spektras yra platus. R. Rombaldžio (*R. Rombaldi*) ir bendraautorių [42] duomenimis, dažniausiai nustatytas tokių tipų ŽPV: 6/11 (20,7%), 42 ir 16 (po 15,9 %), 18 (11,0%), 58 (6,1%), 31, 35 ir 52 (po 3,7%); 54,9 proc. sudarė didelės onkogeninės rizikos, 1,2 proc. - galbūt didelės rizikos, 40,2 proc. - mažos rizikos tipų ŽPV ir 3,7 proc. atvejų ŽPV tipas neidentifikuotas. Infekuotumas vieno tipo ŽPV konstatuotas 38,8 proc., dviejų - tipų ŽPV - 30,6 proc. ir daugiau nei dviejų tipų ŽPV - 30,6 proc. atvejų.

Kitų autorių [41] duomenimis, tarp 169 nėščių moterų, infekuotų ŽPV, nustatyti tokie tipai: 16 (32,9 %), X (nepatikslinto tipo ŽPV) (28,0 %), 6/11 (25,6 %), 31 (11,0 %), 39 (9,8 %), 18 (7,3 %), 33 (3,7 %). Infekuotos kelių tipų ŽPV buvo 17,1 proc. moterų. Dažniausias derinys - 16 tipo ŽPV su bet kurio kito tipo ŽPV (50,0 %) bei 31 tipo ŽPV su 39 tipo ŽPV (35,7 %). D. Lu (*D. Lu*) ir bendra autoriai [71], tirdami nėščias moteris, kurioms diagnozuota intraepitelinių gimdos kaklelio pokyčių, ŽPV DNR išskyrė 88,6 proc. moterų, tarp jų 79,6 proc. moterų nustatyti didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV; 5,4 proc. - mažos rizikos; 10,8 proc. atvejų - nepatikslinto tipo ŽPV. Infekuotos kelių tipų ŽPV buvo 43,0 proc. nėščiųjų. Tarp dažniausiai identifikuotų tipų ŽPV buvo: 52 (31,2 %), 16 (15,1 %), 39 (11,8 %), 53 (10,8 %) ir 18 bei 58 (po 9,7 %). C. Hernandezas-Gironas (*C. Hernandez-Giron*) ir bendra autoriai [72], atlikdami populiacinį tyrimą, lygino infekuotumą ŽPV tarp nėščių (n=274) ir nenėščių (n=1060) moterų ir nustatė infekuotumą didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV atitinkamai 37,2 ir 14,2 proc. moterų.

Galimybė užsikrėsti tuo pačiu metu kelių tipų ŽPV yra gana dažna. Įvairių autorių duomenimis, tokio užsikrėtimo dažnis svyruoja nuo 43 [71] iki 61,2 proc. [42]. Tiksliai kelių tipų ŽPV infekcijos sąveika nėra žinoma. Vieni autoriai mano, kad vieno tipo ŽPV palengvina kito tipo ŽPV patekti į ląstelės genomą [73]. Kiti autoriai teigia, kad užsikrėtimo vieno ar kelių tipų ŽPV rizikos veiksniai yra tokie patys [74].

Tik pavienių tyrimų rezultatai liudija apie infekuotumo ŽPV pokyčius priklausomai nuo nėštumo trimestro. E.M. Smito (*E.M. Smith*) ir bendraautorių [75] duomenimis, pirmajame nėštumo trimestre ŽPV nustatytas 8, antrajame - 16,7 ir trečiajame - 23,1 proc. nėščiųjų. Kito tyrimo duomenimis [69], tarp pirmojo/antrojo trimestrų ir trečiojo trimestro naujai ŽPV užsikrėtė 42,9 proc. nėščiųjų. Tačiau dėl

savaiminio viruso išnykimo (50,4%) infekuotumas ŽPV tarp skirtingų nėštumo trimestrų išliko tas pats.

Apie savaiminį viruso išnykimą tarp nėščiųjų literatūroje duomenų nedaug. C. Banuros (*C. Banura*) ir bendraautorių duomenimis [69], 50,4 proc. nėščiųjų ŽPV išnyksta nėštumo metu ir 71,8 proc. - po gimdymo. M.E. Sarkolos (*M.E. Sarkola*) ir bendraautorių duomenimis [76], savaime ŽPV išnykti nėštumo metu įtakos turi pakartotinis nėštumas.

Viruso poveikio nėštumo eigai ir vaisiui paneigti negalima. Buvo tirta medžiaga, gauta įvykus persileidimams pirmajame nėštumo trimestre. Tarp tokių moterų ŽPV nustatytas 3 kartus dažniau nei tarp nėščių moterų. Buvo tirtos placentos po savaiminių persileidimų ir nustatytas ŽPV trofoblasto ląstelėse [77, 78].

Apibendrinamoji išvada

Duomenų apie nėščių moterų infekuotumą ŽPV nėra daug ir jie yra gana prieštaringi. Dar tik pradedama kaupti duomenis apie galimą ŽPV perdavimą vaisiui ar naujagimiui.

2.3. Oksidacinis stresas, žmogaus papildomos virusas ir nėštumas

2.3.1. Laisvųjų radikalų formavimasis, jų funkcijos ir sukeliami efektai. Laisvųjų radikalų (LR) formavimasis yra įprastinis procesas normaliai funkcionuojančiame organizme. LR - tai ląstelių medžiagų apykaitos produktai, dalyvaujantys pernešant elektronus ir redukuojant deguonį bei daugelyje fiziologinių procesų. Fiziologinėmis sąlygomis žmogaus organizme susidaro nedidelis LR kiekis, tačiau veikiant įvairiems išoriniams (jonizuojamoji spinduliuotė, cheminės medžiagos, vaistai, toksinai ir kt.) bei vidiniams (fermentinės, autooksidacijos, fagocitozės reakcijos, įvairūs patologiniai procesai - uždegimas, navikinis procesas, aterosklerozė, senėjimas) veiksniams, organizme gaminasi nekontroliuojamai daug LR.

LR yra atomai ar jų grupės, turinčios nesuporintus elektronus išorinėje orbitalėje. LR yra nestabilūs, chemiškai labai aktyvūs, trumpos gyvavimo trukmės. Organizme besiformuojantys LR skirstomi į pirminius, antrinius ir tretinius. Pirminiai radikalai susidaro vykstant vienaelektronės oksidacijos reakcijoms. Mitochondrijų kvėpavimo grandinėje iš ubichinono (kofermento Q) susidaro semichinono radikalas,

o prie deguonies prisijungus vienam elektronui - superoksido anijono radikalas; iš arginino, veikiant azoto oksido sintazei, susidaro azoto oksido radikalas. Antriniai - hidroksilo bei lipidų radikalai - susidaro iš pirminių radikalų, pvz., vandenilio peroksido, lipoperoksidų, hipochlorito dalyvaujant divalentės geležies jonams. Tretiniai radikalai formuojasi antriniais radikalais veikiant antioksidantų bei kitų lengvai besioksiduojančių junginių molekules [79].

Pirminiai radikalai dalyvauja elektronų pernešimo grandinėje (pvz., semichinonas), organizmo apsaugos nuo mikroorganizmų (pvz., superoksidas), kraujo spaudimo reguliavimo (pvz., azoto oksidas) ir kituose gyvybiškai svarbiuose procesuose. LR pažeidžia nukleorūgštis, baltymus, slopina fermentus, inicijuoja lipidų peroksidacijos grandines reakcijas, kas sąlygoja jų mutageninį ir citotoksinį poveikį [80]. Antriniai radikalai dalyvauja ne tik vėžio, bet ir daugelio kitų ligų, pvz., širdies ir kraujagyslių [81–84], plaučių ligų [85, 86], diabeto [87] patogenezėje.

LR taikiniai yra ir lipidai, ir baltymai, ir nukleorūgštys, todėl jų sukiamų efektų spektras platus [88].

Lipidai yra ypatingi LR taikiniai dėl jautrumo radikalų indukuojamoms grandininėms reakcijoms bei dėl savo, kaip biologinių membranų komponento, svarbos.

LR poveikiui yra jautrios ir kai kurios amino rūgštys (tirozino, histidino, cisteino, metionino). LR gali stimuliuoti specifinių galutinių produktų (pvz., karbonilų, ditirozino) formavimąsi. Specifinės tirozino liekanos, esančios receptoriuose ar atitinkamose kinazėse, būdamos jautrios LR, gali sąlygoti viduląstelinio signalo perdavimo sutrikimus. Potencialus LR taikinytis yra ir cisteino merkaptų grupė, kuri gali atiduoti vandenilio atomą hidroksilo ar perhidroksilo radikalams susidarant merkaptų radikalui. Šis gali reaguoti su redukuotu glutationu, susidarant stipriai redukuojančiam agentui, ar su deguonimi, susidarant merkaptoperoksilo radikalui [89].

LR yra svarbūs, nes dalyvauja daugelyje fiziologinių ląstelės vyksmų:

- yra tarpiniai daugelio fermentinių reakcijų produktai (pvz., H_2O_2 naudojamas tiroidinių hormonų sintezei) bei ląstelės „antiseptinis ginklas“; yra programuotos ląstelės žūties mechanizmo veiksniai;
- valdo ląstelės dauginimąsi;
- dalyvauja signalo perdavimo keliuose.

2.3.2. Oksidacinis stresas. Normaliomis sąlygomis LR koncentracija yra maža. Ląstelės turi mechanizmus, padedančius apsaugoti nuo LR žalingo poveikio bei moduluoti LR inicijuojamus nepageidaujamus šio poveikio ląstelei efektus [90, 91]. Neutralizuojant LR dalyvauja pirminiai (superoksido dismutazė, katalazė, glutationo peroksidazė) bei antriniai (glutationo reduktazė, glutationo S-transferazė, gliukozės 6-fosfato dehidrogenazė) antioksidaciniai fermentai [92]. Ląstelėse taip pat vyksta nefermentiniai procesai, t.y. reakcijos su LR „gaudikliais“, pvz., vitaminais A, C, E, ubichinonais, karotinais. Svarbūs antioksidacinės sistemos komponentai yra ir merkaptų grupę turintys peptidai (pvz., glutationas) bei kai kurie baltymai (pvz., šiluminio šoko sistemos baltymai) [90].

Padaugėjus LR ir susilpnėjus antioksidacinės sistemos pajėgumui tuos radikalus neutralizuoti vystosi oksidacinis stresas. Įvairių poveikių inicijuojamas stresas gali būti ūmus, poūmis ir lėtinis. Esant ūmiam oksidaciniam stresui pasireiškia atrankinė ląstelių žūtis ir kompensacinis ląstelių proliferacijos padidėjimas. Poūmis oksidacinis stresas sąlygoja nereparuotas DNR pažaidas, susidarant naujoms mutacijoms, ir potencialiai inicijuoja naujų ląstelių transformaciją. Lėtinis oksidacinis stresas modifikuoja tarpląstelinius ryšius, proteino kinazių aktyvumą, membranų funkciją ir struktūrą, genų raišką, o tai sukelia ląstelių proliferacijos sutrikimus [93].

2.3.3. Oksidacinis stresas ir nėštumas. Pastaraisiais metais tyrinėjamas oksidacinis stresas nėštumo metu. Šio streso priežastis nėra tiksliai žinoma. Manoma, kad nėštumo metu formuojantis oksidaciniam stresui pagrindinį vaidmenį vaidina placenta – sudėtingas tuo laikotarpiu funkcionuojantis vidaus sekrecijos organas. Žmogaus placenta hemochorioninė – motinos kraujas, atiteikantis gimdos spiralinėmis arterijomis, apiplauna vaisiaus genų rinkinį turinčius placentos gaurelius (chorioną). Fiziologinio nėštumo metu placentoje susidaro didelis kiekis LR, kurie skatina angiogenezę, trofoblasto proliferaciją ir migraciją [94]. Dėl trofoblasto migracijos į gimdos spiralines arterijas mažėja jų sienelių elastingumas, arterijos išsiplečia ir didėja placentinė perfuzija. Šie placentoje vykstantys procesai svarbūs jai vystytis. Nėščiosios organizmas natūraliai prisitaiko prie LR pertekliaus veikiant kompensaciniams antioksidacinės sistemos mechanizmams.

Jei sutrinka trofoblasto migracija į gimdos spiralines arterijas, vystosi placentos išemija, o po to vyksta reoksigenacija (atsinaujina kraujo pritekėjimas) [94, 95]. Šių procesų seka skatina trofoblasto ląstelių žūtį ir citokinų gamybą [96–99]. Į

motinos kraujotaką patekęs trofoblasto citokeratinas, vaisiaus DNR ir RNR, taip pat citokinai sukelia oksidacinį stresą [100].

Nėščių moterų kraujo plazmoje padidėja prooksidacinio 8-izoprostano koncentracija, kurios maksimumas yra periodais tarp 26-tos ir 30-tos bei 37-tos ir 41-os nėštumo savaitių. Kartu nėštumo laikotarpiu moters kraujyje didėja antioksidacinės sistemos komponentų superoksido dismutazės ir glutathiono reduktazės aktyvumas [101]. Motinos kraujyje 8-izoprostano koncentracija koreliuoja su vaisiaus DNR koncentracija. Nėščių moterų kraujyje didesnė ir lipidų peroksidacijos reakcijos produktų, pvz., malono dialdehido, koncentracija [102], o nėščiųjų šlapime didesnė 8-hidroksideoksiguanozino - oksiduoto nukleozido, rodančio ląstelės branduolio ar mitochondrijų DNR pažeidimą, koncentracija. Pažymėtina, kad minėto nukleozido koncentracija šlapime didėja dar iki DNR reparacijos [103].

Oksidacinis stresas gilėja ir laiku vykstančio gimdymo metu: gimdančių moterų kraujyje intensyvėja lipidų peroksidacijos reakcijos, dėl kurių didėja malono dialdehido ir hidroperoksidų koncentracija [104, 105].

Pažymėtina, kad antioksidacinė sistema apsaugo organizmą nuo fiziologiškai padidėjusio LR kiekio ir nėštumo metu, tačiau, sutrikus prooksidacinių ir antioksidacinių procesų pusiausvyrai, vystosi patologinės nėščiųjų būklės. Nėščiųjų hipertenzinių būklių ir preeklampsijos metu sutrinka trofoblasto migracija į gimdos spiralines arterijas, dėl to arterijos išlieka elastingos, neišsiplečia ir blogėja placentos kraujotaka [106]. Placentoje besikartojanti hipoksija-reoksigenacija skatina ksantino oksidazės ir nikotinamidadenino (NADP) oksidazės aktyvumą, didėja superoksido anijono gamyba. Nėščiųjų hipertenzinių būklių ir preeklampsijos metu placentoje didėja lipidų peroksidacijos produktų koncentracija [107], mažėja superoksido dismutazės ir glutathiono peroksidazės aktyvumas [7].

Gestaciniu diabetu sergančių nėščių moterų kraujyje mažėja superoksido dismutazės ir katalazės aktyvumas [108], o prieš laiką gimdančioms moterims bei esant vaisiaus augimo sulėtėjimui, didėja 8-hidroksideoksiguanozino koncentracija šlapime [9, 109].

2.3.4. Oksidacinis stresas, gimdos kaklelio vėžys ir ŽPV. LR atlieka svarbų vaidmenį kancerogenezėje, reikšdamiesi ne tik iniciacijos stadijoje, kai pažeidžiamas genetinis aparatas, bet ir promocijos stadijoje, kuriai daro įtaką ir kiti ląstelės

proliferaciją skatinantys veiksniai. Sukaupta nemažai duomenų apie oksidacinį stresą sergant onkologinėmis ligomis [110–113], tarp jų ir gimdos kaklelio vėžiu. Šios lokalizacijos vėžio atveju ženkliai padaugėja lipidų peroksidacijos produktų, pvz., malono dialdehido ir kitų. Tai yra vienas iš požymių, rodančių antioksidacinės sistemos aktyvumo sumažėjimą [111, 114]. Oksidacinio streso metu padaugėja ir oksidacinių DNR bei baltymų pažaidų, kas signalizuoja apie reparacinės sistemos sutrikimus [90, 115].

Antioksidantiniai vitaminai A, C, E žinomi kaip antikancerogenai [116, 117]. Pacienčių, sergančių gimdos kaklelio vėžiu, kraujo serume daugeliu atvejų nustatytas sumažėjęs šių vitaminų kiekis. Minėtų antioksidantų kiekio svyravimai nekoreliuoja su jų, kaip maisto papildų, suvartojimu, tačiau susiję su naviko dydžiu (sumažėjus naviko masei, šių vitaminų kiekis didėja). Tai rodo, kad esant navikui, kurio ląstelėse dėl sutrikusio metabolizmo susidaro ženkliai daugiau LR negu normaliose ląstelėse, sutrinka ir šių antioksidacinės sistemos komponentų veikla [118]. Yra duomenų, kad esant ŽPV infekcijai taip pat mažėja vitamino E kiekis kraujyje, kas nulemia sinergetinį ŽPV ir vitamino E trūkumo poveikį gimdos kaklelio vėžio rizikai [119].

Tiriant antioksidacinės sistemos būklę, esant gimdos kaklelio adenokarcinomai, nustatytas pirminių ir antrinių antioksidacinių fermentų katalizinio aktyvumo sumažėjimas. Pirminių antioksidacinių fermentų aktyvumas rodo ląstelių apsaugos nuo LR poveikio lygį, nes šie fermentai (Mn, Zn-Cu, Fe – superoksido dismutazė, katalazė ir glutationo peroksidazė) trukdo formuotis LR [111, 120, 121]. Superoksido dismutazė katalizuoja toksiško superoksido radikalo vartimą molekuliniu deguonimi ir vandenilio peroksidu, taigi yra svarbus antioksidacinės sistemos veikimo mechanizmo komponentas. Šio fermento katalizinis aktyvumas ir raiška mažėja esant įvairių lokalizacijų navikams, tarp jų ir gimdos kaklelio vėžiui [122, 123]. Antra vertus, yra nustatyta, kad navikinėse ląstelėse ženkliai susilpnėja naviko slopiklio p53 baltymo funkcija. Tokiose ląstelėse nėra reguliuojama antioksidacinio fermento Mn-superoksido dismutazės raiška, nes ją reguliuojant dalyvauja p53. Mn-superoksido dismutazė apsaugo navikines ląsteles nuo oksidacinių pažaidų. Taigi dėl sutrikusio metabolizmo navikų ląstelėse besigaminantys dideli toksiškų LR (pirmiausia superoksido) kiekiai nukenksminami jose padidėjus superoksido dismutazės kataliziniui aktyvumui. Šio fermento raiškos lygis gimdos kaklelio navikuose priklauso nuo navikų dydžio [124].

Vandenilio peroksido perteklius taip pat toksiškas normalioms ląstelėms, sąlygoja įvairius sutrikimus bei stimuliuoja navikinių ląstelių vystymąsi [125, 126]. Normaliose ląstelėse vandenilio peroksidas nukenksminamas katalazės bei su glutationo apykaita susijusių fermentų - glutationo peroksidazės ir peroksiredoksinų [92, 127]. Navikinėse ląstelėse šių antioksidacinės sistemos komponentų aktyvumas sumažėjęs, kas sąlygoja didesnių peroksido kiekių susidarymą [128].

Formuojantis navikui svarbus vaidmuo tenka ir aktyvumui antrinių antioksidacinių fermentų, tarp kurių yra glutationo reduktazė ir glutationo S-transferazė [129]. Reduktazės (redukuoja glutationo disulfidą) ir S-transferazės (dalyvauja prijungiant toksiškus junginius prie glutationo) aktyvumas sumažėja gimdos kaklelio karcinomos atveju [111], kas rodo su glutationu susijusios antioksidacinės sistemos veiklos susilpnėjimą. Esant gimdos kaklelio vėžiui, mažėja ir gliukozo-6-fosfatdehidrogenazės aktyvumas, tačiau didėja ksantino oksidazės (stipraus pro-oksidanto) aktyvumas [120].

Ypač didelis dėmesys skiriamas nedidelių, tiolinę funkcinę grupę turinčių peptidų (pirmiausia glutationo), kaip antioksidacinės sistemos komponentų, reikšmingumo tyrimams. Glutationas žinomas ne tik kaip vienas pagrindinių antioksidantų žmogaus organizme, bet ir atlieka daugelį svarbių funkcijų: reguliuoja kitų antioksidantų veiklą; detoksikuoja kenksmingus junginius; moduliuoja imuninės sistemos veikimą ir uždegiminių procesų vystymąsi; dalyvauja transportuojant amino rūgštis per ląstelės membraną; yra stiprus reduktorius; padidina toksiškų medžiagų ar vaistų tirpumą vandenyje, sudarydamas su jais konjugatus; yra kai kurių fermentinių reakcijų kofaktorius [130].

Vidinių antioksidantų stoka gali susilpninti organizmo antioksidacinės sistemos pajėgumą ir taip daryti įtaką ŽPV persistencijai. Moterų, kurių kraujyje nustatyta didelė *cis*-likopeno koncentracija, gimdos kaklelyje ŽPV infekcija persistuoja trumpiau [131]. Nustatyta, kad infekuotų ŽPV ir sergančių gimdos kaklelio vėžiu moterų kraujo serume yra mažesni antioksidanto vitamino A kiekiai, palyginti su šio vitamino kiekiu kraujyje moterų, sergančių gimdos kaklelio vėžiu, bet neinfekuotų ŽPV [132, 133].

Vilniaus universiteto Onkologijos instituto tyrėjų duomenimis, sergančiųjų gimdos kaklelio vėžiu kraujo serume nustatyta didesnė malono dialdehido koncentracija, palyginti su šios medžiagos koncentracija sveikų moterų kraujo

serume. Tiriamosios grupės moterų kraujo serume didesnis ir katalazės aktyvumas, o superoksido dismutazės aktyvumas mažesnis. Minėtų skirtumų tarp sergančių gimdos kaklelio vėžiu moterų, infekuotų ŽPV ir neinfekuotų ŽPV, nekonstatuota [134].

Apibendrinamosios išvados

1. Nėštumo metu formuojasi oksidacinis stresas. Sutrikus antioksidacinės sistemos funkcijoms stresas gilėja.
2. Formuojantis vėžiui daugėja LR ir silpnėja antioksidacinės sistemos pajėgumas.
3. Antioksidacinės sistemos atskirų komponentų funkcinis susilpnėjimas daro įtaką ŽPV persistencijai.
4. Nėra aišku, ar ŽPV infekcija nėštumo metu turi įtakos oksidacinio streso lygiui.

2.4. Imuninė sistema ir žmogaus papilomos virusas

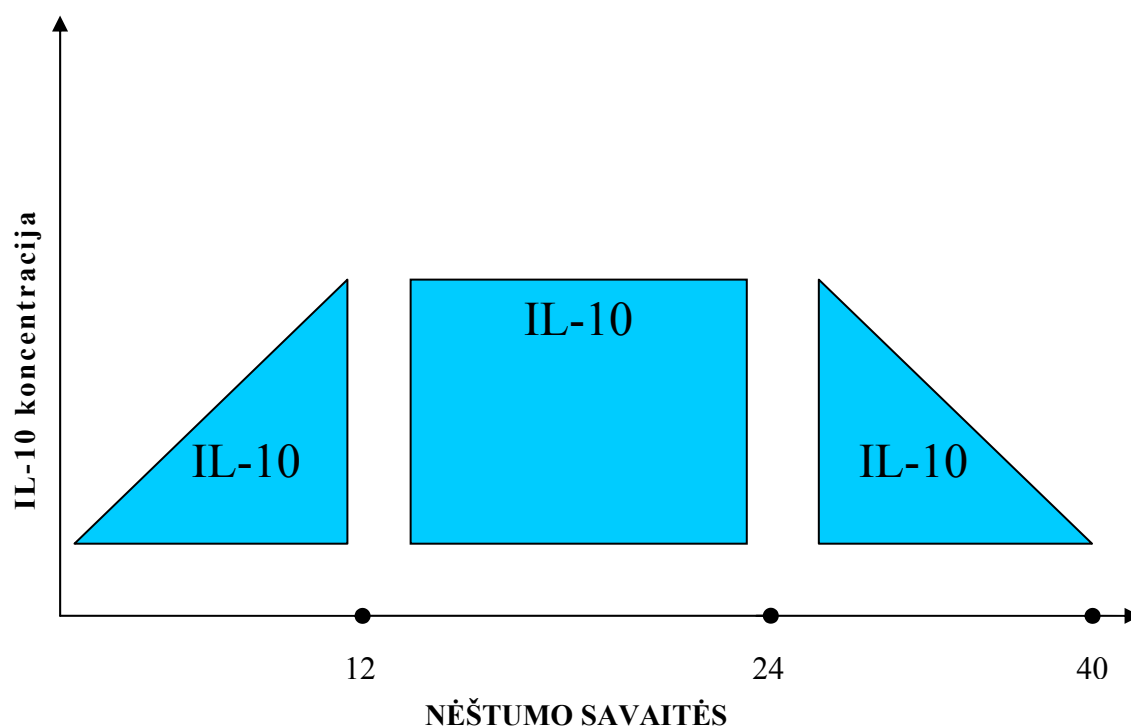
2.4.1. Imuninė sistema ir ŽPV infekcija. ŽPV infekcija, kitaip nei kitos virusinės infekcijos, nesukelia stiprios imuninės sistemos reakcijos. Šiai virusinei infekcijai nebūdinga klasikinė eiga. ŽPV nesukelia viremijos ar sisteminės infekcijos. ŽPV jautriausia gimdos kaklelio transformacijos zona. Čia yra daug nesubrendusių, metaplazavusių ląstelių. Iš karto po užsikrėtimo ŽPV įsiskverbia į gleivinės epitelio bazinio sluoksnio ląsteles. Kadangi epitelyje nėra kraujagyslių, virusas į sisteminę kraujotaką beveik nepatenka ir nesukelia sisteminio imuninio atsako. Didesnė antikūnų koncentracija kraujyje nustatoma tik infekcijai persistuojant ar progresuojant intraepiteliniams gimdos kaklelio pokyčiams [135]. ŽPV prisitaikymas prie epitelio ląstelės gyvavimo ciklo padeda jam išvengti sisteminio imuninio atsako. Virusui integravusis į bazinio sluoksnio gimdos kaklelio epitelio ląsteles jo genomas (be apvalkalėlio, galinčio aktyvinti imuninį atsaką) patenka į ląstelės branduolį. Infekuotos bazinio sluoksnio ląstelės pasidalija, viruso genomas replikuojasi ir tolygiai pasiskirsto šeimininko ląstelėse. ŽPV baltymų raiška yra nedidelė ir griežtai kontroliuojama viruso genų. Epitelio ląstelei subrendus ir pasiekus epitelio paviršių struktūriniai viruso genai gamina viruso kapsidės baltymus ir visiškai suformuojamas virionas [136]. Keratinocitui žuvus virusas patenka į aplinką. Šis ciklas vidutiniškai trunka apie 3 savaites. Nedidelė viruso baltymų raiška epitelio ląstelei dalijantis bei viruso atsipalaidavimas natūraliai ląstelei žuvus nesukelia ženklaus imuninio atsako [137–140].

Manoma, kad ŽPV infekcijos metu svarbesnis yra ląstelinis, o ne humoralinis imunitetas. Specifinio ląstelinio imuninio atsako komponentai - citotoksiniai T limfocitai (ekspresuoja CD8) ir T limfocitai helperiai (ekspresuoja CD4 žymenį). Yra kelios T limfocitų helperių (Th) subpopuliacijos, kurios skiriasi gaminamais citokinais, reguliuojančiais imuninio atsako procese dalyvaujančias ląsteles. Pažymėtina, kad sutrikęs citokinų balansas moduliuoja daugelio infekcijų persistenciją organizme bei ligos eigą. Vienas iš ląstelinio imuniteto aktyvintojų yra IL-12, kuris skatina γ IFN gamybą, natūralių kilių (NK), citotoksinių T limfocitų (CTL) funkcijas, be to, gali slopinti angiogenezę, t.y. pasižymi antinavikiniu poveikiu. IL-10, priešingai, slopina γ IFN gamybą, IL-12 produkciją, NK ir CTL aktyvumą, MHC (didysis audinių suderinamumo kompleksas) raišką navikinėse

ląstelėse bei antigeno pateikimą imuninės sistemos ląstelėms [141, 142]. ŽPV infekcija paprastai sukelia Th1 atsaką, kuris yra svarbus „išsivalant“ nuo ŽPV infekcijos. Atsako nebuvimas gali būti siejamas su infekcijos persistencija ir jos progresavimu. Moterims, infekuotoms 16 tipo ŽPV, gimdos kaklelio gleivinėje nustatytas mažesnis T limfocitų helperių skaičius [143] bei mažesnė γ IFN (Th1 citokinas) ir IL-5 (Th2 citokinas) koncentracija kraujyje. *In vitro* atliktų tyrimų metu nustatyta, kad ŽPV virusas, slopindamas MHC1 raišką navikinėse ląstelėse, gali slopinti citotoksinių T limfocitų sugebėjimą atpažinti viruso infekuotas ląsteles [144–146]. Efektyvus citotoksinių T limfocitų atsakas svarbus savaime pasveikti. ŽPV tai pat slopina ir kai kurių citokinų (γ IFN, TNF) sekreciją, skatina IL-10 gamybą [147–149]. Šie citokinų sekrecijos pokyčiai padeda infekcijai išlikti ir progresuoti. ŽPV infekcijai persistuoti ypač svarbus vietinis imuninis atsakas. Didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV slopina antigeną atpažįstančių receptorių (T limfocitų receptoriai) raišką įgimto imuniteto ląstelėse [150]. Virusas dauginasi nesukeldamas epitelio ląstelės žūties, todėl nėra aktyvinamos antigeną pateikiančios - Langerhanso ląstelės, esančios epidermyje ir baziniuose epitelio sluoksniuose. Kadangi ŽPV kapsidės baltymai, kurie yra stiprūs antigenai, sintetinami paviršiniuose epitelio sluoksniuose, Langerhanso ląstelės nėra aktyvinamos. Šių ląstelių funkciją slopina ir dėl viruso poveikio padidėjusi IL-10 sekrecija. Esant persistuojančiai ŽPV infekcijai ir progresuojantiems intraepiteliniams pokyčiams gimdos kaklelio transformacijos zonoje yra mažiau Langerhanso ląstelių [146, 151], todėl virusas nėra pristatomas imuninio atsako ląstelei.

2.4.2. Nėštumas, ŽPV infekcija ir imuninis atsakas. Nėštumo metu gimdos kaklelio transformacijos zonoje vyksta fiziologiniai pokyčiai. Jie moduliuoja imuninės sistemos funkcijas ir gali didinti riziką užsikrėsti ŽPV bei sudaryti palankias sąlygas virusui išlikti gimdos kaklelio epitelio ląstelėse ir taip skatinti infekciją progresuoti. Nėštumo metu gimdos kakleliui būdingi proliferaciniai procesai: vyksta daugiasluoksnio plokščiojo epitelio pamatinio ir ikipamatinio sluoksnių proliferacija, didėja gimdos kaklelio liaukų gleivių sekrecija, aktyvėja gimdos kaklelio epitelio metaplazijos procesas ir tuo metu epitelis yra jautresnis įvairiems veiksniams, tarp jų ir infekcijos poveikiui. Nėštumo metu cilindrinis epitelis pasislenka labiau į kaklelio makštinę dalį. Riba tarp cilindrinio ir daugiasluoksnio plokščiojo epitelio yra geriau matoma ir atsiranda lyg ektopija,

kurios iki nėštumo nebuvo konstatuota. Yra duomenų, kad kai kuri virusinė infekcija (pvz., 2 tipo adenovirusai), persistuojanti makštyje ar gimdos kaklelyje, dažniau pasireiškia nėštumo metu [152]. Nėštumo metu ir po gimdymo kinta vietinio bei sisteminio (ląstelinio bei humoralinio) imuniteto funkcijos. Hormonų poveikis ir endometriumo imunokompetentinių ląstelių stimuliacija trofoblasto antigenais skatina citokinų gamybą ir T helperių (Th0) diferenciaciją į Th1 ląsteles (stimuliuojančias ląstelinį imunitetą) ir Th2 ląsteles (stimuliuojančias humoralinį imunitetą). Th1/Th2 santykis yra vienas esminių nėštumo imunologinių veiksnių. Skirtingų citokinų, kuriuos produkuoja minėti limfocitai, koncentracijos pokyčiai sąlygoja imunosupresiją ir indukuoja motinos toleranciją vaisiaus aloantigenams (2.4.2.1 pav.) [153].



2.4.2.1 pav. IL-10 koncentracija nėštumo metu (adaptuota pagal [153]).

Nustatyta, kad normalaus nėštumo metu dominuoja Th2 atsakas ir vietinio, ir sisteminio imuniteto lygmeniu. Dėl to aktyvinama imunosupresinių citokinų gamyba [152]. Šie pokyčiai rodo bendrąją motinos organizmo imunosupresinę būklę. Tačiau sakyti, kad nėštumas - tai imunodeficitinė būklė, vargu ar galima, nes, nepaisant imunosupresijos, išlieka (antigenui) specifinis T limfocitų atsakas. Motinos T limfocitai atpažįsta vaisiaus antigenus. Šis specifinis atsakas sąlygoja tam tikrų T limfocitų klonų proliferaciją ir kaupimąsi. Nėštumo metu vyksta citotoksinių T limfocitų sensitizacija paveldėtų tėvo audinių suderinamumo antigenų atžvilgiu. Dėl didelės natūralaus imuniteto sistemos stimuliacijos vaisius gali slopinti motinos limfocitų citotoksinį poveikį ir drauge palaikyti ar net sustiprinti jos rezistentiškumą infekcijoms. Natūralaus imuniteto aktyvinimas užtikrina efektyvią organizmo apsaugą nuo daugelio bakterijų. Tačiau to ne visada užtenka eliminuojant ląstelės viduje esančius sukėlėjus (pvz., virusus). Todėl virusinių infekcijų eiga nėštumo metu gali būti sunkesnė nei nesant nėštumo [152, 154, 155].

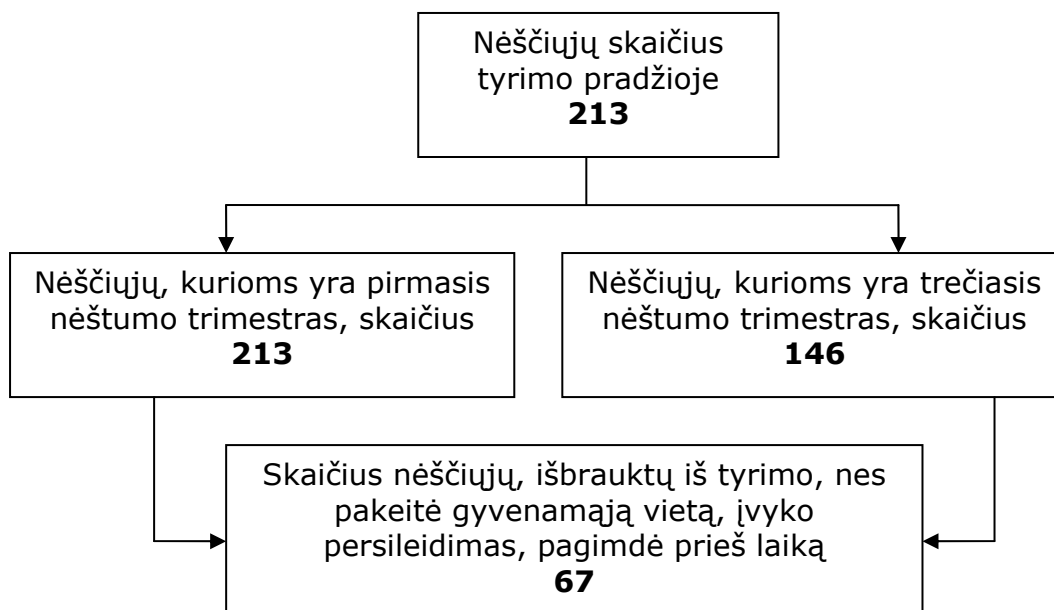
Apibendrinamosios išvados

1. ŽPV infekcijos metu ląstelinis imunitetas yra svarbesnis nei humoralinis.
2. Nėštumo metu vykstantys fiziologiniai pokyčiai gimdos kaklelio transformacijos zonoje moduliuoja imuninės sistemos funkcijas ir atsaką į ŽPV infekciją.
3. Nėra aišku, kaip ŽPV infekcija nėštumo metu moduliuoja vietinį imuninį atsaką.

3. TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI

3.1. Tiriamųjų kontingentas

Į tyrimą įtraukta 213 sveikų nėščių moterų, kurios 2008–2010 metų laikotarpiu lankėsi Vilniaus miesto Centro poliklinikos diagnostikos centre. Dalyvavusių nėščių moterų skaičiaus pokyčiai tyrimo metu parodyti 3.1.1 paveiksle.



3.1.1 pav. Nėščiųjų skaičiaus pokyčiai tyrimo metu

Šios moterys tirtos dėl infekuotumo ŽPV bei atskirų tipų ŽPV. Tyrimai atlikti pirmojo ir trečiojo nėštumo trimestrų metu. Nėščiosioms pateiktas klausimynas, kurį sudarė 22 klausimai (1 priedas). Buvo klausiama apie socialinius demografinius požymius (amžius, išsilavinimas, šeiminė padėtis, tautybė, socialinė padėtis), lytinį gyvenimą (amžius pirmųjų lytinių santykių metu, lytinių partnerių skaičius, partnerio nevedybiniai lytiniai ryšiai), ginekologinę anamnezę (gimdymų bei nėštumų nutraukimų skaičius, pirmosios mėnesinės, persirgtos ginekologinės ligos, kontracepcijos priemonių naudojimas). Surinkti duomenys apie citologinių gimdos kaklelio tepinėlių atsakymus.

Gauti Lietuvos bioetikos komiteto leidimai (2008-03-26, Nr. 21/1; 2008-03-26, Nr. 21/2; 2008-11-04, Nr. 60) atlikti tyrimą (2-6 priedai).

3.2. Infekuotumo ŽPV nustatymas bei atskirų tipų ŽPV identifikavimas

Infekuotumas ŽPV buvo nustatomas tiriant gimdos kaklelio nuoplovas. Ginekologinės apžiūros metu gimdos kaklelis buvo apiplaunamas 10 ml fiziologinio tirpalo, medžiaga buvo surenkama į sterilų 15 ml polipropileno indelį ir leduose per 4 valandas transportuojama į VU Onkologijos instituto Mokslinių tyrimų centrą ištirti. Iš tiriamosios medžiagos buvo išskiriama DNR ir atliekami tyrimai dėl infekuotumo ŽPV. Medžiaga buvo saugoma - 20°C temperatūroje ir tirti ruošta keliais etapais. Pirmiausia buvo išskiriama tiriamoji DNR. Tam naudotas komercinis *Sorpoclean* DNR išskyrimo rinkinys (AB „SORPO diagnostics“, Lietuva); DNR buvo išskiriama pagal gamintojo rekomendacijas.

Identifikuoti tokie ŽPV tipai: 16, 18, 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58. Atsižvelgiant į literatūros duomenis [16], nėščiosios pagal infekuotumą atskirų tipų ŽPV suskirstytos į keletą grupių: I grupei priklausė infekuotosios 16 tipo ŽPV, kuris sąlygoja pagal literatūros duomenis apie 54,6 proc. gimdos kaklelio vėžio atvejų, II grupei – infekuotosios 18 tipo ŽPV (18,8 proc. atvejų), III grupei – infekuotosios 31, 52 ir 58 tipų ŽPV (1,1–4,4 proc. atvejų), IV grupei - infekuotosios 33, 39, 45, 51 ir 56 tipų ŽPV (0,2–0,8 proc. atvejų), V grupei - infekuotosios kelių tipų ŽPV ir VI grupei - infekuotosios neidentifikuotų tipų ŽPV moterys.

PGR atlikimo metodikos ypatumai. PGR, siekiant nustatyti ŽPV, buvo atliekama naudojant 50 µl tūrio mišinio, kurį sudarė 45 µl komercinio *HPV Master Mix* mišinio (AB „SORPO diagnostics“, Lietuva) ir 5 µl tiriamosios DNR pagal gamintojo rekomendacijas. Prieš atliekant PGR ŽPV nustatyti buvo tikrinama išskirtoji DNR - žiūrima, ar visuose mėginiuose yra β globino genas [156]. Kiekviena PGR ŽPV nustatyti buvo atliekama naudojant esantį komerciniame rinkinyje mėginį, turintį DNR, kaip teigiamą kontrolę, bei naudojant mėginį, neturintį DNR (su dejonizuotu vandeniu), kaip neigiamą kontrolę.

Mėginiai, kuriuose nustatytas ŽPV, analizuoti toliau: buvo atliekamos kelios PGR virusų tipams nustatyti, naudoti komerciniai *HPV 16,18 Master Mix*, *HPV 31, 33, 39, 51, 52, 56, 58, 59 Master Mix* bei *HPV 6/11, 45 Master Mix* rinkiniai (AB „SORPO diagnostics“, Lietuva).

PGR produktų vizualizacija naudojant elektroforezę. Amplifikuoti PGR produktai analizuoti naudojant elektroforezę, kuri buvo atliekama 2 proc. agarozės

gelyje, dažytame etidžio bromidu. Po elektroforezės etidžio bromidu dažyti produktai buvo analizuojami transiluminatoriuje naudojant UV šviesos šaltinį (320 nm). Rezultatai nufotografuoti ir išsaugoti kompiuteryje.

3.3. Antioksidacinės sistemos būklės vertinimas

Antioksidacinės sistemos būklė vertinta pagal GSH, GSSG koncentraciją ir BAA, o lipidų peroksidacijos intensyvumas - pagal MDA koncentraciją kraujo plazmoje ir gimdos kaklelio nuoplovose pirmuoju ir trečiuoju nėštumo trimestrais.

Kraujo plazmos paruošimas. Kraujas buvo imamas į vakuuminius 3 ml mėgintuvėlius su 5,4 mg antikoagulianto etilendiamintetraacetato (EDTA). Ruošiant tyrimams kraujas (su antikoaguliantu) buvo suplakamas ir centrifuguojamas 3000 aps./min. greičiu 30 min. Gelsvas viršutinis plazmos sluoksnis buvo nusiurbiamas ir saugomas mikromėgintuvėlyje -20°C temperatūroje.

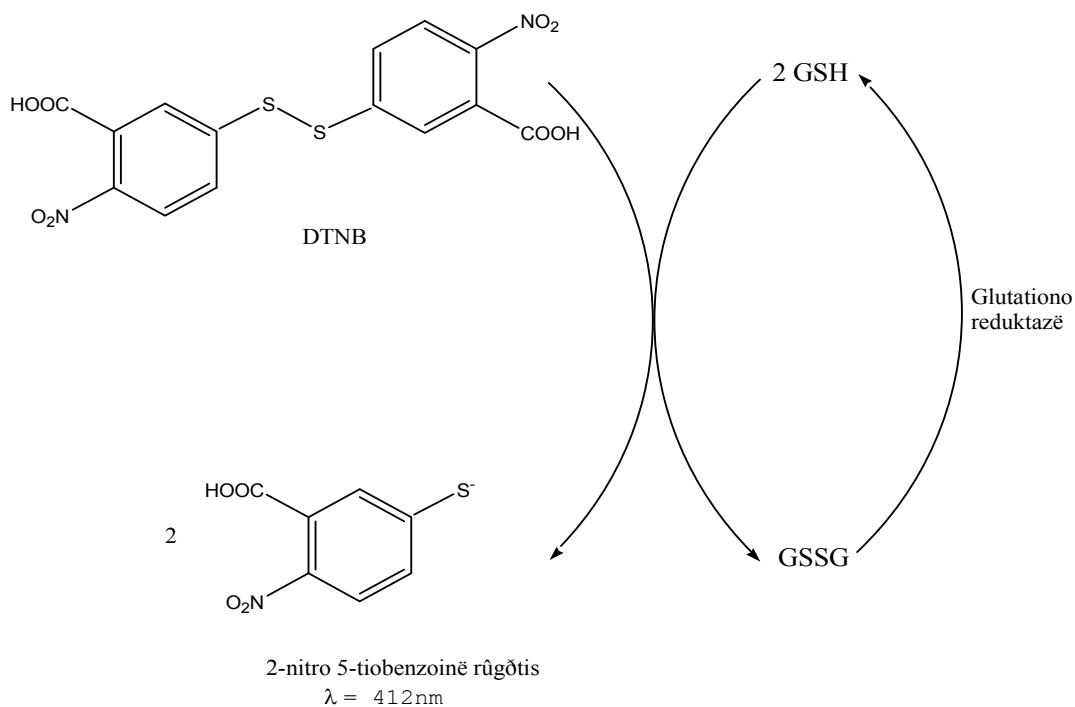
Gimdos kaklelio nuoplovų mėginių paruošimas. Gimdos kaklelio ėminiai buvo centrifuguojami šaldomoje centrifugoje (4°C) 14 min. 1500 aps./min. greičiu. Medžiaga buvo saugoma -20°C temperatūroje.

Glutationo (GSH+GSSG) koncentracijos tiriamojoje medžiagoje nustatymas. Į mėgintuvėlį, su 0,1 ml tiriamojo tirpalo buvo įpilama 0,2 ml glutathiono reduktazės (GR) (2,5 U/ml), 1,5 ml nikotinamidadenino fosfato (NADPH) tirpalo (0,3 mM), 0,1 M K-Na fosfatinio buferinio tirpalo ir 5 mM EDTA. Šis mišinys buvo inkubuojamas termostate (esant 37°C temperatūrai, 10 min.). Atvėsinus buvo įpilama 0,2 ml 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzinių rūgšties) (DTNB) tirpalo (6 mM) ir laikoma kambario temperatūroje 10 min. Supernatanto sugertis buvo matuojama spektrofotometriškai, esant $\lambda=412$ nm bangos ilgiui. GSH koncentracija mėginyje nustatyta pagal kontrolinius mėginius, kuriuose vietoj tiriamosios medžiagos buvo pridedama 0,1 ml žinomos koncentracijos GSH tirpalo [157]).

Reakcijos eiga:

$\text{GSH} + \text{DTNB} \rightarrow \text{GSTNB}$ (GSH ir DTNB kompleksas)

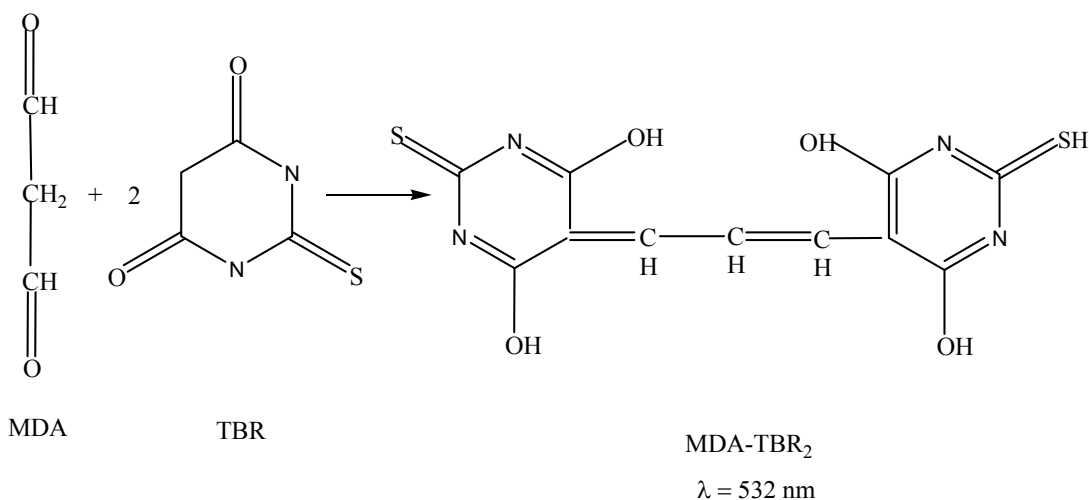
$\text{GSTNB} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$ (oksiduotas NADPH)



3.3.1 pav. Reakcijos, vykstančios nustatant glutationo koncentraciją

Malono dialdehido (MDA) koncentracijos tiriamojoje medžiagoje nustatymas tiobarbitūrinės rūgšties testu. Į mėgintuvėlį su 0,2 ml tiriamojo tirpalo buvo įpilama 0,8 ml distiliuoto H₂O ir 1 ml tiobarbitūrinės rūgšties (TBR) tirpalo. Mėgintuvėlis buvo užkemšamas ir virinamas 30 min. vandens vonioje. Atvėsinus iki kambario temperatūros buvo įpilama 1 ml 5 N kalio šarmo (KOH) tirpalo ir 2 ml 2-propanolio. Mišinys buvo perpilamas į centrifuginį mėgintuvėlį ir centrifuguojama 20 min. 8000 aps./min. greičiu. Supernatanto sugertis buvo matuojama spektrofotometriškai, esant $\lambda=532 \text{ nm}$ bangos ilgiui. Kontroliniame mėginyje vietoj tiriamosios medžiagos buvo įpilama 0,2 ml distiliuoto H₂O.

Reakcijos eiga:



3.3.2 pav. Reakcijos, vykstančios nustatant malono dialdehido koncentraciją

MDA koncentracija buvo apskaičiuojama pagal formulę:

$$c(\text{MDA}) = \frac{A_{532} V}{\epsilon l} = \frac{A_{532} \cdot 10^9}{1,56 \cdot 10^8} = \frac{A_{532} \cdot 25 \cdot 10}{1,56}$$

$$\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ l} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1};$$

l – kiuvetės plotis (1cm);

V – mėginio praskiedimas;

A – optinis tankis.

Bendrojo antioksidacinio aktyvumo (BAA) nustatymas tiriamojoje medžiagoje taikant Tween 80 oksidacijos testą. Į mėgintuvėlį su 0,2 ml tiriamosios medžiagos buvo įpilama 2 ml 1 proc. Tween 80 vandeninio tirpalo, 0,2 ml 1 mM geležies sulfato tirpalo ir 0,2 ml 10 mM askorbo rūgšties tirpalo. Inkubuojama 48 val. 40°C temperatūroje. Atvėsinus iki kambario temperatūros buvo įpilama 1 ml 40 proc. trichloracto rūgšties ir 1 val. laikoma kambario temperatūroje. Mišinys buvo perpilamas į centrifuginį mėgintuvėlį ir centrifuguojama 15 min. 8000 aps./min. greičiu. Į supernatantą buvo įpilama 2 ml 0,25 proc. TBA buferinio tirpalo. Mišinys buvo kaitinamas 15 min. Sugertis matuota spektrofotometriškai, esant λ=532 nm bangos ilgiui.

3.4. Vietinio imuniteto atsako vertinimas

Buvo tiriama IL-10 ir IL-12 koncentracija gimdos kaklelio nuoplovose.

Gimdos kaklelio nuoplovų mėginių paruošimas. Gimdos kaklelio nuoplovos buvo centrifuguojamos šaldomoje centrifugoje (4°C) 15 min. 1500 aps./min. greičiu. Gautas nuopilas buvo išpilstomas į 1,5 ml mikromėgintuvėlius ir užšaldomas –80°C temperatūroje. Surinkus visus tirti paruoštus mėginius, buvo nustatoma citokinų IL-10 ir IL-12 koncentracija imunofermentiniu metodu ELISA (angl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Citokinų IL-10 ir IL-12 kiekio nustatymas. Citokinų kiekiui gimdos kaklelio nuoplovose nustatyti buvo naudojami komerciniai *BioSource Human IL-10-Easia* ir *BioSource Human IL-12+p40 Easia ELISA* rinkiniai. Abiejų rinkinių naudojimo metodikos panašios, todėl aptariamasi kartu.

Visi rinkinyje naudoti reagentai prieš reakciją buvo atšildomi iki kambario temperatūros. Rinkinyje buvo 96-ių šulinėlių mikroplokštelės, padengtos monokloniniais antikūnais, specifiniais žmogaus citokinams IL-10 arba IL-12. Rinkiniuose esantys 6 liofilizuoti citokinų standartai (rekombinantiniai baltymai IL-10 arba IL-12) ir 2 kontroliniai serumai prieš tyrimą buvo atskiedžiami skiedimo buferiniu tirpalu iki nurodytos koncentracijos.

Vienu metu į mikroplokštelės visus šulinėlius buvo įpilama po 100 µl inkubacinio buferinio tirpalo, po to - po 100 µl standartinių (žinoma IL-10 ir IL-12 koncentracija) ir tiriamųjų mėginių. Inkubuota 2 val. kambario temperatūroje horizontalioje purtyklėje (700 rpm±100 rpm). Po inkubacijos skystis iš šulinėlių buvo nupilamas, plokštelė plauta 3 kartus plovimo buferiniu tirpalu (0,4 ml į šulinėlį). Į kiekvieną šulinėlį buvo įpilama po 100 µl mėginių skiedžiamąjo tirpalo ir 50 µl antrinių žymėtų peroksidaze antikūnų (anti-IL-10-HRP, anti-IL-12-HRP) tirpalo. Inkubuota 2 val. kambario temperatūroje horizontaliojoje purtyklėje (700 rpm ± 100 rpm). Po inkubacijos skystis iš šulinėlių buvo nupilamas, plokštelė plauta 3 kartus plovimo buferiniu tirpalu (0,4 ml į šulinėlį). Į kiekvieną šulinėlį buvo įpilama po 200 µl paruošto tetrametilbenzidino (TMB) substrato tirpalo. Inkubuota 30 min. esant kambario temperatūrai tamsoje horizontaliojoje purtyklėje (700 rpm ± 100 rpm). Fermentinė reakcija buvo sustabdoma į šulinėlius įpylus po 50 µl buferinio tirpalo.

Absorbcija matuota mikroplokštelių skaitytuvu esant 450 nm ilgio bangai. Citokinių koncentracijos mėginiuose apskaičiuotos pagal standartinę kreivę.

3.5. Statistinės analizės metodai

Statistinė analizė atlikta panaudojus SPSS17 ir *Excel* programinę įrangą. Visi tiriamieji požymiai buvo kokybiniai, dėl to pateikti atskirų požymių, kategorijų dažniai n ir atitinkamos jų proporcijos (%). Siekiant įvertinti riziką užsikrėsti ŽPV skaičiuotas tikimybių santykis ir nustatyti jo pasikliautiniai intervalai. Skirtumams tarp kokybinių požymių vertinti naudotas χ^2 testas. Pasirinktas reikšmingumo lygmuo - $\alpha < 0,05$. Skirtumams tarp rodiklių statistiniam reikšmingumui nustatyti, esant nenormaliam duomenų pasiskirstymui, taikytas neparametrinis testas nepriklausomoms imtims - Vilkoksono-Mano-Vitnio (*Wilcoxon Mann-Whitney U*) testas. Duomenys tikrinti naudojant Šapiro-Vilkoksono (*Shapiro-Wilcoxon W*) ir Kolmogo-Smirnovo (*Kolmogor-Smirnov Lilefor*) testus. Pasirinktas reikšmingumo lygmuo - $\alpha < 0,05$.

Tolydiniais dydžiais vertinti naudoti vidurkis ir standartinis nuokrypis.

4. REZULTATAI

4.1. Bendrosios charakteristikos

Į tyrimą įtraukta 213 nėščiųjų, sutikusių dalyvauti atliekant tyrimą ir pasirašiusių Informuoto asmens sutikimo formą. Tarp į tyrimą įtrauktų 213 nėščių moterų 76,5 proc. (n=163) sudarė ištekęjusios, 58,7 proc. (n=125) - tarnautojos, 77,5 proc. (n=165) - turinčios aukštąjį išsilavinimą; didžiausia dalis moterų buvo lietuvės - 81,2 proc. (n=173). Pirmuosius lytinius santykius iki 18 metų turėjo 30,5 proc. (n=65) nėščiųjų. Apie pusė į tyrimą įtrauktų moterų (55,4 proc, n=116) turėjo nuo 1 iki 2 lytinių partnerių. Pagal kontraceptinių priemonių naudojimą moterys pasiskirstė taip: 52,6 proc. (n=112) moterų naudojo hormonines ir 39,9 proc. (n=85) - kitas priemones. Ginekologinėmis ligomis buvo sirgusios 69,5 proc. (n=148) moterų (4.1.1 lent.). Dėl intraepitelinio pokyčių gimdos kaklelyje 4 nėščiosioms prieš prasidėjusį nėštumą atlikta gimdos kaklelio konizacija. Atsižvelgiant į 4.1.1 lentelėje pateiktus duomenis, rizika užsikrėsti ŽPV bus įvertinta toliau.

4.1.1 lentelė. Tiriamųjų charakteristika

Duomenys		Nėščiųjų skaičius (n)	Proc.
Šeiminė padėtis	netekėjusi	42	19,7
	ištekėjusi	163	76,5
	išsiskyrusi	3	1,4
	gyvena sambūvyje	5	2,3
Socialinė padėtis	darbininkė	48	22,5
	tarnautoja	125	58,7
	kita	40	18,8
Išsilavinimas	pagrindinis	7	3,3
	vidurinis	23	10,8
	specialusis	18	8,5
	aukštasis	165	77,5
Tautybė	lietuvė	173	81,2
	rusė	18	8,5
	lenkė	18	8,5
	kita	4	1,9
Amžius pirmųjų lytinių santykių metu	<18	65	30,5
	18–20	91	42,7
	>20	57	26,8
Lytinių partnerių skaičius	1	58	27,2
	2	60	28,2
	3–5	72	33,8
	>5	23	10,8
Gimdymų skaičius	nebuvo	101	47,4
	1–2	97	45,5
	3–5	14	6,6
	>5	1	0,5
Persirgtos lytiškai plintančios ligos	buvo	32	15,0
	nebuvo	181	85,0
Persirgtos ginekologinės ligos	nebuvo	148	69,5
	buvo	65	30,5
Rūkymas	taip	34	16,0
	ne	179	84
Hormoninių kontraceptinių priemonių naudojimas	taip	112	52,6
	ne	101	47,4

Toliau buvo analizuoti mūsų gauti duomenys atskirai apie infekuotų ir neinfekuotų ŽPV nėščiųjų pasiskirstymą priklausomai nuo gimdymų skaičiaus, rūkymo, hormoninių bei kitų kontraceptinių priemonių naudojimo (4.1.2 ir 4.1.3 lent.), kadangi literatūros duomenys dėl šių rizikos veiksnių įtakos tiek nėštumo eigai, tiek gimdos kaklelio vėžio formavimuisi, esant ŽPV infekcijai, nėra vienareikšmiai [158-160].

4.1.2. lentelė. ŽPV infekuotų nėščiųjų charakteristika

Duomenys		Nėščiųjų skaičius (n)	Proc.
Gimdymų skaičius	nebuvo	22	55,0
	1–2	18	45,0
	3–5	0	0
	>5	0	0
Rūkymas	taip	7	17,5
	ne	33	82,5
Hormoninių kontraceptinių priemonių naudojimas	taip	22	55,0
	ne	18	45,0
	ne	28	70,0

4.1.3 lentelė. ŽPV neinfekuotų nėščiųjų charakteristika

Duomenys		Nėščiųjų skaičius (n)	Proc.
Gimdymų skaičius	nebuvo	79	45,7
	1–2	79	45,7
	3–5	14	8,1
	>5	1	0,5
Rūkymas	taip	27	15,6
	ne	146	84,4
Hormoninių kontraceptinių priemonių naudojimas	taip	90	52,0
	ne	83	48,0
	ne	100	57,8

4.2. Nėščiųjų infekuotumas ŽPV bei atskirų tipų ŽPV

Tyrimo pradžioje (pirmasis nėštumo trimestras) tarp 213 nėščiųjų ŽPV nustatytas 17,8 proc. (n=38) moterų (95% PI = 13.25÷23.57). Tarp identifikuotų tipų ŽPV 7,8 proc. nėščiųjų nustatyti 16 ir 18 tipų ŽPV, 21,1 proc. nėščiųjų - 31, 52 ir 58 tipų ŽPV, 10,5 proc. nėščiųjų - 33, 39, 51 ir 56 tipų ŽPV ir 13,2 proc. konstatuota kelių tipų ŽPV; likusią dalį - 47,4 proc. sudarė neidentifikuotų tipų ŽPV (4.2.1 lentelė).

4.2.1 lentelė. ŽPV tipai pirmąjį nėštumo trimestrą

Infekuotųjų grupė	ŽPV tipas		n	Proc.
I	16		2	5,2
II	18		1	2,6
III	31, 52, 58	31	3	21,1
		52	3	
		58	2	
IV	33, 39, 51, 56	33	1	10,5
		39	1	
		51	1	
		56	1	
V	kelių tipų ŽPV:		5	13,2
	16, 31, 56, 58		1	
	16 ir 45		1	
	31 ir 51		1	
	52 ir 36		1	
	52 ir 58		1	
VI	neidentifikuotų tipų ŽPV		18	47,4
Iš viso			38	100,0

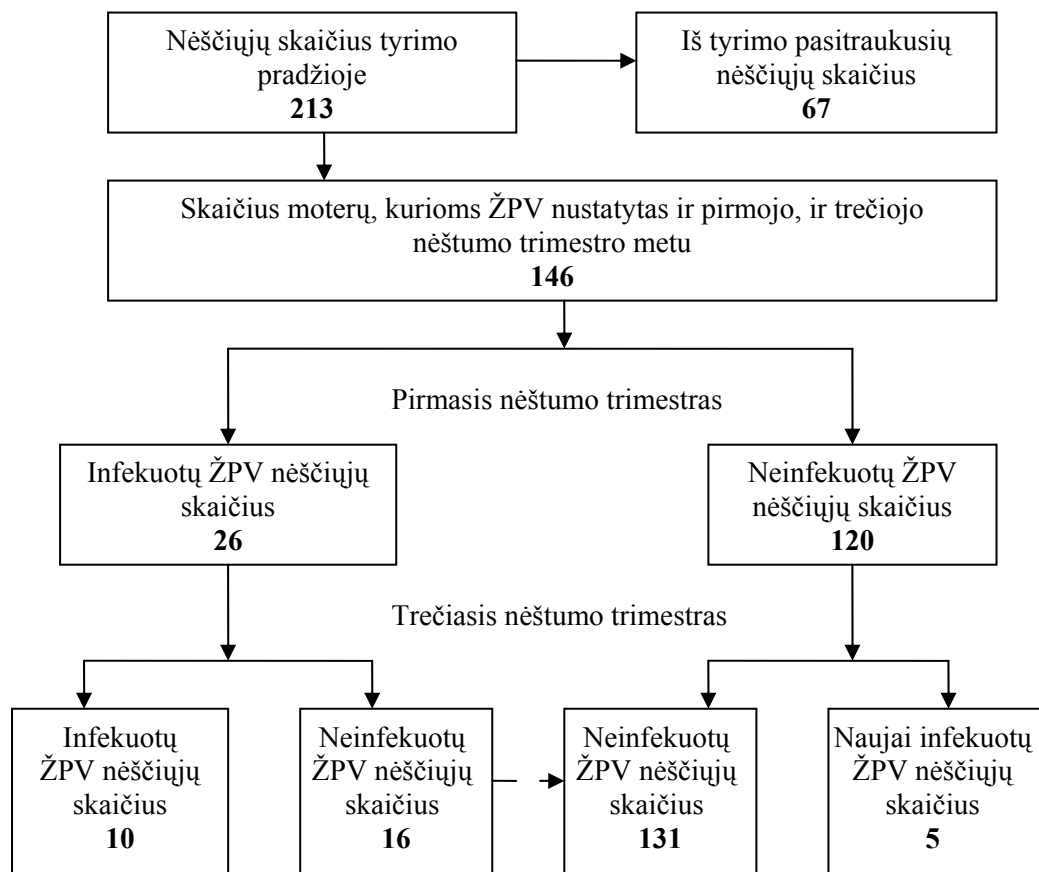
I pakartotinį tyrimą dėl ŽPV trečiąjį nėštumo trimestrą 67 moterys neatvyko: pakeitė gydymo įstaigą, įvyko persileidimas, prieš laiką pagimdė. Pažymėtina, kad tarp jų 14 nėščiųjų pirmąjį nėštumo trimestrą buvo nustatyta ŽPV infekcija. Taigi trečiąjį nėštumo trimestrą buvo tirtos 146 nėščiosios, tarp kurių ŽPV nustatytas 10,3 proc. (n=15) (95 % PI=6,76÷17,16).

Tarp identifikuotų tipų ŽPV 16 ir 18 tipai nustatyti atitinkamai 26,6 proc. nėščiųjų, 58 tipas - 20,0 proc. ir 20,0 proc. nėščiųjų - kelių tipų ŽPV; likusią dalį - 33,4 proc. sudarė neidentifikuotų tipų ŽPV infekuotos nėščiosios (4.2.2 lent.).

4.2.2 lentelė. ŽPV tipai trečiąjį nėštumo trimestrą

Infekuotųjų grupė	ŽPV tipas	n	Proc.
I	16	2	13,3
II	18	2	13,3
III	58	3	20,0
IV	33, 39, 51, 56	0	0
V	kelių tipų ŽPV:	3	20,0
	16 ir 45	1	
	16, 18 ir 33	1	
	31 ir 51	1	
VI	neidentifikuotų tipų ŽPV	5	33,4
Iš viso		15	100,0

Infekuotumo ŽPV pokyčiai priklausomai nuo nėštumo trimestro. Siekiant palyginti infekuotumo ŽPV pokyčius priklausomai nuo nėštumo trimestro, į duomenų apskaičiavimą įtrauktos tik tos nėščiosios, kurios buvo tiriamos dėl ŽPV ir pirmojo, ir trečiojo trimestrų metu. Tokių moterų buvo 146, iš kurių infekuota ŽPV - 17,8 proc. (n=26) (95 % PI=12,4÷24,87). Trečiojo nėštumo trimestro metu ŽPV nustatytas 15 nėščiųjų, tarp kurių 10 moterų ŽPV persistavo, 5 moterys užsikrėtė nėštumo metu ir 16 moterų, kurioms ŽPV testas buvo teigiamas pirmajame nėštumo trimestre, ŽPV infekcija išnyko (4.2.1 pav.).



4.2.1 pav. Moterų infekuotumo ŽPV pokyčiai nėštumo metu

Infekuotumas ŽPV pagal atskirus viruso tipus pateiktas 4.2.3 lentelėje.

4.2.3 lentelė. ŽPV tipų pokyčiai nėštumo metu

Grupė	ŽPV tipas	Nėščiųjų skaičius (n)		
		Pirmasis nėštumo trimestras	Trečiasis nėštumo trimestras	
			infekcija persistuoja	naujas užsikrėtimas
I	16	2	1	1
II	18	1	1	1
III	31	2	2 (58 tipas)	1 (58 tipas)
	52	3		
	58	1		
IV	39	1	0	0
	51	1		
	56	1		
V	Kelių tipų ŽPV: 16 ir 45 31 ir 51 52 ir 36	3	2	1 (16, 18 ir 31 tipai)
		1	1	
		1	1	
		1	0	
VI	neidentifikuotas tipas	11	4	1
Iš viso		26	10	5

Trečiajame nėštumo trimestre tarp persistuojančios ŽPV infekcijos buvo 16, 18, 58 bei kelių (16 ir 45; 31 ir 51) tipų ŽPV infekcija: iš 10 nėščiųjų 6 moterims - 39,4 proc. (95 % PI=18,46÷49,97) minėta infekcija išliko. Moterims, kurios užsikrėtė nėštumo metu identifikuota 16, 18 ir 58 tipų ŽPV bei mišri infekcija (16, 18 ir 31 tipų ŽPV). Persistuoti linkę didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV. Taigi moteris, kurioms nėštumo metu nustatyta didelės rizikos tipų ŽPV, būtina stebėti ir po gimdymo.

4.3. Nėščiųjų rizika užsikrėsti ŽPV

Analizuota rizika užsikrėsti ŽPV priklausomai nuo nėščiosios amžiaus, lytinių partnerių skaičiaus, persirgtų ginekologinių ligų bei kitų veiksnių (4.3.1 lent.).

4.3.1. lentelė. Nėščiųjų rizika užsikrėsti ŽPV

Požymis		ŽPV testas teigiamas (38 iš 213 tiriamųjų)	ŽPV infekuotumas (%)	ŠS	95% PI
Amžius	<29	25/111	22.5	1.77	0.858 – 3.6338
	>29	13/102	12.7	1	
	χ^2 p reikšmė	0.06			
Šeiminė padėtis	netekėjusi	6/42	14.3	1	
	ištekėjusi	28/163	17.2	1.203	0.468 – 3.093
	išsiskyrusi	2/3	66.7	4.6643	0.642 – 33.906
	gyvena sambūvyje	2/5	40	2.7972	0.44 – 17.799
	χ^2 p reikšmė	0.07			
Amžius pirmųjų lytinių santykių metu	<18 m.	13/65	20.0	0.250	
	18-20 m.	16/91	17.6	0.213	0.396 – 1.953
	>20 m.	9/57	15.8	0.188	0.314 – 1.984
	χ^2 p reikšmė	0.83			
Lytinių partnerių skaičius	1	5/58	8.6	0.094	
	2	11/60	18.3	0.224	0.696 – 6.499
	2-5	16/72	22.2	0.286	0.891 – 7.456
	>5	6/23	26.1	0.353	0.84 – 10.898
	χ^2 p reikšmė	0.15			
Persirgtos venerinės ligos	Taip	7/32	21.9	0.280	
	Ne	31/181	17.1	0.207	0.318 – 1.93
	χ^2 p reikšmė	0.52			
Persirgtos ginekologinės ligos	taip	20/148	13.5	0.156	
	ne	18/65	27.7	0.383	1.017 – 4.128
	χ^2 p reikšmė	0.01			
Rūkymas	Taip	6/34	17.6	0.214	
	Ne	32/179	17.9	0.218	0.393 – 2.609
	χ^2 p reikšmė	0.97			
Hormoninių kontraceptinių priemonių naudojimas	Taip	21/112	18.7	0.231	
	Ne	17/101	16.8	0.202	0.449 – 1.796
	χ^2 p reikšmė	0.72			

Pastaba. ŠS - šansų santykis, PI - pasikliautinis intervalas

Iš 4.3.1 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad didesnė rizika užsikrėsti ŽPV nustatyta sirgusioms ginekologinėmis ligomis nėščiosioms (ŠS=0,383; 95 % PI=0,222–0,659; p=0,013) ir tendencija - jaunesnėms nei 29 metų moterims (ŠS=0,291; 95 % PI=0,186–0,456; p=0,063). Tarp ginekologinių ligų - dažniausia buvo dubens uždegiminė liga.

Tarpinė išvada

Tyrimo pradžioje (pirmasis nėštumo trimestras) infekuotumas ŽPV siekė 17,8 proc., tyrimo pabaigoje (trečiasis nėštumo trimestras) - 11,0 proc. nėščiųjų. Didesnę riziką užsikrėsti ŽPV turėjo sirgusios ginekologinėmis ligomis bei jaunesnės nei 29 metų nėščiosios.

4.4. ŽPV infekcijos įtaka nėščiųjų antioksidacinės sistemos būklei ir lipidų peroksidacijos intensyvumui

Kadangi antioksidacinės sistemos būklę atspindinčių rodiklių skirstinys tik 30 proc. sutapo su normaliuoju skirstiniu, todėl hipotezėms tikrinti buvo taikomas neparametrinis Vilkoksono-Mano-Vitnio kriterijus. Įvertintas moterų antioksidacinės sistemos pajėgumas nėštumo metu. Tam atlikti kraujo plazmos ir gimdos kaklelio nuoplovų tyrimai (4.4.1 lent.).

4.4.1. lentelė. Antioksidacinės sistemos būklės ir lipidų peroksidacijos intensyvumo pokyčiai tirtų nėščių moterų kraujo plazmoje ir gimdos kaklelio nuoplovose nėštumo metu

Rodiklis	Trimestras	Vidurkis	N	Standartinis nuokrypis	Vilkoksono kriterijus	Reikšmingumas
Kraujo plazma						
GSH	I	0.50	60	0.21	-5.30	0.00
	III	0.28	60	0.12		
GSSG	I	0.29	60	0.13	-6.24	0.00
	III	0.13	60	0.05		
GSH+GSSG	I	0.79	60	0.28	-6.00	0.00
	III	0.42	60	0.14		
GSH/GSSG	I	2.33	60	2.60	-1.82	0.07
	III	2.34	60	1.29		
BAA	I	30.96	62	10.78	-2.51	0.01
	III	27.45	62	9.12		
MDA	I	7.12	62	3.05	-5.97	0.00
	III	12.62	62	4.34		
Gimdos kaklelio nuoplovos						
GSH	I	0.60	65	0.53	-3.94	0.00
	III	0.32	65	0.12		
GSSG	I	0.27	65	0.15	-1.55	0.12
	III	0.21	65	0.10		
GSH+GSSG	I	0.87	65	0.62	-3.91	0.00
	III	0.53	65	0.17		
GSH/GSSG	I	2.38	65	1.44	-1.72	0.09
	III	2.00	65	1.33		
BAA	I	23.38	64	9.60	-1.63	0.10
	III	26.28	64	10.54		
MDA	I	4.31	65	4.02	-1.76	0.08
	III	3.54	65	5.27		

Pastaba. GSH - redukuotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSSG - oksiduotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH+GSSG - bendrasis glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH/GSSG - glutationo formų santykis, BAA - bendrasis antioksidacinis aktyvumas (%), MDA - malono dialdehidas (nmol/ml).

Iš 4.4.1 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad daugumos tirtųjų rodiklių reikšmės (oksiduoto ir redukuoto glutationo, bendrasis oksidacinis aktyvumas, malono dialdehido kiekis), nustatytos tiriant kraujo plazmą, statistiškai reikšmingai skiriasi tarp pirmojo ir trečiojo nėštumo trimestrų. Nėščiųjų kraujo plazmoje trečiajame nėštumo trimestre sumažėjo abiejų glutationo formų bei padidėjo malono dialdehido koncentracija; gimdos kaklelio nuoplovose nėštumo metu statistiškai

reikšmingai pakito redukuotojo ir bendrojo glutationo kiekis. Statistiškai reikšmingas glutationo formų aktyvumo sumažėjimas bei padidėjusi malono dialdehido koncentracija rodo, kad nėštumo metu formuojasi oksidacinis stresas.

Toliau palyginta, kaip kinta antioksidacinės sistemos būklė nėštumo metu atskirai infekuotų ir neinfekuotų moterų (4.4.2; 4.4.3 lent.).

4.4.2 lentelė. Antioksidacinės sistemos būklės ir lipidų peroksidacijos intensyvumo pokyčiai, nustatyti tiriant ŽPV infekuotų moterų kraujo plazmą ir gimdos kaklelio nuoplovas nėštumo metu

Rodiklis	Trimestras	Vidurkis	N	Standartinis nuokrypis	Vilkoksono kriterjus	Reikšmingumas
Kraujo plazma						
GSH	I	0.52	20	0.19	-3.06	0.00
	III	0.31	20	0.14		
GSSG	I	0.22	20	0.10	-2.84	0.00
	III	0.13	20	0.04		
GSH+GSSG	I	0.74	20	0.23	-3.19	0.00
	III	0.43	20	0.15		
GSH/GSSG	I	3.47	20	3.92	-0.37	0.71
	III	2.53	20	1.49		
BAA	I	31.15	22	12.91	-1.87	0.06
	III	26.70	22	8.81		
MDA	I	7.97	22	3.89	-3.26	0.00
	III	12.65	22	4.35		
Gimdos kaklelio nuoplovas						
GSH	I	0.61	26	0.43	-2.81	0.00
	III	0.31	26	0.12		
GSSG	I	0.25	26	0.14	-1.28	0.20
	III	0.20	26	0.10		
GSH+GSSG	I	0.86	26	0.51	-2.91	0.00
	III	0.51	26	0.15		
GSH/GSSG	I	2.65	26	1.60	-1.63	0.10
	III	2.07	26	1.62		
BAA	I	22.11	25	9.60	-0.44	0.66
	III	23.85	25	10.54		
MDA	I	4.92	26	4.44	-0.92	0.36
	III	4.60	26	7.69		

Pastaba. GSH- redukuotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSSG - oksiduotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH+GSSG - bendrasis glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH/GSSG - glutationo formų santykis, BAA - bendrasis antioksidacinis aktyvumas (%), MDA - malono dialdehidas (nmol/ml).

4.4.3. lentelė. Antioksidacinės sistemos būklės ir lipidų peroksidacijos intensyvumo pokyčiai ŽPV neinfekuotų moterų kraujo plazmoje ir gimdos kaklelio nuoplovose nėštumo metu

Rodiklis	Trimestras	Vidurkis	N	Standartinis nuokrypis	Vilkoksono kriterijus	Reikšmingumas
Kraujo plazma						
GSH	I	0.49	40	0.23	-4.29	0.00
	III	0.27	40	0.11		
GSSG	I	0.32	40	0.13	-5.48	0.00
	III	0.13	40	0.05		
GSH+GSSG	I	0.81	40	0.31	-5.09	0.00
	III	0.41	40	0.14		
GSH/GSSG	I	1.76	40	1.33	-2.61	0.01
	III	2.25	40	1.18		
BAA	I	30.86	40	9.59	-1.84	0.07
	III	27.86	40	9.37		
MDA	I	6.65	40	2.39	-4.97	0.00
	III	12.61	40	4.39		
Gimdos kaklelio nuoplovos						
GSH	I	0.60	39	0.59	-2.86	0.00
	III	0.33	39	0.12		
GSSG	I	0.28	39	0.16	-1.15	0.25
	III	0.22	39	0.10		
GSH+GSSG	I	0.87	39	0.70	-2.65	0.01
	III	0.55	39	0.18		
GSH/GSSG	I	2.20	39	1.31	-0.77	0.44
	III	1.96	39	1.12		
BAA	I	24.19	39	9.60	-1.74	0.08
	III	27.84	39	10.54		
MDA	I	3.90	39	3.71	-1.48	0.14
	III	2.84	39	2.56		

Pastaba. GSH - redukuotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSSG - oksiduotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH+GSSG - bendrasis glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH/GSSG - glutationo formų santykis, BAA - bendrasis antioksidacinis aktyvumas (%), MDA - malono dialdehidas (nmol/ml).

Analizuojant antioksidacinės sistemos būklės ir lipidų peroksidacijos intensyvumo pokyčius, nustatytus tiriant ŽPV infekuotų (4.4.2 lent.) bei neinfekuotų (4.4.3 lent.) moterų kraujo plazmą, konstatuota, kad bendrasis antioksidacinis aktyvumas statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp pirmojo ir trečiojo nėštumo trimestrų tiriant ir infekuotų, ir neinfekuotų moterų kraujo plazmą. Neišskiriant nėščių moterų į grupes pagal infekuotumą ŽPV - šis antioksidacinės sistemos būklę atspindintis rodiklis nėštumo metu statistiškai reikšmingai mažėjo. Antra vertus, ŽPV neinfekuotų moterų grupėje statistiškai reikšmingai nėštumo metu sumažėjo redukuotos ir oksiduotos glutatono formų santykis, nes beveik 2,5 karto sumažėjo oksiduoto glutatono koncentracija kraujo plazmoje. ŽPV infekuotų moterų grupėje glutatono formų santykio sumažėjimas kraujo plazmoje nebuvo statistiškai reikšmingas.

Tiriant antioksidacinės sistemos būklę atspindinčių rodiklių pokyčius nėščiųjų gimdos kaklelio nuoplovose nustatyta, kad statistiškai reikšmingai sumažėjo tik glutatono (redukuoto ir bendrojo) koncentracija ir ŽPV infekuotų, ir neinfekuotų nėščiųjų grupėse. Tai leidžia manyti, kad gimdos kaklelis nėštumo metu yra geriau apsaugotas nuo laisvųjų radikalų poveikio.

Nagrinėjant antioksidacinės sistemos būklės pokyčius nėštumo metu pagal kraujo plazmos rodiklius tarp ŽPV infekuotų ir neinfekuotų moterų pirmojo nėštumo trimestro metu nustatyta ŽPV infekuotų moterų mažesnė oksiduoto glutatono koncentracija bei mažesnis redukuoto ir oksiduoto glutatono santykis. Pagal gimdos kaklelio nuoplovų tyrimo rezultatus statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta (4.4.4 lent.).

4.4.4 lentelė. Antioksidacinės sistemos būklės ir lipidų peroksidacijos intensyvumo pokyčiai ŽPV neinfekuotų ir infekuotų moterų kraujo plazmoje ir gimdos kaklelio nuoplovose nėštumo metu

Rodiklis	Vidurkis	Standartinis nuokrypis	Vidurkis	Standartinis nuokrypis	Vilkoksono kriterijus	Reikšmingumas
	ŽPV neinfekuotos		ŽPV infekuotos			
Kraujo plazma						
GSH1	0.49	0.23	0.55	0.20	1381.5	0.14
GSH2	0.27	0.11	0.29	0.14	1296.5	0.96
GSSG1	0.32	0.13	0.23	0.11	1096	0.01
GSSG2	0.13	0.05	0.14	0.08	1294.5	0.94
GSH+GSSG1	0.81	0.31	0.78	0.24	1500	0.83
GSH+GSSG2	0.41	0.14	0.48	0.33	1270.5	0.68
GSH1/GSSG1	1.76	1.33	3.96	4.78	1212	0.00
GSH2/GSSG2	2.25	1.18	3.01	3.14	1214.5	0.24
MDA1	6.65	2.39	8.01	3.55	1447.5	0.19
MDA2	12.61	4.39	13.40	5.32	1278	0.76
BAA1	30.86	9.59	31.49	11.67	1553	0.79
BAA2	27.86	9.37	26.25	8.87	694	0.55
Gimdos kaklelio nuoplovas						
GSH1	0.59	0.59	0.67	0.58	1564.5	0.73
GSH2	0.33	0.12	0.30	0.13	821.5	0.28
GSSG1	0.27	0.16	0.26	0.15	1524	0.72
GSSG2	0.22	0.10	0.22	0.11	895	0.90
GSH+GSSG1	0.86	0.69	0.93	0.69	1581	0.85
GSH+GSSG2	0.55	0.18	0.66	0.58	898.5	0.94
GSH1/GSSG1	2.17	1.31	2.58	1.57	1466.5	0.19
GSH2/GSSG2	1.96	1.12	2.07	1.60	867.5	0.63
MDA1	3.83	3.69	4.40	4.15	1574.5	0.66
MDA2	2.84	2.56	5.60	8.86	1216	0.34
GAA1	24.08	9.43	23.83	10.19	1612	0.94
GAA2	27.84	10.44	23.96	10.64	680	0.21

Pastaba. GSH – redukuotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSSG – oksiduotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH+GSSG – bendrasis glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH/GSSG – glutationo formų santykis, MDA – malono dialdehidai (nmol/ml), BAA bendrasis, antioksidacinis aktyvumas (%). Pl – kraujo plazmoje, Npl – nuoplovose. 1 – pirmasis nėštumo trimestras, 2- trečiasis nėštumo trimestras.

Nepaisant to, kad nėščiųjų kraujo plazmoje statistiškai reikšmingai padidėjo malono dialdehido koncentracija trečiajame nėštumo trimestre ir ŽPV infekuotų, ir neinfekuotų moterų grupėse, visgi lyginant tarpusavyje ŽPV infekuotas ir neinfekuotas nėščiąsias statistiškai reikšmingo skirtumo nėra. Šis lipidų peroksidacijos reakcijos produktas rodo oksidacinį stresą nėštumo metu, tačiau ŽPV infekcija neturi įtakos jo koncentracijai.

Siekiant patvirtinti, kad malono dialdehido koncentracijai turi įtakos nėštumas, palyginta jo koncentracija kraujo plazmoje tarp nėščių moterų ir panašaus amžiaus nenėščių moterų (4.4.5 lent.). Į tyrimą įtraukta 115 nėščiųjų, kurių amžiaus vidurkis $31 \pm 3,8$ metai, ir 58 nenėščios moterys, kurių amžiaus vidurkis $35 \pm 7,9$.

4.4.5 lentelė. Malono dialdehido koncentracija nėščių ir nenėščių moterų kraujo plazmoje

Rodiklis	Vidurkis	Standartinis nuokrypis	Vidurkis	Standartinis nuokrypis	Mano-Vitnio kriterijus	Reikšmingumas
	Nėščiosios (n=115)		Nenėščios moterys (n=58)			
Amžius	31	3.83	35	7.89	2301.5	0.00
MDA1	8.64	3.79	7.18	2.85	2628.5	0.02
MDA2	13.19	3.87			809	0.00

Pastaba. MDA - malono dialdehidas (nmol/ml); 1 - pirmasis nėštumo trimestras; 2 - trečiasis nėštumo trimestras.

Nėščių moterų kraujo plazmoje malono dialdehido koncentracija yra statistiškai didesnė, palyginti su jo koncentracija nesant nėštumo (Mano-Vitnio kriterijus).

Tarpinė išvada

Statistiškai reikšmingas glutationo formų sumažėjimas bei padidėjusi malono dialdehido koncentracija kraujo plazmoje rodo, kad nėštumo metu oksidacinis stresas formuojasi. ŽPV infekcijos įtakos šio streso lygiui nenustatyta.

4.5. ŽPV infekcijos įtaka vietinio imuniteto atsakui

Buvo tiriami IL-10 ir IL-12 pokyčiai gimdos kaklelio nuoplovose nėštumo metu. Visų pirma palygintos minėtų interleukinų koncentracijos tarp pirmojo ir trečiojo nėštumo trimestrų neinfekuotų ŽPV nėščiųjų grupėje (I grupė), nėščiųjų grupėje, kur ŽPV nustatytas tik pirmajame nėštumo trimestre (II grupė) ir infekuotų nėščiųjų pirmajame ir trečiajame nėštumo trimestruose (III grupė). IL-12 kiekis I-osios grupės nėščiųjų gimdos kaklelio nuoplovose mažėjo. Nėščiųjų, kurioms infekcija nustatyta tik pirmajame nėštumo trimestre, grupėje (II grupė) mažėjo ir IL-12, ir IL-10 kiekis, o infekuotų ŽPV nėščiųjų pirmajame ir trečiajame nėštumo trimestruose grupėje (III grupė) IL-12 kiekis didėjo. Gauti preliminarūs duomenys, nors ir statistiškai nereikšmingi, rodo, kad ŽPV persistuojant (III grupė) ląstelinio imuniteto aktyvintojo IL-12 koncentracija didėjo (4.5.1 lent.).

4.5.1 lentelė. IL-10 ir IL-12 koncentracijos pokyčiai nėštumo metu

Grupės	Rodiklis	Nėštumo trimestras	Vidurkis	N	Standartinis nuokrypis	Vilkoksono kriterijus	Reikšmingumas
I	IL-10 (pg/ml)	I	0,005	28	0,00492	-0,839	P<0,05
		III	0,005	28	0,004069		
	IL-12 (pg/ml)	I	2,5	20	2,207	-0,821	
		III	1,9	20	2,131121		
II	IL-10 (pg/ml)	I	2,0	15	1,60583	-0,943	
		III	1,5	15	1,425423		
	IL-12 (pg/ml)	I	1,1	14	1,579	-1,096	
		III	0,8	14	2,146744		
III	IL-10 (pg/ml)	I	1,9	10	1,64430	-0,296	
		III	1,8	10	1,428094		
	IL-12 (pg/ml)	I	1,6	9	1,761	-0,140	
		III	2,0	9	2,670568		

Pastaba. I grupė - neinfekuotos ŽPV nėščiosios, Ii grupė - ŽPV nustatytas tik pirmajame nėštumo trimestre, III grupė - ŽPV nustatyta ir pirmajame, ir trečiajame nėštumo trimestruose; N- atvejų skaičius.

Siekiant įvertinti, ar turėjo įtakos ŽPV infekcija, nustatyta tik pirmojo nėštumo trimestro metu, minėtų interleukinų pokyčiams, palygintos IL-10 ir IL-12 koncentracijos tarp ŽPV infekuotų ir neinfekuotų moterų pirmajame nėštumo trimestre (4.5.2 lent.) Tarp tirtų grupių konstatuoti statistiškai reikšmingi abiejų interleukinų koncentracijos skirtumai. IL-10 koncentracija buvo statistiškai reikšmingai didesnė, o IL-12 - mažesnė infekuotų ŽPV nėščiųjų grupėje, palyginti su šio interleukino koncentracija neinfekuotų moterų grupėje. Gauti duomenys rodo, kad, moterų, kurioms ŽPV infekcija nebuvo nustatyta trečiajame trimestre, vietinio ląstelinio imuniteto (Th1) funkcijos buvo mažiau aktyvinamos.

Toliau, siekiant patvirtinti, kad ŽPV infekcija turi įtakos nėščiųjų vietinio imuninės sistemos atsakui į šią infekciją, palygintos tirtų interleukinų koncentracijos tiek pirmojo, tiek trečiojo nėštumo trimestrų metu tarp infekuotų ir neinfekuotų ŽPV nėščiųjų (4.5.3 lent.). Nustatyta, kad infekuotų moterų gimdos kaklelio nuoplovose pirmojo nėštumo trimestro metu IL-10 koncentracija buvo statistiškai reikšmingai didesnė, palyginti su šio interleukino koncentracija neinfekuotų ŽPV moterų gimdos kaklelio nuoplovose, o trečiojo nėštumo trimestro metu neinfekuotų nėščiųjų grupėje IL-10 visai nenustatyta. Taigi IL-10 koncentracijos skirtumai tiek pirmajame, tiek trečiajame nėštumo trimestre tarp infekuotų ir neinfekuotų ŽPV nėščiųjų yra ženklūs. Tai rodo, kad infekuotų moterų buvo suaktyvinta Th2 limfocitų (supresuojančių ląstelinio imuniteto atsaką) funkcija.

4.5.2 lentelė. IL-10 ir IL-12 koncentracijų palyginimas tarp nėščiųjų, kurios buvo infekuotos ŽPV tik pirmajame nėštumo trimestre, ir nėščiųjų, kurioms ŽPV nebuvo nustatytas

Nėštumo trimestras	Rodiklis	ŽPV nustatytas					ŽPV nenustatytas					Vilkoksono kriterijus	Reikšmingumas
		n	vidurkis	standartinis nuokrypis	min	max	n	vidurkis	standartinis nuokrypis	min	max		
I	IL-10 (pg/ml)	15	1.97	1.64	0.00	5.12	28	0.01	0.00	0.00	0.02	437	0.00
	IL-12 (pg/ml)	14	1.09	1.48	0.06	4.30	20	2.47	2.21	0.10	7.60	177	0.02
III	IL-10 (pg/ml)	15	1.45	1.45	0.00	3.63	28	0.00	0.00	0.00	0.02	449	0.00
	IL-12 (pg/ml)	14	0.80	1.66	0.05	5.63	20	1.93	2.13	0.00	5.93	184	0.03

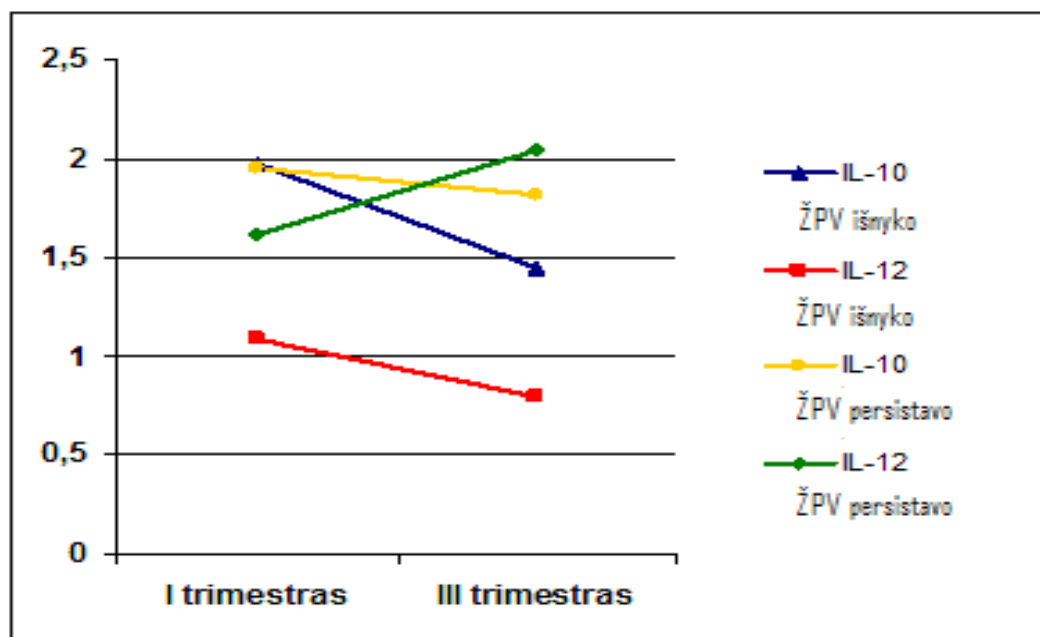
Pastaba. *n-atvejų skaičius.*

4.5.3 lentelė. IL-10 ir IL-12 koncentracijų palyginimas tarp infekuotų ir neinfekuotų ŽPV nėščių moterų

Nėštumo trimestras	Rodiklis	ŽPV nustatytas pirmajame ir trečiajame nėštumo trimestruose					ŽPV nenustatytas					Vilkoksono kriterijus	Reikšmingumas
		n	vidurkis	standartinis nuokrypis	min	max	n	vidurkis	standartinis nuokrypis	min	max		
I	IL-10 (pg/ml)	10	1.95	1.64	0.00	3.88	28	0.01	0.00	0.00	0.02	450	0.00
	IL-12 (pg/ml)	9	1.61	1.76	0.05	4.39	20	2.47	2.21	0.10	7.60	111	0.26
III	IL-10 (pg/ml)	10	1.82	1.43	0.00	3.32	28	0.00	0.00	0.00	0.02	443	0.00
	IL-12 (pg/ml)	9	2.04	2.67	0.05	6.58	20	1.93	2.13	0.00	5.93	134	0.96

Pastaba. *n-atvejų skaičius.*

Palyginus grupes moterų, kurių gimdos kaklelyje ŽPV infekcijos trečiajame nėštumo trimestre nebuvo rasta ir kurių gimdos kaklelyje ŽPV persistavo, nustatyta, kad pastarųjų grupėje buvo skatinamas Th1 atsakas (t.y. IL-12 lygis didėjo), o priešuždegiminio IL-10 produkcija iš esmės nekito; išnykus ŽPV infekcijai abiejų tirtų interleukinų produkcija trečiajame nėštumo trimestre mažėjo, palyginti su šių interleukinų koncentracija pirmajame nėštumo trimestre (4.5.1 pav.).



4.5.1 pav. IL-10 ir IL-12 pokyčiai persistuojant ŽPV infekcijai bei jai išnykus

Tarpinė išvada

Esant ŽPV infekcijai išryškėjo pakitusi IL-10 ir IL-12 gamyba. Šią citokinų gamybą įtaką gali daryti ir kitų mūsų darbe netirtų imuninės sistemos komponentų veikla, taip pat bakterinė infekcija bei nėštumo metu pakitusi hormonų pusiausvyra.

5. REZULTATŲ APTARIMAS

Nėštumo metu vykstantys fiziologiniai pokyčiai moduliuoja imuninės ir antioksidacinės sistemos funkcijas ir gali keisti užsikrėtimo ŽPV riziką bei galimybes virusui išlikti gimdos kaklelio epitelio ląstelėse ir taip daryti įtaką intraepiteliniams gimdos kaklelio pokyčiams atsirasti ir progresuoti. Taigi mūsų pagrindinis darbo tikslas buvo nustatyti nėščiųjų infekuotumą ŽPV ir įvertinti, kokią įtaką ši infekcija daro nėščiosios organizmo apsauginėms funkcijoms.

Literatūros duomenys apie ŽPV paplitimą tarp nėščių moterų nėra vienareikšmiai. ŽPV paplitimas svyruoja nuo 5,5 iki 65,0 proc. [2]. Tokius skirtumus gali sąlygoti įvairūs veiksniai, tarp kurių tokie, kurie priklauso ir nuo geografinės vietovės [66, 68, 69]. Todėl kiekvienai šaliai yra svarbu turėti jai būdingus duomenis apie ŽPV paplitimą. Mūsų tyrimo duomenimis, Lietuvoje nėščiųjų infekuotumas ŽPV (17,8 %) yra didesnis negu Ispanijoje, mažesnis negu Austrijoje, Turkijoje ir artimas infekuotumui Japonijoje (5.1 lent.). Pažymėtina, kad sergamumas gimdos kaklelio vėžiu Lietuvoje yra didesnis, palyginti su sergamumu Ispanijoje.

5.1 lentelė. Literatūros duomenys apie ŽPV paplitimą tarp nėščių moterų

Autorius ir literatūros šaltinis	Šalis	ŽPV paplitimas (%)
Eppel W, Worda C, Frigo P, Ulm M, Kucera E, Czerwenka K. Obstet Gynecol. 2000; 96(3): 337-14. [66]	Austrija	24,6
Medeiros LR, de Moraes Ethur AB, Hilgert J B, Zanini RR, Berwanger O, Bozetti MC, Mylius LC. Cad Saude Publica. 2005; 21(4): 1006-15. [2]	Brazilija	5,5-65,0
Takakuwa K, Mitsui T, Iwashita M, Kobayashi I, Suzuki A, Oda T, Torii Y, Matsumoto M, Yahata G, Tanaka K. J Perinat Med. 2006; 34(1): 77-9. [68]	Japonija	iki 25 metų – 22,6
		daugiau nei 25 metų – 11,3
Banura C, Franceschi S, van Doorn LJ, Arslan A, Kleter B, Wabwire-Mangen F, Mbidde EK, Quint W, Weiderpass E. Int J Cancer. 2008; 123(9): 2180-7. [69]	Uganda	60,0
Castellsagué X, Drudis T, Cañadas MP, Goncé A, Ros R, Pérez JM, Quintana MJ, Muñoz J, Albero G, de Sanjosé S, Bosch FX. BMC Infect Dis. 2009; 9: 74-86. [41]	Ispanija	6,5
Aydin Y, Atis A, Tutuman T, Goker N. Eur J Gynaecol Oncol. 2010; 31(1): 72-4. [67]	Turkija	29,6
Mūsų tyrimo duomenys	Lietuva	I trimestre – 17,8
		III trimestre – 10,3

Remiantis įvairių autorių duomenimis, nėštumo metu identifikuotų ŽPV spektras yra platus (5.2 lent.). Mūsų tyrimo duomenimis, tarp dažniausiai identifikuotų ŽPV tipų yra 31, 52 ir 58 (21,1%) ir 33, 39, 51 ir 56 (10,5%); kelių tipų ŽPV infekcija konstatuota 13,2 proc. atvejų. Mūsų nustatytas infekuotumas 16 tipo ŽPV tarp nėščiųjų yra mažesnis, palyginti su infekuotumu šio tipo ŽPV kitose šalyse. Šį skirtumą, matyt, sąlygoja lytinio gyvenimo įpročiai nėštumo metu. Pažymėtina, kad mūsų tyrimo metu net 47,4 proc. nėščiųjų ŽPV tipas nepatikslintas, matyt, dėl naudotos PGR pradmenų sistemos ypatumų.

5.2 lentelė. Literatūros duomenys apie identifikuotų tipų ŽPV spektrą nėštumo metu

Autorius ir literatūros šaltinis	Šalis	ŽPV tipų paplitimas (%)
Lu DW, Pirog EC, Zhu X, Wang HL, Pinto KR. Acta Cytol. 2003; 47(6): 1008-16. [71]	JAV	52 - 31,2
		16 - 15,1
		39 - 11,8
		53 - 10,8
		18 - 9,7
		58 - 9,7
		X - 10,8
		Keli tipai - 43,0
Hernández-Girón C, Smith JS, Lorincz A, Lazcano E, Hernández-Avila M, Salmerón J. Sex Transm Dis 2005; 32(10): 613-8. [72]	Meksika	Didelės onkogeninės rizikos tipai - 37,2
Rombaldi R, Serafini E, Mandelli J, Zimmermann E, Losquiavo KP. Virol J. 2008; 5: 106-20. [42]	Brazilija	6/11 - 20,7
		42 - 15,9
		16 - 15,9
		18 - 11,0
		58 - 6,1
		31 - 3,7
		35 - 3,7
		52 - 3,7
		Galimai didelės – 12
		Didelės onkogeninės rizikos tipai – 54,9
		Mažos rizikos – 40,2
		X -3,7
Castellsagué X, Drudis T, Cañadas MP, Goncé A, Ros R, Pérez JM, Quintana MJ, Muñoz J, Albero G, de Sanjosé S, Bosch FX. BMC Infect Dis. 2009; 9: 74-86. [41]	Ispanija	16 - 32,9
		X - 28,0
		6/11 - 25,6
		31 - 11,0
		39 - 9,8
		18 - 7,3
		33 - 3,7
		Keli tipai - 17.1
Mūsų tyrimo duomenys	Lietuva	16 - 5,2
		18 - 2,6
		31 - 7,9
		52 - 7,9
		58 - 5,2
		33 - 2,6
		39 - 2,6
		51 - 2,6
		56 - 2,6
		X - 47,4
		Keli tipai - 13,2

Tik pavienių tyrimų rezultatai liudija apie infekuotumo ŽPV pokyčius priklausomai nuo nėštumo trimestro (5.3 lent.).

5.3. lentelė. Infekuotumas ŽPV priklausomai nuo nėštumo trimestro

Autorius ir literatūros šaltinis	Šalis	ŽPV paplitimas (%)
Smith EM, Johnson SR, Jiang D, Zaleski S, Lynch CF, Brundage S, Anderson RD, Turek LP. Cancer Detect Prev. 1991; 15(5): 397-402. [75]	JAV	I trimestre -8,0
		II trimestre – 16,7
		III trimestre – 23,1
Banura C, Franceschi S, van Doorn LJ, Arslan A, Kleter B, Wabwire-Mangen F, Mbidde EK, Quint W, Weiderpass E. Int J Cancer. 2008; 123(9): 2180-7. [69]	Uganda	I ir II trimestre – 42,9
		III trimestre – 50,4
		Po gimdymo – 38,1
Mūsų tyrimo duomenys	Lietuva	I trimestre – 17,8
		III trimestre – 10,3

5.3 lentelėje pateikti literatūros duomenys liudija apie didėjantį ŽPV infekuotų moterų skaičių trečiajame nėštumo trimestre - tai, matyt, susiję su vykstančiais fiziologiniais pokyčiais nėštumo metu bei lytinės elgsenos pasikeitimu. Mūsų tyrimo rezultatai neparodė didesnio infekuotumo ŽPV minėtame nėštumo trimestre. Tai galėjo sąlygoti tas faktas, kad 14 nėščiųjų, kurios buvo infekuotos nėštumo pradžioje, trečiojo nėštumo trimestro metu tyrime nedalyvavo.

Apie savaiminį viruso išnykimą literatūroje duomenų yra nedaug. C. Banuros (C. Banura) ir bendraautorių duomenimis [69], 50,4 proc. nėščiųjų ŽPV išnyksta nėštumo metu ir 71,8 proc. - po gimdymo. M.E. Sarkolos (M.E. Sarkola) ir bendraautorių duomenimis [76], ŽPV savaime išnykti nėštumo metu įtakos turi pakartotinis nėštumas: infekuotumas didelės rizikos tipų ŽPV mažėja. Mūsų gauti duomenys yra artimi minėtų autorių gautiems rezultatams. Savaiminis viruso išnykimas konstatuotas 62,0 proc. nėščiųjų (16 iš 26 moterų).

Yra duomenų, kad ŽPV persistenciją (ilgalaikis buvimas) sąlygoja šio viruso tipas. Suomijoje atlikto tyrimo metu moterys po gimdymo buvo stebimos iki 6 metų. Ilgiausiai moters organizme persistuoja 35, 58 ir 52 tipų ŽPV: jų buvimo trukmė atitinkamai 38,7; 32,1; 24,2 mėnesiai; kelių tipų ŽPV ar 16 tipo ŽPV buvimo (persistavimo) trukmė atitinkamai 21 ir 24 mėnesiai [161]. Kaip jau buvo minėta, trečiojo nėštumo trimestro metu, mūsų tyrimo duomenimis, ŽPV nustatytas 15 nėščiųjų, tarp kurių 10 moterų infekcija persistavo, 5 moterys užsikrėtė nėštumo metu ir 16 moterų ŽPV infekcija išnyko. Tarp persistuojančio ŽPV tipų buvo 16, 18 (po 1

atveji), 58 (2 atvejai) ir kelių tipų (16 ir 45; 31 ir 51) ŽPV (po 1 atveji); 4 atvejais ŽPV tipas neidentifikuotas. Taigi persistuoti linkę didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV. Panašūs duomenys gauti ir Suomijoje (5.4 lent.).

5.4 lentelė. Literatūros duomenys apie ŽPV infekcijos persistavimą

Autorius ir literatūros šaltinis	Šalis	ŽPV išlieka
Banura C, Franceschi S, van Doorn LJ, Arslan A, Kleter B, Wabwire-Mangen F, Mbidde EK, Quint W, Weiderpass E. Int J Cancer. 2008; 123(9): 2180-7. [69].	Uganda	nėštumo metu – 49,6 proc. nėščiąjų
		po gimdymo – 28,2 proc. moterų
Louvanto K, Rintala MA, Syrjänen KJ, Grénman SE, Syrjänen SM. J Infect Dis. 2010; 202(3): 436-44. [161]	Suomija	ŽPV tipai: 16 – 21 mėn. 35 – 38,7 mėn. 58 – 32,1 mėn. 52 – 24,2 mėn. kelių tipų ŽPV – 21 mėn.
Mūsų tyrimo duomenys	Lietuva	nėštumo metu - 38,5 proc. nėščiąjų

Apie rizikos veiksnius, sąlygojančius didesnę tikimybę užsikrėsti ŽPV nėštumo metu, yra sukaupta nemažai literatūros duomenų (5.5 lent.). Tarp tokių veiksnių yra ankstyvi lytiniai santykiai, didelis lytinių partnerių skaičius, jaunas amžius, intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai. Mūsų tyrimo duomenimis, pagrindinis rizikos veiksnys užsikrėsti nėštumo metu yra persirgtos ginekologinės ligos ir jaunas nėščiąjų amžius (iki 29 metų).

5.5. lentelė. Rizikos veiksniai, sąlygojantys didesnę tikimybę užsikrėsti ŽPV nėštumo metu

Autorius ir literatūros šaltinis	Šalis	Rizikos veiksnys
Nowak Z, Karowicz-Bilińska A. Ginekol Pol. 2007; 78(9): 678-84. [160]	Lenkija	• rūkymas • didelis nėštumų skaičius • onkologinės ligos šeimoje
Tarka A, Szczepańska M, Raczyńska D, Pruski D, Kedzia W, Opala T. Ginekol Pol. 2008; 79(12): 871-6 [175]	Lenkija	• 18-30 metų amžiaus
Syrjänen S, Waterboer T, Sarkola M, Michael K, Rintala M, Syrjänen K, Grenman S, Pawlita M.. J Gen Virol. 2009; 90(Pt 6): 1515-26. [159]	Suomija	• ankstyvi lytiniai santykiai • didelis lytinių partnerių skaičius iki 20 metų amžiaus
Castellsagué X, Drudis T, Cañadas MP, Goncé A, Ros R, Pérez JM, Quintana MJ, Muñoz J, Albero G, de Sanjosé S, Bosch FX. BMC Infect Dis. 2009; 9:74-86. [41]	Ispanija	• ankstyvi lytiniai santykiai • didelis lytinių partnerių skaičius • amžius iki 20 metų • intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai • persirgtos ginekologinės ligos
Smith EM, Parker MA, Rubenstein LM, Haugen TH, Hamsikova E, Turek LP. Infect Dis Obstet Gynecol. 2010; 2010: 326369. [158]	JAV	• jaunas amžius • žemesnis išsilavinimas • didelis lytinių partnerių skaičius • intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai
Mūsų tyrimo duomenys	Lietuva	• persirgtos ginekologinės ligos • amžius iki 29 metų

Rizikos veiksniai, sąlygojantys didesnę tikimybę užsikrėsti ŽPV nėštumo metu, yra plačiai tyrinėjami, o duomenų apie ŽPV įtaką apsauginėms (imuninė, antioksidacinė sistemos) organizmo funkcijoms mažai žinoma. Tačiau būtina pažymėti, kad, viena vertus, ŽPV infekcija gali daryti įtaką ir imuninės, ir antioksidacinės sistemų veiklai, antra vertus, šių sistemų būklė gali taip pat turėti įtakos ŽPV persistencijai organizme. Yra žinoma, kad fiziologinio nėštumo metu

placentoje susidaro didelis LR kiekis [94; 162]. LR skatina angiogenezę, trofoblasto proliferaciją ir migraciją bei citokinų gamybą. Dėl trofoblasto migracijos į gimdos spiralines arterijas mažėja jų sienelių elastingumas, jos išsiplečia, didėja placentinė perfuzija.

Sutrikus trofoblasto migracijai į gimdos spiralines arterijas atsiranda placentos išemija ir reoksigenacija (atsinaujina kraujo pritekėjimas), skatinantys trofoblasto ląstelių žūtį, gamybą citokinų [94, 95, 97–99], kurie patekę į motinos kraujotaką sukelia oksidacinį stresą. Nėščiosios organizmas natūraliai prisitaiko prie LR pertekliaus veikiant kompensaciniams antioksidacinės sistemos mechanizmams.

Oksidacinį stresą, besiformuojantį nėštumo metu, rodo lipidų peroksidacijos intensyvumo pokyčiai: didėja 8-izoprostano, 8-hidroksideoksiguanozino bei malono dialdehido koncentracija. Mūsų tyrimo duomenimis, nėštumo metu silpnėja ir antioksidacinės sistemos pajėgumas: mažėja redukuoto, oksiduoto bei bendrojo (GSH+GSSG) glutationo, taip pat sumažėja bendrasis antioksidacinis aktyvumas (5.6 lent.). Taigi apie oksidacinį stresą nėštumo metu liudija tiek lipidų peroksidacijos intensyvumo padidėjimas, tiek antioksidacinės sistemos pajėgumo sumažėjimas.

5.6. lentelė. Oksidacinio streso požymiai nėštumo metu

Autorius ir literatūros šaltinis	Rodiklis	Tyrimo objektas
Little RE, Gladen BC. Reprod Toxicol. 1999; 13(5): 347-52. [102]	lipidų peroksidacijos produktų koncentracijos padidėjimas	kraujas
Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Clin Chim Acta. 2004; 339(1-2): 1-9. [103]	8-hidroksideoksiguanozino koncentracijos padidėjimas	šlapimas
Hung TH, Lo LM, Chiu TH, Li MJ, Yeh YL, Chen SF, Hsieh TT. Reprod Sci. 2010; 17(4): 401-9. [101]	8-izoprostano koncentracijos padidėjimas (maksimali koncentracija esant 26-30 sav. ir 37-41sav. nėštumui)	kraujas
Mūsų tyrimo duomenys	GSH, GSSG, GSH+GSSG ir BAA koncentracijų sumažėjimas, MDA koncentracijos padidėjimas	kraujas gimdos kaklelio nuoplovis

Pastaba. GSH - redukuotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSSG - oksiduotas glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), GSH+GSSG - bendrasis glutationas ($\mu\text{mol/ml}$), BAA - bendrasis antioksidacinis aktyvumas (%), MDA - malono dialdehidas (nmol/ml).

Pažymėtina, kad lipidų peroksidacijos intensyvumo padidėjimas nustatytas taip pat esant nėščiųjų hipertenzinėms būklėms bei preeklampsijai (5.7 lent.).

5.7 lentelė. Oksidacinio streso požymiai esant nėščiųjų patloginėms būklėms

Autorius ir literatūros šaltinis	Rodiklis	Patologinė būklė	Tyrimo objektas
Wang Y, Walsh SW. J Reprod Immunol. 1996; 32(2): 157-69. [7]	superoksido dismutazės ir glutationo peroksidazės aktyvumo sumažėjimas	preeklampsija	kraujas ir placenta
Mocatta TJ, Winterbourn CC, Inder TE, Darlow BA. Free Radic Res. 2004; 38(2): 185-91. [104]	MDA koncentracijos padidėjimas	priešlaikinis gimdymas	kraujas
Takagi Y, Nikaido T, Toki T, Kita N, Kanai M, Ashida T, Ohira S, Konishi I. Virchows Arch. 2004; 444(1): 49-55. [107]	lipidų peroksidacijos produktų koncentracijos padidėjimas	preeklampsija hipertenzija	kraujas ir placenta

Pastaba. MDA - malono dialdehidas (nmol/ml).

Yra duomenų, kad sergant virusinėmis infekcijomis (gripu, hepatitu B ir C, *Denque* karštine) mažėja antioksidacinės sistemos pajėgumas [163]. Tyrimų apie ŽPV infekcijos įtaką antioksidacinės sistemos būklei yra nedaug. Pavienių tyrimų duomenys liudija, kad esant ŽPV infekcijai mažėja vitaminų A [132, 133] ir E [119] bei *cis*-likopeno [131] kiekiai kraujyje moterų, kurioms konstatuoti intraepiteliniai gimdos kaklelio pokyčiai bei kurioms yra didelė rizika susirgti gimdos kaklelio vėžiu. Pažymėtina, kad tarp sergančiųjų gimdos kaklelio vėžiu oksidacinio streso požymiai yra ženklesni: didėja malono dialdehido koncentracija, mažėja superoksido dismutazės, glutationo reduktazės, glutationo peroksidazės bei gliukozo-6-fosfatdehidrogenazės aktyvumas [111, 134].

Citokinų produkcijos (kiekio) padidėjimas ar sumažėjimas, jų funkcinio aktyvumo pokyčiai, dalyvavimas tarpląstelinėje ir tarpsteminėje sąveikoje, taip pat diferencijuojantis ląstelėms yra svarbūs veiksniai vertinant vietinio imuniteto dinamiką nėštumo metu. Duomenų apie imuninį atsaką reguliuojančių IL-10 ir IL-12 koncentracijos vietinius pokyčius nėštumo metu gimdos kaklelio nuoplovose esant ŽPV infekcijai nepavyko rasti.

Kadangi citokinai, reguliuodami imuninį atsaką, sąlygoja organizmo atsparumą patogenams, o ŽPV infekcija gali sukelti intraepitelinį pokyčių gimdos kaklelio gleivinėje, svarbu įvertinti minėtų veiksnių dinamiką pakitus organizmo būklei, t.y. nėštumo metu, kadangi tuo laikotarpiu gali didėti gimdos kaklelio intraepitelinį pokyčių rizika, nes fiziologinė organizmo imunosupresija (vyraujant Th2 gaminamiems citokinams IL-4, IL-10 ir kt.) sudaro palankias sąlygas bakterinei ar virusinei infekcijai vystytis [164].

Mūsų gauti duomenys rodo, kad trečiajame nėštumo trimestre persistuojant ŽPV skatinamas Th1 ląstelinis atsakas (t.y. IL-12 koncentracija buvo didesnė, palyginti su pirmojo trimestro parodymais), o IL-10 lygis nekito (Th2 atsakas). Taigi nepersistuojant infekcijai trečiajame trimestre Th1 atsakas jau nebuvo skatinamas, o IL-10 lygis mažėjo. Tarp neinfekuotų ŽPV nėščių moterų aktyvinantis Th1 atsaką IL-12 lygis pirmajame trimestre buvo didesnis nei trečiajame. Abiejų trimestrų metu buvo labai maža IL-10 koncentracija. Žemą IL-10 lygį galėjo sąlygoti daug veiksnių, kurie turėtų būti vertinami atliekant tolesnius tyrimus. Nustatyta, kad IL-12 skatina ląstelinį imunitetą, taip pat Th1 produkuojamų mediatorių gamybą ir uždegiminį atsaką, kurie yra svarbūs priešvirusinės gynybos komponentai. S. Saito (*S. Saito*) darbo rezultatai rodo, kad fiziologinio nėštumo metu vyrauja Th2 atsakas [164]. Kadangi uždegiminius citokinus produkuoja ne tik intraepiteliniai limfocitai, bet ir epitelinės ląstelės, didesnę jų produkciją gali skatinti hormonai [165]. Mažas IL-10 lygis buvo nustatytas nėščių moterų, sirgusių preeklampsija, kraujo serume (dėl periferinio kraujo mononuklearų sumažėjusios IL-10 gamybos) [166]. Esant bakterinei vaginozei taip pat nustatyta žema IL-10 koncentracija gimdos kaklelio nuoplovose [167, 168]. Reikia pažymėti, kad bakterinė flora gali varijuoti bei priklausyti nuo genų polimorfizmo ir moduluoti vietinį atsaką. Tai reikėtų vertinti atliekant tolesnius tyrimus [169]. Be to, žemas citokinus nustatančio rinkinio

jautrumas taip pat gali būti mažo interleukino lygio tiriamojoje medžiagoje neaptikimo priežastimi [170].

Lietuvoje IL-1 β , IL-1ra koncentracijų pokyčiai sveikų ir sergančių bakterine vaginoze nėščiųjų makšties ir gimdos kaklelio išskyrose antrame nėštumo trimestre buvo tirti D. Bartkevičienės ir bendraautorių [171]. Statistiškai reikšmingai didesnė šių interleukinų koncentracija nustatyta bakterine vaginoze sergančioms nėščiosioms.

Mūsų duomenimis, lyginant moterų, kurių gimdos kaklelyje persistavo ŽPV infekcija, tirtų rodiklių reikšmes su neinfekuotų moterų tokių pat rodiklių reikšmėmis, galima daryti išvadą, kad pirmųjų ŽPV infekcijos persistenciją pirmajame nėštumo trimestre galėjo skatinti patikimai didesnė IL-10 koncentracija (imunosupresinis poveikis), o IL-12 (skatinančio priešvirusinę gynybą, kuriai daro įtaką Th1 funkcijos) produkcija buvo nepakankama aktyvinti Th1 atsaką. Persistuojant infekcijai ir trečiajame trimestre IL-10 lygis iš esmės nesikeitė, o IL-12 koncentracija padidėjo, palyginti su pirmajame trimestre buvusiu lygiu, bet nesiskyrė nuo neinfekuotų ŽPV nėščių moterų šių rodiklių, t.y. Th1 funkcijos buvo aktyvinamos.

Mūsų tyrimų rezultatai taip pat parodė, kad, trečiajame trimestre išnykus ŽPV infekcijai, ląstelinį imunitetą skatinantis IL-12 lygis gimdos kaklelio nuoplovose buvo mažesnis nei neinfekuotų ŽPV moterų grupėje, o IL-10 koncentracija didesnė. Tai galima paaiškinti imunoreguliaciniu IL-10 poveikiu (slopinamas Th1 atsakas). Taip pat nustatyta, kad, lyginant grupę moterų, kurioms buvo persistuojanti ŽPV infekcija, su grupe moterų, kurioms ši infekcija išnyko, pirmųjų IL-12 lygis, skatinantis ląstelinio imuniteto atsaką, buvo didesnis, o antrosioms buvo būdingas abiejų tirtų interleukinų sintezės sumažėjimas trečiajame trimestre, palyginti su pirmuoju, t.y. išnykus infekcijai vietinė citokinų produkcija mažėjo.

Literatūros duomenimis, IL-10 raiška turi tendenciją didėti esant gimdos kaklelio intraepitelinių pokyčių, susijusių su ŽPV infekcija. Nustatyta sąsaja tarp IL-10, ŽPV ir gimdos kaklelio vėžio stadijos [172]. K.K. Azaras (*K.K. Azar*) ir bendra autoriai taip pat nustatė padidėjusį IL-10 ir γ TNF lygį esant gimdos kalelio intraepitelinių pakitimų [173]. Kitų tyrėjų duomenimis, didesnę IL-10 koncentraciją sąlygoja ŽIV ir ŽPV koinfekcija, o ŽIV, ŽPV ir kiti patogenai - didesnę IL-12 lygį [174].

Mūsų tyrimų rezultatai parodė, kad nėštumo metu neinfekuotų ŽPV moterų vyrauja Th1 funkcijų sąlygojami mechanizmai. IL-10 bei IL-12 lygio pokyčiai

gimdos kaklelio ir makšties nuoplovose susiję su Th1 ir Th2 vietine homeostaze. Esant ŽPV infekcijai išryškėjo pakitęs citokinų sintezės atsakas į patogeną, kurį taip pat veikia ir nėštumo metu pakitusi hormonų pusiausvyra. Taigi lytinių takų infekcijos gali daryti įtaką vietinei interleukinų sekrecijai, o nėštumas sąlygoti dar įvairesnę jų gamybos moduliaciją.

6. IŠVADOS

1. Tyrimo pradžioje (pirmasis nėštumo trimestras) tiriamųjų infekuotumas ŽPV siekė 17,8 proc. (95% PI=13,25÷23,57), tyrimo pabaigoje (trečiasis nėštumo trimestras) - 10,3 proc. nėščiųjų (95% PI=6,76÷17,16); didelės onkogeninės rizikos ŽPV tipai pirmajame nėštumo trimestre nustatyti 57,7 proc. (95% PI = 38,92÷74,50) ŽPV infekuotų tiriamųjų, o trečiajame - 66,7 proc. (95% PI = 41,50÷85,04).
2. Nėštumo metu savaime pasveiko 51,6 proc. (95% PI = 34,34÷66,03) ŽPV infekuotų tiriamųjų; 39,4 proc. (95% PI = 18,46÷49,97) infekcija išliko; nėštumo metu ŽPV užsikrėtė 4,2 proc. (95% PI = 1,54÷9,63) tiriamųjų.
3. Statistiškai reikšmingas glutationo formų koncentracijos sumažėjimas bei padidėjusi malono dialdehido koncentracija kraujo plazmoje rodo, kad nėštumo metu formuojasi oksidacinis stresas. ŽPV infekcijos įtakos šio streso lygiui nenustatyta.
4. Nėštumo metu esant ŽPV infekcijai pakito interleukinų (IL-10 ir IL-12) gamyba. Persistuojant infekcijai trečiajame nėštumo trimestre IL-12 koncentracija nesiskyrė nuo neinfekuotų nėščiųjų, o infekcijai išnykus IL-10 koncentracija buvo didesnė (imunosupresinis poveikis) tirtų infekuotų ŽPV nėščiųjų grupėje, palyginti su IL-10 koncentracija tirtų neinfekuotų tiriamųjų grupėje.

7. DARBO PRAKTINĖ REIKŠMĖ

- Nustatyti ŽPV paplitimą tarp nėščiųjų ir identifikuoti jo tipus būtų naudinga vertinant ŽPV paplitimą Lietuvoje bei atrenkant grupes moterų, kurių rizika susirgti gimdos kaklelio vėžiu didelė.
- Moterys, nėštumo metu infekuotos didelės onkogeninės rizikos tipų ŽPV, turi būti stebimos dėl ŽPV po gimdymo, nes nėštumas gali sąlygoti ŽPV infekcijos persistavimą.
- Nepaisant to, kad ŽPV infekcijos įtakos oksidacinio streso lygiui nenustatyta, visgi įvertinti antioksidacinės sistemos būklę būtų naudinga esant nėščiųjų hipertenzinėms būklėms, gestaciniam diabetui, kadangi nėštumo metu oksidacinis stresas gilėja.
- Interleukinų (IL-10 ir IL-12) koncentracijos tyrimai gali būti vertingi prognozuoti didelės rizikos tipų ŽPV infekcijos persistavimą po gimdymo.

8. LITERATŪRA

1. Troftier H, Franco L. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006; 24 Suppl 1: S1-15.
2. Medeiros LR, Ethur AB, Hilgert JB, Zanini RR, Berwanger O, Bozetti MC, Mylius LC. Vertical transmission of human papillomavirus: a systematic quantitative review. *Cad Saude Publica*. 2005; 21(4): 1006-15.
3. Kliučinskas M, Nadišauskienė RJ, Minkauskienė M. Prevalence and risk factors of HPV infection among high-risk rural and urban Lithuanian women. *Gynecol Obstet Invest*. 2006; 62(3): 173-80.
4. Gudlevičienė Ž, Didžiapetrienė J, Ramael M, Uleckienė S, Valuckas KP. Human papillomavirus and p53 polymorphism in Lithuanian cervical cancer patients. *Gynecol Oncol*. 2006; 102(3): 530-3.
5. Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataram I, Lemmens V, Siesling S, Coebergh JW. Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer*. 2008; 44(10): 1345-89.
6. <http://www.vuoi.lt:80/index.php?-1413089819>.
7. Wang Y, Walsh SW. TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas. *J Reprod Immunol*. 1996; 32(2): 157-69.
8. Takagi Y, Nikaido T, Toki T, Kita N, Kanai M, Ashida T, Ohira S, Konishi I. Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction. *Virchows Arch*. 2004; 444(1): 49-55.
9. Peter Stein T, Scholl TO, Schluter MD, et al. Oxidative stress early in pregnancy and pregnancy outcome. *Free Radic Res*. 2008; 42(10): 841-8.
10. Zur Hausen H. Papillomavirus infection - a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*. 1996; 1288(2): 55-78.
11. Hoory T, Monie A, Gravitt P, Wu TC. Molecular epidemiology of human papillomavirus. *J Formos Med Assoc*. 2008; 107(3): 198-217.
12. Longworth MS, Laimins A. Pathogenesis of human papillomavirus in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol*. 2004; 68(2): 362-372.
13. Monsonego J, Bosch FX, Coursaget P, Cox JT, Franco E, Frazer I, Sankaranarayanan R, Schiller J, Singer A, Wright TC Jr, Kinney W, Meijer CJ,

- Linder J, McGoogan E, Meijer C. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. 2004; 108(3): 329-33.
14. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, Xi LF, Chernes S, O'Reilly S, Kiviat NB, Koutsky LA. Detection of genital HPV types in fingertip samples from newly sexually active female university students. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19(7): 1682-5.
 15. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T. Overview of European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2006; 119(5): 1095-101.
 16. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007; 370(9590): 890-907.
 17. Kjaer SK, Chackerian B, van den Brule AJ, Svare EI, Paull G, Walbomers JM, Schiller JT, Bock JE, Sherman ME, Lowy DR, Meijer CL. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10(2): 101-6.
 18. Rousseau MC, Villa LL, Costa MC, Abrahamowicz M, Rohan TE, Franco E. Occurrence of cervical infection with multiple human papillomavirus types is associated with age and cytologic abnormalities. *Sex Transm Dis*. 2003; 30(7): 581-7.
 19. Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL, Baldwin S, Roe D, Papenfuss MR, Abrahamsen M, Inserra P, Olvera S, Hatch K. Incidence, prevalence, and clearance of type-specific human papillomavirus infections: the young women's health study. *J Int Dis*. 2002; 186(4): 462-9.
 20. Sellors JW, Karwalajtys TL, Kaczorowski J, Mahony JB, Lytwyn A, Chong S, Sparrow J, Lorincz A; Survey of HPV in Ontario Women Group. Incidence, clearance and predictors of human papillomavirus infection in women. *CMAJ*. 2003; 168(4): 421-5.
 21. Louie KS, de Sanjose S, Mayaud P. Epidemiology and prevention of human papillomavirus and cervical cancer in sub-Saharan Africa: a comprehensive review. *Trop Med Int Health*. 2009; 14(10):1287-302.
 22. Clifford G, Franceschi S, Diaz M, Muñoz N, Villa LL. Chapter 3: HPV type-

- distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine*. 2006; 24 Suppl 3: S3/26-34.
23. Castle PE, Fetterman B, Thomas Cox J, Shaber R, Poitras N, Lorey T, Kinney W. The age-specific relationships of abnormal cytology and human papillomavirus DNA results to the risk of cervical precancer and cancer. *Obstet Gynecol*. 2010; 116(1): 76-84.
 24. Kovacic MB, Castle PE, Herrero R, Schiffman M, Sherman ME, Wacholder S, Rodriguez AC, Hutchinson ML, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, Alfaro M, Burk RD. Relationships of human papillomavirus type, qualitative viral load, and age with cytologic abnormality. *Cancer Res*. 2006; 66(20): 10112-9.
 25. Schiffman M, Clifford G, Buonaguro FM. Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline. *Infect Agent Cancer*. 2009; 4: 8.
 26. www.iarc.fr
 27. Maucourt-Boulch D, Franceschi S, Plummer M; IARC HPV Prevalence Surveys Study Group International correlation between human papillomavirus prevalence and cervical cancer incidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008 ; 17(3): 717-20.
 28. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, Bosch FX. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7(7): 453-9.
 29. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; 89(1): 101-5.
 30. Clifford G, Franceschi S. Members of the human papillomavirus type 18, family (alpha-7 species) share a common association with adenocarcinoma of the cervix. *Int J Cancer*. 2008; 122(7): 1684-5.
 31. Kliučinskas M, Nadišauskienė RJ. Žmogaus papilomos viruso paplitimas. Kn.: Gimdos kaklelio vėžio profilaktikos aktualijos. Vilnius. Lietuvos mokslas. 2005; 35-46.
 32. Gudlevičienė Ž, Didžiapetrienė J, Sužiedėlis K, Lapkauskaitė L. Žmogaus papilomos viruso, jo tipu ir variantu tyrimai. *Medicina*. 2005; 41(11): 910-5.

33. Jarienė K, Minkauskienė M, Nadišauskienė R, Kliučinskas M, Vaitkienė D. Didelės rizikos ŽPV įtakoti gimdos kaklelio citologiniai pokyčiai bei sąsajos su histologiniais bei kolposkopiniais radiniais (I dalis). Lietuvos akušerija ir ginekologija. 2010; 1(13): 22-30.
34. Jarienė K, Minkauskienė M, Nadišauskienė R, Kliučinskas M, Vaitkienė D. Didelės rizikos ŽPV įtakoti gimdos kaklelio citologiniai pokyčiai bei sąsajos su histologiniais bei kolposkopiniais radiniais (II dalis). Lietuvos akušerija ir ginekologija. 2010; 2(13): 42-50.
35. Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol.* 2010; 11(8): 781-9.
36. Michl P, Pazdera J, Prochazka M, Pink R, Stosova T. Human papillomavirus in the etiology of head and neck carcinomas. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2010; 154(1): 9-12.
37. Broomall EM, Reynolds SM, Jacobson RM. Epidemiology, clinical manifestations, and recent advances in vaccination against human papillomavirus. *Postgrad Med.* 2010; 122(2): 121-9.
38. Palefsky JM. Human papillomavirus-related disease in men: not just a women's issue. *J Adolesc Health.* 2010; 46(6): 614.
39. <http://www.cdc.gov/>
40. Armstrong LR, Piaston EJ, Reichert M, Phillips DL, Nisenbaum R, Todd NW, Jacobs IN, Inglis AF, Manning SC, Reeves WC. Incidence and prevalence of recurrent respiratory papillomatosis among children in Atlanta and Seattle. *Clin Infect dis.* 2000; 31(1): 107-9.
41. Castellsagué X, Drudis T, Cañadas MP, Goncé A, Ros R, Pérez JM, Quintana MJ, Muñoz J, Albero G, de Sanjosé S, Bosch FX. Human Papillomavirus (HPV) infection in pregnant women and mother-to-child transmission of genital HPV genotypes: a prospective study in Spain. *BMC Infect Dis.* 2009; 9: 74-86.
42. Rombaldi R, Serafini E, Mandelli J, Zimmermann E, Losquiavo KP. Transplacental transmission of human papillomavirus. *Virol J.* 2008; 5: 106-20.
43. Safaeian M, Solomon D, Wacholder S, Schiffman M, Castle P. Risk of precancer and follow-up management strategies for women with human papillomavirus-negative atypical squamous cells of undetermined significance. *Obstet Gynecol.* 2007; 109(6): 1325-31.

44. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus in epithelial dysplasia and invasive cancer of female lower genital tract. *Cancer Res.* 2004; 64(11): 3878-84.
45. Hedelist G, Manavi M, Pischinger KI, Watkins-Riedel T, Singer CF, Kubista E, Czerwenka KF. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol.* 2004; 92 (3): 873-80.
46. Monsonego J. Emerging issues on HPV infections. Paris. S. Karger. 2006; 275.
47. Bosch FX, de Sanjosé S. Chapter 1: human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003; (31): 3-13.
48. Wang SS, Zuna RE, Wentzensen N, Dunn ST, Sherman ME, Gold MA, Schiffman M, Wacholder S, Allen RA, Block I, Downing K, Jeronimo J, Carreon JD, Safaeian M, Brown D, Walker JL. Human papillomavirus cofactors by disease progression and human papillomavirus types in the study to understand cervical cancer early endpoints and determinants. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18(1): 113-20.
49. Kainz C, Tempfer C, Gitsch G, Heinzl H, Reinthaller A, Breiteneker G. Influence of age and human papillomavirus-infection on reliability of cervical cytopathology. *Arch Gynecol Obstet.* 1995; 256(1): 23-8.
50. Krüger-Corcoran D, Stockfleth E, Jürgensen JS, Maltusch A, Nindl I, Sterry W, Lange-Asschenfeldt B, Ulrich C. Human papillomavirus-associated warts in organ transplant recipients. Incidence, risk factors, management *Hautarzt.* 2010; 61(3): 220-9.
51. Barzon L, Militello V, Pagni S, Franchin E, Dal Bello F, Mengoli C, Palù G. Distribution of human papillomavirus types in the anogenital tract of females and males. *J Med Virol.* 2010; 82(8): 1424-30.
52. Slavchev B, Zlatkov V, Kostova P, Borisov S. Cervical cancer and pregnancy - diagnostic and therapeutic problems. Report of four cases and review of the literature. *Akush Ginekol (Sofija).* 2003; 42(5): 40-5.
53. Kornivski Ia, Gorchev G, Trendafilova. Pregnancy and invasive cervical cancer. *Akush Ginekol (Sofija).* 2008; 47 (4): 44-6.
54. Bader AA, Petru E, Winter R. Long-term follow-up after neoadjuvant chemotherapy for high-risk cervical cancer during pregnancy. *Gynecol Oncol.*

- 2007; 105(1): 269 -72.
55. Selleret L, Mathevet P. Precancerous cervical lesions during pregnancy: diagnostic and treatment. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2008; 37 Suppl 1: S131-8.
 56. Nguyen C, Montz FJ, Bristow RE. Management of stage I cervical cancer in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*. 2000; 55(10): 633-43.
 57. Lishner M. Cancer in pregnancy. *Ann Oncol*. 2003; 14 Suppl 3: iii31-6.
 58. McIntyre-Seltman K, Lesnock JL. Cervical cancer screening in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2008; 35(4): 645-58.
 59. D.Frega A, Scirpa P, Corosu R, Verrico M, Scarciglia ML, Primieri MR, Palazzo A, Iacovelli R, Moscarini M. Clinical management and follow-up of squamous intraepithelial cervical lesions during pregnancy and postpartum. *Anticancer Res*. 2007; 27(4C): 2743-6.
 60. Germann N, Haie-Meder C, Morice P, Lhomme C, Duvillard P, Hacene K, Gerbaulet A. Management and clinical outcomes of pregnant patients with invasive cervical cancer *Ann Oncol*. 2005; 16(3):397-402.
 61. F. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D; 2006 American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *J Low Genit Tract Dis*. 2007; 11(4): 223-39.
 62. Sood AK, Sorosky JI, Mayr N, Anderson B, Buller RE, Niebyl J. Cervical cancer diagnosed shortly after pregnancy: prognostic variables and delivery routes. *Obstet Gynecol*. 2000; 95 (6 Pt 1): 832-8.
 63. Charkviani L, Charkviani T, Natenadze N, Tsitsishvili Z. Cervical carcinoma and pregnancy. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2003; 30(1): 19-22.
 64. Sadler L, Sykes P. How little is known about cervical cancer in pregnancy? *Ann Oncol*. 2005; 16(3): 341-3.
 65. Oehler MK, Wain GV, Brand A. Gynaecological malignancies in pregnancy: a review. *Aust NZJ Obstet Gynaecol*. 2003; 43: 414-20.
 66. Eppel W, Worda C, Frigo P, Ulm M, Kucera E, Czerwenka K. Human papillomavirus in the cervix and placenta. *Obstet Gynecol*. 2000; 96(3): 337-41.

67. Aydin Y, Atis A, Tutuman T, Goker N. Prevalence of human papilloma virus infection in pregnant Turkish women compared with non-pregnant women. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2010; 31(1): 72-4.
68. Takakuwa K, Mitsui T, Iwashita M, Kobayashi I, Suzuki A, Oda T, Torii Y, Matsumoto M, Yahata G, Tanaka K. Studies on the prevalence of human papillomavirus in pregnant women in Japan. *J Perinat Med.* 2006; 34(1): 77-9.
69. Banura C, Franceschi S, van Doorn LJ, Arslan A, Kleter B, Wabwire-Mangen F, Mbidde EK, Quint W, Weiderpass E. Prevalence, incidence and clearance of human papillomavirus infection among young primiparous pregnant women in Kampala, Uganda. *Int J Cancer.* 2008; 123(9): 2180-7.
70. Morales-Peza N, Auewarakul P, Juarez V, Garcia-Caranca A, Cid-Arregui A. *In vivo* tissue-specific regulation of the human papilloma virus type 18 early promoter by estrogen, progesterone, and their antagonists *Virol J.* 2002, 294(1): 135-40.
71. Lu DW, Pirog EC, Zhu X, Wang HL, Pinto KR. Prevalence and typing of HPV DNA in atypical squamous cells in pregnant women. *Acta Cytol.* 2003; 47(6): 1008-16.
72. Hernández-Girón C, Smith JS, Lorincz A, Lazcano E, Hernández-Avila M, Salmerón J. High-risk human papillomavirus detection and related risk factors among pregnant and nonpregnant women in Mexico. *Sex Transm Dis* 2005; 32(10): 613-8.
73. Thomas KK, Hughes JP, Kuypers JM, Kiviat NB, Lee SK, Adam DE, Koutsky LA. Concurrent and sequential acquisition of different genital human papillomavirus types. *J Infect Dis.* 2000; 182(4): 1097-102.
74. Rousseau M-C, Abrahamowicz M, Villa LL, Costa MC, Rohan TE, Franco EL. Predictors of cervical coinfection with multiple human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12(10): 1029-37.
75. Smith EM, Johnson SR, Jiang D, Zaleski S, Lynch CF, Brundage S, Anderson RD, Turek LP. The association between pregnancy and human papilloma virus prevalence. *Cancer Detect Prev* 1991; 15(5): 397-402.
76. Sarkola ME, Grenman SE, Rintala MA, Syrjanen KJ, Syrjanen SM. Effect of second pregnancy on maternal carriage and outcome of high-risk human

- papillomavirus (HPV). Experience from the prospective Finnish family HPV study. *Gynecol Obstet Invest.* 2009; 67(3): 208-16.
77. Hermonat PL, Han L, Wendel PJ, Quirk JG, Stern S, Lowery CL, Rechtin TM. Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens. *Virus Genes.* 1997; 14(1): 13-7.
 78. Hermonat PL, Kechelava S, Lowery CL, Korourian S. Trophoblasts are the preferential target for human papilloma virus infection in spontaneously aborted products of conception. *Hum Pathol.* 1998; 29(2): 170-4.
 79. Vladimirov IuA. Free radicals and antioxidants. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 1998; 7: 43-51.
 80. Nunoshita T, Obata F, Boss AC, Oikawa S, Mari T, Kawanishi S, Yamamoto K. Role of iron and superoxide for generation of hydroxyl radical, oxidative DNA lesions and mutagenesis in *Escherichia coli*. *J Biol Chem.* 1999; 274 (49): 34832-7.
 81. Černiauskiene LR. Antioksidantiniai vitaminai A ir E: epidemiologiniai, klinikiniai ir eksperimentiniai tyrimai. Kaunas. KMA leidykla „Medicinos akademija“, 1994; 93.
 82. Kučinskienė Z. Laisvaradikalinė oksidacija, antioksidantinė gynyba ir ligos. *Laboratorinė medicina.* 2001; 9(1): 31-7.
 83. Jarašūnienė D, Šimaitis A. Oksidacinis stresas ir endotelio disfunkcija. *Medicina.* 2003; 39(12): 1151-7.
 84. Valgimigli M, Merli E, Malagutti P, Soukhomovskaia O, Cicchitelli G, Macri G, Ferrari R. Endothelial dysfunction in acute and chronic coronary syndromes: evidence for a pathogenetic role of oxidative stress. *Arch Biochem Biophys.* 2003; 420(2): 255-61.
 85. Katsoulis K, Kontakiotis T, Leonardopoulos I, Kotsoyili A, Legakis IN, Patakas D. Serum total antioxidant status in severe exacerbation of asthma: correlation with the severity of the disease. *J Asthma.* 2003; 40(8): 847-54.
 86. Pawliczak R. The role of radical oxygen species in airway inflammation. *Pol Merkur Lekarski.* 2003; 14(84):493-6.

87. Tobatabaie T, Vasquez-Weldon A, Moore DR Katake Y. Free radikals and the pathogenesis of type I diabetes, beta-cell cytokine-mediated free radikals generation via cyclooxygenase-2. *Diabetes*. 2003; 52(8): 1994-9.
88. Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A, Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des*. 2004; 10(14): 1611-26.
89. Buettner GR. The pecking order of radicals and antioxidants: lipid peroxidation, a-tocopherol and ascorbate. *Arch Biochem Biophys*. 1993; 300(2): 535-43.
90. Oberley TD. Oxidative damage and cancer. *Am J Pathol*. 2002; 160(2): 403-8.
91. Bounous G, Molson JH. The antioxidant system. *Anticancer Res*. 2003; 23(2B): 1411-5.
92. Arthur JR. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci*. 2000; 57(13-14): 1825-35.
93. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004; 44: 239-67.
94. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig*. 2004; 11(6): 342-52.
95. Hung TH, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2006; 45(3): 189-200.
96. Hung TH, Charnock-Jones DS, Skepper JN, Burton GJ. Secretion of tumor necrosis factor- α from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia. *Am J Pathol*. 2004; 164(3): 1049-61.
97. Hung TH, Skepper JN, Charnock-Jones DS, Burton GJ. Hypoxia-reoxygenation: a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circ Res*. 2002; 90(12): 1274-81.
98. Hung T, Skepper JN, Burton GJ. In vitro ischemia-reperfusion injury in term human placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies. *Am J Pathol*. 2001; 159(3): 1031-43.
99. Tjoa ML, Cindrova-Davies T, Spasic-Boskovic O, Bianchi DW, Burton GJ. Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free feto-placental DNA. *Am J Pathol*. 2006; 169(2): 400-4.

100. Redman CW, Sargent IL. Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta*. 2009; 30 Suppl A: S38-42.
101. Hung TH, Lo LM, Chiu TH, Li MJ, Yeh YL, Chen SF, Hsieh TT. A longitudinal study of oxidative stress and antioxidant status in women with uncomplicated pregnancies throughout gestation. *Reprod Sci*. 2010; 17(4): 401-9.
102. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reprod Toxicol*. 1999; 13(5): 347-52.
103. Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta*. 2004; 339(1-2): 1-9.
104. Mocatta TJ, Winterbourn CC, Inder TE, Darlow BA. The effect of gestational age and labour on markers of lipid and protein oxidation in cord plasma. *Free Radic Res*. 2004; 38(2): 185-91.
105. Fainaru O, Almog B, Pinchuk I, Kupferminc MJ, Lichtenberg D, Many A. Active labour is associated with increased oxidisibility of serum lipids *ex vivo*. *BJOG*. 2002; 109(8): 938-41.
106. Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update*. 2006; 12(6): 747-55.
107. Takagi Y, Nikaido T, Toki T, Kita N, Kanai M, Ashida T, Ohira S, Konishi I. Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction. *Virchows Arch*. 2004; 444(1): 49-55.
108. Djordjevic A, Spasic S, Jovanovic-Galovic A, Djordjevic R, Grubor-Lajsic G. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004; 16(6): 367-72.
109. Kim YJ, Hong YC, Lee KH, Park HJ, Park EA, Moon HS, Ha EH. Oxidative stress in pregnant women and birth weight reduction. *Reprod Toxicol*. 2005; 19(4): 487-92.
110. Hristozov D, Gadjeva V, Vlaykova T, Dimitrov G. Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. *Arch Physiol Biochem*. 2001; 109(4): 331-6.
111. Manju V, Kalaivani SJ, Nalini, N. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study. *Clin. Biochem*. 2002; 35(8): 621-625.

112. Carrero Y, Callejas D, Alaña F, Silva C, Mindiola R, Mosquera J. Increased vascular endothelial growth factor expression, CD3-positive cell infiltration, and oxidative stress in premalignant lesions of the cervix. *Cancer*. 2009; 115(16): 3680-8.
113. Severi T, van Malenstein H, Verslype C, van Pelt JF. Tumor initiation and progression in hepatocellular carcinoma: risk factors, classification, and therapeutic targets. *Acta Pharmacol Sin*. 2010; 31(11): 1409-20.
114. Manoharan S, Kolanjiappan K, Kayalvizhi M, Sethupathy S. Lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients. *J Biochem Mol Biol Biophys*. 2002; 6(3): 225-227.
115. Paz-Elizur T, Krupsky M, Blumenstein S, Elinger D, Schechman E, Livneh Z. DNA repair activity for oxidative damage and risk of lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003; 95(17): 1312-9.
116. Aggarwal BB, Sundaram C, Prasad S, Kannappan R. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochem Pharmacol*. 2010; 80(11): 1613-31.
117. Weiss JF, Landauer MR. Radioprotection by antioxidants. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 899: 44-60.
118. Elattar TM, Virji AS. Biphaseic action of vitamin E on the growth of human oral squamous carcinoma cells. *Anticancer Res*. 1999; 19(1A): 365-8.
119. Lehtinen M, Luostarinen T, Youngman LD, Antilla T, Dillner J, Hakulinen T, Koskela P, Lenner P, Hallmans G. Low levels of serum vitamins A and E in blood and subsequent risk for cervical cancer: interaction with HPV seropositivity. *Nutr Cancer*. 1999; 34(2): 229-34.
120. Sanocka D, Florek E, Klejvski A, Kurpisz M. Pro- and antioxidant system activity in cervical mucosa. *Ginekol Pol*. 2002; 73(7): 573-6.
121. Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F. Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*. 2005; 227(2): 133-9.

122. Zhang Y, Zhao W, Zhang HJ, Domman FE, Oberley LW. Overexpression of copper zinc superoxide dismutase suppresses human glioma cell growth. *Cancer Res.* 2002; 62(4): 1205-12.
123. Cullen JJ, Weydert C, Hinkhouse MM, Ritchie J, Domann FE, Spitz D, Oberley L. The role of manganese superoxide dismutase in the growth of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2003; 63(6): 1297-303.
124. Rozenko LIa., Frantsiants EM. Changes of antioxidant parameters correlating with clinical regression of uterine cervix neoplasm. *Vopr Onkol.* 2003; 49(1): 99-102.
125. Hancock JT, Desikan R, Neil SJ. Role of reactive oxygen species in cell signaling pathways. *Biochem Soc Trans.* 2001; 29(Pt2): 345-50.
126. Bondzio A, Blankenstein P, Risse S. Effect of hydrogen peroxide on bovine leukemia virus expression. *Biol Chem.* 2003; 384(7): 1063-72.
127. Miyamoto Y, Koh YH, Park YS, Fujiwara N, Sakiyama H, Misonou Y, Ookawara T, Suzuki K, Honke K, Taniguchi N. Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. *Biol Chem.* 2003; 384(4): 567-74.
128. Korgun DK, Bilmen S, Yesilkaya A. Alterations in the erythrocyte antioxidant system of blood stored in blood bags. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001; 109(5-6): 357-63.
129. Forman HJ, Dickinson DA. Oxidative signaling and glutathione synthesis. *Biofactors.* 2003; 17(1-4): 1-12.
130. Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem.* 2000; 267(16): 4904-11.
131. Sedjo RL, Roe DJ, Abrahamsen M, Harris RB, Craft N, Baldwin S, Giuliano AR. Vitamin A, carotenoids, and risk of persistent oncogenic human papillomavirus infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11(9): 876-84.
132. Kwaśniewska A, Tukendorf A, Semczuk M. Content of alpha-tocopherol in blood serum of human Papillomavirus-infected women with cervical dysplasias. *Nutr Cancer.* 1997; 28(3): 248-51.
133. Kwaśniewska A, Tukendorf A, Semczuk M. Folate deficiency and cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Gynaecol Oncol.* 1997; 18(6): 526-30.

134. Didžiapetrienė J, Kazbarienė B, Prasmickienė G, Krikštaponienė A, Surinėnaite B. The immune and antioxidative state of women with respect to cervical cancer stage. *Acta medica Lituanica*. 2005; 12(3): 65-70.
135. de Gruijl TD, Bontkes HJ, Walboomers JM, Schiller JT, Stukart MJ, Groot BS, Chabaud MM, Remmink AJ, Verheijen RH, Helmerhorst TJ, Meijer CJ, Scheper RJ. Immunoglobulin G responses against human papillomavirus type 16 virus-like particles in a prospective nonintervention cohort study of women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1997; 89(9): 630-8.
136. Muñoz N, Castellsagué X, Berrington de González A, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 2006; 24 Suppl 3: S3/1-10.
137. Crum CP, Nagai N, Levine RU, Silverstein S. In situ hybridization analysis of HPV 16 DNA sequences in early cervical neoplasia. *Am J Pathol*. 1986; 123(1): 174-82.
138. Greenfield I, Nickerson J, Penman S, Stanley M. Human papillomavirus 16 protein is associated with the nuclear matrix. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88(24):11217-21.
139. Stoler MH, Rhodes CR, Whitbeck A, Wolinsky SM, Chow LT, Broker TR. Human papillomavirus type 16 and 18 gene expression in cervical neoplasias. *Hum Pathol*. 1992; 23(2): 117-28.
140. Schwarz TF, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature. *Gynecol Oncol*. 2008; 110(3 Suppl 1): S1-10.
141. Mota F, Rayment N, Chong S, Singer A, Chain B. The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus (HPV) -related premalignant cervical epithelium. *Clin Exp Immunol*. 1999; 116(1): 33-40.
142. Mota F, Calder V, Rutault K, Singer A, Chain B. Characterization of soluble factors from cultures of premalignant cervical epithelium. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1999; 20(4): 262-7.
143. de Jong A, van Poelgeest MI, van der Hulst JM, Drijfhout JW, Fleuren GJ, Melief CJ, Kenter G, Offringa R, van der Burg SH. Human papillomavirus type 16-positive cervical cancer is associated with impaired CD4+ T-cell immunity against early antigens E2 and E6. *Cancer Res*. 2004; 64(15): 5449-55.
144. Cromme FV, Snijders PJ, van den Brule AJ, Kenemans P, Meijer CJ,

- Walboomers JM. MHC class I expression in HPV 16 positive cervical carcinomas is post-transcriptionally controlled and independent from c-myc overexpression. *Oncogene*. 1993; 8(11): 2969-75.
145. Vambutas A, Bonagura VR, Steinberg BM. Altered expression of TAP-1 and major histocompatibility complex class I in laryngeal papillomatosis: correlation of TAP-1 with disease. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000; 7(1): 79-85.
 146. Vambutas A, DeVoti J, Pinn W, Steinberg BM, Bonagura VR. Interaction of human papillomavirus type 11 E7 protein with TAP-1 results in the reduction of ATP-dependent peptide transport. *Clin Immunol*. 2001; 101(1): 94-9.
 147. Hebner CM, Wilson R, Rader J, Bidder M, Laimins LA. Human papillomaviruses target the double-stranded RNA protein kinase pathway. *J Gen Virol*. 2006; 87(Pt11): 3183-93.
 148. Ronco LV, Karpova AY, Vidal M, Howley PM. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity. *Genes Dev*. 1998; 12(13): 2061-72.
 149. Um SJ, Rhyu JW, Kim EJ, Jeon KC, Hwang ES, Park JS. Abrogation of IRF-1 response by high-risk HPV E7 protein *in vivo*. *Cancer Lett*. 2002; 179(2): 205-12.
 150. Einstein MH, Schiller JT, Viscidi RP, Strickler HD, Coursaget P, Tan T, Halsey N, Jenkins D. Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns. *Lancet Infect Dis*. 2009; 9(6): 347-56.
 151. Tay SK, Jenkins D, Maddox P, Campion M, Singer A. Subpopulations of Langerhans' cells in cervical neoplasia. *Br J Obstet Gynaecol*. 1987; 94: 10-5.
 152. Shurin MR, Lu L, Kalinski D, Stewart-Akers AM, Lotze MT. Th1/Th2 balance in cancer, transplantation and pregnancy. *Springer Semin Immunopathol*. 1999; 21(3): 339-59.
 153. Thaxton JE, Sharma S. Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2010; 63(6): 482-91.
 154. Jamieson DJ, Theiler NJ, Rasmussen SA. Emerging infections and pregnancy. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(11): 1638-43.
 155. Koch CA, Plat JL. T cell recognition and immunity in the fetus and mother. *Cell Immunol*. 2007; 248(1): 12-7.
 156. Ireng LM, Robert A, Gala JL. Quantitative assessment of human β -globin gene expression in vitro by TaqMan real-time reverse transcription-PCR: Comparison

- with competitive reverse transcription-PCR and application to mutations or deletions in noncoding regions. *Clin Chem*. 2005; 51: 2395-6.
157. Baker MA, Cerniglia GJ, and Zaman Z. Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal Biochem*. 1990; 190: 360-5.
 158. Smith EM, Parker MA, Rubenstein LM, Haugen TH, Hamsikova E, Turek LP. Evidence for vertical transmission of HPV from mothers to infants. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2010; 2010: 326369.
 159. Syrjänen S, Waterboer T, Sarkola M, Michael K, Rintala M, Syrjänen K, Grenman S, Pawlita M. Dynamics of human papillomavirus serology in women followed up for 36 months after pregnancy. *J Gen Virol*. 2009; 90(Pt 6): 1515-26.
 160. Nowak Z, Karowicz-Bilińska A Human papilloma virus infection in pregnant women with normal pap-smears, HPV oncogenity and risk factors. *Ginekol Pol*. 2007; 78(9): 678-84.
 161. Louvanto K, Rintala MA, Syrjänen KJ, Grénman SE, Syrjänen SM. Genotype-specific persistence of genital human papillomavirus (HPV) infections in women followed for 6 years in the Finnish Family HPV Study. *J Infect Dis*. 2010; 202(3): 436-44.
 162. Holroyd E, Katie FK, Chun LS, Ha SW. "Doing the month": an exploration of postpartum practices in Chinese women. *Health Care Women Int*. 1997; 18(3): 301-13.
 163. Lee KT, Tsai SM, Wang SN, Lin SK, Wu SH, Chuang SC, Wu SH, Ma H, Tsai LY. Glutathione status in the blood and tissues of patients with virus-originated hepatocellular carcinoma. *Clin Biochem*. 2007; 40(15): 1157-62.
 164. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interfaze. *J Reprod Immunol*. 2000; 47(2): 87-103.
 165. Quayle AJ. The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells. *J Reprod Immunol*. 2002; 57(1-2): 61-79.
 166. Orange S, Horvath J, Hennessy A. Preeclampsia is associated with a reduced interleukin-10 production from peripheral blood mononuclear cells. *Hypertens Pregnancy*. 2003; 22(1): 1-8.

167. Weissenbacher T, Walter C, Mylonas I, Scholz C, Gingelmaier A, Friese K. Interleukin-6, interleukin-10 and interleukin-12 in vaginal fluid from women with bacterial vaginosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2010; 281:77-80.
168. St John E, Mares D, Spear GT. Bacterial vaginosis and host immunity. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2007; 4(1): 22-8.
169. Uscher-Pines L, Hanlon AL, Nelson DB. Racial differences in bacterial vaginosis among pregnant women: the relationship between demographic and behavioral predictors and individual BV-related microorganism levels. *Matern Child Health J.* 2009; 13(4): 512-9.
170. Makseed M, Raghupathy R, Aziziech F, Farhat R, Hassan N, Bandar A. Circulating cytokines and CD30 in normal human pregnancy and recurrent spontaneous abortions. *Hum Reprod.* 2000; 15(9): 2011-7.
171. Bartkevičienė D, Dumalakienė I, Šilkūnas M, Drąsutienė G, Ališauskas J, Drąsutytė L. Bakterinė vaginozė: prigimtis, diagnostika ir klinikinė reikšmė. *Sveikatos mokslai.* 2008; 3:1632-42.
172. Bermudez-Morales VH, Gutierrez LX, Alcocer-Gonzalez JM, Burguete A, Madrid-Marina V. Correlation between IL-10 gene expression and HPV infection in cervical cancer: a mechanism for immune response escape. *Cancer Invest.* 2008; 26(10): 1037-43.
173. Azar KK, Tani M, Yasuda H, Sakai A, Inoue M, Sasagawa T. Increased secretion patterns of interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha in cervical squamous intraepithelial lesions. 2004; 35(11): 1376-84.
174. Crowley-Nowick PA, Ellenberg JH, Vermund SH, Douglas SD, Holland CA, Moscicki AB. Cytokine profile in genital tract secretions from female adolescents: impact of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, and other sexually transmitted pathogens. *J Infect Dis.* 2000; 181(3): 939-45.
175. Tarka A, Szczepańska M, Raczyńska D, Pruski D, Kedzia W, Opala T. Risk factors and frequency of occurrence of HPV DNA of high oncogenic types in paraepidermal epithelium cells of the uterine cervix, in the trophoblast, and in the peripheral blood of pregnant patients *Ginekolog Pol.* 2008; 79(12): 871-6.

9. PUBLIKACIJOS

1. **Domža G**, Domža B, Rinkevičius A. Gimdos kaklelio citologinių ir histologinių tyrimo duomenų palyginimas. *Medicinos teorija ir praktika*. 2008; 14(1): 71-4.
2. **Domža G**, Gudlevičienė Ž, Kazbarienė B, Didžiapetrienė J. Gimdos kaklelio intraepitelinių pokyčių, atsiradusių dėl žmogaus papilomos viruso poveikio, progresavimo rizikos įvertinimas. *Medicinos teorija ir praktika*. 2008; 14(4): 346-50.
3. Kazbarienė B, **Domža G**. Gimdos kaklelio vėžys ir nėštumas. *Sveikatos mokslai*. 2009; 6: 2791-4.
4. Kazbarienė B, **Domža G**, Gudlevičienė Ž, Didžiapetrienė J. Žmogaus papilomos viruso perdavimo keliai ir jo paplitimas. *Sveikatos mokslai*. 2010; 5: 3494-7.
5. **Domža G**, Kazbarienė B, Gudlevičienė Ž. ŽPV infekcijos įtaka interleukinų (IL-10 ir IL-12 koncentracijos pokyčiams nėštumo metu. *Sveikatos mokslai*. 2010; 6:3544-8.
6. Surinėnaitė B, **Domža G**, Didžiapetrienė J, Prasmickienė G, Gudlevičienė Ž, Jakaitienė A. The status of antioxidative system in pregnant women due to infection of human papilloma virus. *Acta Medica Lituanica*. 2010; 17(3-4) (in press).
7. **Domža G**, Gudlevičienė Ž, Didžiapetrienė J, Kazbarienė B, Drąsutienė G. Human papillomavirus infection in pregnant women. *Archives of gynecology and obstetrics*. (in press).

Pranešimai konferencijose

1. Domža G, Drąsutienė G, Gudlevičienė Ž, Didžiapetrienė J, Sapon R. Žmogaus papilomos virusas nėštumo metu. IX Lietuvos akušerių ginekologų suvažiavimas. 2010, Kaunas (žodinis pranešimas).

Klausimynas pacientui Nr.

Versija 1, 2007.06.20

Data ()

Gydytojo pavardė

Gerbiamoji,

Maloniai kviečiame Jus dalyvauti tyrime, kurio duomenys leistų sužinoti apie Žmogaus papilomos viruso (ŽPV) paplitimą tarp Lietuvos moterų. ŽPV – viena iš prižasčių, lemiančių ikivėžines ir vėžines lytinių organų ligas.

Jei atsisakysite dalyvauti, vis tiek visi reikalingi tyrimai bus atlikti, o jei reikėtų, paskirtas gydymas.

1. Amžius	☐ m.	2-5	☐
		>5	☐
2. Ūgis	☐ cm		
3. Svoris	☐ kg	12. Partnerio nevedybinių lytinių ryšių	
4. Šeimyninė padėtis		Nėra	☐
Netekėjusi	☐	Buvo	☐
Ištekėjusi	☐	Nežinau	☐
Išsiskyrusi	☐	13. Gimdymų skaičius	
Gyvena sambūvyje	☐	Nebuvo	☐
5. Socialinė padėtis		1-2	☐
Darbininkė	☐	3-5	☐
Tarnautoja	☐	>5	☐
Kita	☐	14. Abortų, persileidimų skaičius	☐
6. Išsilavinimas		15. Hormoninių kontraceptinių priemonių naudojimas	
Pagrindinis	☐	Taip	☐
Vidurinis	☐	Ne	☐
Specialus	☐	16. Kitų kontraceptinių priemonių naudojimas	
Aukštasis	☐	Taip	☐
7. Tautybė		Ne	☐
Lietuvė	☐	17. Persirgtos venerinės ligos (sifilis, gonorėja, chlamidijozė, trichomonozė, kt.)	
Rusė	☐	Taip	☐
Lenkė	☐	Ne	☐
Kita	☐	18. Ginekologinės (uždegiminės, grybelinės) ligos	
8. Pirmųjų lytinių santykių amžius		Buvo	☐
<18 m.	☐	Ne	☐
18-20 m.	☐	19. Rūkymas	
>20 m.	☐	Taip	☐
9. Pirmosios mėnesinės :	☐	Ne	☐
10. Skiepai profilaktine ŽPV vakcina:		20. PAP tepinėlis darytas	
Taip	☐	Prieš 1 m.	☐
Ne	☐	Prieš 2 m.	☐
11. Lytinių partnerių skaičius per gyvenimą		Nedarytas	☐
Nėra	☐	21. Ligos istorijos (kortelės Nr. :)	
1	☐		
2	☐		

--

22. Klinikinė diagnozė

.....

.....

.....

.....

Tyrimų duomenys :

23. Ginekologinė apžiūra

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

24. PAP tepinėlis (citologinis tyrimas)

.....

.....

.....

.....

25. Histologinis tyrimas

.....

.....

.....

.....

.....

.....

26. ŽPV tyrimas

.....

.....

.....

.....

.....

.....

27. Chlamydia trachomatis tyrimas

.....

Asmens informavimo ir informuoto asmens sutikimo forma

Versija 1, 2007.06.20

Kvietimas dalyvauti tyrime

Kviečiame Jus dalyvauti, mūsų nuomone, svarbiame tyrime. Siekdami padėti Jums suvokti tyrimo esmę, pateikiame šią informaciją ir norime būti tikri, kad prieš pradėdami dalyvauti tyrime, ją supratote. Nedvejodami klauskite, kas pateiktoje informacijoje Jums neaišku, o mes pasistengsime kuo aiškiau viską paaiškinti ir suteikti papildomą informaciją.

Tyrimo tikslas – nustatyti nėščių moterų infekuotumą žmogaus papilomos virusu (ŽPV) bei ŽPV integraciją į gimdos kaklelio epitelio ląsteles.

Tyrime bus naudojama:

1. Ginekologinė apžiūra
2. Gimdos kaklelio bandiniai ŽPV nustatymui

Ginekologinės apžiūros metu bus paimamos gimdos kaklelio nuoplovos – 10 mililitrų steriliu fiziologiniu tirpalu nuplaunamas gimdos kaklelis, nuoplovų turinys išsiurbiamas ir surenkamas į mėgintuvėlį. Nuoplovos bus imamos 10-14 ir 36 – 40 nėštumo savaitę. Laboratorijoje jos bus tiriamos – nustatoma ar yra ŽPV, vertinami vietinio imuniteto būklę atspindintys rodikliai. Papilomos virusai (ŽPV) yra viena pagrindinių priežasčių, sukeliančių gimdos kaklelio vėžį. Dabar yra žinoma apie 120 tipų ŽPV, iš kurių apie 30 pažeidžia lytinių organų gleivinę ir/ar odą. Su gimdos kaklelio vėžiu dažniausiai siejami 16 ir 18 ŽPV tipai. Nustačius, kad moteris moteris užsikrėtusi ŽPV reikėtų atidžiau sekti gimdos kaklelį dengiančių ląstelių – epitelio – pakitimus. ŽPV infekcijos eiga priklauso ir nuo vietinio gimdos kaklelio imuniteto – esant gerai vietinio imuniteto būklei – pasveikstama per 36 mėnesius.

Taip pat tyrimo metu bus paimama 10 ml. kraujo iš venos. Mėginiuose bus tiriami bendro imuniteto būklę atspindintys rodikliai.

Pagal Lietuvos Respublikos sveikatos apsaugos ministerijos 1996 05 10 įsakymą Nr.248 10 – 14 ir 36 – 40 nėštumo savaitę turi būti atliekamas pilnas kraujo tyrimas, imant kraują iš venos, ir bakterioskopinis gimdos kaklelio ir makšties išskyrų

tyrimas. Taigi Jums sutikus dalyvauti šiame tyrime papildomos medicininės procedūros nebus atliekamos.

Tyrime dalyvauja vyresnės nei 18 m. amžiaus nėščios moterys.

Planuojamas tyrimas Jums naudingas, nes bus nustatyta ŽPV infekcija, ištirti viruso tipai, nustatyta Jūsų imuninės sistemos būklė.

Atliekami tyrimai yra visiškai nežalingi. Tiriamosios visada gali pasikonsultuoti su savo šeimos gydytoju ar kitu specialistu iškilus neaiškumams dėl tyrimo.

Jūsų slaptumas yra garantuojamas. Susipažinti su duomenimis, leidžiančiais nustatyti Jūsų tapatybę, galės tik Jus gydanti gydytoja, o koduota informacija bus prieinama tik tyrėjų grupės dalyviams. Tyrimo metu surinkti tiriamųjų asmens duomenys bei paimti mėginiai bus saugomi 3 metus Vilniaus Universiteto Onkologijos Institute ir už tai bus atsakingi pagrindiniai tyrėjai..

Jūs galite laisvai apsispręsti, ar dalyvauti tyrime, taip pat pasitraukti iš jo bet kuriuo metu. Tai nesukels jokių kliūčių tęsti įprastinę Jūsų priežiūrą.

Jūs turite teisę atsisakyti dalyvauti tyrime ir šis atsisakymas niekaip neįtakos Jūsų tolimesnės medicininės priežiūros. Jūs taip pat galite bet kada atšaukti savo sutikimą dalyvauti tyrime. Jums atsisakius dalyvauti tyrime paimti mėginiai bus sunaikinti ir su jais nebebus atliekami jokie tyrimai;

Už dalyvavimą tyrime atlyginimas nėra numatomas.

Dėl savo, kaip tyrimo dalyvio teisių, galite kreiptis į Lietuvos bioetikos komitetą, tel. (8~5) 2124565

INFORMUOTOJO ASMENS SUTIKIMO FORMA

Tyrimo pavadinimas:

***VEIKSNIŲ, LEMIANČIŲ ŽMOGAUS PAPILOMOS VIRUSO INTEGRACIJĄ
NĖŠČIŲ MOTERŲ GIMDOS KAKLELIO EPITELYJE, TYRIMAS***

Pacientės vardas, pavardė: _____

Adresas: _____

Perskaičiau pateiktą informaciją apie tyrimą, kuriame buvau pakviesta dalyvauti. Galėjau aptarti tyrimą su tyrinėtoju ir užduoti jam klausimus. Tyrinėtojas paaiškino tyrimo esmę bei tikslą ir aš suprantu, kas man yra siūloma.

Suprantu, kad šis tyrimas yra dalis tyrimo projekto, kuriuo siekiama gerinti medicinos žinias, ir yra patvirtinti biomedicininio tyrimų etikos komitete.

Buvau informuota, kad planuojamame tyrime bus atliekami tyrimai, apie kuriuos man buvo paaiškinta. Suprantu, kad mano dalyvavimas tyrime ir mano individualūs tyrimo duomenys liks paslapyje. Pasinaudoti šiais duomenimis galės tik tyrinėtojas.

Taip pat esu įspėtas, kad vienu metu galiu dalyvauti tik viename klinikiniame tyrime.

Sąmoningai ir laisva valia sutinku dalyvauti tyrime, kuris man buvo išaiškintas.

Pacientės (savanorės) **vardas, pavardė** (didžiosiomis raidėmis):

Pacientės (savanorės) **parašas**:

Aš, pagrindinis tyrinėtojas, atsakingas už šį tyrimą, patvirtinu, kad paaiškinau anksčiau paminėtai pacientei (savanorei) būsimojo tyrimo esmę ir tikslą.

Pagrindinio tyrinėtojo **vardas, pavardė**: Gintautas Domža

Pagrindinio tyrinėtojo **parašas**:

Data:

Jeigu Jums iškilo problemų dėl šio tyrimo, prašome pranešti:

Pagrindiniam tyrinėtojui: **Gintautui Domžai Tel.: 8-603-42216**



LIETUVOS BIOETIKOS KOMITETAS

Kodas 188710595, Didžioji g. 22, LT-01128 Vilnius, tel./faks. + (370~5) 212 45 65, www.sam.lt/bioetika

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2008-03-26 Nr.: 21/2

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Veiksnių, lemiančių žmogaus papilomos viruso integraciją nėščių moterų gimdos kaklelio epitelyje, tyrimas“	
Protokolo Nr.:	OIT-07-06-26
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Asmens informavimo ir informuoto asmens sutikimo forma: Versija: 1 Data: 2007 m. birželio 20 d.	
Klausimynas pacientui: Versija: 1 Data: 2007 m. birželio 20 d.	
Pagrindinis tyrėjas:	Med. m. dr. Živilė Gudlevičienė
Biomedicininio tyrimo vieta: Įstaigos pavadinimas: VŠĮ Vilniaus Universiteto Onkologijos Institutas Įstaigos adresas: Santariškių 1, Vilnius Įstaigos pavadinimas: VŠĮ Vilniaus Universiteto imunologijos Institutas Įstaigos adresas: Molėtų pl. 29, Vilnius	

Leidimas išduotas Lietuvos bioetikos komiteto posėdžio, įvykusio 2008 m. kovo 18 d., sprendimu.

Lietuvos bioetikos komiteto biomedicininį tyrimų ekspertų grupės nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1	Gyd. Gintarė Breivienė	Pediatrija	taip
2	Gyd. Vytautas Čepulis	Onkologija	taip
3	Doc. Eugenijus Gefenas	Bioetika	taip
4	Doc. Zita Liubarskienė	Filosofija	taip
5	Dr. Andrius Narbekovas	Teologija	taip
6	Prof. Algimantas Raugėlė	Pediatrija	taip
7	Doc. Krescentius Stoškus	Filosofija	taip
8	Gyd. Vytautas Tutkus	Mikrochirurgija	ne
9	Dalia Zeleckienė	Teisė	ne

Lietuvos bioetikos komitetas dirba vadovaudamasis Geros Klinikinės Praktikos taisyklėmis, kurias siūloma priimti Europos Sąjungos, Japonijos ir JAV valdžios struktūroms

Pirmininkas



Eugenijus Gefenas



LIETUVOS BIOETIKOS KOMITETAS

Valstybės biudžetinė įstaiga, Didžioji g. 22, LT-01128 Vilnius, tel. (8 5) 212 4565, faks. (8 5) 260 8640,
el. p. lbek@sam.lt, http://bioetika.sam.lt
Duomenys kaupiami ir saugomi Juridinių asmenų registre, kodas 188710595

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2008-11-04 Nr.: 60

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Veiksnių, lemiančių žmogaus papilomos viruso integraciją nėščių moterų gimdos kaklelio epitelijoje, tyrimas“	
Protokolo Nr.:	OIT-07-06-26
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Asmens informavimui ir informuoto asmens sutikimo forma:	
Versija:	1
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Klausimynas pacientui:	
Versija:	1
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Pagrindinis tyrėjas: Gyd. Gintautas Domža	
Biomedicininio tyrimo vieta:	
Istaigos pavadinimas:	VšĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų
Istaigos adresas:	Centro filialas Žygimantų g. 3, Vilnius

Leidimas išduotas Lietuvos bioetikos komiteto posėdžio, įvykusio **2008 m. spalio 21 d.**, sprendimu.

Lietuvos bioetikos komiteto biomedicininį tyrimų ekspertų grupės nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1	Gyd. Gintarė Breivienė	Pediatrija	ne
2	Gyd. Vytautas Čepulis	Onkologija	taip
3	Doc. Eugenijus Gefenas	Bioetika	taip
4	Doc. Zita Liubarskienė	Filosofija	taip
5	Dr. Andrius Narbekovas	Teologija	taip
6	Prof. Algimantas Raugalis	Pediatrija	taip
7	Doc. Krescentius Stoškus	Filosofija	taip
8	Gyd. Vytautas Tutkus	Mikrochirurgija	taip
9	Dalia Zeleckienė	Teisė	ne

Lietuvos bioetikos komitetas dirba vadovaudamasis Geros Klinikinės Praktikos taisyklėmis, kurias siūloma ~~pažinti~~ Europos Sąjungos, Japonijos ir JAV valdžios struktūroms

Vyriausioji specialistė,
i.e. pirmininko pareigas



Ingrida Narušytė-Daugėlienė



LIETUVOS BIOETIKOS KOMITETAS

Kodas 188710595, Didžioji g. 22, LT-01128 Vilnius, tel./faks. + (370~5) 212 45 65, www.sam.lt/bioetika

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2008-03-26 Nr.: 21/1

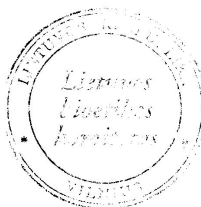
Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Veiksnių, lemiančių žmogaus papildomos viruso integraciją nėščių moterų gimdos kaklelio epitelijoje, tyrimas“	
Protokolo Nr.:	OIT-07-06-26
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Asmens informavimo ir informuoto asmens sutikimo forma:	
Versija:	1
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Klausimynas pacientui:	
Versija:	1
Data:	2007 m. birželio 20 d.
Pagrindinis tyrėjas:	Gyd. Gintautas Domža
Biomedicininio tyrimo vieta:	
Istaigos pavadinimas:	VšĮ Centro poliklinika
Istaigos adresas:	Pylimo g. 3/1, Vilnius
Istaigos pavadinimas:	VšĮ Vilniaus Universiteto imunologijos Institutas
Istaigos adresas:	Molėtų pl. 29, Vilnius

Leidimas išduotas Lietuvos bioetikos komiteto posėdžio, įvykusio 2008 m. kovo 18 d., sprendimu.

Lietuvos bioetikos komiteto biomedicininį tyrimų ekspertų grupės nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1	Gyd. Gintarė Breivienė	Pediatrija	taip
2	Gyd. Vytautas Čepulis	Onkologija	taip
3	Doc. Eugenijus Gefenas	Bioetika	taip
4	Doc. Zita Liubarskienė	Filosofija	taip
5	Dr. Andrius Narbekovas	Teologija	taip
6	Prof. Algimantas Raugalė	Pediatrija	taip
7	Doc. Krescentius Stoškus	Filosofija	taip
8	Gyd. Vytautas Tutkus	Mikrochirurgija	ne
9	Dalia Zeleckienė	Teisė	ne

Lietuvos bioetikos komitetas dirba vadovaudamasis Geros Klinikinės Praktikos taisyklėmis, kurias siūloma priimti Europos Sąjungos, Japonijos ir JAV valdžios struktūroms

Pirmininkas



Eugenijus Gefenas