

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ GENERALĂ**

**TRANSMITEREA MATERNO - FETALĂ A HUMAN PAPILLOMA VIRUS –
IMPLICAȚII NEONATALE**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. RADU VLĂDĂREANU

Student-doctorand:

SIMONA-DANIELA POPESCU (SAVU)

2022

Cuprins

INTRODUCERE	10
1. PARTEA GENERALĂ	13
1.1. Papilomavirusul uman	14
1.1.1. Structura genomică	14
1.1.2. Ciclul de viață al virusului papilloma uman	15
1.1.3. Clasificarea HPV	17
1.2. Patogenie.....	19
1.2.1. Distribuția anatomică	19
1.2.2. Localizare epitelială și celulară la nivel de gazdă	19
1.2.3. Diferențierea între tipurile HPV de risc înalt și risc scăzut.....	19
1.2.4. Manifestările clinice și efectele infecției cu HPV.....	20
1.3 Epidemiologie și căi de transmitere	22
1.3.1 Vârsta și tipul de infecție	22
1.3.2 Factorii de risc	23
1.3.3 HPV și sarcina	24
1.3.4 HPV la copii	25
1.3.5 Căile de transmitere	25
1.3.6 Operația cezariană versus nașterea vaginală	30
1.3.7 Detectarea ADN-lui HPV la nivelul placentei.....	31
1.4 Procesele imunologice implicate în infecția cu HPV.....	33
1.4.1 Celulele prezentatoare de antigen	33
1.4.2 Limfocitele de tip T	33
1.4.3 Tipuri de imunitate	35
1.4.4 Anticorprii.....	37
1.5 Vaccinarea anti-HPV	38
1.6 Investigațiile paraclinice	42
1.6.1 Metode morfologice	42
1.6.2 Metode de detecție bazate pe acizii nucleici	43
1.6.3. Metode serologice de evidențiere a HPV	44
1.7 Implicațiile neonatale	46
1.7.1 Prematuritatea asociată infecției HPV	46
1.7.2 Restricția de creștere intrauterină asociată infecției HPV	51
1.8 Implicațiile pediatrice	52
1.8.1 Papilomatoza respiratorie recurentă	52

II. PARTEA PERSONALĂ (CONTRIBUȚIA ORIGINALĂ)	57
2.1. Obiectivele generale ale tezei de doctorat	58
2.2. Ipotezele de lucru ale cercetării	59
CAPITOLUL 3. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII.....	60
3.1. Tipul studiului.....	60
3.2. Populația de studiu.....	60
3.2.1. Criteriile de includere	61
3.2.2. Criteriile de excludere	62
3.3. Protocolul de examinare.....	62
3.3.1. Examenul clinic obiectiv	62
3.3.2. Examenul microbiologic al secreției cervico – vaginale	62
3.3.3. Examenul citologic Babeș – Papanicolaou	62
3.3.4. Genotiparea HPV	64
3.3.5. Diagnosticul de laborator:.....	64
CAPITOLUL 4. EVALUAREA LOTULUI DE GRAVIDE LA ÎNROLARE	70
4.1. Introducere.....	70
4.2. Material și metodă	70
4.2.1. Tipul studiului	70
4.3. Rezultate	71
4.3.1. Date generale.....	71
4.4. Discuții	97
4.5. Concluzii	107
CAPITOLUL 5. TRANSMITEREA MATERNO-FETALĂ A INFECȚIEI HPV ...	108
5.1. Introducere.....	108
5.3. Rezultate	109
5.4. Discuții	115
6.5. Concluzii	121
CAPITOLUL 6. INFECȚIA HPV ȘI PREMATURITATEA	123
6.1. Introducere.....	123
6.2. Material și metodă	125
6.3. Rezultate	125
6.4. Discuții	133
6.5. Concluzii	137
CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	138
Bibliografie	147
Anexa 1. Chestionar studiu HPV	166
Anexa 2. Consimțământ informat.....	167
Lista publicațiilor și a prezentărilor din tema de doctorat.....	168

INTRODUCERE

Virusul papilloma uman (human papilloma virus, HPV) este cunoscut ca fiind factorul etiologic principal incriminat în dobândirea cancerului de col uterin, dar poate determina și leziuni cu specific benign de tip condilomatos. Astfel, reținem posibilitatea de a încadra virusul în două categorii: categoria de risc oncogen scăzut, respectiv categoria de risc oncogen înalt. Cel mai mare risc este asociat de obicei de prezența tulpinilor 16, respectiv 18, care pot induce apariția unei leziuni displazice și, mai târziu, în lipsa instituirii unui tratament medicamentos sau chirurgical, acestea putând deveni leziuni de tip neoplazic.

Căile de transmitere posibile sunt în mare parte dependente de contactul de natură sexuală, dar au fost descrise căi de transmitere verticale (materno-fetală) care poate avea loc atât în perioada prenatală (pe parcursul sarcinii sau preconcepțional), cât și peripartum (în timpul travaliului sau nașterii), respectiv căi de transmitere orizontale (prin alăptare).¹

În afara riscului neoplazic determinat de virusul în cauză, au fost luate în calcul impactul și outcome-ul în sarcină. Această măsură are la bază modificările de natură fiziologică pe care le comportă gravida pentru a menține sarcina până la termen. Astfel, mediul hormonal și sistemul imunitar al gravidei pot fi considerați factori determinanți și, astfel, favorizanți în persistența virală. Riscurile potențiale determinate de HPV în sarcină încadrează prematuritatea, riscul de ruptură prematură a membranelor amniotice, riscul crescut de avort spontan, complicațiile materne din spectrul hipertensiunii arteriale ce pot atrage după ele o greutate fetală mai mică la momentul nașterii până la restricție de creștere intrauterină.

Astfel, prin înțelegerea și aprofundarea mecanismelor de natură fiziopatologică utilizate de HPV, mecanisme care pot avea un rol nefast pe parcursul unei sarcini, putem determina o abordare holistică a acestor cazuri care să ne ofere un potențial mai bun în contracararea efectelor negative și optimizarea outcome-ului obstetrical și perinatal.

Trebuie menționat faptul că literatura nu ne oferă, într-un număr bogat, informații cu privire la infecția HPV și implicațiile pe care le are aceasta atât asupra gravidei, cât și asupra produsului de concepție.

Cu privire la stadiul actual al cunoașterii, menționez studii care au evaluat implicarea sau asocierea infecției virale în nașterea prematură (studii pe care le voi detalia pe parcursul tezei de cercetare). Astfel, au fost descrise asocieri semnificative statistic atât în cazul gravidelor cu ruptura prematură a membranelor amniotice (premature rupture of amniotic membranes, PROM)², cât și în cazul gravidelor cu ruptura precoce, la termen, a

membranelor amniotice (Term prelabor rupture of membranes, Ruptura precoce înainte de travaliu a membranelor amniotice, TPROM).³

De asemenea, pe parcursul tezei de cercetare vor fi detaliate studii care evaluează riscul asupra transmiterii materno-fetale a infecției HPV.

Studiul nostru se încadrează la studiile de tip prospectiv, ce prezintă diferențele obținute între cele două loturi de gravide (lot martor HPV negativ și lot de studiu HPV pozitiv). A fost desfășurat pe o perioadă de 3 ani și cuprinde un număr de 49 de gravide cu istoric recent de infecție HPV dobândit anterior prezentei sarcini, citologie Babeș-Papanicolau modificată și condilomatoză la nivelul regiunii ano-genitale în contextul infecției HPV, respectiv un lot de 49 de gravide HPV negative. Menționez că aceste repere clinice și caracteristicile lotului de lucru sunt similare lotului din studiul HERITAGE, ale cărui rezultate vor fi menționate în teză.

În ceea ce privește rezultatele preliminare ale studiului nostru, menționez că am împărțit studiul astfel încât să studiez comparativ atât datele epidemiologice ale celor două loturi de gravide, cât și riscul cu privire la transmiterea materno-fetală a virusului HPV, respectiv, riscul nașterii premature în cele două loturi.

Astfel, țin să specific faptul că nu am determinat o asociere superioară a infecției HPV cu tulburările de natură hipertensivă, sau cu durata globală a travaliului în lotul de lucru comparativ cu lotul martor.

Pe de altă parte, în studiul nostru am constatat o superioritate procentuală în ceea ce privește riscul de avort spontan determinat atât de prezența tulpinilor oncogene (cu precădere un risc determinant al tulpinii 16), cât și de statutul marital al gravidelor indiferent de natura tulpinii în raport cu acest ultim parametru.

De asemenea, în urma analizării asocierii dintre riscul de naștere prematură și prezența virusului la nivel genital, această asociere a fost grevată de semnificație statistică, fără a determina un risc mai mare de naștere prematură pentru infecțiile determinate de tulpinile oncogene comparativ cu cele non-oncogene (studiind la acest nivel și riscul determinant particular al tulpinii 16).

În schimb, în urma analizării riscului de naștere prematură în rândul pacientelor cu PROM am constatat un risc de 100% în lotul de lucru, fiind de asemenea un risc mai mare pentru PROM în cazul asocierii unei tulpini oncogene.

Limitele studiului au la bază, în primul rând, caracterul unicentric, studiul fiind desfășurat exclusiv în Clinica de Obstetrică-Ginecologie și Neonatologie a Spitalului Universitar de Urgență “Elias”.

În al doilea rând, menționez prevalența redusă în mod așteptat a infecției HPV la gravidele incluse în studiu, acest fapt putând fi explicat prin metoda de recoltare a probelor pentru genotiparea virusului doar de la nivelul colului uterin și nu și de la nivelul secreției vaginale.

În al treilea rând determinările au fost efectuate periconcepțional (înainte de concepție sau în primul trimestru de sarcină), fiind astfel determinată doar din punct de vedere calitativ prezența virusului HPV.

În al patrulea rând, menționez faptul că urmărirea postpartum a nou-născuților a avut loc doar din punct de vedere clinic pentru a obiectiva anumite semne sau simptome specifice infecției virale. Reținem la acest punct faptul că, prin alăptarea exclusivă, aceștia pot dobândi infecția HPV de la mamă, pe cale orizontală.

Specificând limitele prezentei teze de doctorat, deschid în acest mod calea spre noi idei și oportunități în ceea ce privește nivelul de cercetare.

CAPITOLUL 1. PARTEA GENERALĂ

Papilomavirusurile au o distribuție largă la nivel mondial, regăsindu-se într-un număr de peste 200 de tipuri care au fost identificate atât la regnul animal, cât și la oameni, având un tropism predominant pentru celulele epiteliale scuamoase de la nivel cutaneo-mucos.⁴

Infecția cu HPV determină, în funcție de genotipul implicat, atât leziuni proliferative de tip benign precum vegetațiile sau papiloamele, cât și formarea unor leziuni preneoplazice care pot evolua și determina ulterior dezvoltarea cancerului cervical.

HPV este un virus ADN, care, în ciuda heterogenității pe care o prezintă Papilomavirusurile, organizarea genomică este similară pentru majoritatea tipurilor de HPV. Acestea sunt virusuri simple fără anvelopă, care au o dimensiune de aproximativ 55 nm și sunt constituite dintr-un ADN dublu catenar, acoperit de o capsidă virală icosaedrică, care are în componență 72 de capsomere. Expresia genelor aparținând acestei familii de virusuri se realizează prin intermediul unor promotori virali, doi dintre aceștia regăsindu-se în cadrul genomului HPV cu risc înalt: promoterul p97 – HPV 16 localizat la nivelul LCR și p670 – HPV 16, localizat la nivelul oncogenei E7.

HPV este un virus dependent de celula gazdă pentru că nu conține enzima de tip polimerază sau alte tipuri de enzime implicate în replicarea virală, motiv pentru care se sintetizează cu ajutorul proteinelor care contribuie la replicarea celulară a gazdei.^{5,6}

La nivelul colului uterin, în timpul perioadei de embriogeneză, epiteliul mullerian este înlocuit treptat de către epiteliul scuamos stratificat până în apropierea orificiului cervical extern unde se evidențiază joncțiunea scuamocilindrică congenitală (originală) ce delimitează cele două tipuri de epitelii. Acest proces de metaplazie scuamoasă celulară se află sub stimul hormonal, localizarea joncțiunii scuamocilindrice variind în funcție de vârstă; astfel, în adolescență, în sarcină precum și în cazul administrării contracepției orale combinate are loc o eversiune a joncțiunii la nivelul exocervixului, fenomen care este urmat de o regresie la nivelul canalului endocervical în timpul menopauzei, în cazul prelungirii perioadei de alăptare cât și în cazul administrării minipilulelor (contracepția progestativă). Procesul de metaplazie scuamoasă se desfășoară continuu, fapt care face ca această zonă de tranziție să fie susceptibilă dezvoltării oncogenice, motiv pentru care zona colului uterin și a canalului anal sunt cunoscute drept situsuri preferențiale pentru tipurile HPV de risc înalt.⁷

Virusul pătrunde la nivel tisular prin intermediul unei escoriații sau a unui microtraumatism sau, în cazuri particulare, prin insuficienta maturitate a epiteliului, creând astfel condiții optime pentru replicare. Au fost descrise zone mai predispuse, care facilitează aderarea virală, precum foliculul de păr sau zona de tranziție epitelială de la nivelul colului uterin, dar și de la nivelul canalului anal, tractului respirator superior și bronhiilor. Astfel, foliculii de păr pot fi considerați un rezervor viral important la nivelul regiunii ano-genitale.

După ce virusul pătrunde în organism, depășind bariera epitelială superficială, se atașează la nivelul celulei gazdă cu ajutorul unor receptori, printre aceștia regăsindu-se glicozaminoglicanul heparan-sulfat, respectiv α -6 integrina sau laminina 5. Ulterior, virusul este transportat la nivelul endozomilor, pe care îi va părăsi în momentul în care se va forma un complex între genomul viral și proteina L2 a capsidului viral și se va integra la nivelul nucleului.

Mitoza va începe să se desfășoare la nivelul celulei mai profund strat, stratul bazal al epiteliului scuamos reprezentat dintr-un singur strat celular așezat pe o membrană bazală subțire. La nivel bazal, numărul de copii ale genomului va fi scăzut, variind între 10-200 de copii/celulă, totul aflându-se sub influența și controlul proteinelor virale E1 și E2. Pe durata fazei S va avea loc replicarea virală, proces care are loc sincron cu cea a celulelor gazdă,

depinzând în totalitate de diferențierea acestora. Astfel, ciclul de viață al HPV are loc strict la nivelul unui epiteliu scuamos complet diferențiat și integrat.⁸

Atunci când celulele infectate părăsesc stratul bazal și avansează spre cel superficial, începe proliferarea, virionii divizându-se în celulele fiice. Va crește astfel expresia genelor E6 și E7, care au rolul de a amplifica numărul de copii ale genomului, ajungând până la 1000 de copii/ celulă, moment în care diferențierea keratinocitelor este încetinită. Genomul sintetizat este asamblat în capsidă, compuse din proteinele virale L1 și L2, aceasta fiind forma finală sub care vor fi eliberați virionii. Ulterior, activitatea genelor E6 și E7 se va reduce, permițând diferențierea completă a celulelor gazdă, formând noi straturi superficiale.

Timpul de la infecție până la eliberarea virală durează în medie trei săptămâni, iar pentru apariția leziunilor clinice acest interval poate varia de la săptămâni până la luni.⁹⁻¹² HPV-ul, fiind un virus cu tropism strict epitelial, este regăsit cel mai frecvent la nivelul țesutului cutant și la nivelul tractului ano-genital, însă au fost descrise cazuri cu localizare la nivelul mucoasei oro-faringiene, laringiene și, mai rar, la nivelul mucoasei esofagiene, traheale, bronșice, sinusurilor nazale, conjunctivale și tractului urinar.¹³

Din punct de vedere clinic, tipurile de HPV se clasifică pe baza oncogenității precum și a strânsei asocieri cu neoplazia cervicală în HPV de risc înalt, respectiv HPV de risc scăzut. În categoria de risc scăzut se regăsesc în principal genotipurile 6 și 11 care sunt responsabile pentru majoritatea leziunilor de tip papilomatos, acestea rareori asociind risc oncogen. Pe de altă parte, în categoria de risc înalt se regăsesc genotipurile 16, 18, 31, 33, 35, 45 și 59, cele menționate justificând aproximativ 95% din leziunile preneoplazice și neoplazice ale colului uterin. De evidențiat ar fi tipul 16 care prezintă cel mai mare risc oncogen, risc determinat de tendința virusului de a cauza infecție persistentă spre deosebire de alte genotipuri de risc înalt. Evoluția către neoplazie, chiar și în prezența unor tulpini de risc înalt, nu este o consecință obligatorie, pentru acest fapt fiind necesari factori suplimentari care se rezumă la imunocompetența gazdei și la mediul înconjurător.⁷

Din punct de vedere structural, diferențierea dintre cele două categorii este realizată în principal prin intermediul celor două proteine virale E6 și E7, după cum urmează:

În mod natural, există gena E2 care suprimă transcripția E6 și E7, împiedicând astfel transformarea celulară și, prin extensie, dezvoltarea leziunilor de tip invaziv. Însă, în momentul în care are loc integrarea genomului viral în celula gazdă, gena E2 este inactivată, fapt ce determină o creștere consecutivă a nivelului proteinelor E6 și E7 facilitând astfel inițierea cancerigenă.¹⁴

Proteina E7 acționează prin legarea și degradarea proteinelor care aparțin familiei retinoblastomului (pRb), care de altfel sunt reglatori centrali ai etapelor de oncogeneză. Pentru tipurile virale cu risc înalt, E7 degradează majoritatea pRb-urilor, pe când în cazul tulpinilor virale cu risc scăzut, este influențată doar o singură proteina pRb - 130.

Pe de altă parte, mai există proteina de supresie tumorală, p53, unul dintre factorii importanți de reglare ai ADN-ului și de inițiere ai apoptozei mai ales pentru celulele cu o progresie aberantă a leziunilor invazive. Totodată, există și complexul telomerazei, care odată activat menține deschise spre repetitivitate capetele telomerice ale cromozomilor. Acestea în mod normal, pe măsură ce se consumă din numărul finit al diviziunilor celulare, determină apoptoză. În cazul infecției cu HPV, proteina E6 inactivează proteina p53 și activează complexul telomerazei, împiedicând apoptoza celulară.^{11, 15-18}

Infecția cu HPV este una dintre cele mai comune infecții transmisibile sexual, motiv pentru care cele mai studiate au fost cele cu localizare genitală, în special din cauza corelației cu cancerul de col uterin. Din punct de vedere clinic au fost descrise 3 tipuri de infecții:

- Latente: În general sunt infecții asimptomatice, fără modificări la nivel citologic sau histologic. În cazul acesta, ADN-ul viral poate fi identificat numai prin metode moleculare mult mai sensibile.
- Subclinice: În general atestă schimbări minore la nivel de examen citologic și histologic, nedeterminând leziuni aparent clinic.
- Clinice: Pentru acestea au fost descrise proliferări celulare anormale, de tip acantoză epitelială, koilocitoză și diskeratoză, iar clinic de la vegetații și condiloame până la displazie de grad scăzut spre înalt.¹⁹

Totuși, deși incidența este în creștere, majoritatea infecțiilor sunt **tranzitorii** și devin nedetectabile într-un interval de 1-2 ani. Infecțiile care nu se încadrează în definiția de „tranzitorii”, sunt denumite persistente, dar nu există o definiție clară, fiind considerate pe de o parte infecții care sunt detectate de cel puțin două ori consecutiv la un interval de 4-6 luni, respectiv pe de altă parte infecții care au o durată mai lungă decât media duratei infecției. Pe scurt, infecțiile persistente sunt cele pe care sistemul imunitar al gazdei nu le-a putut elida. Acest tipar de infecție a fost corelat în mod particular cu tulpinile HPV de risc înalt.

S-a demonstrat totodată că pe măsură ce se produce înaintarea în vârstă, crește riscul de persistență al infecției HPV.²⁰⁻²⁵

În ultimii ani, multiple studii au fost efectuate cu scopul de a identifica incidența infecției HPV la mamă și la nou născut. Un studiu randomizat a fost efectuat în Polonia, pe o

perioadă de 2 ani care a cuprins un lot de 152 de gravide și nou născuții acestora. Au fost recoltate probe de la nivelul mucoasei orale a nou născuților și probe orale și genitale de la gravide, în scopul identificării infecției HPV. Rezultatele au arătat că există un risc de 11 ori mai mare ca probele recoltate de la nivelul mucoasei orale a nou-născuților proveniți din mame cu probe pozitive pentru HPV să asocieze de asemenea un rezultat pozitiv, acest lucru fiind de luat în considerare în ceea ce privește riscul transmiterii, dacă gravida este testată ca fiind pozitivă.²⁶

Pe lângă factorii virali determinanți ai unei infecții, au fost luați în considerare și alți factori care, în cea mai mare parte, sunt dependenți de gazdă. Dintre aceștia au fost studiați vârsta la momentul de debut al contactului sexual, paritatea, statusul de imunocompetență versus cel de imunosupresie, utilizarea de contraceptive orale combinate, fumatul, un istoric de boli cu transmitere sexuală sau existența vegetațiilor specifice HPV, rezultatele anterioare ale testului Babeș-Papanicolau.

Incidența mai ridicată a infecției la femeile tinere poate fi datorată pe de-o parte riscului mai înalt de comportamente sexuale inadecvate (număr crescut de parteneri sexuali, lipsa metodelor contraceptive de barieră), respectiv pe de altă parte unui status imunitar mai deficitar, dar și unei vulnerabilități fiziologice determinată de maturarea mai accentuată a colului uterin la această grupă de vârstă, influențată în mare parte și de consumul de țigarete sau contraceptive orale combinate, proces observat și pe parcursul sarcinii.²⁷⁻³²

Sarcina este considerată ca fiind factor de risc pentru infecția cu HPV pe de-o parte secundar modificărilor hormonale produse care determină creșterea vascularizației și metaplazia scuamoasă accentuată la nivelul colului uterin, precum și din cauza unui status imunitar precar.³²⁻³⁴

Una dintre complicațiile severe în sarcină este hipertensiunea arterială indusă de sarcină (HTAIS), astfel că un element de studiu a fost asocierea infecției HPV cu riscul de tulburări din spectrul hipertensiv. Preeclampsia sau HTAIS reprezintă o complicație potențial severă care poate surveni atât începând cu săptămâna a 20-a de sarcină, cât și în perioada postpartum, de lehuzie, și poate avea consecințe lezionale asupra organelor materne vitale. E important de menționat faptul că rezultatele materno-fetale sunt direct proporționale cu gradul de severitate al afecțiunii hipertensive, pacientele având suplimentar un risc de a dezvolta ulterior boli cardiovasculare și/sau renale pe parcursul vieții.³⁵ În urma unui review sistematic, s-a decelat un procent de aproximativ 5% din sarcini care sunt complicate de preeclampsie.

Un studiu de tip caz-control efectuat asupra 108 pacienți a determinat o prevalență similară a ADN-ului HPV în probele recoltate de la nivel placentar între cele 2 loturi studiate comparativ³⁶, iar un studiu retrospectiv de tip cohortă a determinat o dublare a riscului de preeclampsie în cazul pacientelor diagnosticate cu infecție HPV HR³⁷ spre deosebire de 2 studii care nu au decelat impact negativ asupra sarcinii, unul dintre acestea fiind efectuat asupra unei cohorte de 15.357 de paciente.^{2,38}

Se poate vorbi despre statusul de copil infectat cu HPV deoarece au fost identificate și alte căi de transmitere ale infecției decât cea sexuală. La aceștia au fost frecvent identificate și au o incidență în creștere vegetațiile și papiloamele caracteristice infecției cu HPV, dintre care cea mai rară, dar și cea mai gravă este papilomatoza respiratorie recurentă juvenilă (JORRP), a cărei cauză sunt tulpini virale HPV 6 și 11.³⁹

La nou-născut, leziunile au fost identificate la nivelul mucoasei orale, conjunctivale, genitale și la nivel cutanat. Manifestările clinice includ condiloame cutanate și ano-genitale dar și papiloame orale, conjunctivale și laringiene.

HPV-ul a fost luat în evidență drept o infecție cu transmitere sexuală, în principal din cauza acestei modalități de a contacta boala, însă studiile din ultima perioadă au evidențiat această prezență virală chiar și în cazul pacientelor care nu au avut un debut sexual, precum și în cazul copiilor. Aceasta a dus în cele din urmă la prezumția conform căreia există și alte modalități de a transmite și de a contacta boala. Următoarele căi au fost descrise:

- Verticală: Dobândirea infecției are loc pe parcursul sarcinii și în momentul nașterii, în urma traversării filierei pelvi-genitale. În acest caz, prezența condiloamelor genitale materne a fost considerată rezervor al infecției care poate determina afectarea respiratorie la copii prin determinarea JORRP.
 - Periconcepțională: Transmiterea se produce în timpul procesului de fertilizare, HPV-ul fiind detectat la nivelul organelor implicate în procesul de reproducere umană precum endometrul și ovarele în cazul sexului feminin, respectiv lichidul seminal, ductul deferent și uretra în cazul sexului masculin. A fost demonstrată capacitatea spermatozoizilor de a transporta virusul la nivelul ovocitelor, unde au fost detectate și elemente ale genomului viral, după procesul de fecundare.⁴⁰⁻⁴² ADN-ul viral a fost identificat în proporție variabilă de 8 până la 64% în lichidul seminal și la nivelul spermatozoizilor.⁴³
 - Prenatală: Infecția este contactată pe durata sarcinii, în utero, pe de-o parte prin intermediul circulației placentare, deși nu au fost încă realizate studii care

să ateste cu certitudine prezența viremiei. Pe de altă parte a fost luată în considerare calea ascendentă de transmitere, pornind de la nivelul tractului genital. Contaminarea în perioada prenatală este susținută și de prezența leziunilor prezente la nou născut imediat după naștere.⁴⁴

- Perinatală: Această cale este mai probabilă mai ales în cazul nașterii pe cale vaginală, deoarece nou născutul intră în contact direct cu țesuturile endocervicale și vaginale maternelor. Această teorie este susținută prin prezența la nivel nazo-faringian sau genital a ADN-ului viral la nou născut. Dar totuși nu se consideră că în cazul nașterii prin operație cezariană se elimină în totalitate riscul de dobândire al infecției la nou născut.^{44, 45}
- Orizontală: Aceasta are loc prin contactul direct al tegumentelor cu leziunea infectantă,⁴⁶ prin laptele matern⁴⁷ sau de pe suprafețe.

Studii au fost efectuate în ceea ce privește transmiterea prin laptele matern, însă rezultatele nu sunt unanime din cauza variabilității metodelor de detecție a ADN-ului viral.

Transmiterea prin intermediul suprafețelor a fost luată în considerare și astfel au fost efectuate studii în acest sens. Un studiu din 2014, demonstrează că virusul poate supraviețui în mediul extern și își păstrează capacitatea de infecțivitate, dacă sunt folosite dezinfectante comune pentru curățarea suprafețelor.

În ceea ce privește transmiterea HPV-ului prin laptele matern, aceasta variază între 2-8%.⁴³

- Autoinoculare.

CAPITOLUL 2. OBIECTIVELE GENERALE ȘI IPOTEZELE DE LUCRU

Obiectivele generale ale tezei de doctorat

Lucrarea de față s-a concentrat pe abordarea nașterii premature în rândul pacientelor cu infecție HPV, infecție cu potențial curabil căreia i se asociază în plan secundar și mortalitatea evitabilă a neoplaziei cervicale obținută prin depistarea precoce atât a infecției HPV, cât și a displaziei cervicale.

Așa cum am specificat în cadrul părții generale, având în vedere faptul că infecția cu HPV rămâne factorul etiologic principal și, prin urmare, condiția necesară pentru dezvoltarea anomaliilor celulare scuamoase sau glandulare determinate citologic ce induc evoluția către

neoplazia cervicală, putem sublinia rolul extrem de important al implicării genotipării în programele de prevenție primară.

Lucrarea noastră de cercetare și-a propus să sublinieze importanța depistării precoce a infecției HPV, prin analiza statusului clinic, citologic, virusologic la un grup de gravide, pentru un interval de 3 ani. De asemenea, și-a propus urmărirea clinică și biologică a produsului de concepție rezultat în urma nașterii atât în lotul de gravide cu infecție HPV, cât și în lotul martor.

Obiectivele generale ale tezei de cercetare sunt reprezentate de următoarele subpuncte:

- a. Evaluarea caracteristicilor personale, demografice, precum și a prevalenței unor factori de risc specifici infecției HPV.
- b. Evaluarea statusului clinic, citologic, microbiologic și virusologic al gravidelor la includerea în studiu.
- c. Evaluarea prezenței genotipurilor HR și LR HPV la înrolare.
- d. Evaluarea virusologică la momentul nașterii prin recoltarea virusologică de la nivelul lichidului amniotic, respectiv de la nivel placentar.
- e. Evaluarea prospectivă a evoluției sugarilor urmărind parametrii clinici până la 6 luni de la momentul nașterii.

Ipotezele de lucru ale cercetării

Prezenta temă de cercetare a debutat pornind de la următoarele ipoteze:

- a) Nivelul redus al aderenței la o schemă completă de vaccinare anti HPV a categoriilor populaționale eligibile, contrar recomandărilor medicale.
- b) Factorii de risc, de natură comportamentală, pentru leziunile displazice, respectiv neoplazice ale colului uterin, ce se regăsesc într-o proporție superioară la vârsta tânără.
- c) Factorii favorizanți în dezvoltarea, persistența, respectiv agravarea leziunilor survenite prin consumul de tutun, utilizarea contracepției orale hormonale (prin urmare, lipsa unei metode protective eficiente din categoria contracepției de barieră), numărul în creștere a partenerilor sexuali asociat unei vârste precoce de debut a vieții sexuale.
- d) Regăsirea într-o proporție din ce în ce mai mare a tipurilor HR HPV în populația aflată la risc.
- e) Îngreunarea clearance-ului HPV în timpul sarcinii.

Regăsirea în literatura de specialitate a studiilor care asociază prezența HPV cu un outcome obstetrical și cu un prognostic perinatal modificat.

CAPITOLUL 3. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII

Tipul studiului

Studiul realizat este unul de tip prospectiv non-intervențional.

În ceea ce privește argumentarea noțiunilor utilizate mai sus, caracterul prospectiv este determinat de modul de includere în studiu al pacienților în studiul meu, aceștia fiind urmăriți și evaluați pe parcursul sarcinii și ulterior, pentru al doilea studiu, au fost urmăriți sugarii pentru o perioadă de 6 luni postpartum.

Particularitatea non-intervențională este susținută de faptul că atât subiecții incluși în grupul control, cât și cei incluși în grupul de lucru în acest studiu nu au fost supuși testării medicamentoase sau intervenționale. Aceștia li s-au aplicat măsurile medicale terapeutice propice în baza rezultatelor clinice și paraclinice, măsuri care au avut la baza protocoalele de practică actualizate.

Populația de studiu

Populația de studiu a fost reprezentată de un lot de 49 de paciente gravide cu infecție cu HPV, care s-au prezentat în cadrul clinicii de Obstetrică – Ginecologie și Neonatologie a Spitalului Universitar de Urgență Elias în baza unui bilet de trimitere emis de către medicul de familie teritorial sau de către alte cadre medicale de altă specialitate, în vederea unei consultații ginecologice.

Toate gravidele au fost examinate de către medicul specialist Obstetrică – Ginecologie și s-a efectuat recoltarea probelor de secreție cervico-vaginală (cultură și examenul microscopic pe frotiu colorat din secreția vaginală, cultură din secreția colului uterin, cultură pe mediu de creștere pentru mycoplasma hominis, ureaplasma urealyticum, testarea pentru Chlamydia trachomatis și Neisseria Gonorrhoeae, citologie cervicală Babeș – Papanicolaou convențională).

Statistică: Rezultatele obținute în urma acestor teste precum și datele clinico-biologice ale fiecărui caz au fost introduse și centralizate într-un tabel Microsoft Excel 2010, tabel care, de altfel, a reprezentat baza de date pentru studiul nostru. După înregistrarea datelor în Microsoft Excel 2010, au fost prelucrate statistic în IBM SPSS statistics v.20. Partea grafică a fost realizată în IBM-SPSS Statistics v. 20 și Microsoft Office-Excell (2010).

Datele pacientelor au fost culese prin metoda chestionarului de studiu și fișele personale și dosarele de sarcină ale gravidelor incluse în studiu.

Au fost urmăriți mai mulți parametri sau variabile: vârsta, nivelul de educație, starea civilă, durata relației, consumul de tutun, istoricul de imunosupresie, tipul leziunii determinate de virusul HPV, localizarea leziunilor, tulpina HPV, tipul infecției (unică, dublă, multiplă), prezența intervenției chirurgicale excizionale la nivel cervical, imunizarea anterioară împotriva HPV, coinfectia cu *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* sau *Chlamydia trachomatis*, numărul avorturilor spontane, antecedentele personale de naștere prematură, tipul nașterii, vârsta de gestație în momentul diagnosticării infecției, perioada de travaliu cu sau fără ruptura membranelor amniotice, durata travaliului, prezența leziunilor în momentul nașterii, prezența HTAIS.

În baza de date, au fost introduse și următoarele variabile adresate nou-născutului: sexul, greutatea, aspectul tegumentelor și al mucoaselor, prezența leziunilor caracteristice infecției cu HPV la naștere, precum și evoluția în primele 6 luni de viață (starea de sănătate, alimentația, medicația administrată). Aceste variabile au fost, de asemenea, cuprinse în chestionarul postpartum și de follow-up.

Gravidele au semnat un consimțământ informat privind participarea la acest studiu de cercetare, iar personalul medical a fost instruit în privința recoltării probelor, conform unui protocol de lucru.

Diagnosticul de laborator:

Recoltarea și păstrarea probelor: La nou-născut, s-au recoltat în primele minute de viață, în sala de naștere: tampon bucal, aspirat gastric – lichid amniotic – și sânge din cordonul ombilical.

Sângele din cordonul ombilical a fost recoltat în eprubeta cu EDTA și trimis urgent la laborator pentru centrifugare 2400 rpm în 10 minute, iar plasma rezultată a fost păstrată în congelator.

Aspiratul gastric în cantitate de 2-3 ml a fost recoltat în eprubetă de exudat în care s-au adăugat 2-3 ml de mediu de transport pentru virusuri.

Tamponul jugal a fost recoltat în eprubetă de exudat în care s-au adăugat 2-3 ml de mediu de transport pentru virusuri.

Probele au fost etichetate și păstrate la congelator, la minus 80 de grade Celsius, ulterior fiind trimise la Institutul de Virusologie Ștefan S. Nicolau.

Analiza statistică

Analiza statistică utilizată a fost de două feluri: statistică descriptivă și statistică deductivă (inferențială).

Prin statistică descriptivă s-au analizat și descris datele prin indicatorii: medie, deviație standard, mediană, percentile, proporții.

Prin statistică deductivă (inferențială) s-au putut face deducții cu caracter general despre populațiile din care s-au extras eșantioanele. S-a folosit valoarea p pentru concluzii statistice. Pragul de semnificație statistică a fost $p < 0.05$.

Variabilele identificate în acest studiu au fost: continue (numerice), dichotomice (da/nu), nominale (ex: genul, semne și simptome), ordinale (categoriile aflate într-o ordine anume una fata de alta, ex: data internării).

Pentru calcularea CI95% am folosit calculatorul online.

Douăsprezece genotipuri HPV sunt recunoscute ca fiind cu risc înalt-oncogenic (HR-HPV): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, corelat cu frecvența prezenței lor în asociere cu tumorile maligne. Unele clasificări includ și genotipurile: 66, 68, 73 și 82 ca fiind înalt-oncogene. În acest studiu, HPV 16, 18, 31, 33, 45, 51, 58 sunt considerate HR-HPV, iar HPV 6, 11, 32, 42, 53, 54, 70, 81 sunt tulpini cu risc oncogenic scăzut (LR-HPV).

CAPITOLUL 4. EVALUAREA LOTULUI DE GRAVIDE LA ÎNROLARE

Am evaluat un lot de paciente din punct de vedere clinic, citologic și virusologic la momentul înrolării în studiul nostru.

Rezultate și discuții

În studiul nostru, menționez că am selectat un număr identic atât de paciente confirmate cu infecție HPV ($n=49$), cât și neconfirmate (sau negative) ($n=49$) în urma genotipării HPV.

Analiza **profilului epidemiologic al fiecărui grup de paciente efectuat pe grupe de vârstă** a obiectivat că vârsta medie a participanților incluși în acest studiu a fost de 29,16 ani în grupul pacientelor HPV negative, respectiv la 31,73 ani în grupul pacientelor HPV pozitive, evaluare ce s-a dovedit a fi semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0.006$).

În literatură, vârsta medie estimată a infecției cauzale cu virusul HPV a fost de 23,9 ani, cu precizarea că circa 42,7% dintre aceste infecții au avut loc la vârsta de cel puțin 27 de ani.

Analiza **nivelului de educație** al pacientelor incluse în acest studiu ne-a relevat o superioritate procentuală a grupului de paciente cu studii superioare ce au asociat infecția cu HPV comparativ cu grupul pacientelor cu studii liceale ca ultimă formă de învățământ (50,6% versus 47,4%), diferențele nefiind semnificative din punct de vedere statistic. De asemenea, Mansouri și colab. au descoperit în analiza lor că, deși se preconiza un nivel de educație și, prin urmare, un grad de informare superior, doar un procent de 10% (Maroc), 17,7% (Nigeria),⁴⁸ 21,7% (Malaezia),⁴⁹ 50,6% (grupul de studenți la medicină în Etiopia),⁵⁰ respectiv 55,4% (Portugalia)⁵¹ din acest grup de paciente aveau noțiuni cu privire la infecția HPV și la metodele de prevenție a infecției. Domeniul de activitate cu nivelul cel mai ridicat de cunoaștere a riscurilor precum și a metodelor de prevenire a infecției și a displaziei cervicale secundare rămâne cel medical (medicină generală, biologie).⁵²

Analiza loturilor din punctul de vedere al **stării civile**, în rândul celor cu rezultat pozitiv la genotiparea HPV și am constatat o superioritate procentuală în grupul pacientelor căsătorite ce au asociat un rezultat pozitiv într-un procent de 52,4% comparativ cu grupul pacientelor necăsătorite (35,7%). Diferența procentuală nu a fost semnificativă statistic.

Analiza **longevității relațiilor** de natură intimă a pacientelor incluse în studiu, ambele loturi (HPV pozitiv și HPV negativ) au prezentat rezultate relativ comparabile (4,18 ani spre deosebire de 5,58 ani).

La acest nivel este important să aducem în discuție informațiile obținute de Thompson și colab. în ceea ce privește importanța vaccinării prin prisma tipului de relație de cuplu pe care o aveau femeile incluse în studiul lor. Astfel, aceștia au observat că femeile care locuiau cu un partener sau cele care nu au fost niciodată căsătorite au prezentat mai mult interes în raport cu subiectul vaccinării anti HPV spre deosebire de femeile căsătorite.⁵³

Analiza comportamentelor vicioase de tipul **fumatului** a ieșit, în urma comparației efectuate în grupul de HPV pozitive, similar (40,8% comparativ cu 40,8%), fără a avea semnificație statistică.

De asemenea, am evaluat raportul procentual dintre pacientele cu infecție HPV HR și HPV LR, în rândul gravidelor fumătoare. Astfel, dintr-un număr total de 20 de gravide fumătoare am observat un procent de 25% (n=5) care asociau infecție HPV LR, respective un procent de 75% (n=15) care asociau infecție HPV HR.

În 2008, Vaccarella și colab. au concluzionat că fumătoarelor le-a fost asociat un risc moderat semnificativ de creștere a prevalenței infecției HPV, riscul de a fi HPV pozitiv fiind direct proporțional cu creșterea numărului de țigarete consumate pe parcursul unei zile, iar

femeile care au declarat că fumează un minimum de 15 țigarete pe zi au prezentat un risc de 2 ori mai mare de a fi pozitive spre deosebire de femeile care nu au fumat niciodată.⁵⁴

În ceea ce privește clearance-ul viral există anumite contradicții legate de influența consumului de tutun,⁵⁵ dar regresia leziunilor intraepiteliale de grad scăzut în decursul a 2 ani este semnificativ redusă la fumători comparativ cu nefumătorii.⁵⁶

Analiza **tipului de tulpină HPV** identificat în rândul pacientelor pozitive a relevat o superioritate numerică a cazurilor cu un singur genotip infectant (36 din 49), respectiv o superioritate numerică a infecțiilor cu tulpini oncogene (49%).

Când luăm în discuție datele din literatură, acestea menționează faptul că genotipurile 51 (HR), respectiv 18 (HR) au fost identificate cu precădere la grupa de vârstă 14-25 de ani (9,4 %, IC 95% 7,5 %-11,4 %, respectiv 2,8%, IC 95% 1,7%-3,9%), reducându-se ulterior la grupa de vârstă 26-46 de ani.

Analiza riscului infecțios al pacientelor dobândit în urma **vaccinării** antivirale a determinat o superioritate procentuală ne semnificativă a rezultatelor negative (62,5% comparativ cu 37,5%) comparativ cu inferioritatea procentuală a acestor rezultate negative observată în rândul pacientelor care nu au fost supuse schemei de vaccinare (48,9% comparativ cu 51,1%), ambele rezultate fără coeficient de semnificație statistică.

În ceea ce privește infecțiile concomitente virusului HPV, **Mycoplasma hominis** și **Ureaplasma urealyticum** sunt recunoscute ca fiind factori de risc pentru progresia rapidă a leziunii cervicale preneoplazice alături de persistența infecției HPV, respectiv creșterea replicării virale. Aceste bacterii au fost găsite în 30 ± 80% din tractul urogenital al femeilor ca microorganisme comensale, dar au potențial patogen.⁵⁶ Infecțiile cu Mycoplasma/Ureaplasma pot provoca dureri pelviene cronice pe măsură ce infecția ascensionează la nivelul pelvisului sau sistemului genito-urinar, astfel că persistența sau netratarea corespunzătoare a infecției poate determina dezvoltarea progresivă către cancer de col uterin fie prin asocierea simultană a persistenței virale, fie prin creșterea replicării virale.⁵⁷

În studiul nostru, am regăsit o diferență de 6,1 % între cele 2 loturi de paciente (diagnosticate cu sau fără coinfectie), diferență ne semnificativă statistic ($p = 0.375$).

În ceea ce privește riscul cu privire la infecția cu **Chlamydia trachomatis**, în studiul nostru nu s-au regăsit paciente cu Chlamydioză cu origine genitală.

Infecția HPV asociată sarcinii

Exceptând riscul neoplazic al infecției HPV, a fost sugerată și morbiditatea secundară infecției observată pe parcursul evoluției sarcinii. Pe măsură ce mediul hormonal matern și sistemul imunitar suferă modificări semnificative în timpul sarcinii, se poate spune că persistența virusului este, în acest mod, favorizată. Datele din literatură referitoare la infecția HPV în sarcină și implicațiile acesteia asupra gravidei, respectiv asupra produsului de concepție nu sunt numeroase.

Diverse studii au evidențiat un risc crescut pentru un rezultat advers pe parcursul sarcinii în rândul femeilor HPV pozitive, impactul clinic al infecției cuprinzând o serie de afecțiuni, printre care se numără prematuritatea, avortul spontan, tulburările de natură hipertensivă induse de sarcină, restricția de creștere intrauterină și greutatea mică la naștere comparativ cu vârsta gestațională, ruptura prematură a membranelor amniotice și decesul fetal intrauterin. Prin urmare, înțelegerea mecanismelor patogenice ale HPV care pot determina un impact negativ asupra evoluției sarcinii și stabilirea unor abordări potențiale în vederea contracarării acestora reprezintă un interes atât în încercarea de a optimiza sarcina și outcome-ul obstetrical, cât și în vederea îmbunătățirii supraviețuirii și a sănătății nou-născuților.

În urma evaluării comparative a loturilor noastre nu am constatat o asociere a **tulburărilor hipertensive** în rândul pacientelor pozitive comparativ cu pacientele negative. De asemenea, nici Subramaniam și colab. nu au observat, în urma evaluării unei cohorte de 2321 paciente HPV pozitive, infecția HPV ca factor de risc de sine stătător pentru determinarea unei tulburări hipertensive în sarcină. Diferențele ratelor de HTAIS în cazul acestui studiu nu au avut semnificație statistică (17,0% HPV pozitiv versus 16,4% HPV negativ; RR ajustat 1,0, IC 95% 0,7-1,5).⁵⁸

Analiza **riscului de naștere prematură** a fost realizată din mai multe puncte de vedere. Astfel, în primul rând, în studiul nostru s-a constatat asocierea dintre virusul HPV detectat la nivel genital și riscul de naștere prematură, asociere ce s-a dovedit a fi semnificativă statistic (22,4% versus 8%, $p = 0.005$).

În același timp, în loturile noastre nu au fost evidențiate riscuri mai mari de naștere prematură în cazul pacientelor infectate cu tulpini oncogene comparativ cu infecția determinată de tulpinile non-oncogene (21,2% din lotul HPV LR comparativ cu 25% din lotul HPV HR, $p = 0.766$).

În ceea ce privește legătura dintre HPV și PROM, mai multe studii au analizat implicarea virusului în această patologie. De asemenea, în urma analizei țintite a incidenței PROM în lotul evaluat, Cho și colab. au analizat în mod specific ratele de incidență a PROM în două grupuri populaționale (paciente HPV pozitive vs HPV negative), constatând procente foarte apropiate rezultatelor studiului nostru (27,3% dintre femeile HPV-HR-pozitive au asociat PROM comparativ cu 14,2% dintre femeile HPV-HR-negative ($p = 0,029$)).²

Analiza implicării infecției HPV în **durata globală a travaliului** în loturile noastre studiate nu atestă diferențe semnificative statistic nici în cazul pacientelor care se prezintă cu membranele amniotice intacte (9 ore în cazul pozitivelor comparativ cu 8 ore în cazul negativelor), nici în cazul pacientelor care se internează cu membranele rupte spontan (7,25 ore comparativ cu 6,6 ore).

Am evaluat procentual numărul de nașteri prin operație cezariană comparativ cu nașterile vaginale în lotul de studiu (HPV pozitiv). Astfel, în rândul gravidelor HPV pozitive ($n = 49$), 77,6% din nașteri ($n = 38$) au fost finalizate prin operație cezariană, în timp ce 22,4% ($n = 11$) au fost finalizate pe cale vaginală.

De asemenea, am evaluat procentul gravidelor care s-au prezentat la camera de gardă în vederea admisieii pe secție de obstetrică-ginecologie pentru ruptura spontană a membranelor amniotice în lotul de studiu. Astfel, am constatat că în lotul HPV pozitiv se regăsesc 12 gravide (24,5%) care au fost internate cu membrane rupte spontan precoce, respectiv 37 gravide (75,6%) care nu au prezentat acest semn la momentul internării.

În lotul pacientelor HPV pozitive am comparat riscul unei nașteri premature în funcție de tipul de tulpină HPV. Astfel, în rândul pacientelor HPV pozitive cu ruptură prematură de membrane ($n = 12$) am constatat că într-un procent de 100% au avut naștere prematură (<37 săptămâni).

Am dorit să compar procentul de gravide internate cu membrane rupte spontan și în lotul martor (HPV negativ). Astfel, am descoperit că în acest lot doar un procent de 26,5% ($n = 13$) s-a regăsit în acest scenariu, comparativ cu procentul de 73,5% ($n=36$) de gravide fără PROM.

Am examinat numărul de paciente cu infecție HPV HR comparativ cu LR în cadrul gravidelor internate pentru pierdere de lichid amniotic. Astfel, dintre cele 12 gravide HPV pozitive cu membrane rupte, HPV LR a fost regăsit la 58,3% ($n=7$) dintre acestea, comparativ cu 41,7% ($n=5$) care au asociat HPV HR.

De asemenea, antecedentele personale patologice de **intervenții excizionale** efectuate la nivel cervical în cazul pacientelor pozitive au asociat, în studiul nostru, naștere prematură într-un procent de 45%, fără semnificație statistică.

Analiza **riscului de avort spontan** a determinat un procent superior în grupul pacientelor căsătorite, indiferent de prezența virusului (34,5% comparativ cu 7,1%, **p = 0.040**).

De asemenea, în studiul nostru am constatat un risc mai mare în caz de pozitivitate (44,9% comparativ cu 16,3% pentru negative, **p = 0.002**).

În studiul de față am observat, de asemenea, un risc superior în cazul prezenței tulpinilor oncogene (60,6% comparativ cu 12,5% pentru LR, **p = 0.001**).

Riscul determinant al infecției cu tulpina HPV HR 16

HPV 16 s-a dovedit a fi cel mai răspândit genotip de HPV per general.

În studiul nostru am analizat gradul de asociere al genotipului 16 cu riscul avorturilor spontane și am observat diferențe procentuale de 72,2% comparativ cu 27,8% (**p=0.003**).

În studiul nostru, nu am decelat un risc semnificativ pentru nașterea prematură în rândul pacientelor cu HPV 16 (22,2% versus 77,8%, $p=0.977$).

În studiul nostru, analiza posibilei asocieri a infecției cu tulpina 16 și riscul de a dezvolta HTA indusă de sarcină, proporția a fost identică, nedecelând un risc în acest domeniu.

CAPITOLUL 5. TRANSMITEREA MATERNO-FETALĂ A INFECȚIEI HPV

Introducere

Infecția cu virusul papilloma uman este cunoscută ca fiind principala cauză a cancerului de col uterin. Creșterea incidenței și prevalenței infecției HPV este consecința dezvoltării mecanismelor de detecție a HPV și a identificării, prin programele de screening, a persoanelor cu risc de a dezvolta leziuni maligne.

Principala cale de transmitere a acestui virus ADN, lipsit de anvelopă, este cea sexuală, dar și intrauterin și perinatal, de la mamă la făt sau nou-născut.

Transmiterea intrauterină se face fie ascendent, de la nivelul tractului genital matern, prin microleziuni prezente la nivelul membranelor, fie prin intermediul sângelui placentar.⁴³

Transmiterea perinatală se realizează prin contactul direct al nou-născutului cu celulele infectate de la nivelul colului sau vaginului matern în momentul nașterii pe cale vaginală sau prin operație cezariană în cazurile gravidelor care asociază ruptura membranelor amniotice.¹

Rezultate și discuții

Transmiterea perinatală a HPV a fost deja demonstrată în câteva studii pe loturi de pacienți restrânse numeric, dar și într-un studiu prospectiv extins: studiul HERITAGE. În acest studiu, au fost recrutate 167 de gravide HPV pozitive (ADN-HPV prezent în secreția cervico-vaginală în trimestrul I, ADN-HPV ce a fost repetat ulterior în trimestrul III).

În lotul studiat, am inclus 49 de paciente, gravide HPV pozitive, diagnosticate la prima vizită la medicul obstetrician sau cunoscute cu infecție HPV în perioada preconcepțională, unele dintre acestea având în antecedentele personale patologice intervenții excizionale realizate la nivelul colului uterin pentru leziuni cervicale de tip displazic. Caracteristicile de bază ale participantelor la studiu sunt sintetizate mai jos, în tabelul 5.1.

Studiul nostru compară aceste variabile între cele două loturi de gravide – lotul de studiu și lotul martor – ambele formate din câte 49 de paciente.

În ceea ce privește analiza lotului de studiu, observăm o vârstă medie de 31,73 ani (diferență cu semnificație statistică, $p = 0,006$), un nivelul educațional superior (fără semnificație statistică), un statut marital de căsătorie, la care observăm o predominanță a tulpinilor HR HPV, precum și o tendință de asociere a unei leziuni cervicale, respectiv un nivel de vaccinare mai redus.

De asemenea, au fost studiate și grupate tipurile de tulpini HPV și incidența acestora în lotul studiat.

Rezultatele probelor biologice

Din analiza rezultatelor obținute privind probele de aspirat gastric – lichid amniotic, din numărul total de probe testate, 4 probe (4, 10, 12, 13) nu au prezentat amplificare pentru beta-globina și astfel nu s-au calificat pentru determinări ulterioare

În urma vizualizării ampliconilor pentru beta-globina în cazul probelor reprezentând tampon bucal, s-a constatat ca 5 probe au fost negative în reacția de PCR (1,2,4,5,6) și nu au mai fost folosite pentru teste ulterioare.

Referitor la probele din sânge, s-a observat că toate probele investigate au fost pozitive pentru amplificarea genei beta-globina confirmând astfel prezența ADN de calitate în probele testate.

În urma testării PCR tip Nested a probelor investigate, metodă cu sensibilitate crescută, toate probele au fost negative pentru ADN-HPV.

Transmiterea perinatală a virusului papilloma uman a fost subiectul mai multor studii pe loturi relativ restrânse de pacienți. Rezultatele sugerează că nou-născuții sunt expuși și se pot infecta cu HPV în perioada perinatală. Primul caz de infecție HPV transmisă perinatal a fost identificat în anul 1956, fiind un caz de papilomatoză laringiană juvenilă.⁵⁹

În studiile care confirmă prezența HPV la nivelul cavității bucale sau în regiunea genitală la nou-născuții proveniți din mame HPV pozitive în sarcină, rata de infecție variază între 4 și 79%.⁶⁰⁻⁷⁰

În ceea ce privește concordanța dintre tipul tulpinii HPV la părinți și la nou-născuți, un studiu realizat pe un lot mare de subiecți (n = 574) publicat în 2004 arată o concordanță scăzută (<1%), rata prezenței ADN-HPV la nivelul zonei genitale la nou-născuți nefiind influențată de vârsta de gestație, de sexul și de greutatea la momentul nașterii a nou-născutului, de patologia neonatală sau de malformațiile asociate.⁶⁷

Pentru a înțelege mai bine modalitatea de transmitere verticală a infecției cu HPV, un grup de cercetători din Montreal, Canada, a conceput studiul HERITAGE.⁴³ În studiu, au fost inițial incluse 167 de gravide testate în primul trimestru de sarcină pentru 36 de genotipuri HPV, testare repetată ulterior în trimestrul III de sarcină pentru gravidele cu rezultat inițial pozitiv. De asemenea, s-au recoltat probe de la nivel placentar pentru testare ADN-HPV la momentul nașterii. La nou-născuții din mame HPV pozitive, au fost recoltate probe de la nivelul conjunctivei, cavității bucale și orofaringiene și de la nivelul regiunii genitale, testele fiind ulterior repetate la 3-6 luni până la 2 ani. La mamă și la nou-născut s-a recoltat sânge pentru determinarea anticorpilor anti HPV.

Variabile		
Vârstă (ani)	Medie	31,73
Educație: n (%)	Liceu	9 (18,4)
	Studii superioare	40 (81,6)
Status marital: n (%)	Necăsătorită	5 (10,2)
	Căsătorită	44 (89,8)
Durata relației (ani)	Medie	4,18
Fumătoare: n (%)	Nu	29 (40,8%)
	Da	20 (59,2%)
Tipul de tulpină HPV: n (%)	HR	24 (49)

	LR	16 (32,7)
	HR+LR	9 (18,4)
Tipul infecției HPV: n (%)	Unică	36 (73,5)
	Multiplă	13 (26,5)
Tipul leziunii: n (%)	Cervicală	46 (93,9)
	Altă localizare	3 (6,1)
Vaccinare anti HPV: n (%)	Nu	46 (93,9)
	Da	3 (6,1)
Avort spontan: n (%)	Nu	27 (55,1)
	Da	22 (44,9)
Avort spontan: n (%)	LR	2 (12,5)
	HR	20 (60,6)
Avort spontan + HPV 16: n (%)	Nu	9 (40,9)
	Da	13 (59,1)
HTA în sarcină: n (%)	Nu	45 (91,8)
	Da	4 (8,2)
Durata travaliului (ore)	Medie	9,29
Asocierea PROM: n (%)	Nu	37 (24,5)
	Da	12 (75,5)
Modul nașterii: n (%)	Vaginală	11 (22,4)
	Cezariană	38 (77,6)

Tabelul 5.1. Variabilele lotului de lucru studiate

Rezultatele acestui studiu prospectiv au semnalat o prevalență crescută a HPV la gravide, 45%, cu 14% teste placentare pozitive. Procentul de teste pozitive la nou-născut și la vârsta de 3 luni a fost de 11%. Este primul studiu care identifică prezența HPV la nivel conjunctival, 5% teste având rezultat pozitiv.

Studiul nostru este de tip prospectiv, cu lot martor, desfășurat pe o perioadă de 3 ani și cuprinde un număr de 49 de gravide cu istoric de HPV recent, anterior sarcinii, examen Papanicolau modificat și condilomatoză genitală în context HPV, având caracteristicile enumerate mai sus. Aceste caracteristici ale lotului de lucru se suprapun cu cele ale studiului HERITAGE.

Prevalența crescută a HPV în studiul canadian poate fi datorată mai multor factori: vârsta tânără a femeilor testate (18-30 de ani), activitate sexuală prezentă – cel mai important factor de risc pentru HPV, vaccinare antiHPV la un nivel redus – campania de vaccinare în Quebec a debutat cu 2 ani înaintea acestui studiu.

Prevalența scăzută a HPV la gravidele din cohorta noastră poate fi explicată prin faptul că recoltarea pentru determinarea HPV a fost de la nivelul cervixului, nu din secreția vaginală unde prevalența HPV așteptată are o valoare superioară. De asemenea, acest studiu s-a desfășurat exclusiv în Clinica de Obstetrică-Ginecologie și Neonatologie a SUU “Elias”.

Factorii de risc pentru transmiterea perinatală sunt identificați ca fiind: **încarcatura virală**,⁷⁴ **prezența leziunilor la nivelul tractului genital matern**,⁷⁵ respectiv **infecția maternă cu mai multe genotipuri HPV**.⁶⁰

Dinamica transmiterii HPV între părinți și copii a fost studiată prospectiv în familiile finlandeze. Concluzia cercetătorilor de la Universitatea din Turku a fost ca riscul de infecție HPV la copii se corelează cu persistența infecției materne și nu cu prezența virusului în sarcină, la nivelul secreției vaginale.⁶⁸

Referindu-ne la factorii de risc pentru infecția HPV identificați în literatura de specialitate, rezultatele studiului nostru sunt următoarele:

- diagnosticul de infecție HPV s-a stabilit anterior sarcinii în majoritatea cazurilor, 40 (81,6%), respectiv în timpul primului trimestru în 9 cazuri (18,4%);
- leziunile prezente la momentul nașterii au fost prezente la 8 dintre gravidele HPV pozitive, însemnând un procent de 16,3%; la 4 gravide (50%) din cele 8 cu leziuni prezente la momentul nașterii s-au identificat minim 2 tulpini HPV;

- 22 din gravidele (44,8%) din lotul de studiu au fost primipare, 6 dintre acestea, 27%, pozitive pentru cel puțin 2 tulpini diferite de HPV; a fost și 1 caz pozitiv pentru 6 tipuri de HPV;
- nașterea a avut loc, în majoritatea sarcinilor HPV pozitive, prin operație cezariană (38 – 77,6%), nașterea vaginală fiind posibilă la 11 dintre pacientele din lotul de studiu (22,4%).
- dintre cele care au născut vaginal, 2 au fost primipare (13,6%), într-un singur caz s-au identificat 2 tipuri diferite de tulpini HPV;
- au fost 2 cazuri de condilomatoză vulvară, 1caz la primipară asociind 3 tulpini HPV, 1 caz la secundipară, o singură tulpină HPV.

Menționez faptul că toate testele HPV au fost calitative, realizate anterior sarcinii sau în primul trimestru de sarcină, corelat cu examenul Papanicolau modificat, fără determinarea încărcăturii virale sau a clearance-ului viral în sarcină.

Toate probele recoltate de la nivelul mucoasei bucale la nou-născuți, în momentul nașterii, au fost negative pentru HPV, astfel renunțându-se la recoltările ulterioare planificate inițial în protocolul de studiu de la 1 lună, respectiv la 6 luni postpartum.

În încercarea de a elucida modalitatea de transmitere perinatală a infecției cu HPV, studiile/ cercetarile și-au propus identificarea ADN-HPV în lichidul amniotic, în probele de sânge din cordonul ombilical și la nivel placentar.

În studiul publicat în 2008, parte a Studiului Familial Finlandez, prezența ADN-HPV s-a identificat în 3,5% din cele 311probe de sânge din cordon și a fost corelat cu examenul citologic matern modificat. Singurul factor predictiv independent pentru prezența HPV în sângele din cordon a fost istoricul de condilomatoză vulvară.⁷⁶ Prezența virusului în sângele din cordon, cât și în placentă, crește de 4 ori riscul de portaj oral și genital la nou-născut, dar nu s-a corelat, în acest studiu, cu probe pozitive din sângele periferic matern.

În majoritatea cazurilor studiate, evidențierea HPV în cordon sau placentă nu este concordantă cu prezența HPV în cultura genitală sau la nivelul mucoasei bucale înainte de sarcină. Aceasta situație poate fi explicate prin faptul ca infecția HPV a placentei s-a produs la inceputul sarcinii, iar clearance-ul viral genital se finalizează până în momentul nașterii.

În literatura de specialitate, sunt publicate și studii în care rata de identificare virală pentru HPV este scăzută, în unele fiind chiar nulă, pentru probele de sânge recoltate din cordonul ombilical și din lichidul amniotic. Rata scăzută de detecție HPV în sângele din cordon a fost raportată de studii care au exclus din lot gravidele cu leziuni tip HPV prezente.

În acest sens, Wonda și colab. au testat un lot mare de gravide asimptomatice din punct de vedere clinic pentru prezența de ADN viral în placentă, lichid amniotic și sânge din cordonul ombilical. Din cele 153 de gravide, 56 (36,6%) au avut teste cervico-vaginale pozitive pentru HPV, recoltate anterior intervenției chirurgicale cezariene. ADN-HPV a fost detectat în 8 probe de placentă, dar a fost absent în toate probele de sânge din cordon ombilical și în cele de lichid amniotic.⁷⁷

În studiul meu, am optat pentru identificarea ADN-HPV în sângele din cordonul ombilical și din aspiratul gastric al nou-născutului (lichid amniotic) imediat postnatal.

De menționat ar fi faptul ca 8 paciente din lotul de studiu, reprezentând un procent de 16,3%, prezentau leziuni genitale și frotiu Papanicolau cu celularitate modificată la intrarea în studiu, adică imediat anterior sarcinii sau în primul trimestru de sarcină. În lotul de studiu, au fost, de asemenea, 2 cazuri de condilomatoză vulvară, considerată factor predictiv independent pentru prezența HPV în sângele din cordonul ombilical.

În toate probele de sânge investigate s-a confirmat prezența ADN de calitate, probele testate fiind pozitive pentru amplificarea genei beta-globină.

La testarea PCR tip Nested, metodă cu sensibilitate crescută, a probelor investigate și confirmate cu prezență de ADN de calitate, toate probele au fost negative pentru ADN-HPV.

Aceste rezultate ar putea fi explicate prin persistența anomaliilor celulare identificate la testul Papanicolau încă 1-2 luni după clearance-ul ADN-HPV și posibilitatea ca acestea să fie prezente înainte de naștere.⁷⁸

Din analiza rezultatelor obținute privind probele obținute din aspiratul gastric – lichid amniotic, din numărul total de probe testate, 4 probe (4, 10, 12, 13) nu au prezentat amplificare pentru beta-globină și astfel nu s-au calificat pentru determinări ulterioare. Ca și în cazul probelor de tampon bucal și de sânge din cordonul ombilical, testarea PCR tip Nested a probelor de lichid amniotic a fost negativă pentru ADN-HPV.

Aceste rezultate sunt susținute de câteva studii din literatură care nu au decelat ADN-HPV în probele de lichid amniotic.⁷⁷⁻⁷⁹ Aceste studii și-au propus identificarea HPV în lichidul amniotic, la gravide asimptomatice pentru infecția cu HPV¹⁸⁹ sau cu indicație de amniocenteză pentru diagnostic prenatal în suspiciune de anomalii genetice, cu membrane intacte.^{79,80}

Ruffin et al. publica în 2006 rezultatele studiului realizat pe 146 de gravide cu o medie de vârstă de 35,2 ani, majoritar populație caucaziana 78%, dar și afro-americană 5%, asiatică 14% și hispanică 2%. Eșantionul populațional ales este similar cu cel al altor studii care sugerează că 12-36% din femeile gravide prezintă infecție HPV, dar, deși au conținut

ADN de calitate - pozitive pentru beta-globulină, probele recoltate din lichidul amniotic au fost în totalitate negative pentru HPV. ⁷⁹

O mențiune legată de vârstă gravidei considerată un factor important în transmiterea transplacentară. Unii autori consideră că 75% din femeile HPV pozitive au vârsta cuprinsă între 15-24 de ani.⁸¹ De remarcat media de vârstă mai ridicată – 31,73 de ani, cu interval 21-42 ani – la gravidele cuprinse în lotul nostru de studiu, vârsta apropiată de cea a gravidelor înrolate (35,2 ani) în studiile în care probele de lichid amniotic au fost negative în totalitate pentru ADN-HPV (medie de 35,2 ani). ⁷⁹

CAPITOLUL 6. INFECȚIA HPV ȘI PREMATURITATEA

Introducere

Prematuritatea este o cauză importantă de morbiditate și mortalitate în perioada neonatală, iar cele mai recente studii dovedesc ca infecția cu HPV are impact și asupra nou-născutului. Modificările din sarcină, corelate cu infecția HPV, modificări de tip inflamator la nivelul trofoblastului și anomalii placentare secundare identificate histopatologic, cresc riscul de complicații obstetricale, cum ar fi: ruptura prematură sau precoce a membranelor amniotice, prematuritatea, preeclampsia și avortul spontan.

Persistența infecției în sarcină poate fi explicată prin nivelul crescut al hormonilor steroizi care modifică statusul imun al femeii gravide având ca scop toleranța imunologică maternă a produsului de concepție, dar și al creșterii riscului pentru infecții. ⁸²

Persistența infecției se corelează cu genotipul și cu încărcătura virală, ⁸³ un factor important fiind și particularitatea HPV de a modifica imunitatea locală. ^{84,85} Factorii care influențează persistența HPV și care tin de gazdă sunt binecunoscuți ca fiind vârsta, fumatul, numărul partenerilor sexuali și vârsta de debut a vieții sexuale, statusul socioeconomic, infecțiile cervico-vaginale asociate, statusul hormonal, imunocompetența gazdei și consumul de anticoncepționale orale. ⁸⁶⁻⁸⁸

Rezultatele unui studiu retrospectiv care a analizat statusul HPV și probele histopatologice placentare recoltate la gravide cu sarcină complicată prin prematuritate, au fost publicate în anul 2011 și au demonstrat că infecția cu tulpini HR-HPV reprezintă un factor de risc pentru prematuritate și anomalii placentare. ⁸⁹

Infecția HPV determină disfuncții placentare prin leziuni ale celulelor trofoblastice cu apoptoză celulară și compromiterea adeziunii și a circulației placentare.

Impactul pe care infecția HPV îl poate avea în sarcină, interesul tot mai mare al cercetătorilor pentru acest subiect, cât și rezultatele controversate publicate recent, m-au determinat să analizez, în cadrul studiului nostru, riscul de prematuritate asociat infecției HPV.

Material și metodă

Am desfășurat un studiu comparativ observațional cu lot martor în cadrul Clinicii de Obstetrică-Ginecologie și Neonatologie a SUU Elias, lotul de studiu fiind format din gravide HPV pozitive în primul trimestru de sarcină, lotul martor din gravide negative sau neconfirmate cu infecție HPV. Am evaluat prospectiv dacă infecția vaginală cu HPV în sarcină este asociată cu nașterea prematură, independent de alți factori.

Nașterea prematură a fost definită ca nașterea înaintea vârstei de 37 săptămâni de gestație.

Rezultate și discuții

În studiul nostru, am urmărit un număr de 49 de gravide HPV pozitive, am făcut corelații între infecția HPV și riscul de naștere prematură și am comparat rezultatele cu lotul control alcătuit din gravide HPV negative.

În lotul de studiu, infecția HPV a fost asociată cu nașterea prematură în 22,4% din cazuri (n = 11). În lotul control, nașterea prematură a fost prezentă în 8,2% din cazuri (n = 4), rezultatul fiind semnificativ statistic (p = 0,05).

Datele din literatură sunt controversate. În 2008, Gomez et al. prezintă rezultatele studiului în care identifică ADN-HPV mai frecvent în placenta gravidelor care au născut prematur comparativ cu placentele grupului control (p = 0,03). Infecția HPV de la nivelul trofoblastului induce apoptoză celulară, disfuncție placentară cu consecințe asupra evoluției sarcinii, inclusiv naștere prematură.³⁶ Alt studiu care evaluează infecția HPV ca factor de risc pentru nașterea prematură, publicat în 2016, nu identifică diferențe semnificative între rata nașterilor premature între femeile HPV pozitive și cele HPV negative (16,5% comparative cu 12,2%).⁵⁸

Alt factor de risc care se asociază cu nașterea prematură este reprezentat de intervențiile chirurgicale excizionale efectuate la nivelul colului care au drept consecință scurtarea lungimii colului uterin. În acest sens, Miler et al. descrie recent (2016) o creștere a riscului de prematuritate în displazia de col cu excizie.⁹⁰ Intervenția de excizie cu ansa diatermică induce o remodelare a colagenului de la nivel cervical care se asociază cu nașterea

prematură. Trebuie menționat că studiul nu ia în considerare alți factori care care pot influența rezultatul, cum ar fi: infecții genital asociate infecției HPV, tipul tulpinii HPV.

În lotul nostru de studiu, din cele 11 gravide cu nașteri premature, 5 (45%) au avut intervenții la nivelul colului, 3 dintre acestea (60%) fiind cu HPV 16.

Actual, se consideră ca infecția virală influențează rolul de modelare imună pe care îl are trofoblastul și declanșează un răspuns imun exagerat față de infecția prezența bacteriilor.

91

Infecția genitală cu HPV accentuează susceptibilitatea pentru infecțiile ascendente, în consecință, coinfecțiile cu *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* și *Chlamydia trachomatis* se asociază cu modificări ale sistemului imun și naștere prematură (6 Boli inf). Într-un studiu desfășurat în 2013 pe șoricei, Racicot et al. demonstrează că infecția virală afectează *Ureaplasma urealyticum* like) pot ascensiona de la interfața materno-fetală către uterul gravid. Această reducere a mecanismelor de autoapărare este determinată de scăderea citokinelor antiinflamatorii și inflamatorii de la nivelul colului uterin infectat viral.⁹²

În studiul nostru, au fost 8 gravide HPV pozitive (16,3%) care au asociat alte infecții genital și 5 gravide (10,2%) din lotul martor. Co-infecțiile au fost cu *Ureaplasma urealyticum* și *Mycoplasma hominis*, dar nu a fost nici un caz de infecție cu *Chlamydia trachomatis*.

În cel mai recent studiu multicentric desfășurat în Canada, pe un lot de 899 de gravide, riscul de prematuritate este corelat cu prezența HPV16/18, independent de alți factori.⁹³

Studiul prospectiv HERITAGE a fost desfășurat în 3 centre academice din Montreal, în perioada noiembrie 2010 – octombrie 2016. Obiectivul studiului a fost asocierea dintre infecția HPV și nașterea prematură, astfel s-a determinat ADN-HPV vaginal în trimestrul întâi și în trimestrul III de sarcină, precum și la nivel placentar, Rezultatul acestui studiu indică o corelație semnificativă între persistența tulpinilor HPV 16/18 la nivel vaginal și nașterea prematură. Rezultatele au fost similar și în cazul gravidelor fără istoric de leziune cervicală neoplazică.

În studiul nostru, am căutat și noi asocierea dintre nașterea premature și tipul tulpinii HPV, LR-HR, ulterior corelația: naștere premature – HPV 16. Rezultatele nu au fost statistice semnificative ($p=0,766$); dintre gravidele cu LR-HPV, 25% ($n=4$) au asociat naștere prematură, respectiv 21,2% ($n=7$) din grupul celor cu HR-HPV.

Urmărind specific corelația dintre nașterea prematură și prezența HPV 16, numai 4 cazuri (22,2%) au avut istoric de naștere premature, alte 14 cazuri (77,8%) nu s-au asociat cu prematuritatea.

Rezultatele studiului nostru pot fi justificate prin numărul limitat de cazuri incluse în lotul de studiu, cât și prin faptul ca testarea HPV a gravidelor s-a realizat înaintea sarcinii sau în primul trimestru, toate testele fiind calitative, fără determinarea încărcăturii virale sau a clearance-ului viral pe parcursul sarcinii.

În ceea ce privește nou-născutul, ADN-HPV a fost identificat la nivelul mucoasei genitale, la nivelul mucoasei bucale, cât și conjunctival, unde determină până la 10% din tumorile conjunctivale.⁹⁴

În literatură, sunt câteva studii care identifică ADN -HPV în proba de tampon bucal, la nou-născuți cu vârste între 1 și 4 zile, cu rată mare de variabilitate, între 0,9 % și 56%.^{74,95,96}

Variabilitatea este determinată de modul de recoltare, de sensibilitatea metodelor de determinare a ADN-ului viral, de numărul foarte diferit de pacienți introduși în studiu. Tipurile de HPV identificate au fost atât LR (6, 11), cât și HR (16, 18 - cele mai frecvente). Aceleași studii identifică prezența ADN-HPV 6, 11, 16, 18 cu o largă variabilitate și la vârsta de 6 săptămâni și la 6 luni: 62%/59%,⁹⁸ respectiv 0%/0%.^{99, 100} În Studiul familial finlandez pentru HPV, la 6 luni 21% din probele orale asociază un rezultat pozitiv prin metoda nested PCR.^{36, 68}

La nivelul cavității bucale, HPV pare să persiste mai mult decât la nivelul mucoasei genitale, cel mai frecvent întâlnită tulpina în infecțiile asimptomatice fiind 16, apoi cele de tip LR – 6 și 11.¹³

În studiul nostru, toate probele recoltate la naștere, de la nivelul mucoasei bucale, au fost negative pentru ADN-HPV prin metoda Nested PCR, metodă cu sensibilitate crescută. Clinic, la naștere, niciunul dintre nou-născuți nu a prezentat leziuni caracteristice infecției HPV, cutanate sau la nivelul mucoaselor.

Ulterior, acești copii au fost evaluați din punct de vedere clinic, la 1 lună și la 6 luni și s-a constatat absența leziunilor cutanate sau la nivelul mucoaselor, dar prezența afecțiunilor respiratorii, infecțiilor de căi respiratorii superioare și bronșiolite, mai frecvente în rândul celor proveniți din mame HPV pozitive. Astfel, 29 de copii (59,2%) din eșantionul de mame pozitive au prezentat afecțiuni respiratorii în primele 6 luni de viață, față de 11 copii (22,4%) din eșantionul de mame HPV negative.

CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

Concluziile desprinse în urma acestui studiu sunt:

1. Lotul de studiu, format din 49 de gravide HPV pozitive; respectiv lotul martor reprezentat din 49 gravide HPV negative.
2. Am analizat caracteristicile epidemiologice ale lotului investigat și am identificat următoarele elemente particulare:
 - Vârsta medie este 31,73 ani.
 - Pacientele cu studii superioare au asociat mai frecvent infecția cu virusul papiloma uman (50,6% versus 47,4%).
 - Pacientele căsătorite au asociat un rezultat pozitiv într-un procent mai mare, de 52,4%, în urma genotipării HPV.
3. Am efectuat evaluarea distribuției factorilor de risc pentru leziunea de col uterin și anume: durata relației, statutul de fumătoare al pacientei, tipul tulpinii HPV infectante, coinfectia cu specii precum *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum*.
 - Valoarea medie a relației în rândul pacientelor pozitive a fost de 4,18 ani.
 - Pacientele fumătoare au reprezentat un procent de 40,8% din rândul pacientelor care au asociat un rezultat pozitiv în urma testării HPV, iar pacientele nefumătoare au fost pozitive într-o proporție identică de 40,8%.
 - Din numărul total de gravide fumătoare (n=20), am observat un procent de 25% (n=5) care asociau infecție HPV LR, respectiv un procent de 75% (n=15) care asociau infecție HPV HR.
 - Am observat faptul că a fost o incidență mai mare a pacientelor infectate cu o singură tulpină HPV (n = 36), pe următorul loc situându-se pacientele infectate cu 2 tulpini (n = 7). De asemenea, a fost decelat un caz care asocia 6 tulpini de HPV.
 - în funcție de genotipul HPV infectant, asocierea strict a infecției cu tulpini non-oncogene de HPV a fost observată în 32,7 % din cazuri (n = 16), cu tulpini oncogene de HPV a fost decelată în 49 % din cazuri (n = 24), în timp ce asocierea celor două tipuri de virus (atât oncogen, cât și non-oncogen) a fost notată în 18,4 % din cazuri (n = 9). Incidența cea mai mare a prezentat-o tulpina HPV 16, atât în infecții unice, cât și în infecții asociate, urmată de HPV 6 și HPV 18.

- În ceea ce privește coinfecția cu specii precum *Mycoplasma hominis* și/ sau *Ureaplasma urealyticum*, în lotul de lucru am identificat 8 paciente din 49 (un procent de 16,3 %), iar în lotul de control am regăsit 5 paciente din 49 (un procent de 10,2 %).
 - O altă coinfecție pe care am luat-o în calcul a fost infecția cu *Chlamydia trachomatis*, dar în grupurile noastre nu am identificat nicio pacientă cu chlamydioză.
4. Am analizat inclusiv statusul de vaccinare anti HPV al pacientelor comparativ cu trecerea acestora prin infecția HPV.
 - Dintre pacientele vaccinate împotriva HPV au ieșit ca fiind pozitive în urma genotipării HPV doar în 37,5% din cazuri (n = 3), restul de 62,5% (n = 5) fiind negative. Dintre pacientele nevaccinate împotriva HPV au ieșit ca fiind pozitive 51,1% (n = 46), în timp ce 48,9% au fost negative (n = 44).
 5. Un alt aspect analizat a fost tipul lezional cu care au fost diagnosticate pacientele incluse în studiul nostru. Astfel, 93,9% (n = 46) dintre paciente pozitive au fost diagnosticate cu leziune la nivelul colului uterin, restul de 6,1 % (n = 3) prezentând leziuni de tip condilomatoză vulvo-vaginală.
 6. În urma evaluării am constatat prezența hipertensiunii arteriale induse de sarcină în cazul a 4 paciente HPV pozitive, respectiv 4 paciente HPV negative. Am obiectivat astfel proporții identice în ambele grupuri de paciente.
 7. Am evaluat durata travaliului în grupul pacientelor pozitive și negative. Am observat o durată medie a travaliului comparabilă între cele 2 loturi studiate: de 9 ore pentru pacientele pozitive și de 8 ore pentru pacientele negative. La analiza grupurilor de paciente pozitive versus negative care au parcurs travaliul având membranele rupte, am obiectivat faptul că durata medie a travaliului a fost aproximativ egală, și anume 7,25 ore în rândul pacientelor pozitive comparativ cu 6,6 ore în rândul pacientelor negative.
 8. Astfel, în rândul gravidelor HPV pozitive (n=49), 77,6% din nașteri (n=38) au fost finalizate prin operație cezariană, în timp ce 22,4% (n=11) au fost finalizate pe cale vaginală.
 9. De asemenea, am evaluat procentul gravidelor care s-au prezentat la camera de gardă în vederea admisiei pe secția de obstetrică-ginecologie pentru ruptura spontană a membranelor amniotice în rândul pacientelor cu infecție HPV.

- Astfel, am constatat că în lotul HPV pozitiv se regăsesc 12 gravide (24,5%) care au fost internate cu membrane rupte spontan precoce, respectiv 37 gravide (75,6%) care nu au prezentat acest semn la momentul internării.
- Am examinat numărul de paciente cu infecție HPV HR comparative cu LR în cadrul gravidelor internate pentru pierdere de lichid amniotic.
- Astfel, dintre cele 12 gravide HPV pozitive cu membrane rupte, HPV LR a fost regăsit la 58,3% (n=7) dintre acestea, comparativ cu 41,7% (n=5) care au asociat HPV HR.

10. Un alt aspect evaluat a fost **riscul de naștere prematură**.

- am comparat grupurile prin prisma stării civile pentru a identifica riscul de naștere prematură de fond al pacientelor și am observat că 16,7 % dintre pacientele căsătorite (n = 14) au asociat o naștere prematură comparativ cu 6,7 % (n = 1) din lotul pacientelor necăsătorite.
- am comparat și lotul de paciente cu infecție HPV, respectiv fără infecție HPV pentru a identifica riscul de naștere prematură de fond al pacientelor și am observat faptul că în lotul pacientelor HPV pozitive 22,4 % dintre acestea (n = 11) au asociat naștere prematură comparativ cu lotul pacientelor HPV negative din care doar 8,2 % (n = 4) au asociat naștere prematură. Diferența reieșită a fost semnificativă din punct de vedere statistic ($p = 0.050$).
- Am obiectivat un procent de 25,0 % (n = 4) din lotul de paciente infectate cu tulpini HPV cu risc scăzut și 21,2 % (n = 7) din lotul de paciente infectate cu tulpini HPV de grad înalt care au asociat naștere prematură.
- Am realizat o paralelă între prezența tulpinii HPV 16 și riscul nașterii premature în rândul acestor paciente. Astfel, în cazul pacientelor HPV pozitive cu genotipul 16, doar 4 cazuri (22,2%) au avut în istoric naștere prematură, spre deosebire de procentul de 77,8% (14 cazuri) care nu au asociat naștere prematură în antecedente.
- Am cercetat riscul de naștere prematură și în rândul pacientelor cu infecție HPV la care s-a intervenit chirurgical prin electroresecție cu ansa diatermică. Dintr-un număr de 49 de paciente HPV pozitive, 11 au prezentat nașteri premature. Din acest grup restrâns doar în 5 cazuri (45%) s-a intervenit chirurgical la nivel cervical.

11. Am obiectivat un procent mai mare de avorturi spontane în rândul pacientelor căsătorite, și anume 34,5 % (n = 29) spre deosebire de grupul de paciente necăsătorite unde doar 7,1 % (n = 1) au asociat avort spontan. Aceste diferențe procentuale s-au dovedit a avea semnificație statistică (p = 0.040). Am obiectivat faptul că 60,6 % dintre pacientele HPV pozitive care au asociat cel puțin un avort spontan (n = 20) erau diagnosticate cu tulpini cu risc înalt, spre deosebire de procentul de 12,5 % (n = 2) care reprezintă pacientele cu avort spontan diagnosticate cu infecție cu HPV cu risc scăzut. Diferențele procentuale determinate prezintă semnificație din punct de vedere statistic (p = 0.001). Am identificat faptul că în rândul pacientelor cu tulpina HPV 16, 13 cazuri (72,2%) au asociat avorturi spontane, comparative cu 5 cazuri (27,8%) care nu au avut în antecedentele personale sarcini pierdute. Diferențele procentuale au reieșit semnificative din punct de vedere statistic (p=0.003).
12. În studiul nostru, ne-am propus identificarea ADN-ului viral pentru HPV la nou-născuții din mame HPV pozitive, susținând ideea transmiterii intrauterine și perinatale a infecției HPV. Astfel, în primele minute de viață, în sala de naștere, s-au recoltat la nou-născuți tampon bucal, aspirat gastric – lichid amniotic – și sânge din cordonul ombilical. În probele biologice recoltate, s-a urmărit izolarea ADN-ului viral folosind kituri de extracție specifice.
13. Am testat toate probele biologice cu conținut de calitate a ADN-ului viral folosind metoda cu sensibilitate crescută – PCR tip Nested, dar rezultatele au fost negative.
14. Am evaluat clinic nou-născuții, în primele minute de viață, și nu am identificat leziuni caracteristice infecției HPV, cutanate sau la nivelul mucoaselor. La reevaluarea de la 1 lună și de la 6 luni, am constatat absența leziunilor cutanate sau la nivelul mucoaselor, dar prezența afecțiunilor respiratorii, infecții de căi respiratorii superioare și bronșiolote, mai frecvente la cei proveniți din mame HPV pozitive. Astfel, 29 de copii (59,2%) din eșantionul de mame pozitive au prezentat afecțiuni respiratorii în primele 6 luni de viață, față de 11 copii (22,4%) din eșantionul de mame HPV negative. Diferența este semnificativă statistic, p<0,001.

Contribuții personale

Am efectuat un studiu prospectiv pe un lot de 49 de gravide HPV pozitive, cu lot martor, identic numeric, de gravide HPV negative cu scopul de a pune în evidență transmiterea materno-fetală a infecției cu HPV și de a analiza asocierea riscului de naștere prematură, de avort spontan și de HTAIS cu infecția HPV.

În studiul de față am demonstrat o corelație semnificativă statistic între riscul de naștere prematură și prezența HPV la gravidă, indiferent de tipul tulpinii, HR sau LR.

În privința asocierii dintre HPV și riscul de avort spontan, am obiectivat un procent mai mare de avorturi spontane la pacientele HPV pozitive în comparație cu grupul pacientelor HPV negative și, de asemenea, am demonstrat un procent mai mare de avorturi spontane la pacientele căsătorite versus necăsătorite, ambele diferite fiind semnificative statistic.

Am inclus în studiu analiza lotului nou-născuților proveniți din gravide HPV pozitive și cele HPV negative cu scopul de a dovedi transmiterea materno-fetală a infecției HPV. Am monitorizat și reevaluat clinic copiii pe o perioadă de 6 luni. Statistic, în grupul copiilor proveniți din gravidele din lotul de studiu au predominat infecțiile respiratorii, diferența este cu semnificație statistică.

Bibliografie:

1. Sasidharan Pillai S, Bhat P, Kamath V, Govindakarnavar A. Possible non-sexual modes of transmission of human papilloma virus: Non-sexual modes of HPV transmission. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017;43. doi:10.1111/jog.13248
2. Cho G, Min KJ, Hong HR, Kim S, Hong JH, Lee JK, et al. High-risk human papillomavirus infection is associated with premature rupture of membranes. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2013; 13:173 pmid:24011340
3. Wiik J, Nilsson S, Kärberg C, Strander B, Jacobsson B, Sengpiel V. Associations of treated and untreated human papillomavirus infection with preterm delivery and neonatal mortality: A Swedish population-based study. *PLoS Med.* 2021;18(5):e1003641. doi:10.1371/journal.pmed.1003641
4. Chen EY, Howley PM, Levinson AD, Seeburg PH. The primary structure and genetic organization of the bovine papillomavirus type 1 genome. *Nature.* 1982;299(5883):529-534. doi:10.1038/299529a0
5. Doorbar J, Quint W, Banks L, et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Compr Control HPV Infect Relat Dis.* 2012;30:F55-F70. doi:10.1016/j.vaccine.2012.06.083
6. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004;324(1):17-27. doi:10.1016/j.virol.2004.03.033
7. Antonishyn N. The utility of hpv typing and relative quantification of HPV-16 transcripts for monitoring HPV vaccine efficacy and improving colposcopy triage of women with abnormal cervical cytology. Published online May 15, 2022.
8. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2005;32 Suppl 1:S7-15. doi:10.1016/j.jcv.2004.12.006
9. Stubenrauch F & Laimins LA. (1999) Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Semin Cancer Biol* 9(6): 379- 386.

10. Roberts JN, Buck CB, Thompson CD, Kines R, Bernardo M, Choyke PL, Lowy DR, Schiller JT. Genital transmission of HPV in a mouse model is potentiated by nonoxynol-9 and inhibited by carrageenan. *Nat Med* 2007;13:857-861.
11. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C & Murakami I. (2015) Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol* 25(Suppl 1): 2- 23.
12. Egawa N, Egawa K, Griffin H & Doorbar J. (2015) Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. *Viruses* 7(7): 3863- 3890.
13. Syrjänen K, Syrjänen S. Papillomavirus infections in human pathology. Wiley, London-Paris, pp. 1-615, 2000.
14. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002;89:213-228.
15. Vinokurova S & Doeberitz M. (2011) Differential methylation of the HPV 16 upstream regulatory region during epithelial differentiation and neoplastic transformation. *PLoS One* 6(9): e24451.
16. Chellappan SP, Hiebert S, Mudryj M, Horowitz JM & Nevins JR. (1991) The E2F transcription factor is a cellular target for the RB protein. *Cell* 65(6): 1053- 1061.
17. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ & Howley PM. (1990) The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63(6): 1129- 1136.
18. Galloway DA, Gewin LC, Myers H, Luo W, Grandori C, Katzenellenbogen RA & McDougall JK. (2005) Regulation of telomerase by human papillomaviruses. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 70: 209- 215.
19. Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. *Ann N Y Acad Sci.* 1956;63(6):1245-61.
20. Kjaer SK, Tran TN, Sparen P, Tryggvadottir L, Munk C, Dasbach E, Liaw KL, Nygård J, Nygård M. The burden of genital warts: a study of nearly 70,000 women from the general female population in the 4 Nordic countries. *J Infect Dis* 2007;196:1447-1454.
21. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, Anh PT, Ferreccio C, Hieu NT, Matos E, Molano M, Rajkumar R, Ronco G, de Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Thomas JO, Tunsakul S, Meijer CJ, Franceschi S; IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005;366:991-998.
22. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Desy M & Rohan TE. (1999) Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high- risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 180(5): 1415- 1423.

23. Schiffman M, Kjaer SK. Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:14-19.
24. Sycuro LK, Xi LF, Hughes JP, Feng Q, Winer RL, Lee SK, O'Reilly S, Kiviat NB, Koutsky LA. Persistence of genital human papillomavirus infection in a long-term follow-up study of female university students. *J Infect Dis* 2008;198:971-978.
25. Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Wacholder S, Tarone R, Burk RD. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis* 2005;191:1808-1816
26. Skoczyński M, Goździcka-Józefiak A, Kwaśniewska A. The prevalence of human papillomavirus between the neonates and their mothers. *Biomed Res Int* 2015;2015:126417.
27. Skoczynski M, Krzyzanowski AR, Gozdicka-Jozefiak A, Kwasniewska A. Prevalence of human papillomavirus and herpes simplex virus in amniotic fluid from pregnant women of Eastern Poland. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015;69:1349–52. pmid:26671925.
28. Castellsagué X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:20-28.
29. Moscicki AB. Impact of HPV infection in adolescent populations. *J Adolesc Health*. 2005;37:S3-9.
30. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006;24:S1- 15. Review.
31. Hwang LY, Ma Y, Benningfield SM, Clayton L, Hanson EN, Jay J, Jonte J, Godwin de Medina C, Moscicki AB Factors that influence the rate of epithelial maturation in the cervix in healthy young women. *J Adolesc Health* 2009;44:103-110.
32. 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;32:613-618.
33. Rando RF, Lindheim S, Hasty L, Sedlacek TV, Woodland M, Eder C. Increased frequency of detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in exfoliated cervical cells during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:50-55.
34. Oriel JD. Natural history of genital warts. *Br J Vener Dis* 1971;47:1-13.
35. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol*. 2020;135(6):e237-e260. doi:10.1097/AOG.0000000000003891
36. Gomez LM, Ma Y, Ho C, McGrath CM, Nelson DB, Parry S. Placental infection with human papillomavirus is associated with spontaneous preterm delivery. *Hum Reprod*. 2008;23(3):709-715. doi:10.1093/humrep/dem404

37. McDonnold M, Dunn H, Hester A, et al. High risk human papillomavirus at entry to prenatal care and risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(2):138.e1-5. doi:10.1016/j.ajog.2013.09.040
38. Nimrodi M, Kleitman V, Wainstock T, et al. The association between cervical inflammation and histologic evidence of HPV in PAP smears and adverse pregnancy outcome in low risk population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2018;225:160-165. doi:10.1016/j.ejogrb.2018.04.023
39. Gissmann L, Wolnik L, Ikenberg H, Koldovsky U, Schnürch HG, zur Hausen H. Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983;80:560-563.
40. Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, Pizzol D, Moretti A, Barzon L & Palu G. (2010a) Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. *Fertil Steril* 93(3): 802- 806.
41. Foresta C, Pizzol D, Moretti A, Barzon L, Palu G & Garolla A. (2010b) Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk factors. *Fertil Steril* 94(5): 1723-1727.
42. Foresta C, Patassini C, Bertoldo A, Menegazzo M, Francavilla F, Barzon L & Ferlin A. (2011) Mechanism of human papillomavirus binding to human spermatozoa and fertilizing ability of infected spermatozoa. *PLoS One* 6(3): e15036.
43. Trottier H, Mayrand M- H, Coutlee F, Monnier P, Laporte L, Niyibizi J, Carceller AM, Fraser WD, Brassard P, Lacroix J, Francoeur D, Bédard MJ, Girard I, Audibert F. Human papillomavirus (HPV) perinatal transmission and risk of HPV persistence among children: design, methods and preliminary results of the HERITAGE study. *Papillomavirus Res* 2016; 2: 145–152.
44. Syrjänen S. (2010) The role of human papillomavirus infection in head and neck cancers. *Ann Oncol* 21(Suppl 7): 243- 245.
45. Merckx M, Liesbeth WV, Arbyn M, Meys J, Weyers S, Temmerman M & Vanden Broeck D. (2013) Transmission of carcinogenic human papillomavirus types from mother to child: a meta- analysis of published studies. *Eur J Cancer Prev* 22(3): 277-285.
46. Rintala MA, Grénman SE, Puranen MH, Isolauri E, Ekblad U, Kero PO, Syrjänen SM. Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. *J Clin Microbiol*. 2005b;43:376-81.
47. Louvanto K, Sarkola M, Rintala M, Syrjänen K, Grenman S, Syrjänen S. Breast Milk Is a Potential Vehicle for Human Papillomavirus Transmission to Oral Mucosa of the Spouse. *Pediatr Infect Dis J [Internet]*. 2017 Jul [cited 2018 Jan 17];36(7):627–30
48. Makwe CC, Anorlu RI, Odeyemi KA. Human papillomavirus (HPV) infection and vaccines: Knowledge, attitude and perception among female students at the University of Lagos, Lagos, Nigeria. *J Epidemiol Glob Health*. 2012;2(4):199-206. doi:10.1016/j.jegh.2012.11.001

49. Wong LP, Sam IC. Ethnically diverse female university students' knowledge and attitudes toward human papillomavirus (HPV), HPV vaccination and cervical cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010;148(1):90-95. doi:10.1016/j.ejogrb.2009.10.002
50. Tesfaye. Knowledge and awareness of cervical cancer and human papillomavirus among female students in an Ethiopian University: A cross-sectional study. Accessed September 12, 2022. <https://www.ijpvmjournal.net/article.asp?issn=2008-7802;year=2019;volume=10;issue=1;spage=198;epage=198;aulast=Tesfaye>
51. Medeiros R, Ramada D. Knowledge differences between male and female university students about human papillomavirus (HPV) and cervical cancer: Implications for health strategies and vaccination. *Vaccine.* 2010;29(2):153-160. doi:10.1016/j.vaccine.2010.10.068
52. Mansouri NE, Ferrera L, Kharbach A, et al. Awareness and knowledge associated to Human papillomavirus infection among university students in Morocco: A cross-sectional study. *PLOS ONE.* 2022;17(7):e0271222. doi:10.1371/journal.pone.0271222
53. Thompson EL, Vamos CA, Sappenfield WM, Straub DM, Daley EM. Relationship status impacts primary reasons for interest in the HPV vaccine among young adult women. *Vaccine.* 2016;34(27):3119-3124. doi:10.1016/j.vaccine.2016.04.063
54. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PJF, et al. Smoking and human papillomavirus infection: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *Int J Epidemiol.* 2008;37(3):536-546. doi:10.1093/ije/dyn033
55. Matsumoto K, Oki A, Furuta R, et al. Tobacco smoking and regression of low-grade cervical abnormalities. *Cancer Sci.* 2010;101(9):2065-2073. doi:10.1111/j.1349-7006.2010.01642.x
56. Otgonjargala B, Becker K, Batbaatar G, et al. Effect of Mycoplasma hominis and cytomegalovirus infection on pregnancy outcome: A prospective study of 200 Mongolian women and their newborns. *PLOS ONE.* 2017;12(3):e0173283. doi:10.1371/journal.pone.0173283
57. Lukic A, Canzio C, Patella A, et al. Determination of Cervicovaginal Microorganisms in Women with Abnormal Cervical Cytology: The Role of Ureaplasma urealyticum. *Anticancer Res.* 2006;26(6C):4843-4849.
58. Subramaniam A, Lees BF, Becker DA, Tang Y, Khan MJ, Edwards RK. Evaluation of human papillomavirus as a risk factor for preterm birth or pregnancy-related hypertension. *Obstet Gynecol.* 2016;127(2):233-40.
59. Hajek E.F. Contribution to the etiology of laryngeal papilloma in children. *J. Laryngol. Otol.* 1956;70(3):166-168
60. Park H, Lee SW, Lee IH, Ryu HM, Cho AR, et al. (2012) Rate of vertical transmission of human papillomavirus from mothers to infants: relationship between infection rate and mode of delivery. *Virol J* 9: 80.

61. Rombaldi RL, Serafini EP, Mandelli J, Zimmermann E, Losquiavo KP. Transplacental transmission of human papillomavirus. *Virology* 2008;5:106–20.
62. Pakarian F., Kaye J., Cason J., Kell B., Jewers R., Derias N.W., Raju K.S., Best J.M. Cancer associated human papillomaviruses: perinatal transmission AND persistence. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1994;101(6):514–517.
63. Cason J., Kaye J., Pakarian F., Raju K.S., Best J.M. HPV-16 transmission. *Lancet.* 1995;345:197–198.
64. Tenti P., Zappatore R., Migliora P., Spinillo A., Belloni C., Carnevali L. Perinatal transmission of human papillomavirus from gravidas with latent infections. *Obstet. Gynecol.* 1999;93(4):475–479.
65. Watts D.H., Koutsky L.A., Holmes K.K., Goldman D., Kuypers J., Kiviat N.B., Galloway D.A. Low risk of perinatal transmission of human papillomavirus: results from a prospective cohort study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998;178(2):365–373.
66. Bandyopadhyay S., Sen S., Majumdar L., Chatterjee R. Human papillomavirus infection among Indian mothers AND their infants. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2003;4(3):179–184.
67. Smith E.M., Ritchie J.M., Yankowitz J., Wang D., Turek L.P., Haugen T.H. HPV prevalence AND concordance in the cervix AND oral cavity of pregnant women. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2004;12(2):45–56.
68. Rintala M.A., Grénman S.E., Järvenkylä M.E., Syrjänen K.J., Syrjänen S.M. High-risk types of human papillomavirus (HPV) DNA in oral AND genital mucosa of infants during their first 3 years of life: experience from the Finnish HPV family study. *Clin. Infect. Dis.* 2005;41(12):1728–1733.
69. Transplacental transmission of human papillomavirus. *Virology*. 2008;5:106.
70. Castellsagué X., Drudis T., Cañadas M.P., Goncé A., Ros R., Pérez J.M., Quintana M.J., Muñoz J., Albero G., de Sanjosé S., Bosch F.X. 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.
71. Koskimaa H.M., Waterboer T., Pawlita M., Grénman S., Syrjänen K., Syrjänen S. Human papillomavirus genotypes present in the oral mucosa of newborns AND their concordance with maternal cervical human papillomavirus genotypes. *J. Pediatr.* 2012;160(5):837–843.

72. Lee S.M., Park J.S., Norwitz E.R., Koo J.N., Oh I.H., Park J.W., Kim S.M., Kim Y.H., Park C.W., Song Y.S. Risk of vertical transmission of human papillomavirus throughout pregnancy: a prospective study. *PLoS One*. 2013;8(6):e66368.
73. Hahn H.S., Kee M.K., Kim H.J., Kim M.Y., Kang Y.S., Park J.S., Kim T.J. Distribution of maternal ADN infant human papillomavirus: risk factors associated with vertical transmission. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2013;169(2):202–206.
74. Kaye J.N., Cason J., Pakarian F.B., Jewers R.J., Kell B., Bible J., Raju K.S., Best J.M. Viral load as a determinant for transmission of human papillomavirus type 16 from mother to child. *J. Med. Virol.* 1994;44(4):415–421
75. Rodier C., Lapointe A., Coutlée F., Mayrand M.H., Dal Soglio D., Roger M., Trottier H. Juvenile respiratory papillomatosis: risk factors for severity. *J. Med. Virol.* 2013;85(8):1447–1458.
76. Sarkola ME, Grenman SE, Rintala MA, Syrjanen KJ, Syrjanen SM. Human papillomavirus in the placenta ADN umbilical cord blood. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:1181–8.
77. Worda C, Huber A, Hudelist G, Schatten C, Leipold H, Czerwenka K, et al. Prevalence of cervical ADN intrauterine human papillomavirus infection in the third trimester in asymptomatic women. *J Soc Gynecol Invest.* 2005;12:440442
78. Syrjänen S, Shabalova IP, Petrovichev N, Kozachenko VP, Zakharova T, Pajanidi A, et al. Clearance of high-risk human papillomavirus (HPV) DNA ADN PAP smear abnormalities in a cohort of women subjected to HPV screening in the New Independent States of the former Soviet Union (the NIS cohort study). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; 119:21927
79. Ruffin MT 4th, Bailey JM, Roulston D, Lee DR, Tucker RA, Swan DC, et al. Human papillomavirus in amniotic fluid. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2006;6:28
80. Maxwell GL, Carlson J, Zakarean M, Veit B, Hoshaw N. The absence of human papillomavirus in amniotic fluid. *J Low Genit Tract Dis.* 1998;2:1514.
81. Armbruster-Moraes E, Ioshimoto LM, Lea˜o E, Zugaib M. Presence of human papillomavirus DNA in amniotic fluids of pregnant women with cervical lesions. *Gynecol Oncol* 1994; 54:152–8
82. Niyibizi J., Zanr  N., Mayrand M.H., Trottier H. (2017). The association between adverse pregnancy outcomes and maternal human papillo- mavirus infection: a systematic review protocol. *Syst Rev.* 6, 53.

83. de Sanjose S, Brotons M, Pavon MA. (2018). The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 47, 2-13.
84. Song D, Li H, Dai J. (2015). Effect of human papillomavirus infection on the immune system AND its role in the course of cervical cancer. *Oncol Lett*, 10(2), 600-6;
85. Zhou C, Tuong ZK, Frazer IH. (2019). Papillomavirus Immune Evasion Strategies Target the Infected Cell AND the Local Immune System. *Frontiers in oncology*, 9, 682.
86. Erickson BK, Alvarez RD, Huh WK. (2013). Human papillomavirus: what every provider should know. *American journal of obstetrics AND gynecology*, 208(3), 169-75;
87. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, et al. (2011). Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health AND Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *The Journal of infectious diseases*, 204(4), 566-73;
88. Stensen S, Kjaer SK, Jensen SM, Frederiksen K, Junge J, Iftner T, et al. (2016). Factors associated with type-specific persistence of high-risk human papillomavirus infection: A population-based study. *International journal of cancer*, 138(2), 361-8;
89. Zuo Z., Goel S., Carter J., „Association of Cervical Cytology AND HPV DNA Status During Pregnancy With Placental Abnormalities AND Preterm Birth”, *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 136, pp. 260–5, aug. 2011, doi: 10.1309/AJCP93JMIUEKRPIW
90. Miller ES, Sakowicz A, Grobman WA. The association between cervical dysplasia, a short cervix, AND preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2015;213:543.e1–4
91. Kwon JY, Romero R, Mor G. New Insights into the Relationship between Viral Infection AND Pregnancy Complications. *Am J Reprod Immunol*. 2014 May;71(5):387–90
92. Racicot K, Cardenas I, Wunsche V, Aldo P, Guller S, Means RE et al. Viral infection of the pregnant cervix predisposes to ascending bacterial infection. *J Immunol*. 2013;191:934–941;
93. Joseph Niyibizi, Marie-Hélène Mayrand, François Audibert, Patricia Monnier, Paul Brassard, Louise Laporte et al. Bédard 3, Isabelle Girard 9, Diane Francoeur 3 5, Ana Maria Carceller, Jacques Lacroix, William Fraser, François Coutlée, Helen Trottier, HERITAGE Study Group Collaborators. Association Between Human Papillomavirus Infection Among Pregnant Women AND Preterm Birth. Multicenter Study *JAMA Netw Open*. 2021 Sep 1;4(9):e2125308;

94. Achtsidis V, Kozanidou E. The involvement of human papilloma virus (HPV) in eye's disorders in neonates and children: An update. *Int J Mol Med*. 2018;42:S17
95. Smith EM, Johnson SR, Cripe T, Perlman S, McGuinness G, Jiang D, Cripe L, Turek LP: Perinatal transmission AND maternal risks of human papillomavirus infection. *Cancer Detect Prev*. 1995, 19 (2): 196-205
96. Cason J, Kaye JN, Jewers RJ, Kambo PK, Bible JM, Kell B, *et al*. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants. *J Med Virol* 1995; **47**: 209– 18.
97. Cason J, Mant CA. High-risk mucosal human papillomavirus infections during infancy & childhood. *J Clin Virol* 2005; **32**(Suppl. 1): S52– 8. [Review].
98. Blank V, Hirsch E, Challis JRG, Romero R, Lye SJ. Cytokine signaling, inflammation, innate immunity and preterm labour - a workshop report. *Placenta*. 2008;29 Suppl A:S102-104. doi:10.1016/j.placenta.2007.10.011
99. Smith EM, Parker MA, Rubinstein LM, Hauhen TH, Hamiskova E, Turek LP. Evidence of vertical transmission of HPV from mothers to infants. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2010;326369.
100. Ambuhl LM, Baandrup U, Dybkaer K, Blaakaer J, Uldbjerg N & Sorensen S. (2016) Human Papillomavirus Infection as a Possible Cause of Spontaneous Abortion and Spontaneous Preterm Delivery. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2016: e3086036.

Publicații

- Romanian Journal of Infectious Disease – “Human Papilloma virus infection and associated risk of preterm birth” - Asist. Univ. Dr. Simona –Daniela Popescu, Alina-Gabriela Marin, Daniel Codreanu, Prof. Dr. Radu Vladareanu; Vol 25, No. 2, 2022; <https://rjid.com.ro>.
- Revista Ginecologia.ro – “Prematuritatea și riscul asociat infecției cu virusul papilloma uman” - Asist. Univ. Dr. Simona-Daniela Popescu, Asist. Univ. Dr. Andreea Mădălina Banică, Prof. Dr. Simona Vlădăreanu, Alina-Gabriela Marin, Prof. Dr. Radu Vlădăreanu – mai 2022; <https://medichub.ro/reviste-de-specialitate/ginecologia-ro-mid-573-cmsid-65>.
- Revista Ginecologia.ro - „Virusul Papiloma Uman – implicații neonatale”- Asist Univ. Dr. Simona Daniela Popescu, Asist. Univ. Dr. Andreea Mădălina Bănică, Prof. Dr. Simona Vlădăreanu - mai 2018; <https://medichub.ro/reviste-de-specialitate/ginecologia-ro-mid-215-cmsid-65>.