

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Mirjana B. Marjanović Cvjetićanin

**ZNAČAJ DOPLER EHOSONOGRFIJE U PROCENI
STEPENA FETALNE ANEMIJE U TRUDNOĆAMA SA RH
ALOIMUNIZACIJOM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Mirjana B. Marjanović Cvjetićanin

**THE SIGNIFICANCE OF DOPPLER SONOGRAPHY IN THE
EVALUATION OF FETAL ANEMIA IN THE PREGNANCIES WITH
RH ALLOIMMUNIZATION**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2018

MENTOR:

Prof. dr Snežana Plešinac, profesor ginekologije i akušerstva, Medicinski fakultet
Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. **Akademik Prof. Dr Nebojša Radunović**, profesor ginekologije i akušerstva,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. **Prof. Dr Darko Plećaš**, profesor ginekologije i akušerstva, Medicinski fakultet
Univerziteta u Beogradu
3. **Prof. Dr Zorica Grujić**, profesor ginekologije i akušerstva, Medicinski fakultet
Univerziteta u Novom Sadu

Datum odbrane: __/__/____

ZAHVALNICA

Želim da se najiskrenije zahvalim svojoj mentorki, Prof. dr Snežani Plešinac, na iskrenim i mudrim savetima, velikoj pomoći i neprekidnoj podršci.

Zahvaljujem se svojim dragim roditeljima, na pruženoj ljubavi i sigurnosti uz koje su životne prepreke lakše savladive.

Zahvaljujem se suprugu i mojim milim devojčicama, za neizmernu podršku i razumevanje, za svaki osmeh koji mi daje novu snagu i motivaciju..

Zahvaljujem se mojoj dragoj sestri, za potvrdu da ne postoji nemoguće.

Zahvaljujem se kolegini Ass. Dr Jeleni Dotlić, na nesebičnoj pomoći u realizaciji izrade disertacije.

Zahvaljujem se prijateljima, za podršku i iskrene savete.

Autor

*Za Nebojšu, Srđanu i Andreu,
sa ljubavlju.*

ZNAČAJ DOPLER EHOSONOGRAFIJE U PROCENI STEPENA FETALNE ANEMIJE U TRUDNOĆAMA SA RH ALOIMUNIZACIJOM

REZIME

Uvod: Rh aloimunizacija je veoma retko oboljenje, ali i dalje veoma komplikovano za dijagnostiku i lečenje. Predstavlja veliki izazov za kliničara perinatologa. Dopler sonografsko merenje maksimalnog protoka kroz sistolu u fetalnoj arteriji cerebri mediji (middle cerebral artery peak systolic volume- MCA PSV) je neinvazivna metoda i smatra se da je dobar dijagnostički test za procenu stepena fetalne anemije, kao i za određivanje potrebe za in-utero transfuzijom (IUT) kod pacijentkinja sa Rhesus (Rh) aloimunizacijom.

Cilj: Cilj studije je pokazati da li dopler merenje MCA PSV fetusa sa Rh aloimunizacijom korelira sa stepenom ugroženosti fetusa određenom spektrofotometrijskom analizom plodove vode po Liley-u, kao i sa vrednostima hematokrita (Hct) fetusa koji su dobijeni kordocentezom, koja važi za metodu zlatnog standarda u određivanju fetalne anemije.

Metode: Ova prospektivna studija obuhvatila je 36 trudnica koje su ispitivane i lečene zbog Rh aloimunizacije u tercijarnom centru (Klinika za Ginekologiju i Akušerstvo, Klinički Centar Srbije) tokom perioda od 5 godina (2012.-2017.). Dopler merenje MCA PSV i amniocentezu radili smo kod svih fetusa koji su bili u riziku za pojavu fetalne anemije. Određivanje hematokrita (Hct) radili smo kod svih fetusa koji su zahtevali IUT, kao i kod svih neonatusa. Kod pacijentkinja kod kojih je bilo neophodno primeniti IUT u cilju korekcije anemije poredili smo vrednosti MCA PSV i hematokrita pre i posle svake transfuzije.

Rezultati: MCA PSV i Hct su u negativnoj korelaciji, pri čemu je senzitivnost merenja MCA PSV 83%, specifičnost 40%, PPV 56%, NPV 71%. Spektrofotometrijsko određivanje ugroženosti fetusa po Liley-u i Hct su u negativnoj korelaciji, pri čemu je senzitivnost metode po Liley-u 70%, specifičnost 46%, PPV 55%, NPV 61%. Hct i MCA PSV su u negativnoj korelaciji pre terapije in-utero transfuzijom ($p=0.035$) i pre i posle druge transfuzije ($p=0.046$). Obratno, posle prve ($p=0.954$), pre druge ($p=0.738$), kao i pre ($p=0.092$) i posle ($p=0,741$) treće transfuzije nije nađena statistički značajna povezanost između vrednosti Hct i MCA PSV.

Zaključak: Dopler merenje MCA PSV može da se koristi u određivanju stepena fetalne anemije, kao neinvazivna i brza metoda. Ima veću tačnost od invazivne metode, amniocenteze. Kod fetusa koji su prethodno imali tranfuziju MCA PSV ima redukovanu dijagnostičku tačnost i nije pouzdan pokazatelj fetalne anemije.

Ključne reči: MCA PSV, Rh aloimunizacija, fetalna anemija, amniocenteza, in-utero transfuzija

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Ginekologija i akušerstvo

THE SIGNIFICANCE OF DOPPLER SONOGRAPHY IN THE EVALUATION OF FETAL ANEMIA IN THE PREGNANCIES WITH RH ALLOIMMUNIZATION

ABSTRACT

Introduction: Rhesus alloimmunization is a rare condition, but still very challenging for assessment. Doppler sonography of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity (MCA PSV) is non-invasive procedure and it could be used in the prediction of fetal anemia and the need for in-utero intravascular transfusion (IUT) in red blood cell (RBC) alloimmunization pregnancies.

Objective: The aim of this study was to evaluate whether measurement of MCA PSV is in correlation with spectrophotometric measurement by amniocentesis, as well as with hematocrit values achieved by cordocentesis, which is a gold standard for assessment of severity of fetal anemia.

Methods: Study included 36 pregnancies treated due to RBC alloimmunization in our tertiary referral center during the 5 year period (2012–2017). We measured MCA PSV and spectrophotometric values in all patients. We measured Hct in all patients where there was a need to perform IUT for correction of fetal anemia, and in all neonates upon birth. In patients with IUT we compared MCA PSV and Hct values before and after every transfusion.

Results: MCA PSV and Hct correlated negatively, with sensitivity for MCA PSV test of 83%, specificity 40%, PPV 56%, NPV 71%. Spectrophotometric measurement by Liley negatively correlated with Hct values, with sensitivity of 70%, specificity of 46%, PPV 55%, NPV 61%. MCA PSV and Hct correlated negatively before transfusion therapy ($p=0.035$) and after the second transfusion ($p=0.046$). Contrary, after the first ($p=0.954$), before the second ($p=0.738$), as well as before ($p=0.092$) and after ($p=0,741$) the third transfusions there were no significant correlations between Hct and MCA-PSV values.

Conclusion: Doppler sonography can be used in assessment of fetal anemia in pregnancies with Rh alloimmunization, as non-invasive and fast procedure. It is more accurate than invasive procedure, amniocentesis. There is a reduction in MCA PSV accuracy for assessing fetal anemia in previously transfused fetuses.

Key words: MCA PSV, red blood cell alloimmunization, fetal anemia, amniocentesis, in-utero transfusion

Scientific field: Medicine

Narrow scientific field: Gynecology and obstetrics

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. RH ALOIMUNIZACIJA	1
1.1. Definicija.....	1
1.2. Istorijski podaci.....	1
1.3. Patogeneza.....	2
1.4. Genetika.....	6
1.5. Antenatalna dijagnoza Rh aloimunizacije.....	8
Amniocenteza.....	11
Kordocenteza.....	12
Ehosonografija.....	12
1.6. Prevencija Rh aloimunizacije.....	19
1.7. Terapija fetalne anemije.....	21
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	22
3. MATERIJAL I METODE	23
3.1. Kriterijumi za uključivanje u studiju.....	23
3.2. Kriterijumi za isključivanje iz studije.....	23
3.3. Instrumenti merenja.....	24
3.3.1. Anamnestički podaci.....	24
3.3.2. Određivanje titra antitela.....	24
3.3.3. Sonografski pregled.....	24
3.3.4. Amniocenteza.....	27
3.3.5. Kordocenteza.....	28
3.3.6. In-utero transfuzija (IUT).....	30
3.3.7. Neonatalno praćenje.....	31
3.3.8. Statističke metode.....	31
4. REZULTATI	34
4.1. Opšti podaci.....	34
4.2. Rezultati invazivnih dijagnostičkih metoda.....	44
4.2.1. Amniocenteza.....	44
4.2.2. Kordocenteza.....	46
4.3. Sonografski parametri.....	48
4.4. Rezultati korelacija.....	52
4.5. In-utero transfuzija.....	65
5. DISKUSIJA	69
6. ZAKLJUČCI	82
7. LITERATURA	83

1. UVOD

1.1. Rhesus aloimunizacija-definicija

Fetalna anemija je relativno retko ali veoma ozbiljno oboljenje fetusa.

Etiologija može biti imunološka i neimunološka. Rhesus (Rh) aloimunizacija se svrstava u imunološke uzroke fetalne anemije [1].

Aloimunizacija označava postojanje cirkulišućih antitela u cirkulaciji majke protiv eritrocita fetusa, koja nastaju kao odgovor na postojanje stranog antigena na membrani eritrocita fetusa [2, 3]. Perinatalna posledica ovog procesa je hemoliza i anemija kod fetusa i novorođenčeta, odnosno hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta (HDFN).

1.2. Istorijski podaci

Prvi pisani dokument, gde se opisuju klinički znaci hemolitičke bolesti fetusa, pojavljuje se 1609. godine. Tada je francuska babica Louise Borgeois notirala edem, žutilo i neurološke simptome kod novorođenih blizanaca [4].

Nakon više od 300 godina, austrijski imunolog Landsteiner, 1900. god. otkriva krvne grupe, dok Rautmann 1912. god. uvodi termin "eritroblastoza".

Ova dva stanja se više nisu zajedno opisivala sve do 1932. godine kada su Diamond i sar. došli do zaključka da su hidrops fetalis, icterus gravis i anemia gravis različite kliničke slike istog oboljenja, izrazito teške hemolize, kada dolazi do razvoja ekstramedularne eritropoeze i stvaranja nezrelih eritrocita (erythroblastosis fetalis). Međutim, i dalje je uzrok fetalne hemolize bio nepoznat.

Potom 1938. godine, Ruth Darrow, patolog iz Čikaga, kojoj je beba preminula od kernikterusa, razvija teoriju da su uzrok fetalne eritrocitne hemolize maternalna antitela nastala transplacentarnim prelaskom fetalnih eritrocita u cirkulaciju majke. To dovodi do povratnog transplacentarnog prelaska antitela u fetus, sa posledičnom destrukcijom

eritrocita. Njen postulat je bio da je napadajući antigen fetalni hemoglobin. Patogeneza hemolitičke bolesti je dobro identifikovana ali je antigen bio pogrešan.

Levin i Stewson 1939. god. utvrđuju da je imunizacija majke posledica fetalnog antigena (Ag) nasleđenog od oca, koji nije prisutan kod majke.

Sa otkrićem Rhesus krvnog sistema od strane Landsteiner i Wiene 1940. godine, i posledičnom determinacijom od strane Levine i sar. 1941. god. da je D u Rh sistemu napadajući antigen, patogeneza hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta je bila razjašnjena. Radovi Landsteiner, Wienera, Levina i saradnika smatraju se kamenom temeljcem moderne imunohematologije [1-5].

1.3. Patogeneza

Do sada je već poznata činjenica da fetomaternalna površina nije apsolutna barijera. Postoje klinički dokazi da između majke i fetusa postoji veoma frekventna razmena različitih vrsta ćelija i molekula, tokom cele gestacije [4-7].

Patogeneza aloimune fetalne anemije može da se podeli u 4 faze:

- I. I. aloimunizacija majke
- II. transplacentarni prelaz antitela majke u fetus
- III. imuna destrukcija senzitivizovanih eritrocita
- IV. kliničke manifestacije anemije

I. Maternalna aloimunizacija

Na površini humanih eritrocita nalazi se na hiljade različitih antigena. Klinički najvažniji antigen, u okviru Rhesus krvno-grupnog sistema, je D antigen. Smatra se da ga poseduje oko 85% populacije, odnosno da je RhD pozitivno. D antigen je izrazito imunogen i veoma je dobro razvijen rano u gestaciji.

Kada fetus RhD negativne trudnice nasledi D antigen od oca, dolazi do stvaranja imunološkog odgovora u njenoj cirkulaciji, kao reakcija na strani D antigen. Međutim, da li će se RhD negativna trudnica imunizovati zavisi od nekoliko faktora: od količine D pozitivnih eritrocita, Rh fenotipa fetalne krvi, ABO inkompatibilnosti, maternalnog HLA haplotipa, i fetalnog pola [5, 6].

U većini slučajeva *količina putativnog antigena* na površini eritrocita nije dovoljna za stimulaciju maternalnog imunog odgovora. Male količine fetalnih eritrocita ulaze u maternalnu cirkulaciju tokom normalnih trudnoća i nakon normalnih porođaja. U odsustvu antenatalne profilakse, antiD antitelo se može detektovati u serumu kod manje od 1% RhD negativnih trudnica koje nose RhD pozitivni fetus na kraju trećeg trimestra. Ovo govori da tokom normalne trudnoće, transplacentarna hemoragija je malog obima i retko izaziva stvaranje antitela. Volumen transplacentarne hemoragije detektovan u maternalnoj cirkulaciji može da bude značajno veći u toku porođaja, naročito kada su fetus i majka ABO kompatibilni. Tako, u odsustvu Rh profilakse, oko 16% RhD negativnih žena biva imunizovano kao rezultat njihovog prvog izlaganja RhD pozitivnoj, ABO kompatibilnoj trudnoći. Oko polovina žena ima detektabilna antitela 6 meseci nakon porođaja i oko polovina razvije sekundarni imuni odgovor u toku naredne trudnoće sa RhD pozitivnim fetusom. U 90% slučajeva primarni imunološki odgovor je posledica fetomaternalnog krvarenja na porođaju, 10% je rezultat antenatalnog fetomaternalnog krvarenja. Količina krvi neophodna da dođe do aloimunizacije je veoma mala- fetomaternalno krvarenje od manje od 0.1ml je sve što je potrebno. Incidenca aloimunizacije se povećava na 31% nakon transplacentarne hemoragije preko 0.1 ml fetalne krvi.

U slučaju obimnog fetomaternalnog krvarenja pre porođaja ili u toku porođaja, klonovi B limfocita, koji prepoznaju strani antigen na fetalnim eritrocitima, se uspostavlja. Inicijalno stvaranje imunoglobulina klase M (IgM antitela) od strane majke je kratkoročno, i praćeno je brзом promenom na stvaranje imunoglobulina klase G (IgG odgovor). Pozitivan titar humanog antiglobulina se obično može detektovati od 5.te do 16.te nedelje nakon što je nastupila senzibilizacija [7-10].

Transplacentarna hemoragija i sledstvena aloimunizacija može da bude posledica invazivnih procedura kao što su amniocenteza, kordocenteza, zatim namerni i spontani pobačaj, kao i nakon određenih obstetričkih manipulacija.

Nisu svi eritrociti podjednako imunogeni. Eritrociti sa *fenotipom* R2r su više imunogeni od R1r ćelija. To se može objasniti činjenicom da je količina D antigena na R2r ćelijama veća. Ukupno 14 000-16 000 D antigena imaju R2r ćelije na svojoj površini, u odnosu na R1r ćelije koje imaju 9 900-14 600 D antigena.

Nastanak maternalne aloimunizacije takođe zavisi i od *krvne grupe iz ABO sistema partnera*. Levin i saradnici su 1943. godine primetili da trudnice čiji su partneri ABO inkompatibilni ređe postaju aloimunizovane. Kasnijim studijama je ustanovljeno da inkompatibilnost krvne grupe A između majke i fetusa uspostavlja 90% zaštite od D imunizacije. Krvna grupe B inkompatibilnost uspostavlja 55% zaštite. Smatra se da zaštitini efekat nastaje kao posledica sposobnosti anti A ili anti B antitela da prouzrokuju brzu intravaskularnu destrukciju eritrocita.

Smatra se da postojanje *maternalnog HLA haplotipa* HLA-DQB1 alela *0201 stvara veći titar D antitela. Molekularni mehanizam ove povezanosti do sada nije razjašnjen [11].

Što se tiče *fetalnog pola*, u nekoliko studija je dokazano da D pozitivni muški fetus češće stvara aloimuni odgovor u odnosu na ženski fetus.

II. Prelazak IgG antitela u fetus

Nakon inicijalnog izlaganja antigenu, memorijski B limfociti čekaju pojavu eritrocita koji sadrže D antigen u narednoj trudnoći. Ako bivaju stimulisani fetalnim eritrocitima, ovi B limfociti se diferenciraju u plazma ćelije, koje mogu brzo da proliferišu i produkuju IgG antitela i samim tim povećanje maternalnog titra. Maternalna IgG antitela prelaze kroz placentu i vežu se za fetalne eritrocite koji su ispoljili paternalni antigen D. Transport se odigrava preko sinciotrofoblasta čije ćelije imaju receptore za IgG domene. Transport IgG preko placente je usporen sve do oko 24.te nedelje gestacije, tako da je pojava hemolitičke bolesti fetusa u ranoj gestaciji retka. Preko sinciotrofoblastnih vezikule IgG se oslobađaju i ulaze u fetalnu cirkulaciju.

III. Imunološka destrukcija eritrocita u fetusu

Malo je studija koje objašnjavaju način destrukcije eritrocita kod anemičnih fetusa. Zaključci o samom procesu destrukcije izvedeni su na osnovu analize kod odraslih i u in vitro eksperimentima. Smatra se da se IgG antitela vežu za eritrocite fetusa i tako bivaju prepoznati od strane makrofaga. Fetalni eritrociti sa IgG antitelima se potom uništavaju od strane makrofaga u fetalnoj slezini, procesom koji se zove ekstravaskularna hemoliza, stvarajući fetalnu anemiju. Koncentracija antitela kod majke je u direktnoj korelaciji sa stepenom težine hemolize kod fetusa. Fetalni makrofagi se pojavljuju u fetalnoj cirkulaciji oko 13. te nedelje gestacije. Smatra se da su sposobni da izazovu destrukciju IgG senzitivizovanih eritrocita od 22.-24.te nedelje gestacije, kada je i transport preko placente signifikantan [7-11]. Nekoliko važnih fizioloških procesa se javlja kod fetusa kao odgovor na anemiju. U fetalnoj slezini se uništavaju antigen pozitivni eritrociti. Razaranjem eritrocita oslobađa se hemoglobin. Slobodan hemoglobin se metaboliše u bilirubin. Pojačana produkcija retikulocita u kostnoj srži je dektovana kada je deficit hemoglobina preko 2g/dL, prema normativima za gestacijsku starost.

Kako se anemija pogoršava fetalna hematopoeza se intenzivira, što se označava kao "erythroblastosis fetalis". Dolazi do pojave eritroblasta iz fetalne jetre kada je deficit hemoglobina jednak ili veći od 7 g/dL. Organi koji su uključeni u stvaranje i destrukciju eritrocita se uvećavaju (slezina, jetra). Povećava se srčani minutni volumen, kao i nivo 2,3- difosfoglicerata, kao odgovor na hipoksiju. Kod najtežih slučajeva razvija se portna hipertenzija i dolazi do smanjenog stvaranja albumina u jetri što vodi ka snižavanju onkotskog pritiska i do razvoja edema i ascitesa kod fetusa.

IV. Klinička slika

Posledica hepatosplenomegalije i portne hipertenzije je generalizovani edem "Hydrops fetalis"- koji može da bude udružen sa srčanom insuficijencijom i letalnim ishodom [12].

Inicijalni ultrazvučni znaci fetalnog hidropsa su ascites, praćen kasnije pleuralnom efuzijom i na kraju edemom skalpa. Zbog povećane količine bilirubina, novorođenče je

žuto prebojene kože (icterus neonatalis) i može da ima neurološke simptome (kernicterus).

1.4. Genetika

Naziv “Rhesus” krvno-grupnog sistema je nastao tako što su naučnici imunizovali laboratorijske kuniće sa eritrocitima posebne vrste majmuna- Rhesus majmunima. Kod kunića su se razvila antitela koja su usmerena protiv antigena na površini primljenih eritrocita. Ovaj antigen je nazvan Rhesus (Rh) faktor [13].

Rhesus krvno-grupni sistem spada u klinički najznačajniji krvno-grupni sistem, posle ABO sistema. Odlikuje ga visok stepen polimorfizma, sa do sada ispitanih 49 antigena od kojih pet spadaju u glavne (major) antigene.

Prvi otkriveni Rhesus antigen je bio D antigen, 1939. godine. RhD pozitivni pacijenti su kategorisani u grupu Rhesus pozitivnih, ostali u grupu Rhesus negativnih. Godine 1946., opisane su kvantitativne varijante D antigena, pa je tako opisana i specifična grupa “slabi D pozitivni”, koja ima poseban klinički i dijagnostički značaj. Od 1953. godine govori se i o kvalitativnim varijantama D antigena. Pacijentkinje sa parcijalnom varijantom D antigena, iako su D pozitivne, mogu da razviju anti-D antitela.

Da bi se razumela genetska osnova bolesti, veoma je važno prihvatiti i razumeti individualne razlike u genetskoj varijabilnosti, kao i njihovu učestalost i distribuciju u opštoj populaciji.

Novija ispitivanja pokazuju da se Rh genski lokus sastoji od dva uzastopna homologa strukturalna gena lokalizovana na kratkom kraku prvog hromozoma, označena kao RhCE (CcEe) i D. Prvi Rhesus gen, RhCE gen, je otkriven 1990. godine. RhD gen je pronađen dve godine kasnije, i kompletni izostanak ovog gena je uzrok evropskog D negativnog fenotipa. Prvi gen, RhCE (CcEe) je odgovoran za sintezu C/c i E/e proteina, pri čemu su proteini rezultat alternativne podele primarnog transkripta (9). Gen D je odgovoran za sintezu glavnog D antigena, a njegovo odsustvo na oba hromozoma određuje RhD negativnu osobu [14, 15].

Nakon poređenja Mamalnog razvojnog projekta i Humanog razvojnog projekta, 2002 godine, došlo se do novih saznanja u evoluciji RhD antigena. Naime, većina sisara ima

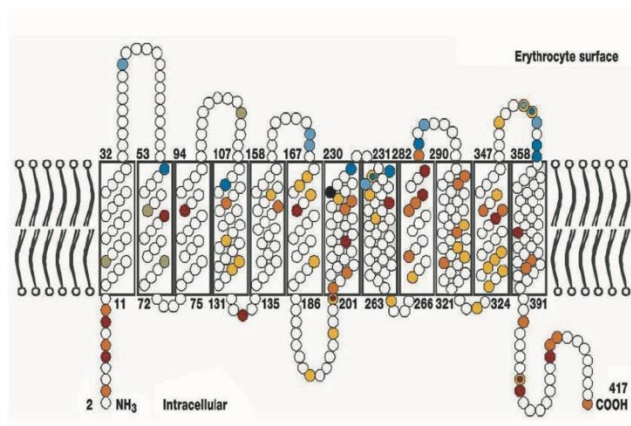
jedan Rh gen, čija se pozicija podudara sa pozicijom RhCE gena kod ljudi. RhD gen nastaje duplikacijom prvobitnog, predka, Rh gena tokom evolucije sisara. RHD delecija je nastala evolucijom hominisa, tako da mnogi pripadnici sadašnje ljudske populacije nemaju RhD gen. Ovaj haplotip je vodeći uzrok D negativnog fenotipa [16-19].

Prisustvo, odnosno odsustvo D gena u genomu, određuje gensku bazu RhD pozitivnog tj. RhD negativnog krvno-grupnog polimorfizma.

Nasleđivanje D antigena je autozomno dominantno. Oko 45% RhD pozitivnih osoba su homozigoti za D antigen (nasleđen set D antigena od oba roditelja), a 55% RhD pozitivnih osoba su heterozigoti za D antigen (nasleđeni D sadržavajući set od jednog roditelja). Ukoliko je majka RhD negativna, a otac je homozigot, sva deca će biti RhD pozitivna. Ukoliko je otac heterozigot postoji podjednaka verovatnoća da će plod biti RhD pozitivan, odnosno RhD negativan.

Klinički, razlika između Rhesus pozitivnih i Rhesus negativnih je prisustvo ili nedostatak RhD proteina u eritrocitnoj membrani (D poz. i D neg.).

Rh-antigen je belančevina prosečne molekulske težine oko 10000 kDa. Osnovna biološka karakteristika je izražena termostabilnost. Dva Rhesus proteina, RhD i RhCE su veoma slična. Razlikuju se u 36 aminokiselina od ukupno 417 koje oba poseduju u svojoj strukturi. Svaki u eritrocitnoj membrani zauzima dvanaest segmenata i šest ekstracelularnih petlji (slika1.).



Slika 1. Rhesus protein na eritrocitnoj membrani.

Razlika u aminokiselinama, koja razlikuje RhD od RhCE proteina je označena žutom bojom (14).

Većina krvno-grupnih proteina ima svoju funkciju u čovekovom organizmu. Izolujući humani Rhesus protein, američki lekar Peter Agre je otkrio i protein za transport vode. Ovim otkrićem je dobio Nobelovu nagradu za hemiju 2003. godine. Međutim, i pored velikog truda, još uvek nije pronađena funkcija RhD i RhCE proteina. U toku je ispitivanje njihove uloge u transportu ugljen-dioksida i kiseonika, ali potrebna je svakodnevna klinička primena genetičkih dijagnostičkih procedura da bi se došlo do novijih saznanja.

Genetska ispitivanja, kao i svaka ispitivanja u medicini, treba da se urade samo ako imaju jasan razlog i cilj. Savremene metode genetskog ispitivanja uključuju polimeraznu lančanu reakciju (PCR) za gensku amplifikaciju i posledičnu identifikaciju putem elektroforeze, sekvencioniranje genoma i hibridizaciju na biočipovima [2,11,16,17].

I pored velikih dostignuća na polju ispitivanja Rhesus krvne grupe, smatra se da ova istraživanja nikako nisu završena.

1.5. Antenatalna dijagnoza Rh aloimunizacije i procena stepena težine fetalne anemije

Rh aloimunizacija može imati različite posledice na fetus, od beznačajnih do najtežih kao što je fetalna smrt. Iz tog razloga je neophodno sprovesti adekvatnu antenatalnu dijagnostiku, koja uključuje:

- I. anamnestičke podatke
- II. određivanje nivoa antitela majke
- III. testiranje paternalnog zigociteta
- IV. testiranje fetalnog genotipa
- V. amniocentezu
- VI. kordocentezu
- VII. ultrazvučni pregled i Dopler ultrazvučni pregled fetalne cirkulacije

I. Anamnestički podaci

Na osnovu dobijenih anamnestičkih podataka, trudnicu možemo svrstati u jednu od četiri grupe, prema šemi koju je preporučio Townsend [18]:

U prvu grupu spadaju trudnice koje nisu imale detektovana antitela u prethodnim trudnoćama. One prvi put u aktuelnoj trudnoći imaju pozitivne testove senzibilizacije-primoimunizacija.

Drugu grupu čine trudnice koje su u prethodnim trudnoćama imale pozitivne testove na RhD antitela, i koje su rodile RhD pozitivnu decu koja su imala blagi oblik hemolitičke bolesti fetusa, te u neonatalnom periodu nije bila primenjivana eksangvinotransfuzija.

U treću grupu spadaju trudnice čija su deca iz prethodnih trudnoća u neonatalnom periodu lečena eksangvinotransfuzijom zbog hemolitičke bolesti fetusa.

Četvrtoj grupi pripadaju trudnice kod kojih je u jednoj ili više prethodnih trudnoća hemolitička bolest fetusa uzrokovala nepovoljan ishod trudnoće - fetus mortus in utero ili smrt novorođenčeta.

Ova podela nam može dati osnovnu orijentaciju o težini bolesti, pri čemu prva grupa čini najlakši oblik a četvrta grupa najteži oblik [5, 14, 18-21].

Nakon uzimanja anamneze, evaluacija bolesti je individualna, i prilagođava se svakom pacijentu.

II. Detekcija antitela majke

Fetus vrlo rano razvija Rh antigen koji se u potpunosti ispoljava na fetalnim eritrocitima već u šestoj nedelji gestacije tj. već od 38. dana trudnoće. RhD antigen je prisutan isključivo u membrani fetalnih eritrocita tj. nema ga u drugim fetalnim tkivima. Schneider i sar. su dokazali da je čak 0,05ml fetalne krvi, koja sadrži 0,01% fetalnih eritrocita dovoljna za senzibilizaciju majke. Test otkrivanja transplacentalne hemoragije je Kleinhauer-Betke-ov test kojim se otkriva prisustvo 0,01 ml ili čak i manje količine fetalne krvi u majčinoj cirkulaciji. Rh aloimunizacija se dijagnostikuje kada se detektuju antitela na Rh antigen u krvi majke. Skrining test na antitela se smatra pozitivnim ili

negativnim. Nakon toga radi se titar antitela da bi se videlo da li je prisustvo antitela klinički značajno. Humani antiglobulinski titar (indirektni Coombs) koristi se za određivanje stepena aloimunizacije, zato što se njime meri maternalni IgG odgovor. Izražava se kao najveći stepen razređenja sa pozitivnom aglutinacijom, odnosno poslednje razređenje u kome je prisustvo antitela pozitivno.

Vrednosti titra se izražavaju kao recipročne vrednosti poslednje dilucije koja je pokazala pozitivnu reakciju aglutinacije- tako titar 16 označava diluciju 1:16. Novije laboratorije koriste gel tehnologiju, koja u poređenju sa konvencionalnim testiranjem može da prikaže 3 do 4 puta veći titar. Kritički titar je definisan kao titar koji je udružen sa značajnim rizikom od pojave fetalnog hidropsa. Ako je kritički titar prisutan, potrebno je dalje intenzivno praćenje fetusa. Iako vrednost kritičkog titra varira između laboratorija, opšte prihvaćena vrednost jeste ona Američkog udruženja ginekologa i opstetričara, koja za primoimunizaciju iznosi $\geq 1:32$, odnosno kritički titar je 32 [22].

III. Testiranje paternalnog zigociteta

Ukoliko je otac RhD pozitívni homozigot, fetus je RhD pozitivan. Ukoliko je otac heterozigot za D antigen, šansa da fetus nasledi RhD antigen je 50%. U ovom slučaju potrebno je odrediti RhD status fetusa, da bi se isključila ili potvrdila Rh imunizacija.

IV. Testiranje fetalnog genotipa

Ranije se za određivanje fetalnog RhD statusa koristila analiza plodove vode lančanom reakcijom polimeraze (PCR chain reaction). U poslednjih nekoliko godina dostupna je metoda kojom se iz maternalne periferne krvi može odrediti fetalni Rh status[2,17,22].

Bazirano na teoriji da tumorski slobodnoćelijski DNK može da se nađe u perifernoj cirkulaciji onkoloških pacijenata, Lo i sar. su prvi opisali prisustvo RhD gena u plazmi trudnica sa RhD pozitivnim fetusom. Dalja ispitivanja su potvrdila da vanćelijska fetalna DNK (cffDNA) može da se nađe u maternalnoj cirkulaciji, i to već od 38. dana gestacije, čineći 6% od ukupne količine cirkulišuće DNK. Najverovatniji izvor ove DNK je apoptoza placentnog trofoblasta. Zabeleženo je odsustvo cffDNK iz

prethodne gestacije što se objašnjava kratkim poluživotom ove DNK, merenog u minutima. Zbog toga je cffDNK danas veoma zanimljiv entitet za prenatalnu dijagnostiku. Meta analize pokazale su tačnost određivanja genotipa fetusa od 98,7% - 100%, što je uz neinvazivnost razlog zbog kojeg je ovo postala dijagnostička metoda izbora [23].

Sada se cffDNK za determinisanje fetalnog RHD genotipa koristi kao standardna praksa u mnogim Evropskim centrima, pa i u Srbiji.

V. Amniocenteza

U fiziološkoj trudnoći nivo bilirubina naglo pada posle 20. nedelje trudnoće, dok kod trudnica sa Rh aloimunizacijom raste, kao posledica destrukcije sve većeg broja eritrocita, odnosno postojanja hemolize [21-23].

Do pre nekoliko godina procena težine hemolitičke bolesti fetusa isključivo se procenjivala određivanjem nivoa bilirubina u plodovoj vodi. Zbog hemolize fetalnih eritrocita razlažu se pigmenti, oslobađa se bilirubin koji se putem urina i pluća fetusa luči u amnionsku tečnost. Količina bilirubina u plodovoj vodi grubo korelira sa stepenom hemolize, i na taj način indirektno određuje težinu fetalne anemije. Spektrofotometrijska metoda se koristi za kvantifikaciju nivoa bilirubina. Ove vrednosti se unose na dijagram koji je prvi konstruisao Liley 1961. godine. Obzirom da je nivo bilirubina u amnionskoj tečnosti nizak u odnosu na serumski nivo, koncentracija se meri kontinuiranim zapisom spektrofotometra i obeležava se kao razlika u apsorpciji, odnosno u optičkoj gustini na 450 nm talasne dužine, i označava se kao delta OD₄₅₀. Liley-ev dijagram pokazuje nivo bilirubina u plodovoj vodi nakon 28. nedelje trudnoće. Podeljen je na lake, srednje teške i teške slučajeve pri čemu je napravljena jasna granica u zavisnosti od nedelja trudnoće [23-25.].

Liley je poredio vrednosti delta OD₄₅₀ sa ishodima trudnoće kod 101 trudnice sa aloimunizacijom, čime je pokazao da se blaga, srednje teška i teška fetalna anemija mogu odrediti u zavisnosti od toga u koju od tri zone nivoa bilirubina izmerena vrednost pripada. Kasnije studije su pokazale korelacije ovih zona sa koncentracijom fetalnog hemoglobina.

Nedostatak amniocenteze je invazivnost. Rizik od spontanog pobačaja, prevremene ruptуре plodovih ovojaka i prevremenog porođaja iznosi 1-2%. Takođe, ova intervencija može da dovede do pogoršanje fetalne anemije zbog fetomaternalnog krvarenja kod transplacentarne punkcije (2-17%). Iz svega navedenog, diskutabilna je osetljivost i specifičnost ove metode u određivanju stepena fetalne anemije.

Postoji modifikacija Liley-eve krive za trudnoće starije od 27. nedelje. Queenan i sar. su 1993. godine uradili studiju kojom su modifikovali Liley-ev dijagram koji počinje od 14. nedelje gestacije. Na ovom grafikonu, fiziološki visok nivo bilirubina u drugom trimestru trudnoće je obeležen velikom “intermedijarnom” zonom. U ovoj zoni koncentracija bilirubina ne korelira precizno sa stepenom fetalne anemije [26-33].

VI. Kordocenteza

Jedini precizan test za određivanje stepena fetalne anemije je direktno uzimanje uzorka kordocentezom i analiza dobijene fetalne krvi. Kordocenteza se smatra zlatnim standardom dijagnoze fetalne anemije. Rizik od fetalne smrti i nepovoljnog ishoda trudnoće je 1.4% po proceduri. Ranije se ova metoda koristila za evaluaciju svih Rh aloimunizovanih trudnica. U novije vreme, sa razvojem molekularnih genetskih tehnika, ranije opisanih, u cilju utvrđivanja prisustva fetalnog RhD gena, kao i upotrebom drugih dijagnostičkih metoda, ova invazivna procedura za dijagnozu stepena fetalne anemije se više ne koristi. Izvodi se kod fetusa kod kojih je neophodno primeniti fetalnu terapiju, intrauterusnu transfuziju, u cilju korekcije anemije [33-37].

VII. Ehosonografija

- *Istorijski podaci*

Italijanski biolog Lazzaro Spallanzani je davne 1794. godine demonstrirao kako slepi miševi imaju preciznu navigaciju u mraku pomoću eho refleksije zvučnih talasa visoke frekvencije, nečujnih za čoveka. Potom je 1826. godine švajcarski fizičar, Jean-Daniel Colladon, koristio specijalno podvodno zvono da bi, veoma uspešno, odredio brzinu kretanja zvuka u vodama ženevskog jezera. U drugoj polovini 19. veka fizičari

su se intenzivno bavili izučavanjem fizike zvučnog talasa, transmisijom, propagacijom i refrakcijom. U Engleskoj je 1877.godine objavljen rad 'Teorija zvuka' od strane Lord Rayleigh-a, u kojem je prvi put objašnjen zvučni talas kao matematički pojam, stvarajući osnovu za dalji rad na polju akustike. Engleski naučnik, Francis Galton je 1876. godine konstruisao pištaljku, "Galton whistle", koja je proizvodila zvuk frekvencije 40 000 Hz, nečujan za čovekovo uho ali čujan za psa koji se odazivao. Međutim, odlučujuća godina za pronalazak ultrazvučnih talasa, zvučnih talasa veoma visoke frekvencije iznad nivoa čujnosti čovekovog slušnog aparata, bila je 1880., kada su braća Curi, Pierre i Jacques, otkrili piezoelektrični efekat u kristalu kvarca [38-40]. Ubrzo ultrazvuk nalazi svoju primenu u civilnoj, a naročito u vojnoj industriji. Podvodni sistem sonarne detekcije je stvoren za svrhu podvodne navigacije podmornica u Prvom svetskom ratu a naročito se koristio posle katastrofe Titanika 1912. godine, za otkrivanje ledenih bregova. Tako se ultrazvučni aparati mogu smatrati medicinskim sonarima (SONAR- Sound Navigation and Ranging) [41].

Primena ultrazvuka u medicini je počela 1920. godine i to primenom u terapeutske svrhe. Tokom četrdesetih godina prošlog veka smatrano je da je ultrazvuk "lek za sve" iako je postojao nedostatak medicinskih dokaza za takvu tvrdnju. Ultrazvuk se koristio za lečenje reumatskog bola, gastričnog ulkusa, ekcema, astme, tireotoksikoze, hemoroida, urinarne inkontinencije, elefantijaze pa čak i angine pectoris.

Počeci dijagnostičke ehosonografije su bili krajem četvrte i početkom pete decenije prošlog veka [42]. Karl Theo Dussik, neuropsihijatar sa bečkog univerziteta, smatra se za prvog lekara koji je upotrebio ultrazvuk u cilju medicinske dijagnostike. Snop talasa je u ovom neuspešnom eksperimentu usmeren na glavu pacijenta da bi se videle moždane strukture [43].

Za oca ultrazvučne dijagnostike u ginekologiji i akušerstvu smatra se profesor dr Ian Donald čiji su rezultati istraživanja objavljeni u Lancet-u, 7. juna 1958. godine pod naslovom "Investigation of abdominal masses by pulsed ultrasound". Njegov rad se smatra najznačajnijim za dalji razvoj dijagnostičke sonografije [42, 43]. Veliki doprinos razvoju sonografije u perinatologiji imao je profesor dr Stuart Campbell koji je sa svojim saradnicima, 1964.godine, izdao normograme biparijetalnog dijametra glavice fetusa od 13-te nedelje gestacije čime je postavio cefalometriju standardnom metodom za ispitivanje fetalnog rasta i razvoja [44]. Potom nastaje brz razvoj sonografije u perinatologiji. Godine 1972. postalo je moguće registrovanje prisutne srčane radnje 7 nedel-

ja starog fetusa sa verovatnoćom od 100% od strane Hugh Robinson-a iz Glazgova koristeći savremeniji aparat. Fetus je tada prvi put posmatran sa B - prikaznom sondom (B - mode) a srčana radnja sa usmerenim snopom A- i B- prikazne sonde. Ovo otkriće omogućilo je drugačiji pristup rešavanju problema ranog krvarenja u trudnoći kao i pretećeg pobačaja. Takođe B-prikazna placentografija uspešno je izvedena 1966. godine od strane denverske grupe a potom 1967.godine i Donaldove grupe. Ultrasonografska dijagnoza molarne trudnoće opisana je 1963. godine od strane grupe prof. Donalda. U Denveru je 1965. godine Horace Thompson prvi put opisao merenje torakalne cirkumferencije (TC) ploda i on je takođe dao ideju za procenjivanje telesne mase ploda na osnovu merenja TC.

Veliki napredak je postignut polovinom 70-tih godina kada je uvedena siva skala (Kosoff, Garrett), a krajem 70-tih godina uvedeni su aparati sa slikom u realnom vremenu (real-time skeneri). Merenje temeno-trtične dužine - CRL ('crown - rump length') opisano je 1973. godine od strane Hugh Robinsona iz Glazgova. Prof. Campbell je 1972. godine objavio dijagnozu anencefaličnog fetusa starog 17 nedelja, dobijenu upotrebom statične B-prikazne sonde [45]. Potom 1975. godine postavio je dijagnozu spine bifide što je i objavljeno u Lancet-u. To su bile prve tačno postavljene dijagnoze ove patologije pomoću ultrazvuka. 1975. godine Campbell-ova grupa je opisala merenje abdominalne cirkumferencije ploda (AC) koji od tada predstavlja najznačajniji parametar za procenjivanje telesne mase fetusa [46].

Skrining na osnovu ultrazvučnih parametara nije bio primenjivan sve do sredine devedesetih godina prošlog veka. Neophodno je spomenuti i profesor Kypros Nicolaides-a koji je sa svojim timom sa King's koledža 1992. godine opisao merenje nuhalne translucence fetusa u cilju određivanja rizika za Down-ov sindrom kod fetusa starosti između 11 i 14 nedelja gestacije.

- Fizika ultrazvuka

Ultrazvuk je jednostavan zvučni talas čije su osnovne karakteristike širenje i sabijanje medijuma kroz koji on prolazi (npr. vazduh, voda). On je primer longitudinalnog talasa koji oscilira nazad i put napred u pravcu u kojem talas putuje tako da se sastoji od sukcesivnih faza kompresije (sabijanja) i rarefakcije (razređivanja) čineći jedan ciklus koji se prenosi sa molekula na molekul medijuma kroz koji prolazi. Broj oscilacija u jedinici vremena naziva se *frekvencija* ultrazvučnog talasa. Ultrazvuk spada u zvučni

spektar od 20.000 do 10^9 oscilacija u sekundi. *Talasna dužina* je udaljenost čestica u istoj fazi oscilovanja i obrnuto je proporcionalna frekvenciji ultrazvuka. Brzina kojom se ultrazvučni talas širi kroz medijum kroz koji prolazi zavisi od samih karakteristika medija (najveća je kroz čvrste materije a najmanja prilikom širenja kroz gasove) i proporcionalna je frekvenciji i talasnoj dužini. *Intenzitet ultrazvuka* je energija kojom ultrazvučni talas deluje na vertikalno postavljenu jedinicu površine u određenom vremenskom intervalu (W/cm^2) [47].

U osnovi rada ultrazvučnog aparata stoji emitovanje ultrazvučnih talasa iz sonde ultrazvučnog aparata u ciljano tkivo i analiza dobijenih ehoa (odjeka). Suštinu rada ultrazvučnog aparata čini *piezoelektrični efekat*. Pod uticajem električnih impulsa u kristalima, koji se nalaze u ultrazvučnoj sondi, stvaraju se zvučni talasi. Oni se usmeravaju u ciljano tkivo gde se delimično odbijaju (refleksija) od granične površine između dve tkivne strukture, a delimično nastavljaju transmisiju. Što zvuk dublje prodire on slabi odnosno amplitude treperenja su sve manje - *atenuacija*. Razlog za gubitak intenziteta talasa je apsorpcija energije tokom aktiviranja molekula sredine kroz koju zvuk prolazi, kao i zbog rasipanja i divergencije ultrazvučnog snopa. Odbijanje (refleksija) zavisi od razlike u akustičnoj impedanci između dve tkivne strukture. *Akustička impedansa* je otpor koji pruža medijum kroz koji ultrazvučni talas prolazi. Kada se odjek ultrazvuka vrati iz dubine tela u sondu, nastaje titranje kristala u sondi tako da se stvara električni naboj (*inverzni piezoelektrični efekat*). Stvoreni električni impulsi se kablom prenose do centralnog elektronskog procesora gde podležu obradi od strane kompjuterskog sistema i dobija se slika na ekranu [48, 49].

Odbijeni ultrazvučni talasi prikazuju se na ekranu na četiri načina [50]:

- A prikaz (A mode, amplitude modulation)
- B prikaz (B mode, brightness modulation)
- M prikaz (M mode, motion modulation) i
- Dopler kriva.

A - prikaz danas ima istorijski značaj. Svaka prepreka prikazuje se kao šiljak na ekranu.

B - prikaz ili dvodimenzionalni prikazuje odjeke kao svetle tačke. Dobija se prostorna orijentacija o regiji koja se ispituje tj. ehogram ili "slika".

M - prikaz se sastoji u tome da se odjeci prikazuju kao svetle tačke koje se elektronskim putem pomiču po ekranu. Odjeci nepomičnih struktura putuju po pravcu u vidu pravih linija, dok se pokretne strukture prikazuju krivom, u obliku talasa. Ovakav prikaz najveću primenu ima u kardiologiji.

Savremeni aparati rade na principu stvaranja slike u realnom vremenu (real - time aparati). Kod ovog principa ceo tomografski presek se neprekidno automatski pretražuje impulsima ultrazvuka i stalno se registruju odjeci. To se postiže na dva načina: 1. ili se istovremeno iz većeg broja pretvarača emituje veliki broj ultrazvučnih snopova koji permanentno prekrivaju istraživani presek (princip linearnih i konveksnih sonde), 2. ili se jedan snop pokreće u krug brzinom većom od tromosti oka i neprekidno njime preseca istraživani sloj (princip sektorskih sonde). U oba slučaja zahvaljujući stalnom registrovanju odjeka na ekranu u vidu svetlih tačaka koje se slažu u sliku, stalno se vidi trenutna slika odjeka u celom tomografskom preseku. Zbog toga slika postaje živa i na njoj se sem morfologije vide i pokreti, a pri promeni položaja sonde slika novog preseka se pojavljuje istog trenutka, tj. u realnom vremenu. Princip žive slike ima mnogobrojne prednosti nad ostalim načinima jer je pregled mnogo brži i mogu se pratiti i pokreti raznih organa.

Ultrazvučna sonda je deo ultrazvučnog aparata koji se prislanja na telo pacijenta. Sastavljena je od jednog ili više ultrazvučnih pretvarača (transdjusera) koji su od piezoelektričnog materijala preko kojeg električne signale pretvaraju u ultrazvučne vibracije i obrnuto. Sonde se razlikuju *po frekvenciji* ultrazvuka koji emituju, *po veličini stepenu fokusiranja*. Standardni opseg frekvencije dijagnostičke sonografije je 3,5-10 MHz. Stepenu fokusiranja može biti kratak (1-4cm), srednji (4-8cm) ili dugačak (6-12cm). Sonde se razlikuju i *po obliku*. Postoje linearne, konveksne, sektorske i posebne sonde (transvaginalne, transrektalne, ezofagealne i transuretralne).

- Dopler sonografija

Sredinom 1984. godine, konstrukcijom Doppler aparata, otvorene su široke mogućnosti primene ultrazvuka u analizi protoka krvi u krvnim sudovima [39, 42, 45].

Doplerov efekat otkrio je 1842. godine austrijski matematičar i fizičar, Kristijan Dopler (1803-1853), nakon proučavanja promene frekvencije svetlosti koju emituju zvezde u dvojnog sistema (dve zvezde koje se okreću jedna oko druge). Primetio je da određena svojstva svetlosnih talasa emitovanih sa zvezda zavise od relativnog kretanja posmatrača i izvora talasa. Taj princip je primenio i na morske talase utvrdivši da kada brod plovi ka pučini nailazi na gušće talase nego kada plovi ka obali. Dopler nikada nije primenio svoju teoriju na zvučne talase. Doplerov efekat je eksperimentalno dokazao C.H.D. Buys Ballot 1845. godine, na Utrihtskoj železničkoj stanici, upoređujući zvuk sirene sa vozova koji stoje na jednom mestu i vozova koji se kreću. Urih je 1947. godine prvi izmerio brzinu prolaska ultrazvučnih talasa kroz tkivo sisara.

Uopšte rečeno, Doplerov efekat je promena učestalosti zvuka, svetlosti ili drugih talasa, prouzrokovana kretanjem izvora talasa ili kretanjem posmatrača (predmeta, krvnih ćelija, itd.). Talasi se od izvora kreću u koncentričnim krugovima i ako se izvor kreće ka posmatraču ili posmatrač ka izvoru talasi se zgušnjavaju i učestalost (frekvencija) je viša, dok udaljavanjem od izvora, talasi se razređuju i učestalost je niža [38-43].

Od sredine 80-tih godina prošlog veka počinje sve učestalija upotreba kolor dopler sonografije, ultrazvučne metode pregleda krvnih sudova koja se pokazala kao vrlo prihvatljiva neinvazivna skrining metoda bez štetnog zračenja bolesnika. Metoda omogućava veoma kvalitetnu simultanu informaciju o morfološkim promenama u zidu krvnog suda, kao i simultanu informaciju o hemodinamskim zbivanjima u cirkulaciji.

- Fetalni dopler kod fetalne anemije

Jedna od najznačajnijih primena Dopler sonografije u fetalnoj medicini ogleda se u detekciji fetalne anemije, uzrokovane bilo Rh aloimunizacijom ili jednim od ostalih uzroka fetalne anemije. Osim u dijagnostici fetalne anemije, dopler sonografija se koristi i u praćenju twin-to-twin transfusion sindroma, kao i kod praćenja placentalne insuficijencije kod idiopatskog intrauterusnog zastoja u rastu ploda (IUGR). To su tri najznačajnije kliničke implikacije dopler sonografije u fetalnoj medicini [50-63].

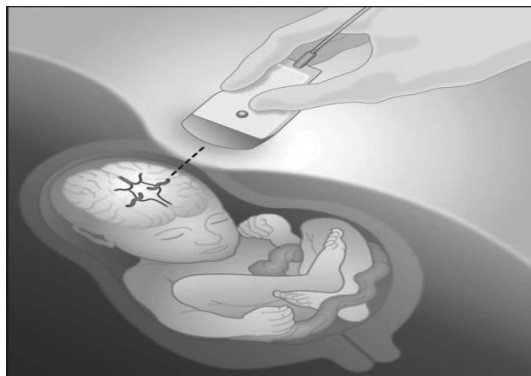
U proceni stepena fetalne anemije, na osnovu dosadašnjih studija, najveću dijagnostičku tačnost ima dopler sonografska evaluacija hiperdinamične cerebralne fetalne cirkulacije .

- Cerebralni protok

Zajednička karotidna arterija ishranjuje krvlju glavu i vrat, tako da nam samo analiza cerebralne cirkulacije daje preciznu informaciju o hemodinamskim promenama unutar mozga. Svaku moždanu hemisferu krvlju ishranjuje prednja, središnja (arteria cerebri media=MCA) i zadnja moždana arterija. Prve dve nastaju račvanjem unutrašnje karotidne arterije, dok je zadnja završna grana bazilarne arterije. Willisov prsten (circulus arteriosus) je anastomoza glavnih moždanih arterija. MCA je najveća grana Willisovog prstena. Usmerena je lateralno i šalje ogranke u corpus striatum i capsulu internu. Važna je za normalan rast i razvoj mozga. U nju ulazi najveći volumen krvi od svih grana Willisovog prstena, čineći oko 80% ukupnog dotoka krvi u moždanu hemisferu. Ova arterija je najviše izučavana cerebralna arterija zato što: a) lako se sonografski vizualizuje, b) pruža nam informaciju o protoku krvi u mozgu i c) dostupna je za dopler sonografiju pod uglom insonance od 0 stepeni (ugao između pravca pružanja ultrazvučnog talasa i pravca protoka krvi) (slika 2.). Na ovoj aretriji možemo da uočimo promene koje se javljaju kod "brain-sparing" efekta.

Mari i sar. su došli do zaključka da je senzitivnost dijagnostičkog testa dopler sonografije maksimalnog protoka u sistoli u MCA (MCA PSV) u detekciji fetalne anemije 100%, kod Rh aloimunizacije kao i kod drugih uzroka fetalne anemije.

Prednost dopler sonografije je ta što je neinvazivna metoda, i kao takva ne nosi rizik za nepovoljan ishod trudnoće u poređenju sa invazivnim metodama kao što su amnio i kordocenteza [55.-60.].



Slika 2. Dopler sonografija fetalne MCA PSV

1.6. Prevencija Rh aloimunizacije

Smatra se da je Rh aloimunizacija jedna od retkih bolesti kod koje je, u relativno kratkom vremenskom intervalu, uspešno otkriven uzrok, patogeneza, terapija i najvažnije prevencija. Za otkriće načina prevencije zaslužno je nekoliko grupa autora u više centara. Finn i Clarke u Liverpulu 1961. godine, Gorman, Freda i Pollack u New Yorku 1962. godine i Schneider u Nemačkoj 1963. godine. Svi su skoro u isto vreme došli do istog zaključka [64, 65].

Njujorška grupa je vršila eksperimente na zatvorenim Sing-Sing zatvora, RhD negativnim volonterima, koji su dobijali RhD pozitivne eritrocite, a nakon toga su primali anti D antitela u obliku visokotitrovane plazme ili Rhesus imunoglobulina (RhIg). U svim ovim slučajevima Rh imunizacija je prevenirana pasivnom imunizacijom, davanjem Rh antitela [1-9, 33, 38, 64, 65].

Freda, Berkman, Polac, Woodward, 1965. god. započinju prevenciju imunizacije majke na Rh antigen ploda, davanjem anti-D imunoglobulina posle porođaja.

Međutim, profilaksa samo posle porođaja nije bila dovoljna. Freda i saradnici, 1970. god. ističu da posle spontanog pobačaja dolazi do RhD aloimunizacije kod 3 –

4% pacijentkinja. Qveenan i saradnici 1971. god. utvrđuju da je rizik nastajanja RhD aloimunizacije posle arteficialnog prekida trudnoće 5% [66].

Indikacije za Rh D imunoprofilaksu u ranoj trudnoći su preteći pobačaj, spontani i indukovani prekid trudnoće, vanmaterična trudnoća, hidatiformna mola, invazivni dijagnostički postupci, fetus mortus in utero, trauma abdomena. Indikacije u kasnoj trudnoći su amniocenteza, kordocenteza, profilaksa u slučaju transfuzije RhD pozitivne krvi, antenatalna i postpartalna profilaksa.

RhD imunoglobulin potrebno je dati neposredno nakon izloženosti pacijentkinje RhD pozitivnom krvlju (gore navedene indikacije), pre nego što se razvije primarni imunološki odgovor. Zipurski i Izraels, 1967. god. predlažu koncept prenatalne Rh imunoprofilakse. Bowman i saradnici, 1978. god. objavljuju da je konceptom prenatalne imunoprofilakse učestalost Rh aloimunizacije posle porođaja smanjena za više od 90%. Godine 1968. uprava za hranu i lekove (Food and Drug Administration) SAD je odobrila primenu hiperimunog antiD imunoglobulina svim RhD negativnim porodiljama koje nisu stvorile antiD antitelo [64-68]. Na našim prostorima hiperimuni antiD imunoglobulin primenjuje se od kraja šezdesetih i početka sedamdesetih godina prošlog veka.

RhD imunoglobulin potrebno je da pacijentkinja primi pre nego što se razvije primarni imunološki odgovor i neophodno ga je dati u adekvatnoj dozi. Administracija u okviru prvih 72 sata je standardna preporuka. Međutim, razlog za ovo vremensko ograničenje su uslovi eksperimenta njujorške grupe naučnika, koji su ispitivanja vršili na zatvorenim dobrovoljcima. Naime, posete nisu bile dozvoljene svakodnevno, već na drugi ili treći dan. Freda i sar. su testirali krv ispitanika treći dan od primene profilakse, kako bi bili sigurni da su i pacijentkinje koje se porode petkom, a dobiju profilaksu u ponedeljak, bile zaštićene. Tako da su utvrdili imunološku reakciju 72h nakon Rh profilakse. Zbog toga se profilaksa primenjuje u prvih 72h od porođaja, ali princip je da profilaksu treba sprovesti sve do 28. dana od porođaja ili drugog uzroka fetomaternalne hemoragije. Ukoliko RhD status fetusa nije poznat, i tada treba primeniti Rh profilaksu. [1.3.5.13.64.-70]. Prihvaćena doza koja se primenjuje je 300 mikrograma [64.-70].

1.7. Terapija fetalne anemije

U terapiji fetalne anemije koristi se in utero transfuzija (IUT) kojom se ubrizgava u fetalni krvotok krv donora, koja treba da zameni razorene eritrocite fetusa [71].

Prvu uspešnu intrauterusnu transfuziju (IUT), u cilju sprečavanja smrti ploda, izvodi Liley 1963. godine. Ova tehnika "otvorene fetalne transfuzije" bila je praćena visokim perinatalnim mortalitetom. Tokom sledeće dve decenije dolazi do poboljšanja metoda IUT. Prvu interuterusnu intravaskularnu transfuziju izvode, Rodeck, 1981. god, i Nicolaides, 1984. god. Intrauterusna intravaskularna transfuzija urađena je fetoskopski preko umbilikalne vene na placentnom delu pripoja pupčanika. Na našim prostorima prvu intrauterusnu intravaskularnu transfuziju izvodi profesor Radunović, 1987. god. u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije. Profesor Plećaš, 1990. god. formira tabele za količinu krvi potrebne za IUT na osnovu željenog porasta hematokrita (Hct) i telesne težine fetusa [1-10,46, 47, 72, 73].

Kod IUT krv se pod kontrolom ultrazvuka ubrizgava kroz umbilikalnu venu. IUT se primenjuju već od 20. do 24. nedelje gestacije. Koncentrati eritrocita za IUT trebaju biti krvne grupe "O", podudarni sa serumom majke, oprani u fiziološkom rastvoru, ozračeni i ne stariji od 3 dana.

Jednom transfuzijom krvi smatra se da se smanjuje broj nepodudarnih eritrocita za oko 85%, a bilirubina za oko 45%.

Novorođenčad koja su prethodno lečena sa IUT, kao i ona bez prethodnog transfuzijskog lečenja, u prvih 6 do 8 nedelja života mogu zahtevati primenu eksangvinotransfuzije. Zbog rizika nastanka anemije potrebno je pratiti vrednosti hemoglobina u krvi svakih 7 do 10 dana.

Prvu eksangvinotransfuziju (EST) u cilju lečenja novorođenčadi od hemolitičke bolesti je uradio Wallenstein 1946. godine. Allen, Diamond, Jones 1950. god. pokazuju da teška hiperbilirubinemija dovodi do kernikterusa. Jasno su utvrdili značaj EST u lečenju hemolitičke bolesti (MHN), dokazavši da EST smanjuje hiperbilirubinemiju i sprečava pojavu kernikterusa. Tasovac, 1954. god. prvi kod nas radi EST [1-10, 13, 46, 47, 71-74].

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja bili su:

1. Utvrditi da li izmerene vrednosti MCA PSV koreliraju sa vrednostima hematokrita fetusa, dobijenih kordocentezom koja se smatra zlatnim standardom dijagnostike fetalne anemije
2. Utvrditi da li određivanje fetalne anemije po Liley-u korelira sa vrednostima hematokrita fetusa, dobijenih kordocentezom
3. Utvrditi da li izmerene vrednosti MCA PSV koreliraju se stepenom ugroženosti fetusa određenom analizom plodove vode po Liley-u
4. Pokazati odgovor fetusa na intrauterusnu intravaskularnu transfuziju kroz promenu vrednosti hematokrita i MCA PSV
5. Utvrditi da li MCA PSV korelira sa vrednostima hematokrita fetusa pre i posle in utero transfuzije i kao takav može da se koristi za procenu 'tajminga' prve i naredne IUT
6. Utvrditi da li vrednost MCA PSV korelira sa vrednostima Hct neonatusa
7. Utvrditi da li vrednost MCA PSV korelira sa osobinama novorođenčeta na rođenju

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna kohortna studija, u periodu od 01.01.2012. godine do 31.12.2017. godine, u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije, na odeljenju Kontrole fertiliteta i i Kabinetu za ultrazvučnu dijagnostiku.

Ciljnu grupu su činile sve trudnice koje su Rh negativne. Ispitivanu grupu su činile trudnice čije su trudnoće praćene zbog Rh aloimunizacije, odnosno trudnice kod kojih je titar RhD antitela bio pozitivan. Kontrolna grupa se sastojala od trudnica koje su RhD negativne, ali nisu imale pozitivna RhD antitela, odnosno nisu razvile Rh aloimunizaciju. Istraživanje je podeljeno u dva dela.

U prvom delu istraživanja ispitivane su sve trudnoće sa Rh aloimunizacijom. U drugom delu istraživanja posebno je ispitivana grupa trudnica kod kojih je dijagnostikovani težak stepen anemije fetusa i koje su zahtevale primenu in-utero transfuzije.

3.1. Kriterijumi za uključivanje u studiju

U studiju, u ispitivanu grupu, su uključene sve trudnice sa RhD pozitivnim antitelima, koje su dolazile na pregled ambulantno ili bile hospitalizovane u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije u već navedenom periodu. Ova grupa je uključivala kako trudnice kod kojih fetus nije razvio fetalnu anemiju, tako i one čiji su fetusi razvili fetalnu anemiju te je bilo neophodno primeniti in-utero transfuziju.

U kontrolnu grupu su uključene sve trudnice koje su dolazile na kontrolu ambulantno, ili bile hospitalizovane u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije, a koje su bile RhD negativne bez prisutnih RhD antitela, odnosno bez razvoja Rh aloimunizacije.

3.2. Kriterijumi za isključivanje iz studije

Iz studije su isključene trudnice koje su imale Rh aloimunizaciju kao posledicu prisustva antitela koja ne pripadaju grupi D antitela, kao npr. Kell antitela.

3.3. Instrumenti merenja

Pacijentkinje su praćene tokom trudnoće klinički, laboratorijski i sonografski. Trudnoće su praćenje do završavanja, pri čemu je beležena nedelja u kojoj je trudnoća završena, način porođaja i neonatalni ishod.

3.3.1. Anamnestički podaci

Kod svih trudnica uzimana je detaljna anamneza koja je obuhvatala: starost majke, indeks telesne mase (Body mass index-BMI), paritet, ishod prethodnih trudnoća, pojavu antitela u prethodnim trudnoćama.

3.3.2. Određivanje titra antitela

Titar antitela kod trudnica praćen je tokom cele trudnoće:

- na 4 nedelje kod svih pacijentkinja,
- ukoliko je titar jednak ili iznad 32, određivan je na 7 dana.

Titar antitela je meren u Laboratoriji za transfuziologiju Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije.

3.3.3. Sonografski pregled

Kod svih trudnica rađen je sonografski pregled koji je obuhvatao merenje biometrije ploda, debljine posteljice, količinu plodove vode i Dopler merenje protoka cirkulacije u fetalnoj arteriji cerebri mediji (MCA PSV) i i protok u umbilikalnoj arteriji (RiAu).

- merenje biometrija ploda je rađeno na klasičan način. Meren je biparijetalni dijametar (BPD), obim glavice (HC), obim abdomena (AC), dužina femura (FL).

- protok u aretiji cerebri mediji

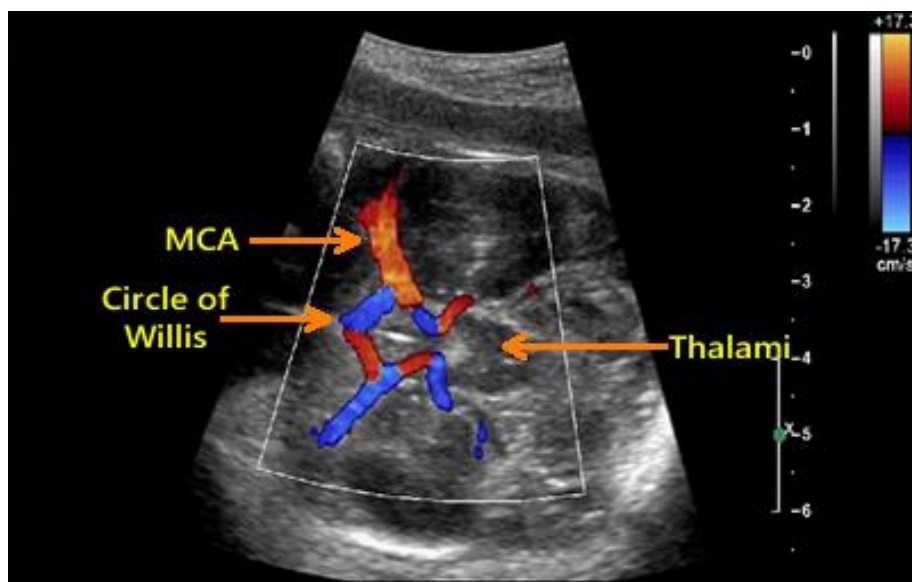
Svi ultrazvučni pregledi su obavljani sa jednim od dva dostupna ultrazvučna aparata, na odeljenju Kontrole fertiliteta i Kabinetu za ultrazvučnu dijagnostiku KCS, Toshiba i Siemens sa 5 MHz transabdominalnom sondom. Dopler merenje protoka u fetalnoj arteriji cerebri mediji rađeno je na klasičan način. Prvo se, u transverzalnom preseku fetalne glavice, koji obuhvata talamus, cavum septi pellucidi i krila sfenoidne kosti tokom

mirovanja fetusa, identifikuje Willis-ov šestougaonik uz pomoć Color Dopler-a. Jasno se vizualizuje a. cerebri medija. Slika se uveća tako da MCA zauzima više od 50% ekrana. Pulsni Dopler se primeni na proksimalni deo MCA, oko 2mm od njenog odvajanja od unutrašnje karotidne arterije. Ugao insonance (ugao između pravca strujanja krvi i pravca ultrazvučnih talasa) je bio manji od 20 stepeni, po mogućstvu što bliže 0 stepeni. Nakon 15-30 zabeleženih sličnih talasa, meri se najvišji talas i označava kao PSV (cm/s) (Slika 3., 4.).

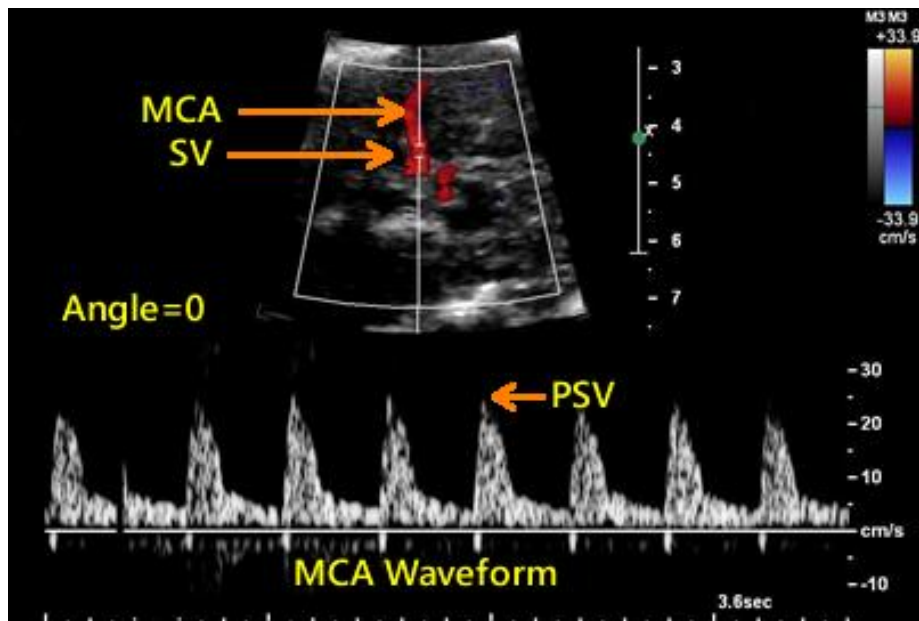
Potom je vrednost MCA PSV preračunavana u MoM (Median of the multiples), odnosno preračunavana u vrednost referentnu za gestacijsku nedelju.

Na osnovu tabele i dijagrama po Mari-ju, kojoj rezultat pripada, donosili smo zaključak o težini hemolitičke bolesti i o daljoj dijagnostici i terapiji (Tabela 1., Grafikon 1.). Prema protokolu, MCA PSV je meren:

- na 4 nedelje kod svih trudnica.
- ukoliko je PSV jednak ili veći od 1.0 MoM i/ili titar Rh D antitela jednak ili veći od 32 IU/ml, MCV PSV je određivan na 7 dana.
- kod teškog stepena fetalne anemije, gde je bilo potrebno primeniti in utero transfuziju (IUT), MCA PSV je meren pre i post transfuziono.



Slika 3. Određivanje MCA

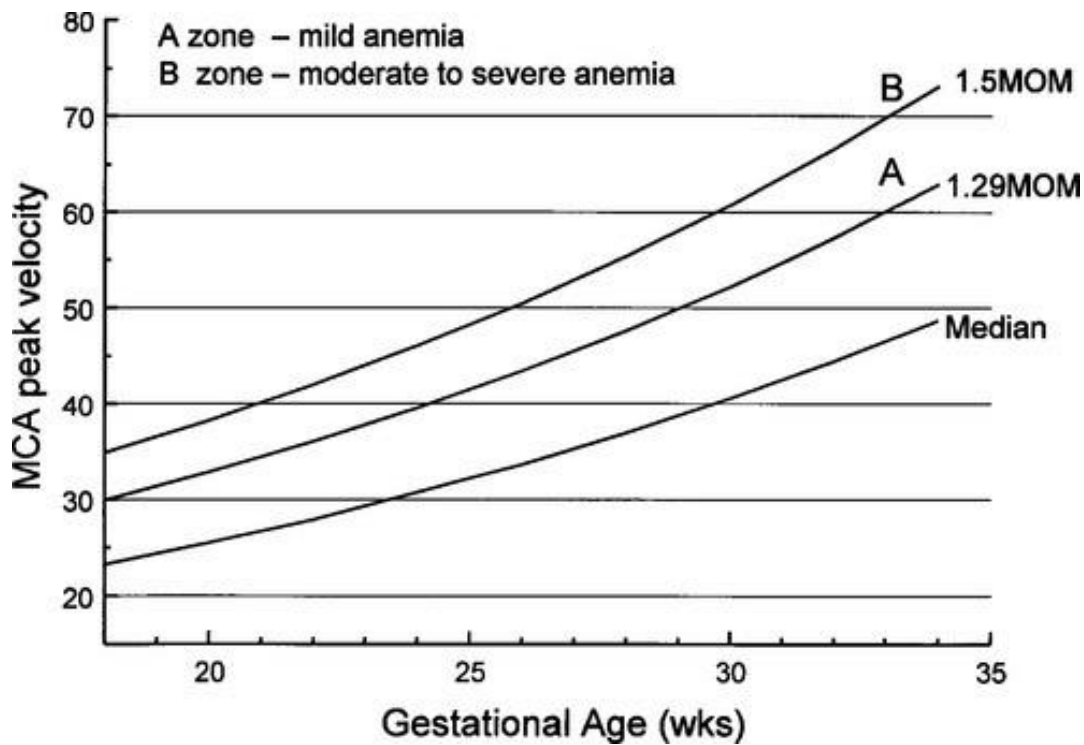


Slika 4. Dopler merenje MCA PSV

Tabela 1. Referentne vrednosti MCA PSV (MoM) prema nedeljama gestacije u fiziološkim trudnoćama (58)

Week of Gestation	Multiples of the Median			
	1.00 (Median)	1.29	1.50	1.55
	Peak Velocity in cm/sec			
18	23.2	29.9	34.8	36.0
20	25.5	32.8	38.2	39.5
22	27.9	36.0	41.9	43.3
24	30.7	39.5	46.0	47.5
26	33.6	43.3	50.4	52.1
28	36.9	47.6	55.4	57.2
30	40.5	52.2	60.7	62.8
32	44.4	57.3	66.6	68.9
34	48.7	62.9	73.1	75.6
36	53.5	69.0	80.2	82.9
38	58.7	75.7	88.0	91.0
40	64.4	83.0	96.6	99.8

From Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al: Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. N Engl J Med 342:9, 2000.



Grafikon 1. MCA PSV podeljen prema stepenu fetalne anemije, po Mari-ju (58)

3.3.4. Amniocenteza

Amniocenteza (AC), odnosno spektrofotometrijska analiza plodove vode po Liley-u, rađena je kod svih trudnica.

Amniocenteza (AC) je rađena kod svih trudnica kod kojih je titar antitela bio iznad ili jednak 32.

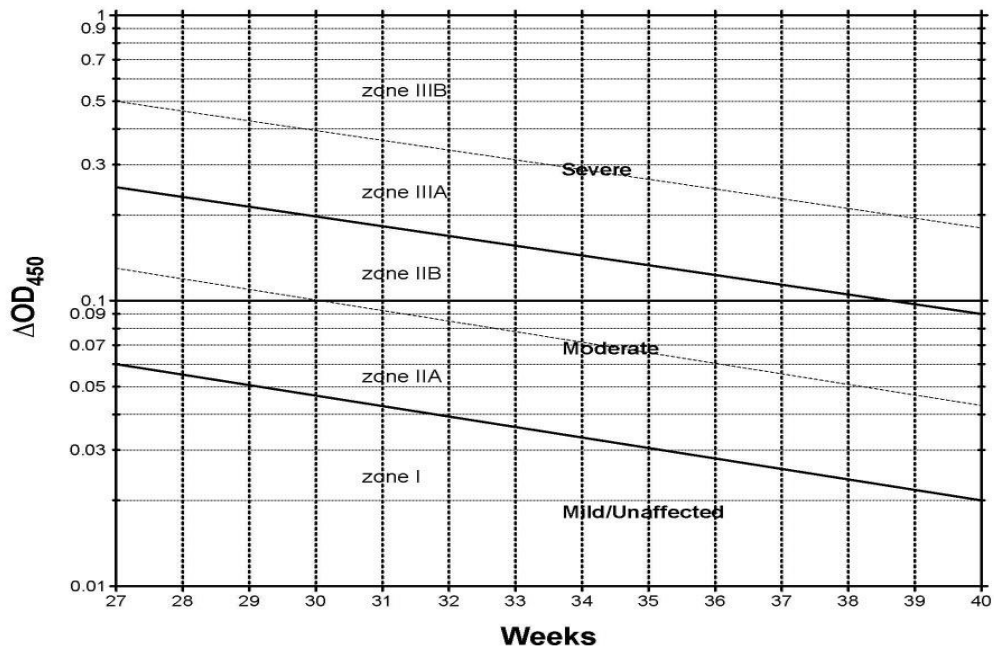
Sve pacijentkinje su potpisivale informisani pristanak. Prvu amniocentezu smo radili u 20.-oj nedelji gestacije. Vreme narednih amniocenteza je odlučivano u odnosu na dobijeni rezultat. prethodne amniocenteze. Ako su vrednosti bile u zoni A po Liley-u amniocentezu smo ponavljali za 3-4 nedelje. Ako su bile u B1 zoni, naredna AC je rađena za 2 nedelje, u B2 zoni za 10 dana a u C zoni za 7 dana.

Sama metoda AC je rađena na klasičan način. Ultrasonografski, stavljanjem sonde transverzalno na prednji trbušni zid, određivali smo položaj posteljice i položaj fetusa, i identifikovali smo maksimalni vertikalni džep amnionske tečnosti (MVP). Koristili smo iglu od 20-22G, u zavisnosti od debljine prednjeg trbušnog zida. Nakon stvaranja sterilnih uslova, pod kontrolom ultrazvuka uradi se punkcija prednjeg trbušnog zida, uterusa i pod kontinuiranom ultrazvučnom vizualizacijom igle uđe se u amnionsku šupljinu. Transplacentarni pristup nije rađen zbog potencijalne fetomaterne hemoragije. Aspirirali smo oko 20 ml amnionske tečnosti. Igla se izvadi, prebriše se antiseptikom mesto punkcije. Proveri se vitalnost ploda (slika 5.).



Slika 5. Amniocenteza

Uzorak se pošalje na kvantitativnu spektrofotometrijsku analizu. Dobijene vrednosti delta bilirubina na 450 nm smo unosili u Liley-evu krivu (Grafikon 2.) Na osnovu Liley grupe kojoj rezultat pripada donosili smo zaključak o težini hemolitičke bolesti i o daljoj dijagnostici i terapiji.



Grafikon 2. Liley-ev dijagram

Ukoliko pacijentkinja nije RhD senzibilisana, odnosno ima negativan skrining na RhD antitela, daje joj se Anti-D imunoglobulin u dozi od 300mikrograma. Antibiotiska profilaksa nije rutinski primenjivana.

3.3.5. Kordocenteza

Kordocenteza (CC) je rađena kod trudnica kod kojih je bilo potrebno primeniti fetalnu terapiju- intra uterusnu transfuziju (IUT). Uziman je uzorak fetalne krvi pre i posle transfuzije, i takođe je određivan hematokrit fetusa pre i neposredno posle transfuzije.

Na osnovu dobijenih vrednosti hematokrita podelili smo fetuse na one sa anemijom i bez anemije. Anemija se smatrala kada je vrednost Hct manja za 2 SD od referentne vrednosti za gestacijsku starost.

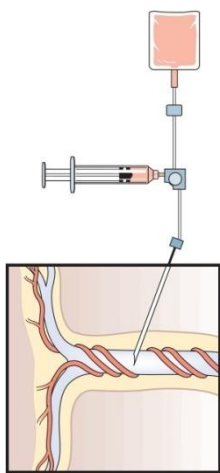
3.3.6. In-utero transfuzija (IUT)

Selekcija fetusa kojima je potrebna fetalna terapija, odnosno intrauterusna transfuzija, zavisila je od akušerske anamneze, visine titra antitela, sonografskog nalaza i analize amnionske tečnosti.

Ukoliko je vrednost delta bilirubina pripadala B2 ili C zoni, i ukoliko je MCA PSV bila jednaka ili iznad 1.0 MoM i/ili ukoliko su postojali sonografski znaci teške fetalne anemije pristupalo se intrauterusnoj transfuziji. Primenjivala se između 28. i 32. nedelje gestacije (Slika 6.).

Intrauterusna transfuzija se primenjivala pod kontrolom ultrazvuka. Postupkom kordocenteze, krv donora se ubacuje u umbilikalnu arteriju, na mestu njenog odvajanja od posteljice. Za vreme ovog postupka uzimali smo neposredno pre transfuzije krv fetusa i određivali tačan hematokrit (Hct1), kao i neposredno nakon transfuzije (Hct2). Donorska krv je pripremana na standardan način. Analizirana je na prisustvo infekcija rutinskim analizama kojima se testira svaka krv za transfuziju. Količina donorske nulte RhD negativne krvi mora da sadrži visok hematokrit, od 75-85%, broj leukocita se redukuje specijalnim filterima, i jedinica se ozrači sa 25-35Gy da bi se prevenirala graft-versus-host reakcija. Da bi duže preživela u krvotoku fetusa, krv za IUT mora biti što svežija. Vreme intervencije nije prelazilo 45 minuta. Nakon postignutog fetalnog hematokrita od 50-60% intervencija je završavana.

Sonografski se verifikovala vitalnost ploda i intervencije se smatrala završenom.



Slika 6. In-utero transfuzija

Broj potrebnih IUT je određivan na osnovu fetalnog hematokrita na kraju prethodne IUT i Dopler merenja MCA PSV nakon poslednje IUT, kao i nakon 7 dana. Poslednja transfuzija se radila između 34. i 36. nedelje gestacije.

3.3.7. Neonatalno praćenje

Trudnoće su praćene do krajnjeg ishoda odnosno do završavanja trudnoće.

Neonatalno praćenje je obuhvatalo obradu stanja neonatusa na rođenju (Apgar ocenu, telesna masa, telesna dužina), hematološki status (eritrociti, hemoglobin, hematokrit, leukociti, trombociti), bilirubin iz pupčanika u prvom satu nakon rođenja, direktan Coombs test neonatusa, serumska antitela, broj eksangvino-transfuzija, broj dodatih transfuzija, komplikacije u neonatalnom periodu-morbiditet i mortalitet.

Osobine novorođenčeta, odnosno vitalnost novorođenčeta na rođenju određivali smo na osnovu Apgar ocene u prvom i petom minutu posle porođaja. Posmatraju se: boja i izgled kože, puls, respiracija, refleksna nadražljivost i mišićni tonus. Ocene su 0, 1 i 2, a na osnovu njihovog zbira dobija se Apgar ocena.

Pored toga merena je telesna masa, obim glavice i dužina novorođenčeta.

Sve laboratorijske, serološke i biohemijske analize urađene su standardnim testovima i metodama u biohemijskoj laboratoriji Klinike za ginekologiju i akušerstvo KC Srbije.

3.3.8. Statističke metode

Posmatrana obeležja su određena i prikupljena tokom istraživanja. Podaci o obeležjima su radi statističke obrade prevedeni (uneti) u elektronski oblik (Excel, SPSS).

U cilju statističke obrade korišćene su deskriptivne metode na osnovu kojih su određene učestalosti/srednje vrednosti i standardna odstupanja. Na osnovu srednjih vrednosti i standardnih odstupanja određen je koeficijent varijacije kojim je meren nivo homogenosti posmatranog obeležja, što je dalje uticalo na izbor statističkih metoda za poređenje srednjih vrednosti obeležja koja su iskazana merenim vrednostima.

Prilikom statističke obrade formirana je nulta hipoteza, tako da, predstavlja polaznu pretpostavku da nema značajnih razlika između vrednosti (srednjih vrednosti ili učestalosti) posmatranih obeležija.

Testiranje hipoteze obuhvata sledeće korake: opis podataka, iskaze nulte i radne hipoteze, specifikaciju upotrebe određenog statističkog testa, izračunavanje empirijske vrednosti izabranog testa, statistička odluka zasnovana na rezultatima ispitivanja i odluka lekara.

Za upoređivanje srednje vrednosti obeležija u posmatranim grupama, nezavisni uzorci, korišćen je parametarski Studentov t-test za nezavisne uzorke za homogena obeležija. Pri čemu je H_0 - nulta hipoteza da nema značajne razlike između srednjih vrednosti određenog obeležija u posmatranim grupama.

Na osnovu dobijenih vrednosti se formira statistički rezultat o postojanju ili nepostojanju značajne razlike između posmatranih obeležija, kao i verovatnoća nulte hipoteze koja se izražava sa p. Kao najniži nivo značajnosti uzeta je verovatnoća manja od 0.05. Nivoi značajnosti su dati u rezultatima.

Za upoređivanje vrednosti nekih obeležija u posmatranim grupama korišćen je neparametarski, Man-Whitney test koji predstavlja alternativu t-testu za nezavisne uzorke u slučaju kada grupe nisu homogene u odnosu na posmatrano obeležije. Odnosno koeficijent varijabilnosti (CV) veći od 30%, kao i i Wilcoxon Matched Pairs Test.

Za upoređivanje učestalosti pojavljivanja obeležija kod pacijenata u posmatranom uzorku između posmatranih grupa korišćen je neparametarski HI kvadrat test kontingencije. Pri čemu je H_0 - nulta hipoteza da nema značajne razlike između zastupljenosti učestalosti određenog obeležija u posmatranim grupama, i na osnovu dobijenih vrednosti formiran je statistički rezultat o postojanju ili nepostojanju značajne razlike između učestalosti pojave posmatranih obeležija, kao i verovatnoća nulte hipoteze koja je izražena sa p.

Za testiranje više grupa u cilju analize postojanja razlike između aritmetičkih sredina bilo koje od grupa i zajedničke aritmetičke sredine svih opservacija, koje se predstavlja kao delovanje faktora odnosno posmatranog obeležija u grupama koje se

porede korišćen je ANOVA test za obeležja koja su homogena i Kruskal-Wallis test za ne homogena obeležja. Na osnovu verovatnoće nulte hipoteze vršeno je statističko odlučivanje i ista je prihvaćena ili odbačena, nakon čega sledi istraživački zaključak i klinička interpretacija zaključka.

Za ispitivanje povezanosti posmatranih obeležja korišćene su metode neparametarske korelacije. Značajnost dobijenog koeficijenta korelacije ocenjivana pomoću kruterijuma t-testa, čija se vrednost izračunava na osnovu koeficijenta korelacije.

Predviđanje koje se daje linijom regresije i prikazuje trend veze između posmatranih obeležja, odnosi se na interval vrednosti u dobijenih u okviru granica podataka, promena intervala ili uvođenje novih vrednosti može da dovede i do promene ocene povezanosti i samog trenda.

Senzitivnost kao mera tačnosti, odnosi na populaciju pacijenata kod kojih dolazi do pojave određenih vrednosti definisanog posmatranog obeležja, i sposobnost da se indentifikuju oni koji stvarno imaju tu vrednost, i specifičnost mera tačnosti, kao sposobnost da isključi postojanje pojave ove vrednosti.

Senzitivnost i specifičnost su prikazane ROC krivom (Receiver Operating Characteristic), kojom je određena površina ispod krive i koja predstavlja zbirnu meru dijagnostike korisnosti uzimajući u obzir sve moguće vrednosti praga.

4. REZULTATI

Studija je obuhvatila 36 trudnica sa RhD aloimunizacijom i 28 zdravih trudnica sa RhD inkompatibilijom bez senzibilizacije, koje su činile kontrolnu grupu.

Rezultate možemo podeliti u pet delova:

1. Opšti podaci
2. Rezultati dobijeni invazivnim dijagnostičkim testovima (amniocenteza i kordocenteza)
3. Rezultati dobijeni neinvazivnim dijagnostičkim testovima (Dopler merenje protoka u fetalnoj arteriji cerbri mediji- MCA PSV)
4. Prikaz korelacije rezultata dobijenih amniocentezom, kordocentezom i Dopler merenjem
5. Rezultati dobijeni pre i posle in-utero transfuzije, i njihova korelacija

4.1. Opšti podaci

- Pacijentkinje sa Rh senzibilizacijom su prosečno imale 30,79 +/- 4,78 godina života (Tabela 2.).
- Sve pacijentkinje su imale normalan BMI 25,9±3,72(Tabela 2).

Tabela 2. Opšti podaci pacijentkinja

Ispitivani parametri	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
Godine života	23	41	30,79	4,78
BMI	17,30	32,10	25,99	3,72
Paritet	1,00	5,00	2,17	0,61

- U posmatranom uzorku postoji značajna razlika po broju prethodnih porođaja ($\chi^2=26.0$, $df=4$, $p<0.01$), odnosno najzastupljenije su pacijentkinje koje su imale jednu prethodnu trudnoću, a samo 4 pacijentkinje su imale tri ili više trudnoća (Tabela 3.)

Tabela 3. Prethodni broj porođaja

Broj porođaja	n	%
0	3	8.3
1	22	61.1
2	7	19.4
3	3	8.3
5	1	2.8
Ukupno	36	100.0

- Kod 22% pacijentkinja u predhodnim trudnoćama je došlo do neželjenog ishoda (fetus mortus in utero-FMU ili mortem neonati), dok su sve ostale pacijentkinje ranije imale uredne terminske trudnoće bez Rh senzibilizacije (Tabela 4.).

Tabela 4. Prethodne trudnoće

Ispitivani parametri	Broj	Procenat	χ^2	p
zdrave terminske	28	77,8		
Ishodi predhodnih trudnoća				
Rh imunizacija	3	8,3	32,167	0,001
smrt ploda	5	13,9		

- Ispitivali smo prisutnost komorbiditeta kao što su gestacijski diabetes mellitus (GDM), gestacijska arterijska hipertenzija (GHTA) i hepatitis (HEP).

Preko 95% ispitivanih trudnica sa Rh senzibilizacijom nije imalo udružene komorbiditete u aktuelnim praćenim trudnoćama (Tabela 5, 6, 7).

U posmatranom uzorku samo jedna pacijentkinja (2,8%) je imala gestacijski diabetes. U posmatranom uzorku samo dve pacijentkinje (5.6%) su imale gestacijsku arterijsku hipertenziju. Samo jedna pacijentkinja (2.8%) je imala hepatitis.

Tabela 5. Prisustvo GDM

GDM	n	%
da	1	2.8
ne	35	97.2
Ukupno	36	100.0

Tabela 6. Prisustvo GHTA

GHTA	n	%
da	2	5.6
ne	34	94.4
Ukupno	36	100.0

Tabela 7. Prisustvo hepatitisa

Hepatitis	n	%
da	1	2.8
ne	35	97.2
Ukupno	36	100.0

- Titar RhD antitela veći ili jednak od 32 imalo je 23 (64 %) trudnice, prosečno u 31.oj nedelji gestacije.

Minimalna vrednost titra u posmatranom uzorku bila je u 18.oj nedelji gestacije, a maksimalna u 38-oj nedelji gestacije. Kao što je i očekivano titar antitela kod pacijentkinja se povećavao sa nedeljom gestacije.

Kod samo tri pacijentkinje (8%) je registrovana pojava više različitih antitela, dok su u svim ostalim slučajevima (92%) postojala samo Rh D antitela. Pacijentkinje sa Kell antitelima su isključene iz studije.

Titar antitela meren od 20 do 25 kao i 25 do 30 nedelje gestacije pozitivno je korelirao sa PSV (u MoM-ima), a negativno sa nalazom Hct na rođenju. Kod pacijentkinja sa višim titrom antitela, kao što se i očekivalo, izmerene su i više (lošije) vrednosti MCA PSV, dok su njihova deca imala niže (lošije) nalaze hematokrita na rođenju (Tabela 8).

Tabela 8. Korelacije nalaza antitela majke sa prediktorima stanja ploda i ishodima trudnoće sa Rh senzibilizacijom

Ispitivani parametri		PSV MoM 30 - 35 NG	PSV MoM > 35 NG	MCA PSV 30 do 35 NG	MCA PSV > 35 NG	Liley skor	Apgar skor	Hgb na porođaju	Hct na porođaju
Nalaz antitela ukupno	Ro	0,664	0,030	0,177	0,029	0,038	0,075	-0,261	-0,401
	P	0,150	0,863	0,309	0,866	0,824	0,720	0,312	0,222
Titar antitela 15 do 20 NG	Ro	0,421	0,312	0,308	0,325	0,195	-0,209	0,144	-0,301
	P	0,105	0,068	0,230	0,053	0,254	0,316	0,580	0,369
Titar antitela 20 do 25 NG	Ro	0,518	0,380	-0,093	0,113	0,064	-0,385	-0,027	-0,695
	P	0,040	0,024	0,722	0,513	0,710	0,058	0,919	0,018
Titar antitela 25 do 30 NG	Ro	0,530	0,410	-0,076	0,130	0,005	-0,393	0,001	-0,702
	P	0,035	0,014	0,771	0,450	0,977	0,052	0,988	0,016
Titar antitela 30 do 35 NG	Ro	0,348	0,294	-0,278	0,043	0,056	-0,133	0,072	-0,479
	P	0,186	0,086	0,279	0,804	0,745	0,525	0,783	0,136
Titar antitela > 35 NG	Ro	0,334	0,276	-0,299	0,030	0,119	-0,274	0,114	-0,541
	P	0,207	0,108	0,243	0,863	0,488	0,185	0,664	0,085

- U posmatranom uzorku pacijentkinje sa hidropsom fetusasu zastupljene u značajno manjem broju (11%) u odnosu na pacijentkinje bez hidropsa fetusa ($\chi^2=21.778$, $p<0.05$) (Tabela 9).

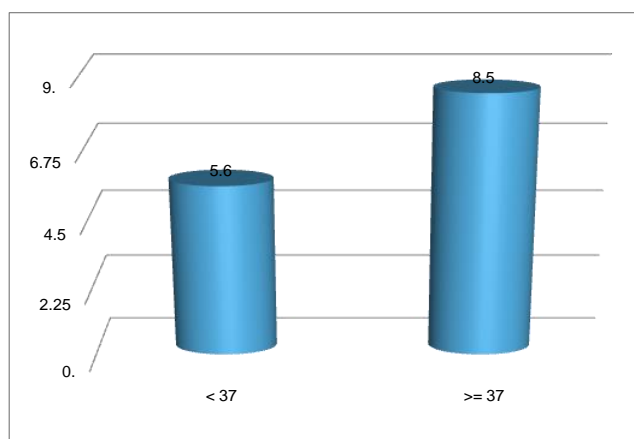
Tabela 9. Prisustvo hidropsa fetusa

ascites fetus (hidrops)	n	%
da	4	11
ne	32	89
Ukupno	36	100.0

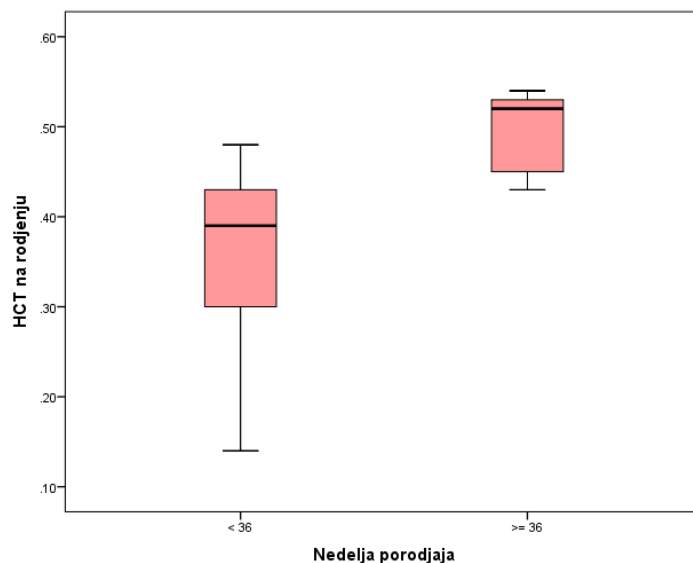
- Pre termina, odnosno pre 37. nedelje trudnoće porodilo se 11% pacijentkinja, dok se u terminu porodilo 89% pacijentkinja.

Kod pacijentkinja koje su porođene u kasnijim nedeljama gestacije deca su imala bolje Apgar skorove (t-test, $t=4.038$, $p<0.01$) i nalaze Hct (više vrednosti) na rođenju (Mann-Whitney, $Z=2.095$, $p <0.05$). (Grafikon 3.,4.)

Grafikon 3. Trajanje trudnoće



Grafikon 4. Odnos hematokrita na rođenju u odnosu na dužinu gestacije



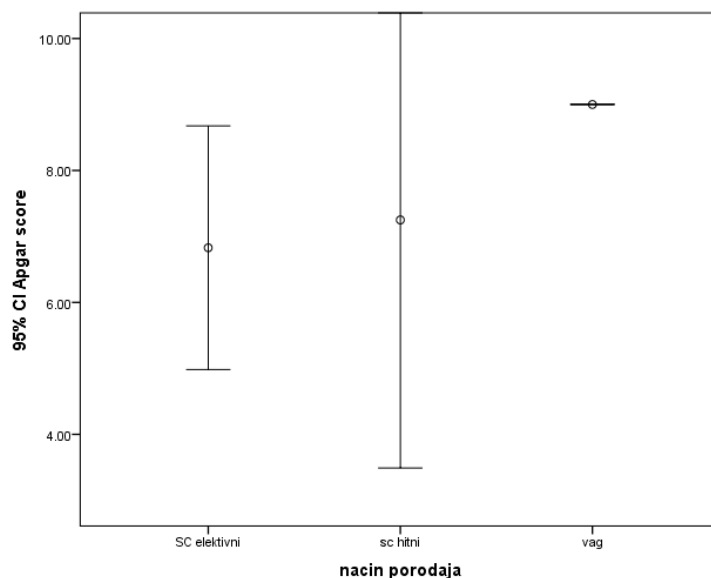
- Postoji značajna razlika u odnosu na način porođaja ($\chi^2 = 4.0$, $p < 0.05$) kod pacijentkinja u posmatranom uzorku. Značajno više pacijentkinja, 66%, je sa vaginalnim načinom porođaja, dok se kod 34% pacijentkinja trudnoća završila operativnim putem, odnosno carskim rezom (Tabela 10.).

Tabela 10. Način porođaja

način porođaja	n	%
SC elektivni	6	17
sc hitni	6	17
vag	24	66
Ukupno	36	100.0

Deca rođena carskim rezom imala su lošiji Apgar skor. Ovo se može objasniti činjenicom da je većina SC u našem uzorku rađena kao hitni zbog pogoršanja stanja ploda (Grafikon 5.).

Grafikon 5. Način završavanja trudnoće u odnosu na Apgar ocenu



- U tabeli 11. prikazane su vrednosti telesne težine, dužine, obima glavice, prosečnog Apgar skora, kao i laboratorijskih parametara određivanih kod dece na rođenju, kao i nedelja gestacije u kojoj je nastupio porođaj. Trudnoće su se u proseku završavale u 37 NG (samo su tri završene pre 36 NG). Apgar skorovi na rođenju ispitivane dece iz trudnoća sa Rh senzibilizacijom su prosečno iznosili 6,6. Iako je kod jednog broja dece postojala izražena anemija (minimalni Hgb samo 41), prosečene vrednosti hemoglobina i hematokrita na rođenju u analiziranom uzorku su bile u referentnom opsegu.

Tabela 11. Karakteristike dece na rođenju

Ispitivani parametri	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
NG porođaja	33,00	40,00	36,75	1,87
Apgar skor	0,00	9,00	6,60	3,01
Duzina deteta na rođenju	42,00	53,00	48,54	3,20
Tezina deteta na rođenju	1800,00	4150,00	2902,08	579,82
Obim glave deteta na rođenju	30,00	37,00	33,78	1,56
Hgb na rođenju	41,00	179,00	122,82	43,87
Hct na rođenju	0,14	54,00	32,34	21,79
Bilirubin iz pupčanika	24,40	167,00	60,25	38,74
Srčana frekvenca	120,00	168,00	138,30	16,06
PH	7,17	7,40	7,27	0,08
PCO2	6,00	8,90	7,83	0,94
PO2	4,90	7,20	6,35	0,66
SO2	61,00	94,00	79,70	9,98
EST	0,00	1,00	0,57	0,51

- Kada smo uporedili stanje na rođenju dece iz ispitivane grupe sa Rh senzibilizacijom i dece iz zdravih trudnoća koja su činila kontrolnu po svim ispitivanim parametrima je postojala značajna razlika. Deca sa Rh inkompatibilijom su, kao što se moglo očekivati, rođena u ranijim gestacionim nedeljama, imala su manju težinu i dužinu, manji Apgar skor, a uz to bila su češće anemična (Tabela 12).

Tabela 12. Poređenje neonatalnog ishoda između ispitivane i kontrolne grupe

Ispitivani parametri	Rh grupa		Zdrava kontrola		Razlika između grupa	
	Aritmetička sredina	Standardna devijacija	Aritmetička sredina	Standardna devijacija	F	p
NG porođaja	36,75	1,86	39,80	1,18	51,706	0,001
Apgar skor	6,60	3,01	9,07	0,25	20,000	0,001
Duzina deteta na rođenju	48,54	3,20	51,73	1,76	21,677	0,001
Tezina deteta na rođenju	2902,08	579,82	3443,33	371,33	17,314	0,001
Hgb na rođenju	122,82	43,87	159,73	6,29	20,824	0,001

4.2. Rezultati invazivnih dijagnostičkih procedura

4.2.1. Amniocenteza

Kod 36 fetusa urađeno je 56 amniocenteza.

- U odnosu na Liley skor, 75% ispitivanih trudnica sa Rh senzibilizacijom je pripadalo kategoriji „A“, dok je 17% imalo prema Liley-u srednje težak oblik anemije (grupa B1), a 8% veoma težak oblik anemije (grupa B1/B2) (Tabela 13., Grafikon 6).

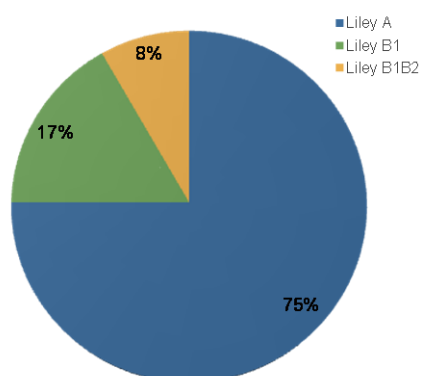
Tabela 13. Učestalost nalaza antitela i kategorija Liley skora

Ispitivani parametri		Broj	Procenat	χ^2	p
Liley skor	A	27	75	28,500	0,001
	B1	6	17		
	B1/B2	3	8		

U posmatranom uzorku postoji značajno više pacijentkinja sa A Liley zonom u odnosu na pacijentkinje sa B1 i B1/B2 ($\chi^2= 63.222$, $p<0.01$).

U tabeli 14. su prikazane prosečne vrednosti laboratorijskih parametara koji su određivani tokom trudnoće i na osnovu kojih je procenjivan stepen Rh senzibilizacije kao i stanje ploda.

Grafikon 6. Podela fetusa prema Liley skoru



- Adekvatan L-S odnos posle 35.te nedelje gestacije prema našim rezultatima može da govori u prilog ne samo postignute zrelosti ploda veći boljeg nalaza hemoglobina deteta na rođenju

(Tabela 14.)

Tabela 14. Laboratorijski parametri u trudnoći

Ispitivani parametri	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
L-S odnos 20 –30 NG	1,00	1,50	1,24	0,18
L-S odnos > 35 NG	1,30	2,25	1,71	0,27
Bilirubin plodove vode 20-30 NG	0,50	8,30	3,88	2,69
Bilirubin plodove vode > 35 NG	0,60	7,60	2,07	1,56

4.2.2. Kordocenteza

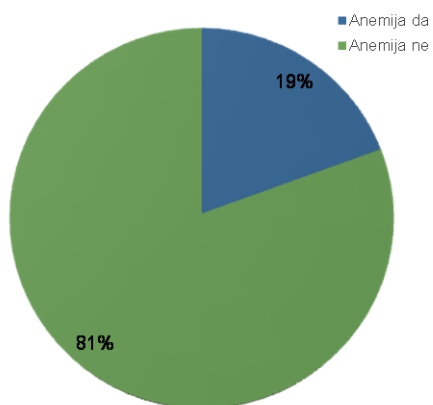
Urađeno je ukupno 25 kordocenteza u cilju primene fetalne terapije (IUT).

Analizom vrednosti hematokrita ustanovljena je anemija kod 7 fetusa (19%). (Grafikon 7.).

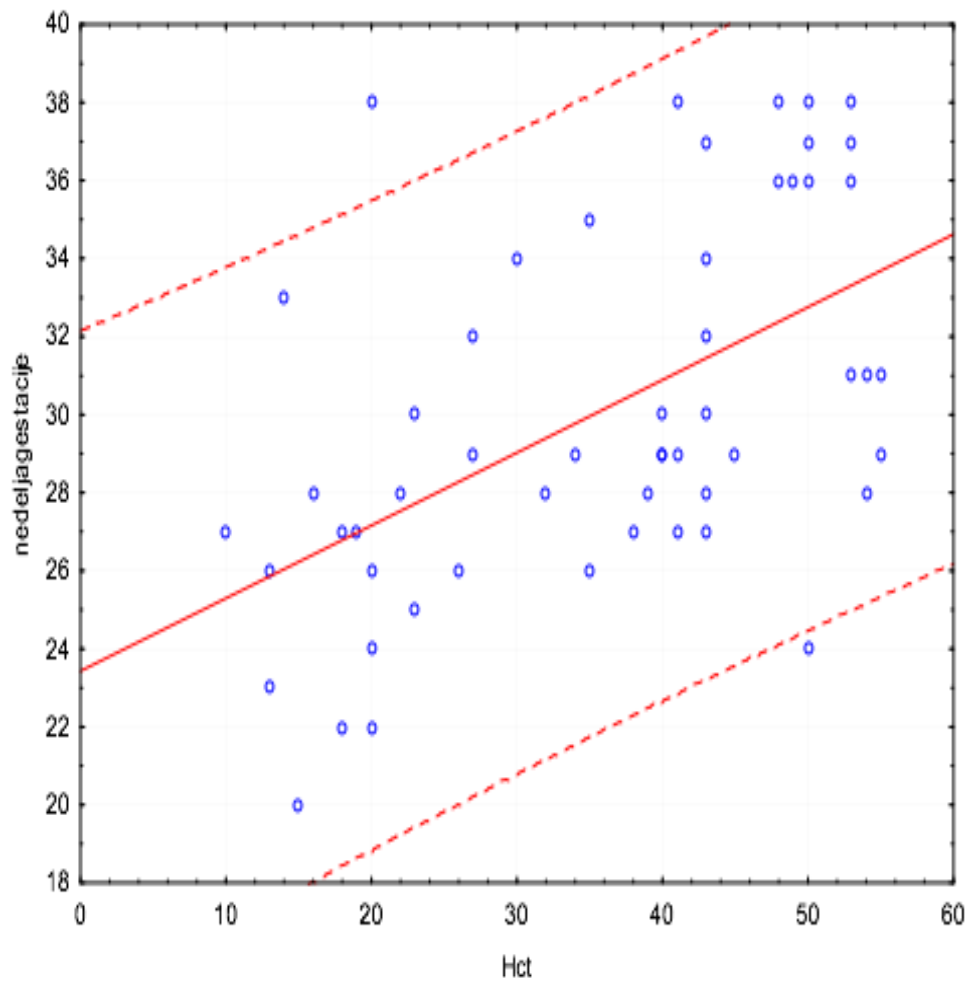
Anemija se smatrala ako je hematokrit manji od 2 SD od proseka za gestacijsku starost.

Vrednosti hematokrita su u pozitivnoj korelaciji na nedeljama gestacije (Grafikon 8.,9.).

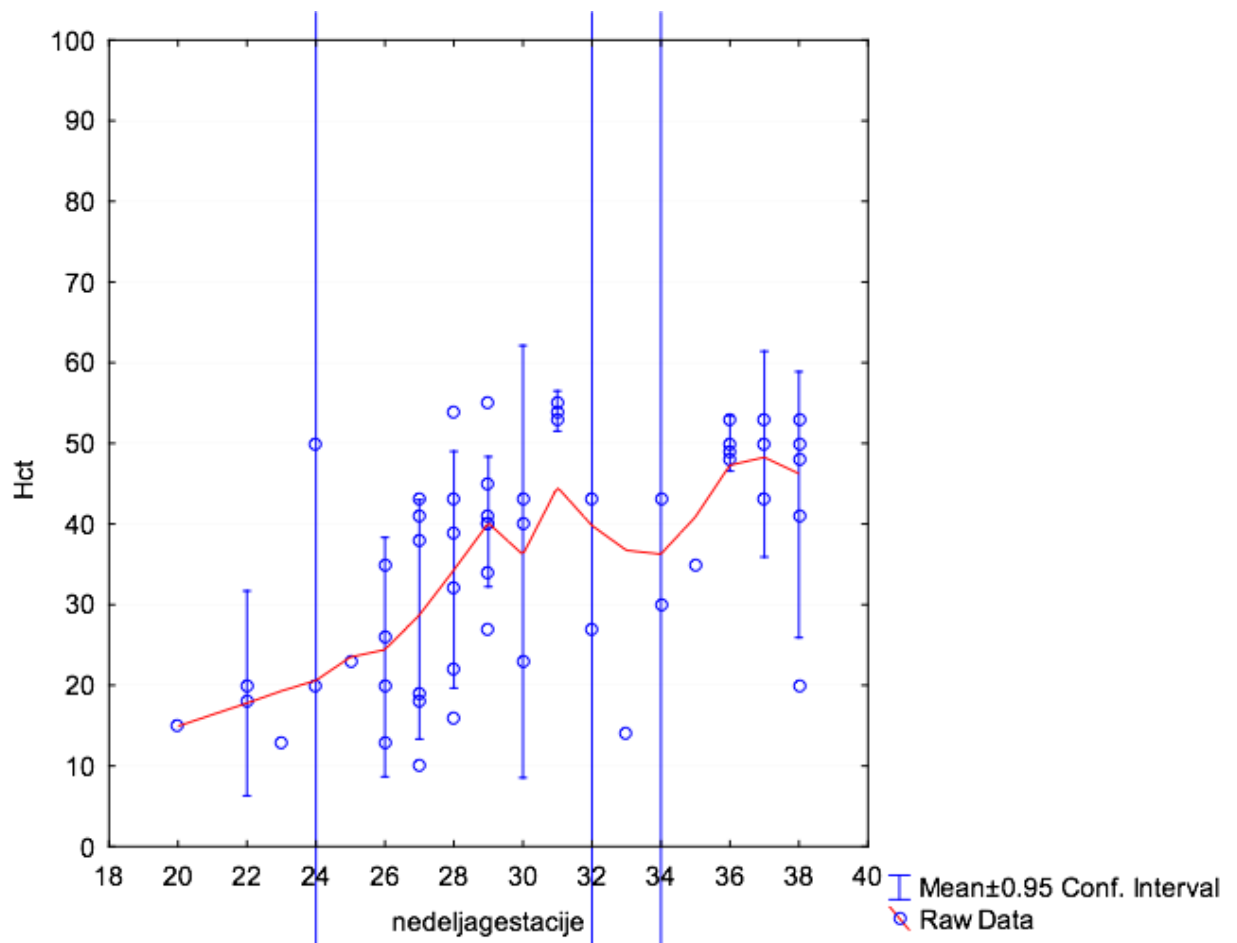
Grafikon 7. Anemični fetusi prema vrednostima Hct



Grafikon 8. Vrednosti hematokrita prema nedeljama gestacije



Grafikon 9. Distribucija vrednosti hematokrita po nedeljama gestacije



4.3. Sonografski parametri

4.3.1. Debljina posteljice

Prosečna vrednost debljine posteljice iznosila je 43mm (SD +/- 0.05), sa najmanjom izmerenom vrednosti od 3mm, i najvećom 50mm. Vrednosti odgovaraju referentnim vrednostima debljine posteljice za uredne trudnoće (Tabela 15.)

4.3.2. Dopler merenje umbilikalne arterije

Indeks rezistencije u umbilikalnoj arteriji prosečno je iznosio 0,65, do 32 nedelje gestacije, što odgovara referentnim vrednostima za fiziološke trudnoće (Tabela 15.)

Tabela 15. Sonografski parametri u trudnoći

Ispitivani parametri	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
RIAU	0,57	0,80	0,65	0,05
Debljina posteljice	36,00	50,00	43,56	4,78

4.3.3. Dopler merenje protoka u fetalnoj arteriji cerebri mediji (MCA PSV)

Dopler merenje MCA PSV je urađeno 74 puta kod 36 fetusa.

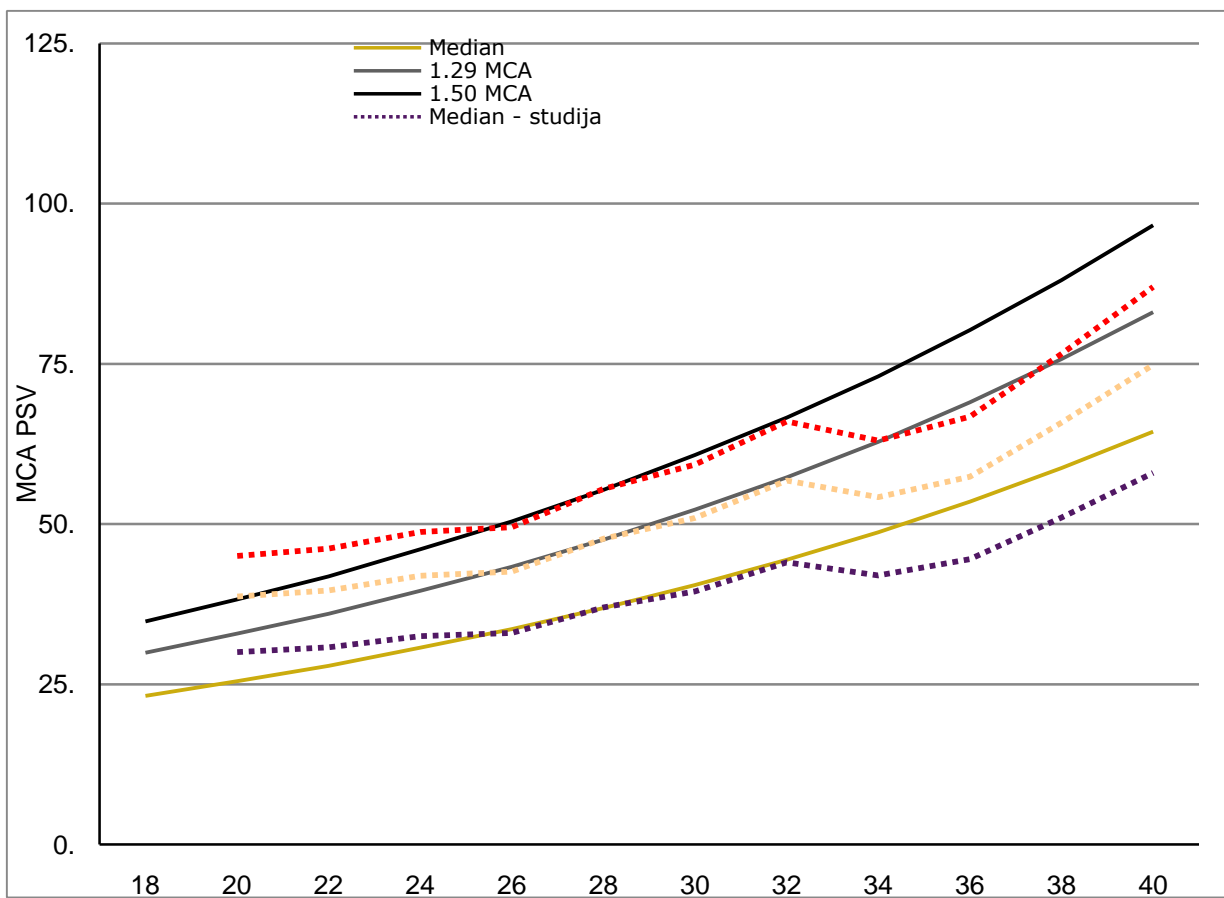
Izmerene vrednosti su prikazane u Tabeli 16.

Tabela 16. Vrednosti MCA PSV prema nedeljama gestacije

Ispitivani parametri	Min.	Max.	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
PSV MoM 30 –35 NG	0,38	1,29	0,75	0,22
PSV MoM > 35 NG	0,32	1,63	0,75	0,30
PSV 30 –35 NG	18,00	37,00	27,47	5,03
PSV > 35 NG	20,00	63,00	35,58	11,12

Rezultat Dopler merenja MCA PSV je izrazeno u MoM (multiple of the median) kako bi se poredilo sa referentnim vrednostima za gestacijsku starost iz vec postojećih tabela (50). Vrednosti između 0.8 i 1.0 MoM smatrane su lakšim oblikom anemije, od 1.0 do 1.5 MoM srednje teškim oblikom anemije, dok su vrednosti iznad 1.5 MoM smatrane izrazito teškim oblikom fetalne anemije (Grafikon 10.).

Grafikon 10. Vrednosti MCA PSV (MoM) prema nedeljama gestacije u poređenju sa referentnim standardom prema Mari-ju

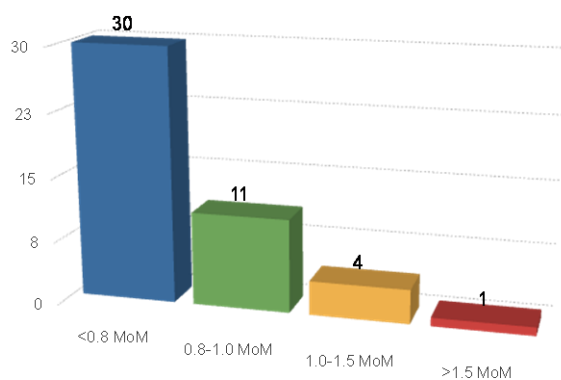


Prema merenju maksimalnog protoka u sistoli u fetalnoj arteriji mediji u našem uzorku blaži oblik anemije je imalo 11 pacijentkinja (24%), srednje težak 4 pacijentkinje (9%) i izrazito težak oblik anemije jedna pacijentkinja (2%) (Tabela 17., Grafikon 11.)

Tabela 17. Prikaz anemije prema vrednostima MCA PSV

MCA PSV MoM	n	(%)
manje od 0.8	30	65.2
0.8 - 1.0	11	23.9
1.0 - 1.5	4	8.7
preko 1.5	1	2.2
Ukupno	46	100.0

Grafikon 11. Broj fetusa prema vrednosti MCA PSV (MoM)



Vrednosti MCA PSV visoko statistički značajno pozitivno koreliraju sa nedeljama gestacije ($p < 0.01$) (Tabela 18.).

Tabela 18. Korelacija MCA PSV sa nedeljama gestacije

	N	Pearson - r	t(N-2)	p-value	P
MCAPSVcms & nedeljagestacije	71	0.312	2.720	0.008	$p < 0.01$
MCAPSVMoM & nedeljagestacije	71	-0.379	-3.120	0.002	$p < 0.01$

4.4. Rezultati korelacija

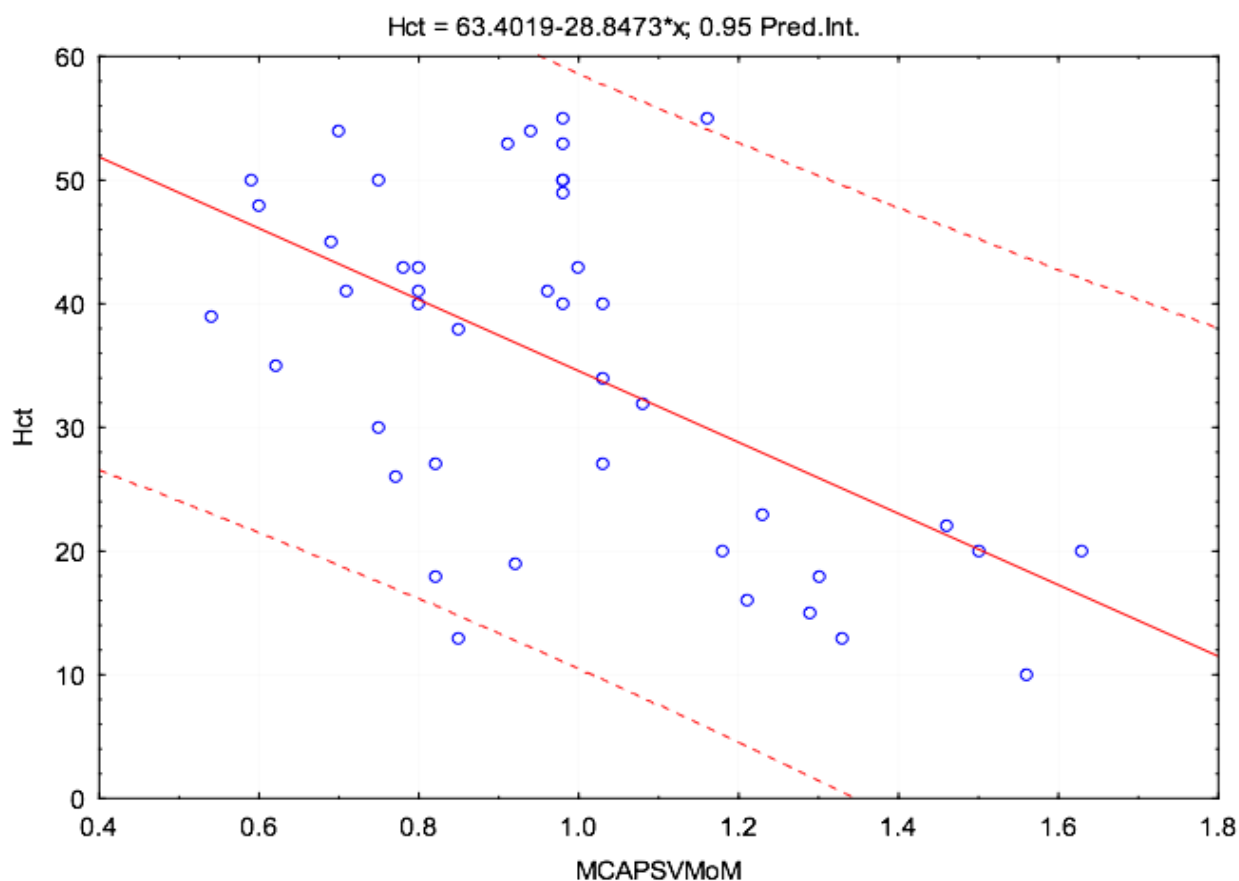
4.1. Korelacija MCA PSV i hematokrit fetusa

Statističkom obradom podataka dobijeno je da postoji statistički značajna korelacija između MCA PSV i Hct ($R = -0.368$, $p < 0.001$). Koeficijent korelacije je negativan što ukazuje da su posmatrana obeležja obrnuto proporcionalna. Višim vrednostima MCA PSV MoM odgovaraju niže vrednosti Hct. (Tabela 19., Grafikon 12.)

Tabela 19. Korelacija MCA PSV i anemije prema vrednostima hematokrita fetusa(Hct)

	Valid - N	Spearman - R	t(N-2)	p-value	P
MCAPSVMoM & Hct	51	-0.368	-2.772	0.008	$p < 0.01$

Grafikon 12. Korelacija MCA PSV i Hct



Utvrđivanje dijagnostičke vrednosti primenjenog testa Dopler merenja MCA PSV vršeno je ROC krivom posmatranog obeležja MCA PSV u odnosu na prisustvo anemije prema vrednostima hematokrita (Hct). (Grafikon 13, Tabela 20).

Senzitivnost i specifičnost su prikazane ROC krivom (Receiver Operating Characteristic), kojom je određena površina ispod krive i koja predstavlja zbirnu meru dijagnostike korisnosti uzimajući u obzir sve moguće vrednosti praga. Kao najniži nivo značajnosti uzeta je verovatnoća manja od 0.05.

Grafikon 13. ROC kriva MCA PSV prema anemiji u odnosu na Hct

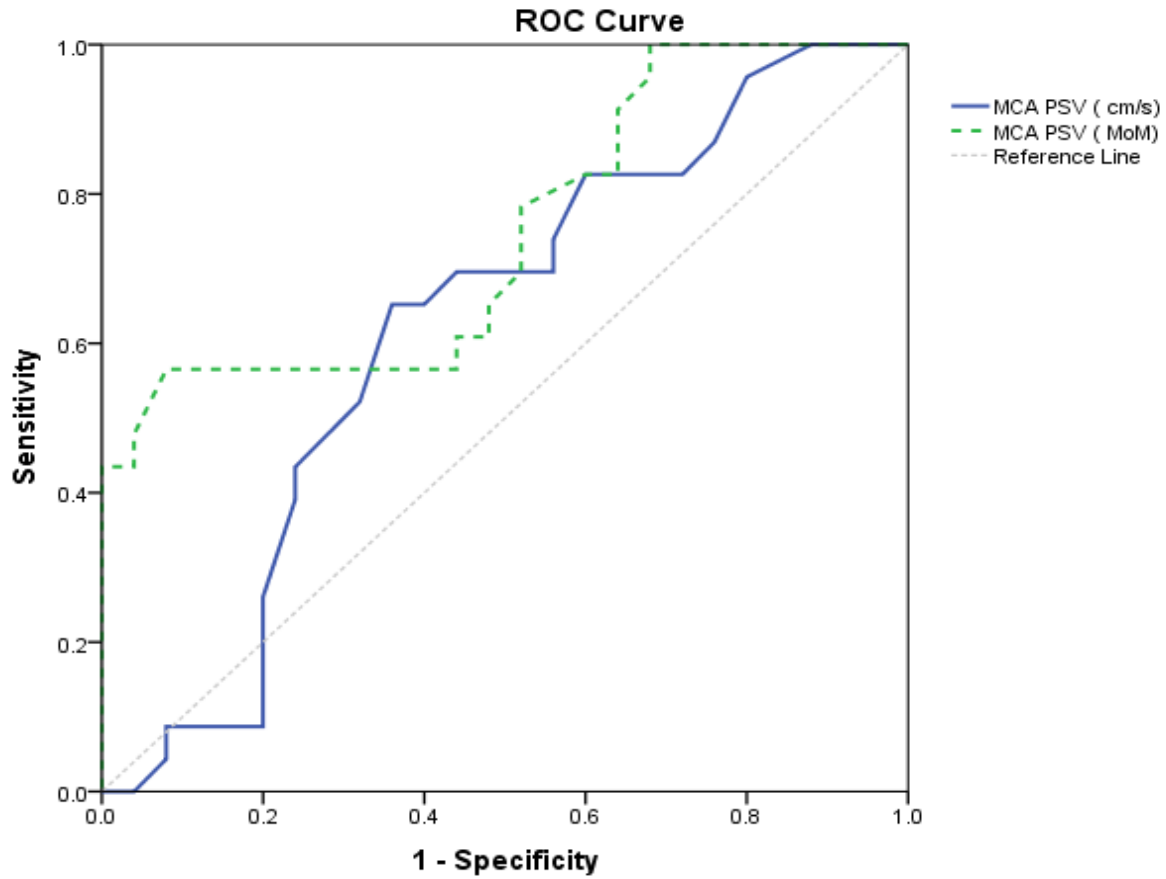


Tabela 20. Pregled vrednosti MCA-PSV

Obeležja	Area	Std. Error	p	95% CI	
				Lower Bound	Upper Bound
MCA- PSV (cm/s)	.622	.082	.149	.460	.783
Mom PSV	.748	.072	.003	.607	.889

Za posmatrane vrednosti MCA-PSV dobijeno da je AUC 0.748 (95%CI 0.607 –0.889, SE 0.072) i postoji statistička značajnost. Cut-off vrednost obeležija MCA PSV jednaka je 1.015 (senzitivnost je 0.565, a specifičnost 1-0.080) .

U posmatranom uzorku dobijeno je $\chi^2= 2.964$, $df=1$, $p>0.05$), prihvatamo H_0 , tj. ne postoji značajna razlika u postojanju anemije prema MCA PSV MoM u odnosu na prisustvo anemije prema Hct u posmatranom uzorku.

Senzitivnost je 83%, specifičnost 40%, pozitivna prediktivna vrednost 56% (performanse testa u odnosu na otkrivanje stvarno pozitivnih vrednosti testa u odnosu na pozitivne vrednosti anemije prema Hct), negativna prediktivna vrednost 71% (mogućnost testa u odnosu na dijagnostikovanje stvarno negativnih odnosno da ukoliko nemaju anemiju prema MCA PSV da nemaju anemiju ni prema hct).

4.4.2. Korelacija Liley i Hct

Cilj ispitivanja je bio je ocena tačnosti amniocenteze odnosno Liley skora u ranoj detekciji anemije. Vrednosti Hct merene kod novorođenčeta na rođenju uzete su kao referentni standard za dijagnostiku anemije. Rezultati istraživanja prikazani su kakav je test Liley u odnosu na referentni standard anemije prema Hct (Tabela 21., 22.).

Tabela 21. Prisutnost anemije prema Liley skoru

	Anemija - HCT +	Anemija - HCT -	Ukupno
Test Liley +	16	13	29
Test Liley -	7	11	18
Ukupno	23	24	47

Tabela 22. Liley rezultat u odnosu na referentni standard anemije prema Hct

	Vrednost	%
Senzitivnost	0.696	70
Specifičnost	0.458	46
Sveukupna tacnost	0.574	57
PV+	0.552	55
PV-	0.611	61

Poređenje dijagnostickog Liley testa u ispitivanoj grupi u kojoj je prisunta anemija prama HCT i u grupi u kojoj nije prisutna anamija prema HCT.

Za Senzitivnost (tačno pozitivni), kao sposobnost testa da indentifikuje one koji stvarno imaju bolest, dobijena je vrednost $Se=0,70$ (70%).

Za Specifičnost (tačno negativni) koja predstavlja sposobnost testa da isključi postojanje bolesti dobijena je $Sp=0,49$ (49%).

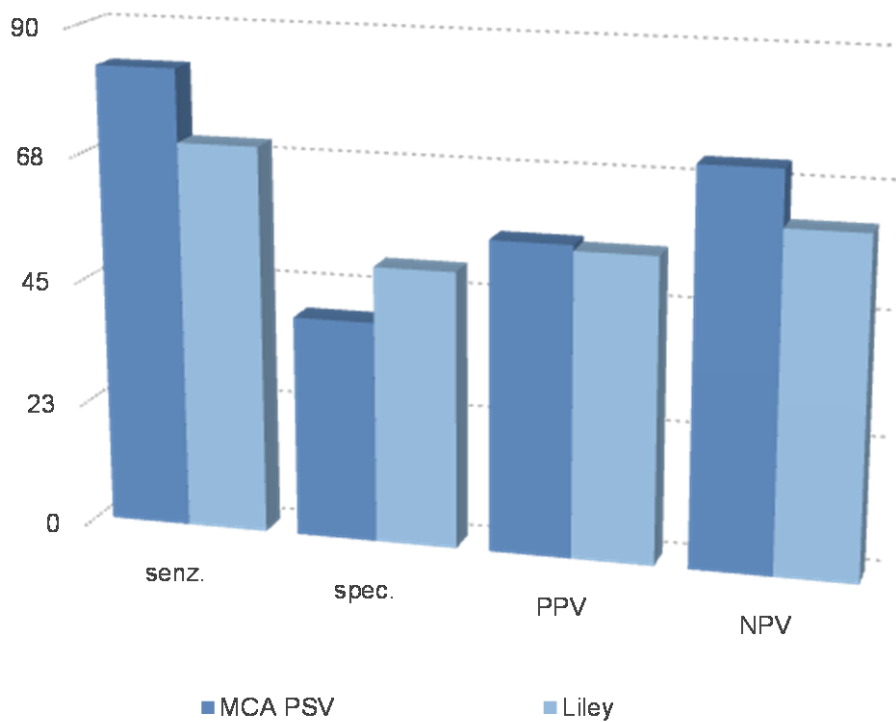
Sveukupna tačnost (dijagnostička tačnost, efikasnost testa) iznosi 0.57 (57%).

Pozitivna prediktivna vrednost (PPV), odnosi se na pacijente kod kojih je test pozitivan je: $PPV=0,552$ (55%).

Negativna prediktivna vrednost (NPV), odnosi se na pacijente kod kojih je test negativan i dobijeno je: $NPV=0,611$ (61%).

Na osnovu prethodno iznetih rezultata, na grafikonu 14. je prikazano poređenje tačnosti dopler merenja MCA PSV u određivanju fetalne anemije kod Rh aloimunizacije, kao neinvazivne metode, u poređenju sa amniocentezom, invazivnom metodom, a prema vrednostima hematokrita fetusa, zlatnim standardom dijagnostike ovog oboljenja.

Grafikon 14. Poređenje tačnosti testa MCA PSV prema Liley test



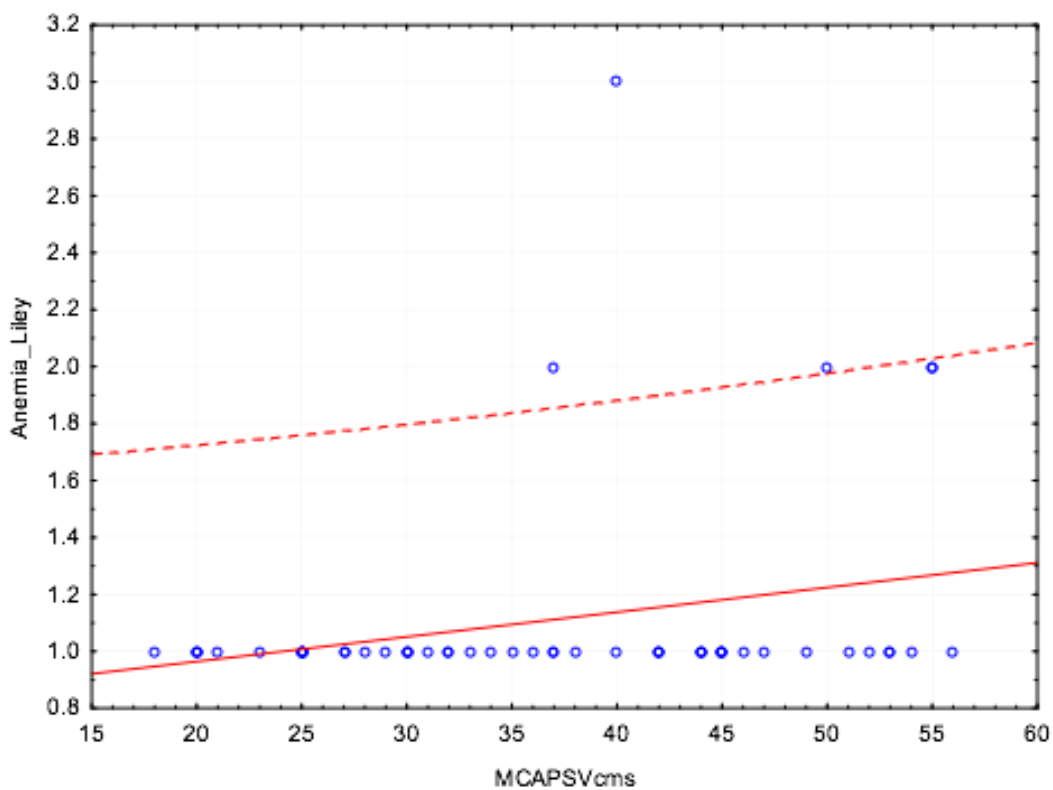
4.4.3. Korelacija MCA PSV i Liley

Postoji visoko statistički značajna korelacija između vrednosti MCA PSV i Liley grupe ($p < 0.01$). Koeficijent korelacije negativan što ukazuje da su posmatrana obeležja obrnuto proporcionalna (Tabela 23., Grafikon 15.)

Tabela 23. Korelacija MCA PSV i Liley

	Valid - N	Spearman - R	t(N-2)	p-value	P
MCAPSVMoM & Anemia Liley	53	0.376	2.89926	0.006	$p < 0.01$

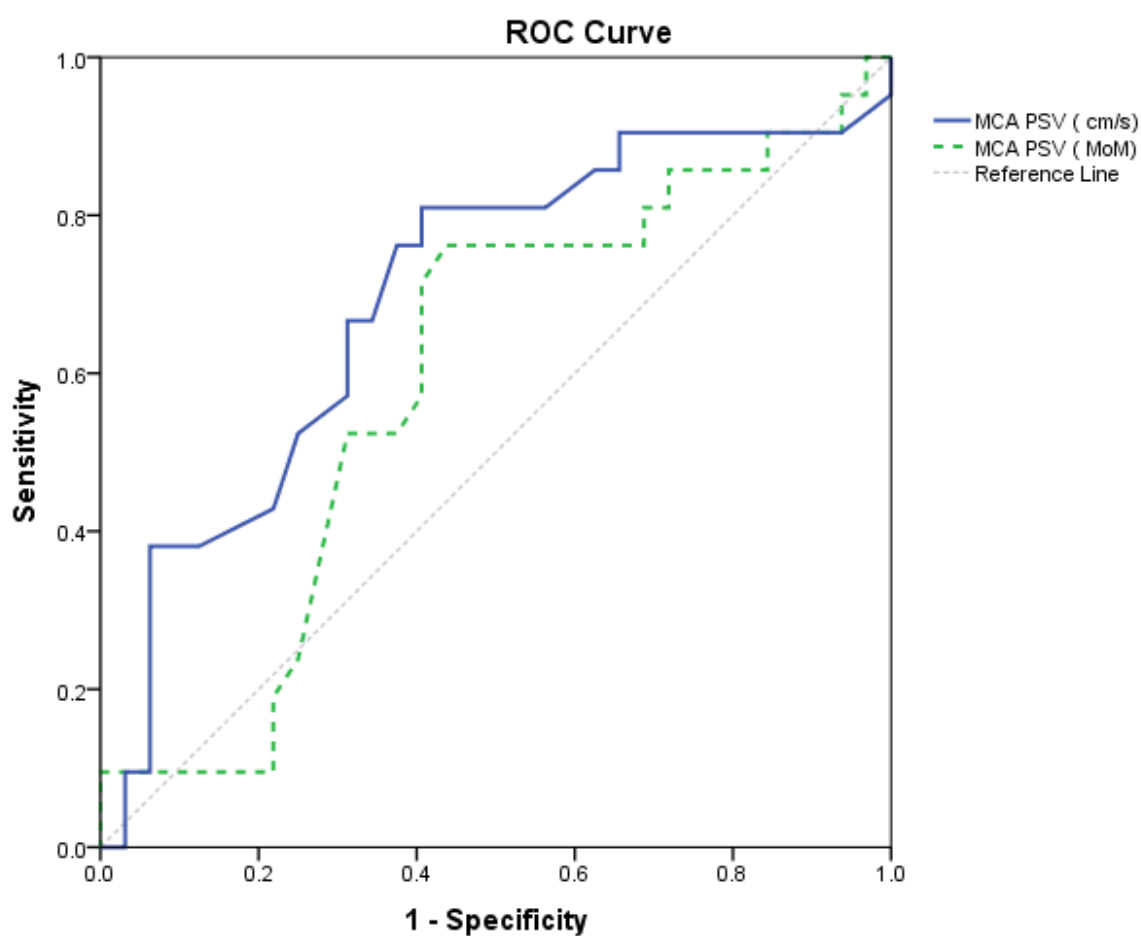
Grafikon 15. Korelacija MCA PSV i Liley



Utvrđivanje dijagnostičke vrednosti primenjenog testa vršeno je ROC krivom posmatranog obeležija MCA PSV u odnosu na prisustvo anemije prema Liley

(Grafikon 16).

Grafikon 16. ROC kriva MCA PSV prema Liley-u



Za posmatrane vrednosti MCA- PSV MoM dobijeno je AUC 0.593 (95%CI 0.434 – 0.752, SE 0.081), nije dobijena statistička značajnost. Cut-off vrednost obeležija MCA- PSV jednaka je 34.5 (senzitivnost je 0.810, a specifičnost 1-0.406) (Tabela 24.).

Tabela 24. Pregled vrednosti MCA PSV

Obeležja	Area	Std. Error ^a	p.	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
MCA- PSV (cm/s)	.699	.077	.015	.548	.849
Mom PSV	.593	.081	.256	.434	.752

4.4.4. Korelacija MCA PSV i Liley sa parametrima na rođenju

Više vrednosti PSV (u MoM-ima) izmerene u terminu (nakon 37. nedelje gestacije) bile su značajno pozitivno povezane sa ultrazvučno dijagnostikovanim fetalnim hidropsom u trudnoći, a negativno korelirane sa Apgar skorom i nalazom vrednostima Hct na rođenju, koji su u tom slučaju bili niži tj. lošiji. Direktne vrednosti MCA PSV merene od 30 do 36 ng su takođe negativno korelirale sa Apgar skorom dece na rođenju, ukazujući na to da izmeren visok MCA PSV u terminu može da ukaže na lošije stanje deteta na rođenju .

Takođe, više vrednosti MCA PSV (u MoM-ima) merene nakon 35. nedelje gestacije su bile povezane sa manjom telesnom težinom i dužinom kao i manjim obimom glave dece na rođenju, dok su u tom slučaju vrednosti bilirubina u pupčniku bile više. Povišene direktne vrednosti MCA PSV u terminu su pozitivno korelirale sa visokim vrednostima PH (alkalozom). Na bolje tj. više vrednosti hematokrita deteta na rođenju uticao je porođaja u kasnijoj nedelji trudnoće, niže vrednosti PCO₂, kao i više tj. bolje vrednosti hemoglobina deteta na rođenju (Tabela 25., 26., 27., 28.).

Tabela 25. Sonografski parametri prema parametrima na rođenju

Ispitivani parametri		PSV MoM 30 –35 NG	PSV MoM > 35 NG	MCA PSV 30 do 35 NG	MCA PSV > 35 NG	Liley skor	Apgar skor	Hgb na porođaju	Hct na porođaju
RIAU	Ro	-0,276	-0,178	-0,255	-0,288	-0,062	0,323	0,069	0,166
	p	0,300	0,306	0,323	0,089	0,719	0,115	0,794	0,627
Debljina posteljice	Ro	0,124	0,006	0,155	-0,047	-0,319	-0,001	-0,210	0,060
	p	0,647	0,972	0,553	0,788	0,058	0,994	0,419	0,860
Hidrops fetalis in utero	Ro	0,411	0,378	0,075	0,256	-0,017	-0,502	0,252	-0,421
	p	0,114	0,025	0,775	0,132	0,922	0,043	0,329	0,198
PSV MoM 30 do 35 NG	Ro	.	0,577	0,564	0,177	-0,021	-0,391	0,286	-0,406
	p	.	0,019	0,023	0,511	0,940	0,263	0,493	0,425
PSV MoM > 35 NG	Ro	0,577	.	0,534	0,755	0,026	-0,543	-0,477	-0,797
	p	0,019	.	0,027	0,001	0,881	0,006	0,053	0,003
MCA PSV 30 do 35 NG	Ro	0,564	0,534	.	0,453	0,088	-0,657	-0,048	-0,493
	p	0,023	0,027	.	0,068	0,737	0,039	0,911	0,321
MCA PSV > 35 NG	Ro	0,177	0,755	0,453	.	0,114	-0,248	-0,390	-0,458
	p	0,511	0,001	0,068	.	0,510	0,232	0,121	0,157

Tabela 26. Biohemijski parametri prema parametrima na rođenju

Ispitivani parametri		PSV MoM 30–35 NG	PSV MoM > 35 NG	MCA PSV 30 do 35 NG	MCA PSV > 35 NG	Liley skor	Apgar skor	Hgb na porođaju	Hct na porođaju
Liley skor	Ro	-0,021	0,026	0,088	0,114	.	0,026	0,252	0,259
	p	0,940	0,881	0,737	0,510	.	0,903	0,329	0,442
L-S odnos 20 do 30 NG	Ro	0,447	0,161	0,001	0,020	0,569	-0,333	0,051	0,299
	p	0,553	0,731	10,001	0,966	0,182	0,667	0,935	0,260
L-S odnos > 35 NG	Ro	-0,320	0,177	-0,212	0,189	0,217	-0,023	0,503	0,176
	p	0,227	0,309	0,414	0,269	0,203	0,912	0,040	0,605
Bilirubin plodove vode 20 do 30 NG	Ro	0,536	0,236	-0,144	-0,079	0,174	-0,296	-0,086	-0,257
	p	0,215	0,511	0,758	0,828	0,631	0,518	0,872	0,623
Bilirubin plodove vode > 35 NG	Ro	-0,142	0,171	-0,025	0,205	0,335	-0,351	-0,055	-0,300
	p	0,715	0,485	0,949	0,385	0,148	0,199	0,881	0,624

Tabela 27. Parametri na rođenju

		PSV MoM 30 - 35 NG	PSV MoM > 35 NG	MCA PSV 30 do 35 NG	MCA PSV > 35 NG	Liley skor	Apgar skor	Hgb na porođaju	Hct na porođaju
NG porođaja	Ro	-0,548	-0,459	-0,324	-0,198	-0,081	0,508	0,094	0,765
	p	0,101	0,036	0,361	0,378	0,721	0,016	0,728	0,010
Način porođaja	Ro	0,214	0,278	0,300	0,199	0,179	-0,692	-0,172	-0,468
	p	0,552	0,188	0,399	0,341	0,392	0,001	0,510	0,146
Apgar skor	Ro	-0,391	-0,543	-0,657	-0,248	0,026	.	0,262	0,670
	p	0,263	0,006	0,039	0,232	0,903	.	0,310	0,024
Duzina ploda	Ro	-0,340	-0,557	-0,093	-0,271	0,001	0,700	0,119	0,266
	p	0,337	0,006	0,799	0,200	0,996	0,001	0,650	0,430
Tezina ploda	Ro	-0,498	-0,558	-0,462	-0,234	0,133	0,688	0,248	0,453
	p	0,143	0,006	0,179	0,271	0,537	0,001	0,338	0,162
Obim glave ploda	Ro	-0,374	-0,429	-0,187	-0,186	0,011	0,822	0,250	0,358
	p	0,287	0,046	0,605	0,395	0,961	0,001	0,333	0,279

Tabela 28. Parametri na rođenju

		PSV MoM 30 - 35 NG	PSV MoM > 35 NG	MCA PSV 30 do 35 NG	MCA PSV > 35 NG	Liley skor	Apgar skor	Hgb na porođaju	Hct na porođaju
Hgb na porođaju	Ro	0,286	-0,477	-0,048	-0,390	0,252	0,262	.	0,724
	p	0,493	0,053	0,911	0,121	0,329	0,310	.	0,012
Hct na porođaju	Ro	-0,406	-0,797	-0,493	-0,458	0,259	0,670	0,724	.
	p	0,425	0,003	0,321	0,157	0,442	0,024	0,012	.
Bilirubin iz pupčanika	Ro	0,268	0,648	0,301	0,266	-0,319	-0,483	-0,427	-0,415
	p	0,486	0,002	0,431	0,257	0,170	0,031	0,088	0,205
PH	Ro	0,667	0,335	0,205	0,681	0,104	0,584	0,134	0,042
	p	0,219	0,379	0,741	0,044	0,790	0,099	0,731	0,915
PCO2	Ro	0,051	0,145	0,410	0,101	0,312	-0,736	-0,382	-0,800
	p	0,935	0,756	0,493	0,830	0,496	0,059	0,398	0,031
PO2	Ro	0,316	-0,446	0,316	-0,315	-0,128	0,265	0,012	0,205
	p	0,684	0,268	0,684	0,447	0,763	0,526	0,977	0,627
SO2	Ro	0,300	0,006	0,800	0,207	-0,114	0,196	-0,285	-0,152
	p	0,624	0,987	0,104	0,565	0,754	0,587	0,425	0,676
Srčana frekvencija	Ro	-0,205	0,219	-0,051	-0,171	-0,114	-0,680	-0,377	-0,267
	p	0,741	0,544	0,935	0,636	0,753	0,031	0,283	0,455
EST	Ro	-0,394	0,430	-0,394	0,162	-0,059	-0,298	-0,507	-0,463
	p	0,334	0,125	0,334	0,580	0,841	0,301	0,077	0,177
Hidrops na rođenju	Ro	0,001	0,289	0,001	0,289	0,612	-0,645	-0,289	-0,577
	p	0,988	0,638	0,988	0,638	0,272	0,239	0,638	0,308
Stanje bebe za mesec dana	Ro	-0,707	-0,655	-0,354	-0,399	0,316	-0,139	-0,393	0,664
	p	0,182	0,158	0,559	0,434	0,684	0,793	0,441	0,150

4.5. In-utero transfuzija

Kod 7 pacijentkinja rađena je in-utero transfuzija krvi tokom trudnoće, u cilju korekcije fetalne anemije.

Prva IUT je rađena prosečno u 25.oj nedelji gestacije kod 7 pacijentkinja, druga IUT je rađena prosečno u 27.oj ng kod 7 pacijentkinja, treća u 28.oj ng kod 6 pacijentkinja, četvrta u 30.-oj ng kod 6 pacijentkinja, peta u 32.oj ng kod 5 pacijentkinja, šesta u 32.oj ng kod 2 pacijentkinje, sedma u 34oj ng kod 2 pacijentkinje, a osma je rađena samo u jednom slučaju i to u 33 gn. Nakon svake transfuzije praćeni su pokazatelji stanja ploda. Kada smo analizirali ukupnu promenu ovih parametara nakon završetka kompletnog tretmana transfuzijama krvi uočeno je poboljšanje u vrednostima hematokrita od dva puta kao i statistički značajno poboljšanje vrednosti MCA PSV (Tabela 29).

Upoređivanjem srednjih vrednosti hematokrita (Hct) pre i posle in utero transfuzije (IUT) dobijena je statistički visoko značajna razlika (Wilcoxon Matched Pairs Test $Z=5.232$, $p<0.001$), odnosno povećanje vrednosti Hct.

Upoređivanjem srednjih vrednosti MCA PSV pre i posle dobijena je statistički visoko značajna razlika (t-test Dependent Samples $t=7.886$, $df=29$, $p<0.001$). (Tabela 30., 31.).

Tabela 29. Ispitivani pokazatelji stanja ploda sa Rh senzibilizacijom pre i posle transfuzije krvi

Ispitivani parametri	Minimu m	Maksimu m	Aritmetičk a sredina	Standardna devijacija	Z	p
Hct pre transfuzije	0,10	0,50	0,27	0,09	- 5,234	0,001
Hct posle transfuzije	0,26	0,55	0,42	0,07		
MCA PSV pre transfuzije	25,00	63,00	43,49	8,70	-4,435	0,001
MCA PSV posle transfuzije	23,00	54,00	33,69	7,56		
PSV MoM pre transfuzije	0,62	1,60	1,17	0,24	-4,577	0,001
PSV MoM posle transfuzije	0,44	1,07	0,79	0,16		

Tabela 30. Odnos HCT i PSV pre primenjenih transfuzija

	PSV pre transf I	PSV pre transf II	PSV pre transf III	PSV pre transf IV	PSV pre transf V	PSV pre transf VI	PSV pre transf VII
HCT pre transf I	-0,914	0,116	-0,564	-0,600	0,200	-1,000	1,000
	0,035	0,827	0,322	0,400	0,800	.	.
HCT pre transf II	-0,645	-0,176	-0,289	0,211	-0,400	-1,000	1,000
	0,117	0,738	0,637	0,789	0,600	.	.
HCT pre transf III	0,103	0,359	-0,816	-0,400	-0,200	-1,000	1,000
	0,846	0,553	0,092	0,600	0,800	.	.
HCT pre transf IV	-0,738	0,154	-0,789	-0,632	-0,316	-1,000	1,000
	0,262	0,805	0,112	0,368	0,684	.	.
HCT pre transf V	0,308	0,200	0,105	-0,500	-0,990	-1,000	1,000
	0,614	0,800	0,895	0,667	0,000	.	.
HCT pre transf VI	-1,000	-1,000	-1,000	1,000	-1,000	-1,000	1,000

HCT pre transf VII	-1,000	-1,000	-1,000	1,000	-1,000	-1,000	1,000

Tabela 31. Odnos Hct i MCA PSV nakon primenjenih transfuzija

	PSV post transf I	PSV post transf II	PSV post transf III	PSV post transf IV	PSV post transf V	PSV post transf VI	PSV post transf VII
HCT post transf I	-0,027	-0,708	-0,718	0,200	0,400	-1,000	1,000
	0,954	0,115	0,172	0,800	0,600	.	.
HCT post transf II	-0,018	-0,820	-0,600	-0,200	-0,600	-1,000	1,000
	0,969	0,046	0,285	0,800	0,400	.	.
HCT post transf III	-0,294	-0,763	-0,205	-0,211	-0,738	-1,000	1,000
	0,572	0,133	0,741	0,789	0,262	.	.
HCT post transf IV	-0,015	-0,289	-0,667	-0,316	-0,400	-1,000	1,000
	0,978	0,637	0,219	0,684	0,600	.	.
HCT post transf V	0,718	0,211	-0,316	-0,990	0,000	-1,000	1,000
	0,172	0,789	0,684	0,000	0,103	.	.
HCT post transf VI	-1,000	-1,000	-1,000	-1,000	0,846	-1,000	1,000

HCT post transf VII	-1,000	-1,000	-1,000	-1,000	-1,000	-1,000	1,000

Takođe ispitivan je odnos Hct i MCA PSV pre i posle svake primenjene transfuzije.

Vidi se da su Hct i MCA PSV značajno negativno povezani pre primene terapije transfuzijama krvi kao i nakon prve i druge transfuzije. S druge strane, pre druge kao i pre i posle treće transfuzije nema statistički značajne korelacije između Hct i MCA PSV. (Tabele 32. i 33).

Merenje ROC analizom pokazuje da MCA PSV može da izvrši predikciju fetalne anemije u 83.3% fetusa pre primene transfuzije. Pre druge transfuzije tačnost testa MCA PSV je 50%, i samo 25% pre treće transfuzije. Za ispitivane trudnoće optimalni MCA PSV cut-off za određivanje vremena primene druge i treće transfuzije bio je 1.22 MoM (II IUT senzitivnost= 100%; specifičnost= 50%, III IUT senzitivnost= 100%, specifičnost= 33.3%).

Table 32. Korelacija Hct i MCA PSV pre svake IUT

Parametri		MCA PSV MoM pre IUT I	MCA PSV MoM pre IUT II	MCA PSV MoM pre IUT III
Hct pre IUT I	Ro	-0.929	-0.414	-0.290
	p	0.003	0.355	0.577
Hct pre IUT II	Ro	-0.378	-0.345	-0.809
	p	0.403	0.448	0.051
Hct pre IUT III	Ro	-0.609	-0.265	-0.088
	p	0.200	0.612	0.868

Table 33. Korelacija Hct i MCA PSV posle svake IUT

Parametri		MCA PSV MoM post IUT I	MCA PSV MoM post IUT II	MCA PSV MoM post IUT III
Hct post IUT I	Ro	-0.893	-0.179	-0.600
	p	0.007	0.702	0.208
Hct post IUT II	Ro	0.631	-0.912	0.290
	p	0.129	0.011	0.577
Hct post IUT III	Ro	-0.232	-0.696	-0.348
	p	0.658	0.125	0.499

5. DISKUSIJA

Rh aloimunizacija je veoma retko oboljenje, ali i dalje veoma komplikovano za dijagnostiku i lečenje. Predstavlja veliki izazov za kliničara perinatologa. Poslednjih 30 godina, u krugovima stručne javnosti, vodi se ozbiljna debata na temu Rh aloimunizacije u trudnoći.

Istraživanja su pokazala da je učestalost pojave Rh negativnih osoba češća kod Evropljana, u odnosu na narode Afrike i Azije, i iznosi 15-17%. Širom sveta incidenca je 276 na 100 000 živorođene dece što je signifikantan broj uzimajući u obzir da će kod 50% nelečenih slučajeva hemolitičke bolesti fetusa doći do fetalne smrti ili do razvoja teškog moždanog oštećenja. Incidenca Rh aloimunizacije u razvijenim zemljama je redukovana na 2.5 na 100 000 živorođene dece, što ide u prilog visokog kvaliteta perinatalne i neonatalne zaštite. [2, 15, 18, 22-30, 44.-53.]

Lečenje je u prevenciji. Primer najuspešnije profilakse u medicini je upravo profilaksa Rh aloimunizacije. Uvođenjem Rh profilakse incidenca pojave ovog oboljenja redukovana je sa 16% na manje od 1% (0,6-1%). [67.-71.].

U našoj studiji, u okviru petogodišnjeg ispitivanja, registrovali smo 36 trudnica sa Rh aloimunizacijom. Od tog broja, kod sedam trudnica bilo je neophodno sprovesti in-utero transfuziju u cilju korekcije anemije. U poredjenju sa ukupnim godišnjim brojem porođaja na našoj klinici, koji u proseku iznosi 6300, incidenca Rh aloimunizovanih trudnoća, prema našoj studiji, iznosi oko 0,1%. Ovaj podatak ide u prilog dobroj perinatalnoj praksi u Srbiji.

I druge studije, objavljene u poslednjih pet godina, pokazuju mali broj registrovanih pacijentkinja sa Rh aloimunizacijom. Studija objavljena u julu 2017. godine, na temu određivanja MCA PSV nakon in-utero transfuzije, je obuhvatila 71 pacijentkinju. Međutim, radi se o multicentričnoj studiji, tako da ovaj broj ispitanica uključuje pacijentkinje sa prostora Australije, Novog Zelanda, Argentine, Kanade, Velike Britanije, Irske i Belgije [75.]. Studija objavljena 2015. godine, u časopisu *Fetal Pediatrics and Pathology*, obuhvatila je 10 fetusa sa anemijom [76.].

Dijagnoza Rh aloimunizacije i procena stepena težine fetalne anemije polazi najpre od dobro uzete anamneze. Potom se određuje titar antitela, i po mogućstvu testiranje fetalnog genotipa. Zatim se, u zavisnosti od prethodnih parametara, pristupa invazivnim i neinvazivnim dijagnostičkim procedurama. Cilj savremene medicine je smanjiti invazivnost na najmanju moguću meru. Zbog toga se mnoge studije poslednjih godina

bave ispitivanjem da li neinvazivne metode, kao što je sonografija fetusa, mogu da zamene invazivne metode, kao što su amniocenteza i kordocenteza, u određivanju stepena težine fetalne anemije.

U našoj studiji, analiza anamnestičkih parametara ispitivanih pacijentkinja pokazala je da su samo dve pacijentkinje bile prvorođene, dok je ostalih 34 imalo prethodne trudnoće. Najzastupljenije su bile pacijentkinje koje su imale jednu prethodnu trudnoću, a samo 4 pacijentkinje su imale tri ili više prethodnih trudnoća.

Etiologija nastanka RhD aloimunizacije kod trudnica koje su imale prethodne porođaje ili prethodne prekide trudnoće najčešće leži u neuspehu Rh imunoprofilakse, odnosno ne primenjivanju RhD imunoglobulina. RhD negativne trudnice koje su postale senzibilisane na RhD antigen mogle su da budu izložene RhD antigenu na više načina. Iz anamneze možemo da saznamo da su razlozi dvojaki: a. vezani za trudnoću i neadekvatnu imunoprofilaksu i b. razlozi nevezani za ranije trudnoće, kao što su transfuzija, ubod kontaminirane igle ili transplantacija kostne srži.

U našoj studiji, 8% pacijentkinja je u prethodnim trudnoćama imalo pozitivna RhD antitela. Kod 14% je imalo neželjeni ishod u prethodnim trudnoćama (fetus mortus in utero- FMU ili mortem neonati). Sve ostale pacijentkinje su ranije imale uredne terminske trudnoće bez Rh senzibilizacije.

Rh inkompatibilija je takva bolest da ne pokazuje svoje kliničke simptome i znake kod trudnice. Fetus je taj na kome se ispoljava patologija bolesti, u obliku hemolitičke bolesti fetusa. Najteži oblik je fetalni hidrops, a potom fetalna smrt.

To je posledica niza hemodinamskih procesa uzrokovanih apsolutnom inkompatibilijom između majčine i fetalne krvi.

Titar veći ili jednak 32 je imalo 23 (63.89 %) trudnica, prosečno u 31-oj nedelji gestacije, pri čemu je minimalan vrednost u posmatranom uzorku bila u 18-oj nedelji gestacije, a maksimalna u 38-oj nedelji gestacije. Pravilo da porast titra ukazuje na pogoršanje fetalne anemije vredi samo za primoinmunizaciju. Kod trudnica kod kojih je klinička slika Rh imunizacije bila osobito teška, procena fetalne anemije na osnovu titra i dinamike porasta antitela nije pouzdana. Svakako treba imati na umu i mogućnost porasta titra anti-RhD antitela čak i iznad kritičnih vrijednosti kod trudnica koje su prethodno imunizovane, a u aktuelnoj trudnoći nose RhD negativan fetus. Takođe, mogući su i retki primeri enormno velikog porasta titra, a da se u pozadini nalazi samo lakši oblik fetalne anemije. S druge strane, moguća je i obrnuta situacija, sa slučajevima teških oblika fetalne anemije i graničnim vrednostima indirektnog Coombs testa. Iz

navedenoga sledi da kliničar treba voditi računa o takvim mogućnostima, jer je očigledno da antigeni potencijal RhD antigena, kao ni imunološki odgovor majke nije uniforman i do kraja razjašnjen.

Imunohematološka testiranja vršena su u Hematološkoj laboratoriji Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije prema utvrđenom algoritmu testiranja opisanom u Nacionalnom vodiču dobre kliničke prakse [77., 78].

Prema ovom Vodiču određuje se ABO krvnogrupna pripadnost, prisustvo odnosno odsustvo RhD antigena na eritrocitima i skrining antieritrocitnih antitela trudnice. Navedeno testiranje vrši se u periodu između 10. i 16. nedelje gestacijske starosti trudnoće. Sve trudnice, potrebno je ponovo testirati prema navedenom algoritmu u 28. nedelji trudnoće. Testiranje u ovom periodu izuzetno je važno pošto u svakoj trudnoći dolazi do fetomaternalnih krvarenja koja su zanemarljiva u prvom i drugom trimestru dok su u trećem trimestru i na porođaju opsežnija i uzrok su senzibilizacije majke na strane antigene koje je plod nasledio od oca. U prvoj trudnoći plod, odnosno novorođenče, obično nema hemoliznu bolest dok u drugoj i svakoj sledećoj zbog anamnestičkog odgovora antitela iz cirkulacije majke prodiru preko posteljice i vežu se za eritrocite ploda [79.].

U fiziološkoj trudnoći nivo bilirubina naglo pada posle 20. nedelje trudnoće, a kod trudnica sa Rh aloimunizacijom raste, kao posledica destrukcije sve većeg broja eritrocita, odnosno hemolize [21-23.].

Do pre nekoliko godina procena težine hemolitičke bolesti fetusa isključivo se procenjivala određivanjem nivoa bilirubina u plodovoj vodi. Liley je poredio vrednosti delta OD 450 sa ishodišta trudnoće kod 101 trudnice sa aloimunizacijom, čime je pokazao da se blaga, srednje teška i teška fetalna anemija mogu odrediti u zavisnosti od toga u koju od tri zone nivoa bilirubina izmerena vrednost pripada. Kasnije studije su pokazale korelacije ovih zona sa koncentracijom fetalnog hemoglobina.

U našoj ispitivanoj grupi urađeno je ukupno 36 amniocenteza kod 36 trudnica. Kod 25% trudnica amniocenteza je rađena više puta. Prema nedeljama gestacije kod 2 pacijentkinje(10%) je rađena između 20-te i 24. nedelje gestacije, kod 3(15%) od 24.-28ng, 7 (35%) od 28-32ng, 8 (40%) u ≥ 32 ng. Kod 5(25%) trudnica amniocenteza je rađena više puta.

Prema našim rezultatima, u grupu A po Liley-u svrstan je 31 (86.11%) fetus, grupu B1 3 (8.33%) i grupi B1/B2 pripadalo je 2 fetusa (5.56%).

Na osnovu amniocenteze u našoj studiji srednje težak oblik anemije je imalo 8.3% fetusa dok je težak oblik anemije imalo 5.56% fetusa. Ostali fetusi nisu imali anemiju, prema rezultatima amniocenteze.

Zbog hemolize fetalnih eritrocita razlažu se pigmenti, oslobađa se bilirubin koji se putem urina i pluća fetusa luči u amnijsku tečnost. Količina bilirubina u plodovoj vodi grubo korelira sa stepenom hemolize, i na taj način indirektno određuje težinu fetalne anemije. Spektrofotometrijska metoda se koristi za kvantifikaciju nivoa bilirubina. Ove vrednosti se unose na dijagram koji je prvi konstruisao Liley 1961. godine. Predviđanje stepena hemolitičke bolesti na osnovu amniocenteze plodove vode prvi je uveo Liley 1961 godine [26., 80.].

Amniocenteza je invazivna metoda koja nosi rizik za nepovoljan ishod trudnoće- spontani porođaj, prevremeni porođaj ili pogoršanje Rh aloimunizacije uzrokujući fetomaternalnu hemoragiju. Iako amniocenteza omogućava određivanje genotipa fetusa u ranoj trudnoći kao i određivanje odnosa sfgingomijelina u kasnijoj trudnoći, njena upotreba u drugom trimestru trudnoće u proceni stepena Rh aloimunizacije je i dalje pod upitnikom [27.].

Amniocenteza u proceni fetalne anemije može da se koristi samo u trudnoćama sa fetalnom eritrocitnom destrukcijom, tako da u trudnoćama kod kojih je anemija uzrokovana nehemolitičkim procesom, kao što su Kell aloimunizacije i fetalna infekcije sa HPV B 19, amniocenteza nema mnogo da ponudi. Prednost amniocenteze je da veoma mali broj merenja daje podatak o stanju ploda i predikciji toka trudnoće, te veoma česta ispitivanja pacijenta nisu potrebna. Međutim prednosti neinvazivnih metoda su veoma jasna i poslednjih godina dijagnostika neinvazivnim procedurama je veoma uznapredovala [81.].

Treba imati u vidu da je amniocenteza skrining test, sa verovatnoćom lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata.

Rezultati naše studije su pokazali da je amniocenteza u proceni fetalne anemije, upoređujući prema vrednostima hematokrita, dobar dijagnostički test. Za senzitivnost (tačno pozitivni), kao sposobnost testa da indentifikuje one koji stvarno imaju bolest, dobijena je vrednost $Se=0,70$. Za Specifičnost (tačno negativni) koja predstavlja sposobnost testa da isključi postojanje bolesti dobijena je $Sp=0,46$. Sveukupna tačnost (dijagnostička tačnost, efikasnost testa) iznosi 57%. Pozitivna prediktivna vrednost (PPV), odnosi se na pacijente kod kojih je test pozitivan je: $PPV=55\%$. Negativna pred-

iktivna vrednost (NPV), odnosi se na pacijente kod kojih je test negativan i iznosi: NPV=61%.

Liley je merio nivo bilirubina u amnionskoj tečnosti od 27. nedelje gestacije, pa nadalje. Korelacija bilirubina amnionske tečnosti sa hematokritom pokazala je ekstrapolaciju podataka, odnosno rezultati su imali ograničenu tačnost u predviđanju anemije pre 27 nedelje gestacije [25.-29.].

Quenan i sar. su predložili alternativni grafikon bilirubina iz amnionske tečnosti za trudnoće od 14.te do 40.te nedelje gestacije, deleći ih u četiri grupe [31., 78., 82.]. Dosadašnja literatura ne pokazuje jasnu prednost ovog grafikona naspram Liley grafikona. Dopunska Whitfieldova akciona linija na Lileyev grafikon omogućava kliničarima da predvide vreme upotrebe fetalne terapije [83.].

U našim rezultatima amniocenteza je pokazala prisustvo anemije kod šest fetusa, od kojih je pet bilo nakon 27. nedelje gestacije.

Amniocenteza je invazivna procedura. Rizik za nepovoljan ishod trudnoće je 0.25-1% po proceduri. Fetomaternalna hemoragija se javlja u 2.3-17% procedura, sa potencijalnim pogoršanjem stepena hemolitičke bolesti [84.- 87.].

Za razliku od amniocenteze koja omogućava indirektnu procenu fetalne anemije, uzorkovanje fetalne krvi, odnosno kordocenteza, ima direktan pristup fetalnoj cirkulaciji i predstavlja zlatni standard dijagnoze fetalne anemije. Serijsko uzorkovanje fetalne krvi će dati tačnu informaciju o potrebi primene in utero transfuzije. Međutim, obzirom da kordocenteza nosi rizik od nepovoljnog ishoda trudnoće 1-2%., ne opravdava njenu upotrebu u ove svrhe. Treba da bude rezervisana za one fetuse kojima je potrebna in utero transfuzija, tako da se u isto vreme uzima uzorak fetalne krvi [88.].

U našoj studiji analizom vrednosti hematokrita ustanovljena je anemija kod 7 fetusa (19%). Anemija se smatrala ako je hematokrit manji od 2 SD od proseka za gestacijsku starost. Vrednosti hematokrita su u pozitivnoj korelaciji na nedeljama gestacije

Uzorkovanje fetalne krvi kordocentezom i direktno merenje koncentracije hemoglobina kod pacijentkinja sa fiziološkim trudnoćama i u trudnoćama sa Rh aloimunizacijom između 17.te i 40.te nedelje gestacije ispitivao je Nicolaidis sa sar. i dobijene rezultate je objavio u Lancetu 1988. godine. Podelio je referentni opseg nor-

malnog fetalnog hemoglobina kod normalnih trudnoća u tri zone, analogno zonama po Liley-u, za određivanje stepena fetalne anemije. Kod normalnih fetusa hemoglobin se povećavao sa gestacijom, najviše da bi održao normalan nivo koncentracije kiseonika i pored smanjenog parcijalnog pritiska kiseonika [89.].

Podaci iz trudnoća sa Rh aloimunizacijom dali su podatke da su fetusi sa hidropom udruženi sa teškim oblikom anemije, što je u skladu sa našim rezultatima. U Rh aloimunizaciji fetus kompenzuje anemiju kod srednjeg stepena anemije hemodinamskim prilagođavanjama [90.].

Kada je deficit Hgb prego 7g /dl funkcionalne rezerve kardiovaskularnog sistema su iscrpljene, javlja se tkivna hipoksija koja je evidentna pojavom eritroblastoze, sistemskom lakticidozom i pojavom fetalnog hidropsa [36., 37.]. Unjihovoj studiji nijedan fetus nije bio sa deficitom Hgb većim od 10 g/dl verovatno zato što je to minimalna količina hemoglobina neophodna da bi fetus preživeo in utero. Patofiziologija koja leži iza ovog oboljenja je fetalna hemoliza i posledična anemija tako da je jedini tačan metod za procenu težine oboljenja uzorkovanje fetalne krvi kordocentezom i određivanje fetalnog hematokrita i hemoglobina [27., 91.]. Prema ovoj studiji, kada je fetalni hemoglobin u okviru 2g/dl u odnosu na normalnu vrednost za gestaciju, uz pozitivan Coombs-ov test, fetus je veoma malo ugrožen i nije potrebna in-utero transfuzija niti indukcija prevremenog porođaja. Međutim, ovakvi fetusi zahtevaju intenzivno praćenje. Fetusi sa hemoglobinskim deficitom većim od 2g/dl zahtevaju primenu fetalne terapije.

U našoj studiji pratili smo pokazatelje stanja ploda pre i nakon svake transfuzije. Kada smo analizirali ukupnu promenu ovih parametara nakon završetka kompletnog tretmana transfuzijama krvi uočeno je poboljšanje u vrednostima hematokrita od dva puta kao i statistički značajno poboljšanje vrednosti MCA PSV.

Upoređivanjem srednjih vrednosti hematokrita (Hct) pre i posle in utero transfuzije (IUT) dobijena je statistički visoko značajna razlika (Wilcoxon Matched Pairs Test $Z=5.232$, $p<0.001$), odnosno povećanje vrednosti Hct.

Nekoliko studija u poslednjih 30 godina bavilo se povezivanjem fetalne anemije sa povećanim arterijskim i venoznim protokom fetale krvi. Kao što je ranije napomenuto, kod eritrocitne aloimunizacije postoji transplacentarni transport antitela koja uzrokuju fetalnu anemiju. Fetus kompenzuje hemodinamskim promenama koje mogu da se evaluiraju dopler sonografijom.

Raniji pokušaji upotrebe sonografskog merenja parametara kao što su uvećanje desne pretkomore, protok u umbilikalnoj veni, abdominalna cirkumferenca i merenje jetre i slezine pokazali su se nepouzdana u predikciji fetalne anemije [92.].

Mari i sar. su predložili da merenje maksimalnog protoka u sistoli u fetalnoj arteriji cerebri mediji (MCA PSV) može da se koristi u proceni stepena fetalne anemije kod Rh aloimunizacije. Cilj antenatalnog praćenja ovih trudnoća je da se na vreme odredi trenutak neophodne primene IUT ili indukcije prevremenog porođaja. Nicolaides i sar. su potvrdili ranije opservacije da se u fetalnoj anemiji javlja hiperdinamična cirkulacija [93.-98., 56., 58.].

Kod normalnih fetusa hemoglobin linearno raste sa gestacijom što se podudara sa našim rezultatima porasta vrednosti hematokrita. Životni vek fetalnih eritrocita kod Rh aloimunizacije je skraćen zato što se eritrociti pokriveni antitelima uništavaju u retikuloendotelnom sistemu. Fetus kompenzuje anemiju sve dok deficit nije veći od 6g/ dl kada se razvija fetalni hidrops. Smatra se da je objašnjenje rasta MCA PSV povećanje viskoznosti krvi u fetalnoj anemiji što posledično stvara hiperdinamičnu cirkulaciju. Predlaže se da dopler merenja ne treba raditi pre 17.te nedelje gestacije zato što je tada nezreo fetalni retikuloendotelni sistem, te ne može doći do destrukcije fetalnih eritrocita i samim tim dopler neće pokazati merodavne rezultate. Takođe fetalni hidrops i FMU se ne javljaju pre ove nedelje gestacije.

U našoj studiji hidrops se javio u 18.oj, 23.oj i 26.oj nedelji gestacije.

Dopler merenja indeksa rezistencije u arteriji uterini, u studiji koja je obuhvatala 95 trudnoća sa Rh aloimunizacijom, pokazala su da dobijene vrednosti ne odstupaju od referentnog opsega te da fetalna anemija ne remeti uteroplacentnu cirkulaciju [98.].

Mi nismo vršili dopler ispitivanje protoka u arteriji uterini smatrajući je, na osnovu ranijih studija, van dometa patofiziologije fetalne anemije.

Rightmire i sar. su u svojoj studiji našli statistički značajnu negativnu korelaciju indeksa rezistencije u umbilikalnoj arteriji (RiAu) sa fetalnom anemijom [93.].

Kao etiologiju korelacije predložili su pojavu destrukcije ćelija endotela uzrokovanaom hipoksemijom i začepljenje placentalnih kapilara velikim fetalnim eritroblastima. Međutim, Warren i sar su zaključili da indeks rezistencije u umbilikalnoj arteriji nije bio van opsega referentnih vrednosti kod pacijentkinja sa Rh aloimunizacijom kod

kojih su bile povišene vrednosti bilirubina u amnionskoj tečnosti [99.]. Slično, u studiji sa 95 trudnica sa Rh aloimunizacijom indeks rezistencije koji je meren odmah nakon kordocenteze nije bio povišen i nije bio povezan sa fetalnom anemijom [98.].

Ovi rezultati su u skladu sa našim rezultatima. U našoj studiji indeks rezistencije u umbilikalnoj arteriji nije bio izvan referentnog opsega kod fetusa koji su imali anemiju.

Upotreba dopler merenja maksimalnog protoka u sistoli u fetalnoj arteriji cerebri mediji je bio jedan od nekoliko otkrića fetalne medicine koja su promenila standarde praćenja trudnoća sa Rh aloimunizacijom. Mari i saradnici su ispitivali protok fetalne krvi nakon transfuzije i primetili su da MCA PSV ima niže vrednosti u odnosu na vrednosti pre transfuzije. Takođe su došli do zaključka da MCA PSV ne dijagnostikuje sve slučajeve fetalne anemije. Naime, kod blagog oblika fetalne anemije protok se ne menja. MCA PSV postaje više tačan kako se stepen anemije povećava. Ali primetili su da kada dođe do veoma ozbiljnog nivoa anemije, kada je Hgb 1-3 g/dl, protok u ACM se više ne povećava. Mari je sproveo multicentričnu studiju u kojoj je meren protok pre kordocenteze kod suspektnih fetusa na anemiju, baziranih na tradicionalnim dijagnostičkim kriterijumima. Ova multicentrična studija je pokazala da je oko 70% sprovedenih invazivnih procedura koje su sprovedene u cilju dijagnostike fetalne anemije nije bilo neophodno, zato što ti fetusi nisu bili anemični ili su bili veoma malo anemični ref. Da je korišćen samo MCA PSV kao kriterijum za intervenciju moglo je da se izbegne 70% invazivnih procedura. Potom je Mari sa sar. sproveo drugu studiju u kojoj su poredili rezultate dobijene invazivnim procedurama sa vrednostima MCA PSV. Studija je uključivala 125 pacijentkinja koje su imale fetuse pod rizikom za anemiju. Detektovali su samo dva slučaja srednje teške i teške anemije. U prvom slučaju poslednje merenje MCA PSV bilo je 3.5 nedelje pre porođaja. Taj fetus je porođen u 35.5 nedelji. Hct je bio 24.4%. Drugi slučaj je pacijentkinja koja je serijski praćena do 35. nedelje, kada je poslednje merenje bilo sprovedeno. Fetus je porođen 3 nedelje posle, Hct je bio 15%. Oba fetusa su primila eksangvinotransfuziju i imala su dobar neonatalni ishod. U istoj studiji rezultati su pokazali da je porođaj bio indukovao nakon 35.te nedelje gestacije kod šest pacijentkinja, zbog visokih vrednosti MCA PSV. Ovi fetusi međutim nisu bili anemični. Zaključak je bio da povišen MCA PSV posle 35.te nedelje gestacije pokazuje lažno pozitivne rezultate. Razlog je, po Mariju, da se u normalnim trudnoćama MCA PSV povećava nakon 35.te nedelje zbog različitog bihevioralnog statusa fetusa u ovom periodu gestacije. Npr. MCA PSV može da bude lažno povećan kada je merenje

sprovedeno u toku fetalnog odmora koji je usledio nakon fetalne aktivnosti [4., 22, 55, 56, 58., 88., 99.].

Oslanjanje na MCA PSV u proceni fetalne anemije predloženo je pre 17 godina u inicijalnoj studiji od strane Mari-ja, u kojoj je izneo normativne vrednosti MCA PSV za svaku gestacijsku nedelju, kao referentne vrednosti u predikciji srednje teškog i teskog oblika fetalne anemije [15., 58-60.].

U studiji Mari-ja i sar., MCA PSV preko 1.5 MoM, kod fetusa koji su pod rizikom za fetalnu anemiju, ima senzitivnost za detekciju anemije 100% (CI: 86-100%) kod Rh aloimunizacije kao i kod drugih stanja koja uzrokuju fetalnu anemiju. Stepenn detekcije lažno pozitivnih je 12%. [58.-60.].

Mari je predložio algoritam praćenja trudnica sa Rh aloimunizacijom koje imaju rizik od pojave fetalne anemije. Npr., ako pacijentkinja u 17.oj nedelji trudnoće ima titar antiD antitela 1:256, i njene prethodne trudnoće nisu bile komplikovane fetalnom anemijom, i rezultati prethodna tri merenje MCA PSV pripadaju desnoj strani grafikona, njeno sledeća kontrola se zakazuje za 4 nedelje. Međutim, ako se vrednosti MCA PSV u levoj strani grafikona i MCA PSV je ispod 1.5 MoM sledeći pregled je za 2-3 dana. Nakon 34. nedelje gestacije, ako se koristi cut off 1,5 MoM, primetili su da se broj lažno pozitivnih povećava. Zato se uzima u razmatranje više merenja, a ne samo jedna vrednost. Pacijentkinje koje su pod rizikom za fetalnu anemiju porađaju između 38. i 39. nedelje gestacije.

Mari je još 1997. godine objavio da je tačnost merenja MCA PSV u dijagnozi fetalne anemije skoro podjednako dobra kao određivanje prema Liley-u. Takođe je tada zaključeno da MCA PSV ima veliku prednost naspram drugih dijagnostičkih procedura, jer je neinvazivan test [99.]. Tačnost MCA PSV je potvrđena od strane Pereira i sar. u retrospektivnoj studiji [100]. Nešto kasnije je objavljeno, u multicentričnoj prospektivnoj studiji, da je MCA PSV bolji dijagnostički test od Liley-a u dijagnozi fetalne anemije sa tačnoscu od 85%. Prema njima tačnost amniocenteze odnosno Liley podele iznosi 76%, a Quinan-ove krive 81% [100., 101.102.].

Ovi podaci su vodili ka prihvaćanju dopler merenja MCA PSV u detekciji fetalne anemije kod Rh aloimunizacije kao primarnog dijagnostičkog alata [14.].

Na osnovu ovih studija Američko udruženje ginekologa i obstetričara je objavilo da je MCA PSV odličan dijagnostički metod u dijagnozi fetalne anemije, u rukama dobro obučanih kliničara [103.].

Naša studija je obuhvatila merenje MCA PSV kod fetusa do 35.te nedelje gestacije. Izrazito težak oblik anemije prema MCA PSV su imala tri fetusa u 22.oj, 24.oj i 27.oj nedelji gestacije, sa vrednostima Hct od 20%, 20% i 10%. Mi smo se pridržavali opšte prihvaćenog algoritma da kada titar antitela dostigne kritičan nivo od 32 IU/ml i preko, Dopler merenje treba da se primenjuje serijski na svake 1-2 nedelje [1., 7., 10., 13., 36., 77., 95., 98., 103.].

U posmatranom uzorku dobijeno je $\chi^2 = 2.964$, $df=1$, $p>0.05$, odnosno ne postoji značajna razlika u postojanju anemije prema MCA PSV u odnosu na prisustvo anemije prema Hct u posmatranom uzorku. Senzitivnost je 83%, specifičnost 40%, pozitivna prediktivna vrednost 56% (performanse testa u odnosu na otkrivanje stvarno pozitivnih vrednosti testa u odnosu na pozitivne vrednosti anemije prema Hct), negativna prediktivna vrednost 71% (mogućnost testa u odnosu na dijagnostikovanje stvarno negativnih odnosno da ukoliko nemaju anemiju prema MCA PSV da nemaju anemiju ni prema Hct).

Za kliničara perinatologa, prilikom antenatalnog praćenja trudnoća sa Rh aloimunizacijom, najvažnije je da proceni vreme kada je potrebno primeniti in-utero transfuziju. Adekvatno tajmiranje je važno zato što svaka procedura IUT nosi rizik za fetalni morbiditet i mortalitet od 1.5-3%. Pravilna evaluacija težine fetalne anemije trebalo bi da omogući kliničaru da izbegne nepotrebne intervencije.

Međutim, i dalje se vodi debata kada je najbolje vreme za primenu naredne transfuzije [103., 104.].

Postoji nekoliko metoda za određivanje kada primeniti prvu, drugu i svaku narednu transfuziju. Neki centri i dalje primenjuju empirijski metod, odnosno kod trudnoća mlađih od 24. nedelje sprovode IUT na svakih 7-10 dana, ili nakon 15 dana za transfuzije nakon druge, ili nakon 21 dan nakon supresije fetalne eritropeze [105., 106.].

Drugi koriste merenje pada fetalnog hemoglobina od 0.4, 0.3 i 0.2 g/dl/ dnevno za izračunavanje intervala između prve, druge i treće transfuzije [1., 107.].

Poznato je da nakon nekoliko IUT pad koncentracije hemoglobina postaje skoro regularan, na nivou oko 1% hematokrita po danu, zbog supresije stvaranja fetalnih eritrocita i prisustva predominantno donorskih adultnih krvnih ćelija [104.].

Međutim, ako se javi fetalni hidrops pad fetalnog hemoglobina je mnogo brži i zahteva kraći period između transfuzija [108.109.].

Na osnovu dosadašnjih studija široko je prihvaćeno mišljenje da je MCA PSV ne samo tačan test za procenu fetalne anemije i procenu vremena za prvu transfuziju, već da je dobar dijagnostički test za određivanje vremena primene naredne transfuzije [110.-112.].

Dosadašnja literatura je potvrdila postojanje korelacije između MCA PSV i fetalnog hemoglobina pre i posle prve in-utero transfuzije [113., 114.]. Najviše je prihvaćen stav da MCA PSV veći od 1.5 MoM predstavlja indicaciju za kordocentezu u cilju određivanja fetalnog hematokrita i odluke o primeni IUT [15., 58., 102.].

Međutim, jasan cut off nivo za MCA PSV za dijagnozu fetalne anemije nakon serijski transfuzija još uvek nije precizno definisan [1., 108.]. Prema nekim studijama tačnost MCA PSV u dijagnozi fetalne anemije se ne menja od prve do poslednje IUT, govoreći u prilog tačnosti MCA PSV u slučajevima kada je neophodno primeniti više IUT [110., 115.]. Suprotno tome, drugi ispitivači su objavili studije koje govore da se tačnost MCA PSV u serijskim transfuzijama smanjuje [113., 114.]. Razlog niske prediktivne vrednosti MCA PSV nakon IUT još uvek nije u potpunosti razjašnjena, ali je povezana sa smanjenom viskoznosti krvi nakon IUT. Ova činjenica se objašnjava izmenom fetalne krvi sa donorskom adultnom krvlju, odnosno eritrocitima, koji u poređenju sa fetalnim eritrocitima imaju smanjenu celularnu rigidnost i povećanu sklonost ka agregaciji [1., 116.].

Nakon nekoliko IUT većina cirkulišućih eritrocita u fetalnoj krvi su donorski eritrociti koji sadrže adultni hemoglobin, koji može da smanji transport kiseonika u fetalna tkiva. To može da poremeti cerebralnu vaskularnu regulaciju i da dovede do porasta MCA PSV [111.]. Takođe, IUT su udružene sa višljim hematokritom, koji posledično povećava sveukupnu viskoznost krvi [106., 112.]. Ovo dovodi do smanjene brzine protoka krvi u fetalnoj cirkulaciji. Tako je pokazano da stopa detekcije MCA PSV sa cut-off vrednosti za anemiju od 1.5 MoM, ne prelazi 64%. [110., 117.].

Obzirom da se pozitivna prediktivna vrednost MCA PSV smanjuje sa svakom narednom IUT, većina autora smatra da je potrebna modifikacija cut-off vrednosti MCA

PSV za detekcije srednje teškog i teškog oblika fetalne anemije. Pored mnogih studija na ovu temu, i dalje se nije došlo do referentnih vrednosti MCA PSV kod IUT. Dok neki autori smatraju da je povećan cut-off za IUT (veći od 1.7 MoM), drugi predlažu upotrebu nižih vrednosti (1.2- 1.3 MoM) MCA PSV, kada se odlučuju za primenu druge i/ ili treće transfuzije [106., 111.].

Još uvek ne postoji jasan stav da li je pouzdano koristiti MCA PSV za određivanje vremena druge, treće i svake naredne transfuzije, i zato su potrebne multicentrične studije, sa većim uzorkom [107., 111.]. Međutim, u literaturi je izneto nekoliko referentnih vrednosti MCA PSV, i zato se smatra da je pristup svakom pacijentu individualan [15., 118.]. Drugi autori predlažu Mari-jev grafikon kao referentni standard, i njegove vrednosti za cut-off kao optimalne za predikciju fetalne anemije [110., 115.].

Prema našim rezultatima MCA PSV i fetalni hematokrit statistički značajno koreliraju pre i posle prve, kao i posle druge IUT. Međutim, pre druge, kao i pre i posle treće IUT, u našoj studiji, nije bilo korelacije između MCA PSV i Hct. Takođe, pre i posle četvrte, i narednih IUT nije bilo statistički značajne korelacije između MCA PSV i Hct. Ovi rezultati se podudaraju sa rezultatima objavljenim u nekim prethodnim studijama da MCA PSV nije u potpunosti pouzdan metod u predikciji fetalne anemije kod fetusa koji su prethodno imali dve ili više transfuzija [101., 102., 114., 115.]. Štaviše, naši rezultati podržavaju mišljenje da je potrebno smanjiti cut-off MCA PSV za tajmiranje naredne transfuzije. Mi predlažemo da se razmotri cut-off nivo od 1.22 MoM za MCA PSV kao referentni nivo za našu populaciju.

Akušeri, hematolozi i neonatolozi slažu se da je optimalno vreme za porođaj Rh(D) aloimunizovane trudnice 37. nedelja gestacije, jer su fetalna pluća tada zrela za ekstrauterin život, a sprečava se i pasivna hemoliza fetalnih eritrocita koja se dešava poslednjih nedelja trudnoće. Najbolji način porođaja je spontano ili indukcijom, pošto carski rez predstavlja traumu za organizam majke a postoji i mogućnost dodatne imunizacije zbog krvavljenja u toku operacije.

U našem uzorku postoji značajna razlika u odnosu na način porođaja ($\chi^2= 4.0$, $p<0.05$) kod pacijentkinja u posmatranom uzorku. Značajno više pacijentkinja, 66%, je sa vaginalnim načinom porođaja, dok se kod 34% pacijentkinja trudnoća završila operativnim putem, odnosno carskim rezom. Deca rođena carskim rezom imala su lošiji Apgar skor. Ovo se može objasniti činjenicom da je većina SC u našem uzorku rađena kao hitni zbog pogoršanja stanja ploda.

Trudnoće su se u proseku završavale u 37 NG (samo su tri završene pre 36 NG). Apgar skorovi na rođenju ispitivane dece iz trudnoća sa Rh senzibilizacijom su prosečno iznosili 6,6. Iako je kod jednog broja dece postojala izražena anemija (minimalni Hgb samo 41), prosečene vrednosti hemoglobina i hematokrita na rođenju u analiziranom uzorku su bile u referentnom opsegu.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata dobijenih ovom studijom izvodimo sledeće zaključke:

1. Dopler sonografija MCA PSV, kao neinvazivna i brza metoda, zauzima značajno mesto u proceni fetalne anemije kod trudnica sa Rh aloimunizacijom
2. Dopler sonografija MCA PSV ima prednost u odnosu na amniocentezu, kao invazivnu metodu, u dijagnostici fetusa sa srednje teškim i teškim oblikom anemije u trudnoćama sa Rh aloimunizacijom
3. Dopler sonografija MCA PSV je dobar dijagnostički test za procenu fetusa kojima je neophodna IUT
4. Dopler sonografija MCA PSV je dobar dijagnostički test za procenu vremena primene prve in-utero transfuzije ali ne i svake naredne
5. Zlatni standard za dijagnozu fetalne anemije je uzorkovanje fetalne krvi kordocentezom, koju je potrebno izvoditi u istom aktu sa in-utero transfuzijom, odnosno samo kod fetusa kod kojih je neophodno primeniti fetalnu terapiju u cilju korekcije anemije
6. Dopler sonografija MCA PSV može da bude prediktivna za Apgar ocenu novorođenčeta, odnosno za perinatalni ishod

7. LITERATURA

1. Abbasi N, Johnson J.-A, Ryan G. Editorial: Fetal anemia. *Ultrasound ObstetGynecol* 2017; 50: 145–153.
2. Landsteiner K, Weiner S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. *Proc SocExpBiol Med* 1940; 43: 223.
3. Levine P, Katzin EM, Burnham L. Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis fetalis. *JAMA* 1941; 116: 825 –827.
4. Rodeck CH, Deans A. Red cell alloimmunisation. In *Fetal Medicine: Basic Science and Clinical Practice*, Rodeck CH, Whittle MJ (eds). Churchill Livingstone: Edinburgh, UK, 1999.
5. Freire-Lizama T, Oepkes D. Management of Kellalloimmunized pregnancies. *Fetal Maternal Med Rev* 2002; 13: 87–102.
6. Brown K, Young N. Parvovirus B19 infection and hematopoiesis. *Blood Rev* 1995; 9: 176–182.
7. Creasy KR, Resnik R, Iams JD. *Creasy & Resnik's maternal-fetal medicine. Principles and Practice*. 7th edition. 2014:558.
8. CvetkovićM, LjubićA. Fetalnaeritroblastoz. *Protokolifeto-maternalne medicine, Institutzaginekologijuiakušerstvo KCS*, 2002; 142-143.
9. Bowman J. Commentary: Thirty-five years of Rh prophylaxis. *Transfusion* 2003; 43:1661-5.
10. Hadley A, Soothill P. Alloimmune disorders of pregnancy: Anaemia, Thrombocytopenia and Neutropenia in the fetus and newborn. Cambridge university press.2005:1-33.
11. Ghesquiere L, Garabedian C, Coulon C. Management of red blood cell alloimmunization in pregnancy. *J GynecolObstet Hum reprod* 2018; doi: 10.1016.
12. Delaney M.: Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus and newborn. *Great expectations:Hematology in pregnancy. Hematology* 2015; :146-151.
13. Šulović V., Plečaš D. Rh faktor u trudnoći. *Med. Knjiga*, 1986.

14. Egbor M, Knott P, Bhide A. Red-cell and platelet alloimmunisation in pregnancy. *Best Pract Res ClinObstetGynaecol* 2012; 26: 119–132.
15. Brennand J, Cameron A. Fetal anemia: diagnosis and management. *Best Practice & Res ClinObstetGynaecol* 2008; 22: 15–29.
16. Daniels G. Human blood groups: introduction, terminology and function. 2nd ed. Blackwell Science, 2002; 1-7.
17. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *ObstetGynecol.* 1997;89:272.
18. Koelewijn JM. Detection and prevention of of pregnancy immunisation - The OPZI study. The Netherlands: University of Amsterdam, 2009.
19. Firan M, Bawdon R, Radu C, et al. The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans. *IntImmunol.* 2001;13:993-1002.
20. FlegelWA, WagnerFF, MüllerTH, GassnerC. Rhphenotype prediction by DNA typing and its application to practice. *Transfus Med* 1998; 8: 281–302.
21. KurjakA isaradnici. *Ginekologijaiperinatologija*, Naprijed, Zagreb, 1989.
22. Moise KJ. Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *SeminHematol* 2005;42(3):169-78.
23. Geifman-Holtzman O, Grotegut CA, Gaughan JP. Diagnostic accuracy of noninvasive fetal Rh genotyping from maternal blood--a meta-analysis. *Am J ObstetGynecol* 2006;195(4):1163-73.
24. Bevis DC. The composition of liquor amnii in haemolytic disease of the newborn. *J ObstetGynaecol Br Emp* 1953; 60: 244 –251.
25. Liley AW. The technique and complications of amniocentesis. *Northwest Med* 1960; 59: 581 –586.
26. Liley AW. Liquor amni analysis in the management of the pregnancy complicated by resus sensitization. *Am J ObstetGynecol* 1961; 82: 1359 –1370.

27. Nicolaides KH, Rodeck CH, Mibashan RS, Kemp JR. Have Liley charts outlived their usefulness? *Am J ObstetGynecol* 1986; 155: 90–94.
28. Ananth, U., Queenan, J.T. (1989). Does midtrimester OD450 of amniotic fluid reflect severity of Rh disease?, *Am. J. Obstet. Gynaecol.*, 161, 47–49.
29. Ananth, U., Warsof, S.L., Coulehan, J., Wolf, P.H., Queenan, J.T. (1986). Midtrimester amniotic fluid optical density at 450 nm in normal pregnancies, *Am. J. Obstet. Gynaecol.*, 155, 664–666.
30. Bevis, D.C. (1956). Blood pigments in haemolytic disease of newborn, *J. Obstet. Gynaecol. Br. Emp.*, 63, 68–75.
31. Queenan, J.T., Tomai, T.P., Ural, S.H., King, J.C. (1993). Deviation in amniotic fluid optical density at a wavelength of 450 nm in Rh-immunised pregnancies from 14 to 40 weeks' gestation: a proposal for clinical management, *Am. J. Obstet. Gynaecol.*, 168, 1370–1376.
32. Whitfield, C.R. (1970). A three year assessment of an action line method of timing intervention in rhesus isoimmunization, *Am. J. Obstet. Gynaecol.*, 108, 1239–1244.
33. Radunovic N, Lockwood CJ, Alvarez M, Plecas D, Chitkara U, Berkowitz RL. The severely anemic and hydropic isoimmune fetus: changes in fetal hematocrit associated with intrauterine death. *Obstet Gynecol.* 1992;79:390-393.
34. Sebring ES, Polesky HF. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurrence, and clinical effects. *Transfusion.* 1990;30: 344-357.
35. Nicolaides KH, Soothill PW, Clewell WH, Rodeck CH, Mibashan RS, Campbell S. Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunisation. *Lancet* 1988; 1: 1073 –1075.
36. Nicolaides KH, Rodeck CH, Millar DS, Mibashan RS. Fetal haemathology in rhesus isoimmunization. *Br Med J* 1985;290:661-63.
37. Soothill PW, Nicolaides KH, Rodeck CH, ClewellWH, Lindridge J. Relationship of fetal hemoglobin and oxygen content to lactate concentration in Rh isoimmunized pregnancies. *Obstetgynecol* 1987;69: 268-70.).
38. PilićŽ., StankovićA. *Ultrazvuk u ginekologiji, Medicinskaknjiga Beograd-Zagreb, 1988.*

39. Woo J.(2002). A short history of the development of ultrasound in obstetrics and gynecology. Preuzeto 07.04. 2009, URL: <http://www.ob-ultrasound.net/history1.html>
40. Donald, I. SONAR - The Story of an experiment. *Ultrasound Med Biol* 1:109-117, 1974.
41. Sunden B. On the diagnostic value of ultrasound in obstetrics and gynaecology. *Acta ObstetGynecolScand* 6:43, 1964.
42. Howry D.H. Development of an ultrasonic diagnostic instrument. *Am J Phys Med* 37:234, 1958.
43. Campbell S. An improved method of fetal cephalometry by ultrasound. *Br J ObstetGynaecol* 75:568-576, 1968.
44. Campbell S, Pearce JM. Ultrasound visualization of congenital malformations. *Br Med J* 39: 322-331, 1986.
45. Campbell S, Wilkin D. Ultrasonic measurement of the fetal abdomen circumference in the estimation of fetal weight. *Br J ObstetGynaecol* 82:687-689, 1975.
46. Radunović N. Atlas ginekološke sonografije, Dečjenovine, Beograd, 1991.
47. Kurjak A isaradnici. *Ultrazvuk u ginekologiji i porodništvu*, zagreb, 2000.
48. Benson CB, Bluth EI. *Ultrasonography in obstetrics and gynecology: A Practical Approach to Clinical Problems*, Thieme, New York, 2008.
49. Johnson MH, Everitt BJ. *Essential reproduction*, Blackwell Science Ltd, London, 2000.
50. Sabbagha RE. *Diagnostic ultrasound applied to Obstetrics and Gynecology*, J.B.Lipincott Co, Philadelphia 1994.
51. Stuart B, Drumm J, FitzGerald DE, et al: Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancies. *Br J ObstetGynaecol* 1980;87:780-785.

52. Trudinger BJ, Giles WB, Cook CM, et al: Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: clinical significance. *Br J ObstetGynaecol*1985;92:23-30.
53. Giles WB, Trudinger BJ, Baird PJ: Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: pathological correlation. *Br J ObstetGynaecol* 1985;92:31-38.
54. Westergaard HB, Langhoff-Roos J, Lingman G, et al: A critical appraisal of the use of umbilical artery Doppler ultrasound in high-risk pregnancies: use of meta-analyses in evidence-based obstetric. *Ultrasound ObstetGynecol* 2001; 17:466-476.
55. Mari G, MoiseKJ Jr, Deter RL, et al: Doppler assessment of the pulsatility index in the cerebral circulation of the human fetus. *Am J ObstetGynecol* 160:698-703, 1989
56. Mari G, Adrignolo A, Abuhamad AZ, et al: Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization. *Ultrasound ObstetGynecol*1995;5:400-405.
57. Wladimiroff JW, Tonge HM, Stewart PA: Doppler ultrasound assessment of the cerebral blood flow in the human fetus. *Br J ObstetGynaecol*1986;93:471-475.
58. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al: Non-invasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med* 2000;342:9-14.
59. Zimmerman R, Carpenter RJ Jr, Durig P, et al: Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: A prospective multicentre trial with intention-to-treat. *BJOG* 2002;109:746- 752.
60. Cosmi E, Mari G, DelleChiaie L, et al: Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia resulting from parvovirus infection. *Am J ObstetGynecol*2002;187:1290-1293.

61. Reed KK, Chaffin DG, Anderson CF, et al: Umbilical venous velocity pulsations are related to atrial contraction pressure waveforms in fetal lambs. *ObstetGynecol* 89:953-956, 1997 .
62. Rizzo G, Arduini D, Romanini C, et al: Doppler echocardiographic assessment of atrioventricular velocity waveforms in normal and small-for-gestational-age fetuses. *Br J ObstetGynaecol* 95:65-69, 1988
63. Hecher K, Campbell S, Snijders R, et al: Reference ranges for fetal venous and atrioventricular blood flow parameters. *Ultrasound ObstetGynecol* 4:381-390, 1994
64. ACOG practice bulletin. Prevention of Rh D alloimmunization. Number 4, May 1999 (replaces educational bulletin Number 147, October 1990): clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. American College of Obstetrics and Gynecology. *Int J Gynaecol Obstet.* 1999;66:63-70.
65. Bowman J. Thirty-five years of Rh prophylaxis. *Transfusion.* 2000;43:1661–6. [PubMed: 14641860]
66. Qureshi H, Massey E, Kirwan D, Davies T, Robson S, White J, et al. British Society for Haematology.BCSH guidelines for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Med.* 2014;24:8–20. [PubMed: 25121158]
67. de Haas M, Finning K, Massey E, Roberts DJ. Anti-D prophylaxis: Past, present and future. *Transfus Med.* 2014;24:1–7. [PubMed: 25121157]
68. Freda VJ, Gorman JG, Pollack W. Successful prevention of experimental Rh sensitization in man with an Anti-Rh Gamma2-Globulin antibody preparation: A preliminary report. *Transfusion* 1964; **77**: 26 –32.
69. Freda VJ, Gorman JG, Pollack W. Suppression of the primary Rh immune response with passive Rh IgG immunoglobulin. *N Engl J Med* 1967; **277**: 1022 – 1023.
70. Freda VJ, Gorman JG, Pollack W, Robertson JG, Jennings ER, Sullivan JF. Prevention of Rh isoimmunization. Progress report of the clinical trial in mothers. *JAMA* 1967; 199: 390 –394.

71. Lulla CP, Merchant RH, Walvekar VR, Shinde MT, Gupte SC. Multiple ultrasound guided intrauterine intravascular transfusion in Rh alloimmunization. *J ObstetGyneacol India*. 1994;44:152–3.

72. Somerset DA, Moore A, Whittle MJ, Martin W, Kilby MD. An audit of outcome of intravascular transfusions using the intrahepatic portion of the fetal umbilical vein compared to cordocentesis. *Fetal DiagnTher*. 2006;21:272–6. [PubMed: 16601337]

73. Gupte SC, Lulla CP, Kulkarni SS, KorgaonkarSA, Walvekar VR, Merchant RH. Experience with intrauterine transfusions for severe Rh alloimmunization in a developing country. *J Matern Fetal Med*. 1998;7:287–91. [PubMed: 9848694]

74. Nicolaides KH, Soothill PW, Rodeck CH, Clewell W. Rh disease: Intravascular fetal blood transfusion by cordocentesis. *Fetal Ther*. 1986;1:85–192.

75. Dodd JM, Andersen C, Dickinson JE, Louise J, Deussen A, Grivell RM, et al. Fetal MCA Doppler to time intrauterine transfusions in red cell alloimmunisation: A randomized trial. *Ultrasound ObstetGynecol* 2017 doi: 10.1002/uog.18807.)

76. Kyeong KS, Won HS, Lee MY, Shim JY, Lee PR, Kim A. Clinical features of 10 fetuses with prenatally diagnosed parvovirus B19 infection and fetal hydrops. *Fetal PediatrPathol*2015;34:49-56)

77. Nacionalnom vodiču dobre kliničke prakse „Transfuzija eritrocita u trudnoći”izdavači Republička stručna komisija za transfuziologiju i Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, 2005. godine

78. British Committee for standards in haematology. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy, 2008. Available from: <http://www.beshguidelines.org>.

79. Clark D, Greiss MA, Urbaniak SJ. A prospective study of routine antenatal enzyme antibody screening demonstrates lack of clinical value in predicting haemolytic disease of the newborn. *Br J Haematol* 1999;106:824-6.

80. Spinnato JA, Clark AL, Ralston KK et al. Hemolytic disease of the fetus: a comparison of the Queenan and extended Liley methods. *ObstetGynecol* 1998; 92: 441–445.

81. Rijnders RJ, Christiaens GC, Bossers B, van der Smagt JJ, van der Schoot CE, de Haas M. Clinical applications of cell free DNA from maternal plasma. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 157–164.

82. Scott F, Chan FY. Assessment of the clinical usefulness of the ‘Queenan’ chart versus the ‘Liley’ chart in predicting severity of rhesus iso-immunization. *PrenatDiagn* 1998; 18: 1143–1148.

83. Whitfield CR, Neely RA & Telford ME. Amniotic fluid analysis in rhesus isoimmunisation. *J ObstetGynaecol Br Commonw* 1968; 75: 121–127.

84. Bowman JM. The management of Rh-isoimmunization. *ObstetGynecol* 1978; 52: 1–16.

Tabor A, Philip J, Madsen M et al. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1(8493): 1287–1293.

85. Bowman JM & Pollock JM. Transplacental fetal hemorrhage after amniocentesis. *ObstetGynecol* 1985; 66: 749–754.

86. Tabor A, Bang J & Norgaard-Pedersen B. Feto-maternal haemorrhage with genetic amniocentesis: results of a randomized trial. *Br J ObstetGynaecol* 1987; 94: 528–534.

87. Tabor A, Philip J, Madsen M et al. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1(8493): 1287–1293.

88. Moise KJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *ObstetGynecol* 2002; 100: 600–611.

89. Soothill PW, Nicolaides KH, Rodeck CH, Campbell S. Effect of gestational age on fetal and intervillous blood gas and acid-base values in human pregnancy. *Fetal ther* 1986, 1:168-75.

90. Rightmire DA, Nicolaides KH, Rodeck CH, Campbell S. Midtrimester fetal blood flow velocities in rhesus isoimmunization relationship to gestational age and to fetal hematocrit in untransfused patient. *Obstetgynecol* 1986; 68:233-36.

91. Nicolaides KH, Fontanarosa M, Gabbe SK, Rodeck CH. Failure of six ultrasonographic parameters to predict the severity of fetal anemia in rhesus isoimmunisation. *Am J ObstetGynecol* 1988; 158: 920-26.)
92. Divakaran TG, Waugh J, Clark TJ, Khan KS, Whittle MJ, Kilby MD. Non-invasive techniques to detect fetal anemia due to red blood cell alloimmunisation: a systematic review. *ObstetGynecol* 2001; 98: 509–517.
93. Rightmire DA, Nicolaides KH, Rodeck CH, Campbell S. Fetal blood velocities in Rh isoimmunization: relationship to gestational age and to fetal hematocrit. *ObstetGynecol* 1986; 68: 233–236.
94. Copel JA, Grannum PA, Belanger K, Green J, Hobbins JC. Pulsed Doppler flow-velocity waveforms before and after intrauterine intravascular transfusion for severe erythroblastosis fetalis. *Am J ObstetGynecol* 1988; 158: 768–774.
95. Nicolaides KH, Bilardo CM, Campbell S. Prediction of fetal anemia by measurement of the mean blood velocity in the fetal aorta. *Am J ObstetGynecol* 1990; 162: 209–212.
96. Vyas S, Nicolaides KH, Campbell S. Doppler examination of the middle cerebral artery in anemic fetuses. *Am J ObstetGynecol* 1990; 162: 1066–1068.
97. Hecher K, Snijders R, Campbell S, Nicolaides KH. Fetal venous, arterial and intracardiac blood flows in red blood cell isoimmunization. *ObstetGynecol* 1995; 85: 122–128.
98. Nicolaides KH, Kaminopetros P. Red-cell isoimmunisation. In Pearce M, ed. *Doppler Ultrasound in Perinatal Medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1992; 244-57.
99. Mari G, Penso C, Sbracia M, et al: Delta OD 450 and Doppler velocity of the middle cerebral artery peak velocity in the evaluation for fetal alloimmune hemolytic disease. Which is the best? *Am J ObstetGynecol* 176:S18, 1997
100. Pereira JC, Jenkins TM, Berghella V: Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by Doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. *Am J ObstetGynecol* 189:1002-1006, 2003

101. Scheier M, Hernandez-Andrade E, Fonseca EB, Nicolaides KH. Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. *Am J ObstetGynecol* 2006; 195: 1550–1556.,15.
102. Oepkes D, Seaward PG, Vandebussche FP, et al: Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *N Engl J Med* 13: 355-364, 2006
103. ACOG Practice Bulletin. Management of alloimmunization during pregnancy. *ObstetGynecol* 75:457-464, 2006
104. Warren PS, Gill RW, Fisher CC. Doppler blood flow studies in rhesus isoimmunization. *SemPerinato* 1987;11: 375-8.
105. Mari G. Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story. *Ultrasound ObstetGynecol* 2005; 25: 323–330.
106. Detti L, Oz U, Guney I, Ferguson JE, Bahado-Singh RO, Mari G; et al. Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. *Am J ObstetGynecol* 2001; 185: 1048–1051.
107. Zwiers C, van Kamp I, Oepkes D, Lopriore E. Intrauterine transfusion and non-invasive treatment options for hemolytic disease of the fetus and newborn - review on current management and outcome. *Expert Rev Hematol* 2017; 10: 337–344.
108. Lobato G, Soncini CS. Fetal hydrops and other variables associated with the fetal hematocrit decrease after the first intrauterine transfusion for red cell alloimmunization. *Fetal DiagnTher* 2008; 24: 349–352.
109. Liley AW. Intrauterine transfusion of fetus in hemolytic disease. *BMJ* 1963;2:1107–1109.
110. Dodd JM, Andersen C, Dickinson JE, Louise J, Deussen A, Grivell RM, et al. Fetal MCA Doppler to time intrauterine transfusions in red cell alloimmunisation: A randomized trial. *Ultrasound ObstetGynecol* 2017 doi: 10.1002/uog.18807.
111. Engel K, Kwiatek M, Klosowska M, Bilar M, Konefal H, Orzinska A, et al. Estimation of diagnostic value of the middle cerebral artery peak systolic velocity in

prediction of fetal anemia in pregnancies complicated by alloimmunisation. *Ginekol Pol* 2009; 80: 740–743.

112. Mari G, Zimmermann R, Moise KJ Jr, Deter RL. Correlation between middle cerebral artery peak systolic velocity and fetal hemoglobin after 2 previous intrauterine transfusions. *Am J ObstetGynecol* 2005; 193: 1117–1120.

113. Garabedian C, Vaast P, Behal H, Coulon C, Duahamel A, Thomas D, et al. Management of severe fetal anemia by Doppler measurement of middle cerebral artery: are there other benefits than reducing invasive procedures? *Euro J ObstetGynecolReprodBiol* 2015; 192: 27–30.

114. Friszer S, Maisonneuve E, Mace G, Castaigne V, Cortey A, Mailloux A, et al. Determination of optimal timing of serial in-utero transfusions in red-cell alloimmunization. *Ultrasound ObstetGynecol* 2015; 46: 600–605.

Spisak skraćenica

AC- amniocenteza

Ag- antitelo

BPD- biparijetalni dijametar

BMI- body mass index

CC- kordocenteza

cffDNA- vanćelijska fetalna DNK

EST- eksangvinotransfuzija

FL- dužina femura

FMU- fetus mortus in utero

GDM- gestacijski diabetes mellitus

Hct- hematokrit

HC- obim glavice

HDFN- hemolitička bolest fetusa i novorođenčeta

Hgb- hemoglobin

HF- hydrops fetalis

HTA- arterijska hipertenzija

Ig- imunoglobulin

IUGR- intrauterusni zastoj u rastu ploda

IUT- intrauterusna transfuzija

KGA- Klinika za ginekologiju i akušerstvo

KCS- Klinički centar Srbije

L-S- lecitin sfingomijelin

MCA- srednja moždana arterija

MoM- multiples of the median

MVP- maksimalni vertikalni džep

NG- nedelja gestacije

PSV- maksimalni protok u sistoli

Rh- Rhesus

RiAu- Indeks rezistencije umbilikalne arterije

ROC- Receiver operator curve

SC- sectio caesarea

SD- standradna devijacija

TM- telesna masa

vag- vaginalni

BIOGRAFIJA AUTORA

Mirjana Marjanović Cvjetićanin rođena je 21.02.1978. godine u Beogradu. Završila je Prvu beogradsku gimnaziju u Beogradu 1996. godine. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu završila je 2002. godine. Nakon obavljenog obaveznog lekarskog staža i staža kliničkog lekara, 2006.godine započela je specijalizaciju iz ginekologije i akušerstva na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije. Specijalistički ispit položila je sa odličnom ocenom 14.01.2011. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Magistarski rad na temu “ Klinički značaj sonografskih osobina žumančane kese u prvom trimestru trudnoće posle vantelesne oplodnje” odbranila je 2010. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, pod mentorstvom Akademika Profesora Nebojše Radunovića.

Od septembra 2010. godine zaposlena je u stalnom radnom odnosu na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije.

Usavršavala se u brojnim školama za ultrazvuk u fetalnoj medicini u zemlji i inostranstvu. U aprilu 2014. godine primljena je na usavršavanje u sklopu “Observership” programa iz fetalne medicine, u Londonu, u bolnici King’s College Hospital i Fetal Medicine Center, pod mentorstvom Profesora Kyprosa Nicolaidesa. Imala je učešće kao predavač i na posterskim sesijama na domaćim i svetskim kongresima.

Član je Srpskog lekarskog društva, Međunarodnog udruženja za ultrazvuk u ginekologiji i akušerstvu (ISUOG) i Fondacije za fetalnu medicinu (FMF, London, Velika Britanija).

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a dr Mirjana Marjanović Cvjetičanin

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**ZNAČAJ DOPLER EHOSONOGRAFIJE U PROCENI STEPENA FETALNE ANEMIJE
U TRUDNOĆAMA SA RH ALOIMUNIZACIJOM**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.06.2018.

M. Marjanović Cvjetičanin

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Mirjana Marjanović Cvjetićanin

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada ZNAČAJ DOPLER EHOSONOGRFIJE U PROCENI STEPENA
FETALNE ANEMIJE U TRUDNOĆAMA SA RH ALOIMUNIZACIJOM

Mentor Prof. dr Snežana Plešinac

Potpisani dr Mirjana Marjanović Cvjetićanin

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.06.2018.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

ZNAČAJ DOPLER EHOSONOGRAFIJE U PROCENI STEPENA FETALNE ANEMIJE U TRUDNOĆAMA SA RH ALOIMUNIZACIJOM

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.06.2018.

