



UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
STUDIJE KLINIČKE MEDICINE

**ANALIZA PROBLEMA
VIŠEPLODNIH TRUDNOĆA
NASTALIH VANTELESNOM
OPLODNJOM**
DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof. dr Artur Bjelica

Kandidat: Asistent dr Đorđe Ilić

Novi Sad, 17. 09. 2014 godine

UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Đorđe Ilić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Artur Bjelica
Naslov rada: NR	Analiza problema višeplodnih trudnoća nastalih vantelesnom oplodnjom
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina, Novi Sad
Godina: GO	2014 .
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Medicinski fakultet Novi Sad Hajduk Veljkova 3, Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(8 poglavlja / 179 stranica / 7 slika / 25 tabela / 23 grafikona / 173 referenci)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Klinička medicina, Ginekologija i akušerstvo
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Vantelesna oplodnja, IVF, ICSI, Višeplodne trudnoće, Blizanačke trudnoće, Troploidne trudnoće, Višeplodne trudnoće iz postupka VTO, Trudnoće iz postupaka VTO, Perinatalni ishod, Prevremeni porođaj, Hipertenzivni sindrom u trudnoći, Gestacijski dijabetes, Single embryo transfer – SET, Double embryo transfer – DET, Fetalna redukcija, Nadzor postupaka vantelesne oplodnje, Legislativa postupaka vantelesne oplodnje, Finansiranje postupaka vantelesne oplodnje.
UDK	618.25:618.177-089.888.11
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p>Uvod: Višeplodne trudnoće se javljaju u 1,5% svih trudnoća nakon spontane koncepcije, dok nakon postupaka vantelesne oplodnje ovaj postotak u Evropi iznosi preko 20% uz velike varijacije među zemljama. U našoj sredini, stopa višeplodnih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje iznosi daleko iznad 30%. Pojava hipertenzivnog sindroma u trudnoći, gestacijskog dijabetesa, operativnog završavanja trudnoće, prevremenog porođaja, male porođajne telesne mase, neuroloških sekvela kod rođene dece i gotovo svih drugih komplikacija po majku i plod, kao i celokupno opterećenje zdravstvenog sistema višestruko su veći kod višeplodnih u odnosu na jednoplodne trudnoće i udeo navednih komplikacija raste sa brojem plodova. Sa druge strane deca iz postupaka vantelesne oplodnje čine i do 4,5% sve živorodene dece u pojedinim zemljama, što uz činjenicu da infertilitet pogađa 16-18% parova u našoj sredini daje ovoj pojavi posebnu dimenziju i čini je i društvenim problemom. Perinatalni ishodi trudnoća iz postupaka vantelesne oplodnje su u velikoj meri kompromitovani visokom stopom multiplih trudnoća, koje se danas smatraju komplikacijom, a ne uspehom postupaka vantelesne oplodnje. Jednoplodne trudnoće iz postupaka vantelesne oplodnje u većim studijama pokazuju diskretno slabije perinatalne ishode u odnosu na one spontano začete, dok kod višeplodnih trudnoća ova korelacija nije jasno izražena i dokumentovana, uz prisutnu dilemu da li je višeplodnost sama po sebi ili način koncepcije glavni problem u zapaženoj pojavi.</p>

Cilj rada: Uporediti perinatalne ishode višeplodnih trudnoća nastalih postupcima vantelesne oplodnje i spontano začetih kao i perinatalne ishode jednoplodnih i višeplodnih trudnoća iz postupaka vantelesne oplodnje. Pored navdenog cilj rada je i ukazati sveobuhvatnost navedenog problema i na moguća rešenja za smanjenje njihove učestalosti.

Materijal i metode: Kombinacijom retrospektivne opservacione studije i prospективne longitudinalne kohortne studije u periodu analizom perinatalnih ishoda pacijentkinja porodenih na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine u periodu od 01.01.2008. do 31.12.2011. godine, studija je analizirala i poredila perinatalne ishode kod 174 spontano začete višeplodne trudnoće, 163 višeplodne trudnoće nastale postupkom vantelesne oplodnje, kao i 155 jednoplodnih trudnoća začete postupkom vantelesne oplodnje. Analizirani parametri bili su telesna masa novorođenčeta, dostignuta gestacijska starost, vrednosti Apgar skora, učestalost hipertenzivnog sindroma kod majke i brojni drugi parametri perinatalnog ishoda. Uzeti od strane obučenih kliničara i unošeni u posebno dizajniranu bazu podataka, rezultati su statistički analizirani u program JMP ver 9.0 (SAS publisher) uz korišćenje ANOVA analize za testiranje statističke značajnosti između srednjih vrednosti kontinuiranih varijabli, dok je statistička značajnost razlike učestalosti kategorijskih varijabli je određivana Pearsonovim χ^2 testom.

Rezultati: Jednoplodne ART trudnoće uz prosečnu starost od 33,5 godine, prosečnu gestacijsku starost na porođaju od 38,26 gn, udeo prevremenih porođaja od 12,9%, prosečnu telesnu masu od 3258 g, AS u prvom minutu od 8,35 i u petom minutu od 9,2, stopu carskog reza od 65,81%, udeo GDM-a od 7,1%, anemije od 41,94% i preeklampsije od 4,52%, ima sve relevantne parametre perinatalnog ishoda statistički značajno ($p<0.0001$) superiornije od kako ART tako i non ART blizanačkih trudnoća. ART blizanačke trudnoće pokazale su prosečnu starost majke od 32,9 godina, prosečnu gestacijsku starost na porođaju od 35,6 gn, udeo prevremenih porođaja od 58,27 %, prosečnu telesnu masu od 2374 g, AS u prvom minutu od 7,45 i u petom minutu od 8,65, stopu carskog reza od 83,7%, udeo GDM-a od 15,11%, anemije od 78,42 % i preeklampsije od 12,23%, dok su non ART blizanačke trudnoće pokazale prosečnu starost majke od 28,8 godina, prosečnu gestacijsku starost na porođaju od 36,08 gn, udeo prevremenih porođaja od 49,71 %, prosečnu telesnu masu od 2433 g, AS u prvom minutu od 7,75 i u petom minutu od 8,75, stopu carskog reza od 58,33%, udeo GDM-a od 7,02 %, anemije od 67,84 % i preeklampsije od 11,11%. Pored godina majke i udela carskog reza koji su bili viši u ART blizanačkim trudnoćama (<0.0001), kao i blago veće pojavi poremećaja količine plodove vode ($p=0,033$), gotovo svi ostali pokazatelji toka i ishoda trudnoće bili su komparabilni u navedenim grupama.

Diskusija i zaključak: Studija je pokazala da su tok i ishod višeplodnih trudnoća nastalih spontano i postupcima vantelesne oplodnje ekvivalentni u gotovo svim pokazateljima uz sličnu prosečnu telesnu masu i gestacijsku starost novorođenčade, kao i da su svi navedeni parametri ovih višeplodnih trudnoća bez obzira na način koncepcije upadljivo i podjednako lošiji u poređenju sa jednoplodnim trudnoćama iz postupka vantelesne oplodnje. Izuzimajući višeplodnost kao faktor rizika deca iz postupaka vantelesne oplodnje su generalno zdrava. Sama višeplodnost, a ne način koncepcije predstavljaju problem, koje se sa pravom smatra najvećom komplikacijom vantelesne oplodnje. Dodatna analiza iskustava drugih zdravstvenih sistema ukazuje da jedino široka i sveobuhvatna

implementacija strategije vraćanja samo jednog embriona (Single embryo transfer – SET) može da dovede do smanjivanje stope multiplih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje, i sledstvenih komplikacija, a bez ugrožavanja samog uspeha vantelesne oplodnje. Iskustva drugih zdravstvenih sistema ukazuju da je uspešna implementacija SET-a jedino moguća uz angažovanje celog društva, zajedno sa brojnim legislativnim meraima iz domena nadzora, kontrole i finansiranja postupaka vantelesne oplodnje. Obim i način finansiranja postupaka vantelesne oplodnje od strane države (uz više besplatnih pokušaja za infertilne parove) uz obaveznu upotrebu SET-a, i sistema krioprezervacije na osnovu primera iz prakse predstavlja ključ u borbi za smanjenje problema višeplodnih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje.

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	23.12.2009.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

University of Novi Sad
ACIMSI
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph. D. Thesis
Author: AU	Đorđe Ilić
Mentor: MN	Prof. dr Artur Bjelica
Title: TI	Problem analysis of multiple pregnancies conceived by in vitro fertilization
Language of text: LT	Serbian (Roman)
Language of abstract: LA	english / serbian
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina, Novi Sad
Publication year: PY	2014
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Medicine, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Serbia

Physical description: PD	(8 chapters / 179 pages / 25 tables / 23 graphs / 7 pictures / 173 references)
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Clinical medicine, Obstetrics and Gynaecology
Subject, Key words SKW	In vitro fertilization, IVF, ICSI, Multiple pregnancies, Twin pregnancies, Triplet pregnancies, Multiple pregnancy after assisted reproduction, Perinatal outcome, Preterm delivery, Hypertensive syndrome in pregnancy, Gestational diabetes, Single embryo transfer - SET, Double embryo transfer - DET, Fetal reduction, Monitoring of assisted reproduction, Legislation of assisted reproduction, Reimbursement of assisted reproduction.
UC	618.25:618.177-089.888.11
Holding data: HD	Library of Medical faculty Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad
Note: N	
Abstract: AB	
<p>Introduction: Multiple pregnancies occur in 1.5% of all pregnancies after spontaneous conception and in more than 20 % of all pregnancies concieved after assisted reproductive technologies in Europe, with large variations between countries. In our setting, the rate of multiple pregnancies after the ART is well above 30%. The occurrence of hypertensive syndrome in pregnancy, gestational diabetes, operative delivery, premature birth, low birth weight, neurological and developmental impairment in children, and almost all the other complications for the mother and fetus, as well as the entire burden of the health system are several times higher in multiple pregnancies compared with singleton pregnancies. Incidence of forementioned complications rises with number of fetuses. On the other hand, children from in vitro fertilization procedures make up 4.5% of all live births in some countries, which together with the fact that infertility affects approximately 16-18% of couples in our country gives an extra dimension to this phenomenon and makes it not just medical but wider social problem. Perinatal outcomes of pregnancies after assisted reproductive technologies (ART) are greatly compromised by the high rate of multiple pregnancies, which are now considered to be a complication rather than success of ART procedures. ART Singleton pregnancies have, in larger studies, show discretely lower perinatal outcomes compared with those conceived spontaneously, while for the multiple pregnancies, this correlation is not clearly expressed and documented. There remains dilemma whether multiplicity itself or the way of conception (ART vs. non ART) constitutes a major problem in the observed differences</p>	

regarding perinatal outcome of ART pregnancies. Objective: To compare the perinatal outcomes of multiple pregnancies conceived by In vitro fertilization (IVF) and spontaneously and perinatal outcomes of IVF conceived singleton and multiple pregnancies. Additional aim of this thesis is to point out the complexity of this problem and offer possible solutions.

Materials and Methods: Design of a study was a combination of retrospective and prospective observational longitudinal cohort study. Analysis included pregnancies which had delivery at the Department of Gynecology and Obstetrics, Clinical Center of Vojvodina in the period from 1.01.2008. to 31.12.2010. The study analyzed and compared the perinatal outcomes in 174 spontaneous conceived multiple pregnancies, 163 multiple pregnancies resulting from IVF procedures, and 155 singleton pregnancies conceived by IVF procedure. Analyzed parameters were newborns birth weight, gestational age at delivery, the value of the Apgar score, occurrence of hypertensive syndrome in pregnancy, gestational diabetes, as well as numerous parameters of perinatal outcome. Taken by trained clinicians and were entered into a specially designed database, the results were statistically analyzed in JMP ver 9.0 software (SAS publisher) using ANOVA analysis to test the statistical significance between the mean values of continuous variables, while the statistical significance of the difference in frequency of categorical variables was assessed by Pearson's χ^2 test.

Results: ART singleton pregnancies had an average mothers age of 33.5 years, the average gestational age at birth of 38.26 gestational weeks (gw), preterm delivery rate of 12.9%, average birth weight 3258 g, Apgar score (AS) in the first minute 8.35, and in the fifth minute 9.2, cesarean section rate 65.81%, Gestational diabetes (GDM) in 7.1% pregnancies, anemia occurred in 41.94% of pregnancies, while preeclampsia was observed in 4.52% of all pregnancies. All relevant parameters of perinatal outcome were significantly ($p < 0.0001$) superior to both ART and non-ART twin pregnancies. ART twin pregnancy showed the average mothers age of 32.9 years, the average gestational age at birth of 35.6 gw, the preterm delivery rate 58.27%, the average body weight newborns 2374 g, AS in the first minute of 7.45, and in the fifth minute of 8.65, the cesarean section rate of 83.7%, GDM in 15.11% of all pregnancies, anemia occurred in 78.42% and preeclampsia in 12.23% of pregnancies, while the non-ART twin pregnancy showed an average mothers age of 28.8 years, the average gestational age at birth of 36.08 gw, the preterm delivery rate of 49.71%, the average body weight of 2433 g, AS in the first minute of 7.75 in the fifth minute 8.75, the caesarian section rate of 58.33%, GDM-a occurred in 7.02%, anemia in 67.84% and preeclampsia in 11.11% of pregnancies. Except for maternal age and the caesarean section rate, which were significantly higher in ART twin pregnancies ($p < 0.0001$), as well as small increase in proportion of amniotic fluid volume disorders ($p = 0.033$), almost all other parameters of perinatal outcome of were comparable in these groups.

Discussion and Conclusion: The study showed that the course and outcome of multiple pregnancies conceived spontaneous and after IVF procedures are equivalent in almost all parameters with similar average body weight and gestational age at birth, and that all these parameters of multiple pregnancies regardless of the conception mode are equally worse compared with singleton pregnancies from IVF procedures. With the exception of multiplicity as a risk factor children from in vitro fertilization procedures are generally healthy. Multiplicity itself and not the mode of conception presented a problem, which is rightly considered the major complication of IVF today. Additional analysis of the

experiences of other health system indicates that only a broad and comprehensive implementation of strategy to return only one embryo (SET – single embryo transfer) can lead to a reduction of the rate of multiple pregnancies after IVF procedures, and the accompanying complications, without compromising IVF success. The experience of other health systems indicate that a successful implementation of SET is only possible with the involvement of the whole society, along with a number of legislative measures in the field of monitoring, control and reimbursement of assisted reproduction procedures. The scope and funding of an IVF procedures (with more free attempts for infertile couples, reimbursed by public health) with mandatory use of SET, and good cryopreservation programs are, based on examples in other countries who had successfully dealt with his problem, is the key in reducing the problem of multiple pregnancies after IVF procedures.

Accepted on Scientific Board on: AS	23.12.2009.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member:

Sadržaj

1.	Uvod.....	1
1.1.	Pojam infertilite i asistiranih reproduktivnih tehnologija.....	4
1.2.	Obim medicinski asistirane reprodukcije.....	7
1.3.	Višeplodne trudnoće - osnovni pojmovi	11
1.4.	Epidemiologija višeplodnih trudnoća.....	13
1.5.	Uticaj godina majke na povećanje stope multiplih trudnoća	16
1.6.	Uticaj tretmana infertilite na stopu multiplih trudnoća	17
1.7.	Problem višeplodnih trudnoća.....	21
1.7.1.	Komplikacije po majku – maternalne komplikacije u višeplodnim trudnoćama	25
1.7.2.	Komplikacije od strane fetusa.....	29
1.7.3.	Fetalna redukcija.....	33
1.7.4.	Psihosocijalne konsekvene – rizici višeplodnih trudnoća	34
1.7.5.	Komplikacije po zdravstveni sistem i ekonomske komplikacije.....	36
1.7.6.	Komplikacije po postulate savremene kliničke prakse	38
1.8.	Perinatalni ishod asistiranih reprodiktivnih tehnologija	39
1.8.1.	Perinatalni ishodi ART i non ART jednoplodnih trudnoća.....	41
1.8.2.	Perinatalni ishodi ART i non ART višeplodnih trudnoća.....	42
1.9.	Mere za smanjenje stope blizanačkih trudnoća u Evropi	45
1.10.	Društvena i naučna opravdanost istraživanja	53
2.	Ciljevi istraživanja sa naglaskom na rezultate koji se očekuju	55
3.	Hipoteze koje proizilaze iz ciljeva istraživanja	56
4.	Materijal i metode	57
4.1.	Način izbora i konstrukcija uzorka	62
4.2.	Metodologija rada.....	64
4.3.	Statistička obrada podataka	72
5.	Rezultati	75
6.	Diskusija	110
6.1.	Analiza dobijenih rezultata	114
6.2.	O ishodu dece iz postupaka VTO u drugim studijama.	131
6.3.	Zašto je perinatalni rast i razvoj dece u ART trudnoćama VTO kompromitovan.....	132
6.4.	Komparabilni rezultati o perinatalnom ishodu ART i non ART blizanaca	134

6.5.	Sindrom nestajućeg blizanca (“Vanishing twin” fenomen – VT)	136
6.6.	Studije koje su direktno poredile perinatalne ishode ART i non ART blizanaca.....	137
6.7.	Kako uspešno smanjiti učestalost multiplih trudnoća nakon postupaka VTO	139
6.8.	Razlike u prihvatanju SET-a	144
6.9.	Stavovi i optimalan izbor pacijenata.....	145
6.10.	Embriološki aspekti primene SETa	147
6.11.	Monitoring, kontrola i modeli finansiranja	148
6.12.	Modeli finansiranja vantelesne oplodnje	153
6.13.	Pozitivni legislativne implementacije SET-a	158
6.14.	Preporuke koje proističu iz studije	162
7.	Zaključak.....	166
8.	Literatura	169

1. Uvod

Prošlo je više od 35 godina od kako su Patrick Steptoe i Robert Edwards 25.VII 1978. godine objavili vest o rođenju prve bebe iz postupka vantelesne oplodnje (1). Navedeni datum se sa pravom smatra kamenom temeljcem i početkom ere asistiranih reproduktivnih tehnologija, i predstavlja prekretnicu u vekovnoj borbi medicine i čovečanstva sa problemom infertiliteta, ere koja je donela nadu i utehu mnogim parovima koji se suočavaju sa nemogućnošću da ostvare jedno od osnovnih ljudskih prava i potreba – pravo na roditeljstvo.

Slika 1. Louisa Brown, preuzeto iz ivf world wide (2)



Louisa Brown je dolaskom na svet zatvorila trnovito poglavlje početka vantelesne oplodnje. Ovom dogadaju prethodile su višedecenijske borbe sa ovladavanjem osnovnim zakonitosima ljudske reprodukcije, pomeranja granica stručne i naučne spoznaje, a sve u cilju pomoći infertilnom paru. Pored Steptoa i Edwardsa imena naučnika, poput John Rock, Chang, Palmer, Georgeanna i Howarda Jones, Carl Wood, John Leeton-a i brojnih drugih, sa pravom su se upisali u istoriju reproduktivne fiziologije i reproduktivne medicine. Oni su utkali svoja

dostignuća u same fundamente ove oblasti čineći mogućim san o in vitro fertilizaciji, a čija su dostignuća ponekad nepravedno ostala skrajnuta u svakodnevnim zapažanjima istorijata i početaka vantelesne oplodnje (3).

Slika 1. 1997. Bourn Hall skup, preuzeto iz Cohen i sar. 2005 (4)



Trnovitost početaka asistiranih reproduktivnih tehnologija nije se ogledala samo u izrazito malim šansama za uspeh prvih pokušaja, огромном upornošću i entuzijazmom ljudi uključenih u sam process, već su od svog uvođenja u savremenu medicinsku praksu, vantelesna oplodnja, kao i njeni rodonačelnici, postali predmet brojnih osporavanja i kontroverzi, čak i od strane eminentnih naučnih krugova. Tek nakon tri decenije stiglo je zasluženo priznanje, Nobelova nagrada (5).

Koliko god je uvođenje vantelesne oplodnje i asistiranih reproduktivnih tehnologija delovalo kontraverzno i revolucionarno, tek je njen dalji ekspanzivni razvoj kako u smislu obima, uspešnosti, tako i u smislu palete procedura i uticaja istih na savremenu medicinsku praksu i društvo u celini, otvorio brojna pitanja, brojne kontraverze, brojne izazove, ljudske i kliničke dileme na koje uprkos ogromnim naporima ni dan danas stručna, naučna i šira društvena javnost nisu u stanju da daju adekvatne odgovore (3).

Jedno od njih, a možda i najznačajnije pitanje iz ugla svakodnevne kliničke prakse, pre svega iz ugla perinatologije kao nauke, svakako je pitanje višeplodnih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje. Ovo pitanje predstavlja paradigmu uticaja vantelesne oplodnje na savremenu medicinu i društvo u celini. U njegovoј analizi se prepiće i pokazuje sva kompleksnost jednog medicinskog pitanja u današnjem društvu.

Još u uvodnim napomenama neophodno je definisati pojam višeplodnih trudnoća kao komplikaciju i ključni problem, a ne uspeh procedura vantelesne oplodnje iako prvi i logičan zaključak , kao i percepcija šire javnosti baš tako doživljava navedenu pojavu. Nasuprot tome, višeplodne trudnoće nose brojne rizike po majku, dete i zdravstveni sistem u celosti (6) i dalji tok rada predviđa elaboraciju i stručno i naučno objašnjenje navedene premise.

Briga za potomstvo predstavlja instiktivnu i nasušnu potrebu čovečanstva i stoga je pored reproduktivne medicine kao osnovne oblasti u borbi sa problemom infertiliteta savremena perinatologija kao neotuđivi deo ove borbe zauzela svoje ključno mesto u borbi za ostvarivanje zadatog cilja – rađanju zdravog potomstva.

Perinatologija danas pomera granice u svim aspektima svoje prakse kako bi opravdala poverenje, svoju ulogu i privilegiju boravka na “izvoru života” koju joj je medicina dodelila.

Velika privilegija i odgovornost koju svi učesnici zdravstvene delatnosti imaju u ispunjenju ove plemenite uloge tera sve aktere da konstatno preispituju postojeće i postavljaju nove granice i domete stručnih i naučnih dostignuća i mogućnosti kako bi podigli kvalitet brige o ženi u trudnoći i nerođenom detetu, i učinili ovaj ranjivi period života što bezbednijim (7).

Tako se iz godine u godinu pomera granica vijabilnosti fetusa i borbe za njegov život koja danas po koncenzusu brojnih stručnjaka iznosi svega 20 gestacijskih nedelja za živorodenje, starost, koja je do pre par godina ili decenija delovala nestvarno (6). Takođe brojna dijagnostička i terapijska dostaignuća iz oblasti fetalne medicine, maternalne medicine i neonatologije doprinose ispunjenju prethodno zadatog cilja, uz konstantno pomeranje granica, postavljanja novih izazova, ali uz obavezno doživljavanje sve kompleksnosti i multidisciplinarnosti koju sa sobom nosi trnovit dolazak do potomstva.

1.1. Pojam infertiliteta i asistiranih reproduktivnih tehnologija

Pojam infertiliteta se definiše kao nemogućnost ostvarivanja trudnoće ni nakon godinu dana seksualnih odnosa, bez korišćenja metoda kontracepcije (8). Životna prevalence infertiliteta, po populacionim studijama iz određenih Evropskih zemalja, iznosi od 17-26% parova reproduktivnog doba, od kojih 56% zatraži tretman infertiliteta u odgovarajućoj zdravstvenoj ustanovi (9). Ovo nesumnjivo čini pojam infertiliteta ne samo medicinskim, već i psihosocijalnim i društvenim problemom širih razmera čije rešavanje zahteva takođe angažovanje svih aktera društva. Dodatne procene su da se sa ovim problemom suočava 10-15% parova reproduktivnog doba širom sveta, dok u našoj sredini udeo parova reproduktivnog

doba sa problemom infertilite i neophodnošću medicinskog tretmana ide i do 16-18% (10) uz primećen trend rasta. Uzevši u obzir da u našoj sredini na jednu ženu reproduktivnog doba dolazi svega 0,88 živorodene dece uz druge zabeležene negativne demografske parametre termin "bela kuga" predstavlja blagi izraz za loše stanje u društvu i nameće daleko ozbiljniji pristup svim aspektima njegovog rešavanja (11).

Prosečna stopa uspeha jednog ciklusa asistiranih reproduktivnih tehnologija (iako je pojam uspeha sam po sebi diskutabilan i predstavlja kontraverzno pitanje) danas iznosi oko 30 % (12) i nesumnjivo prelazi šansu za ostvarivanje trudnoće spontanom koncepcijom u najboljem mogućem slučaju. Poređenja radi sami počeci vantelesne oplodnje obeležile su stope uspeha od svega 0,5-1% ukazujući na veliki napredak u ovoj oblasti (3).

Prethodne decenije obeležene su ekspanzivnim rastom procedura iz oblasti biomedicinski potpomognutog oplođenja odnosno medicinski asistirane reprodukcije (MAR), kako u smislu raznovrsnosti i kompleksnosti procedura, tako i obima MAR i njegovog uticaja na čovečanstvo.

Legislativne mere koje bi bliže odredile i regulisale ovu oblast medicine, kao i u drugim oblastima ljudskog delovanja, uglavnom su kasnile za razvojem nauke i struke, ali su obzirom na kompleksnost, kontraverznost i interesovanje, koje ova oblast izaziva, blagovremeno shvaćene kao bitan činilac u daljem razvoju MAR (13). One od samog početka pokušavaju da ponude rešenja za nebrojena pitanja koja okružuju medicinski asistiranu reprodukciju, a koja prevazilaze okvire isključivo medicinskog pitanja, zadirući daleko dublje u osnovnu postavku jednog društva. Tako je davne 1984. godine Vlada Velike Britanije donela Infertility (Medical Procedures) Act, prvi zvanični legislativni dokument koji bliže reguliše oblast in vitro

fertilizacije (IVF) i ispitivanje na ljudskim embrionima (2, 14). Naša zemlja je, sa velikim zakašnjenjem, tek 2009. godine donela zakon o biomedicinski potpomognutom oplođenju.

Potenciranje ovog pitanja nije slučajno, pošto iz njega proističe i mogućnost i spremnost jednog društva i zdravstvenog sistema, da se kvalitetno uhvati u koštač sa ovim problemom. Time će najbolje odgovoriti na izazove koje problem infertiliteta nosi, a u prvom redu da na adekvatan način pristupi bezbednoj borbi sa njim. Ta borba se ogleda pre svega u odnosu prema problemu višeplodnih trudnoća.

Opisani ekspanzivan razvoj procedura iz domena medicinski asistirane reprodukcije podrazumevao je, kako implementaciju novih naučnih i tehnoloških dostignuća u oblast ljudske reprodukcije, tako i uvođenje novih metoda lečenja, koja pored medicinskih, moraju da odgovore i na brojna druga pitanja. Ovo je doprinelo činjenici da je razvoj i implementacija procedura MAR u direktnoj vezi sa sposobnošću društva da ih prati adekvatnim legislativnim merama, osnovnom vekovnom misaonom vodiljom u kreiranju strategije borbe sa infertilitetom iskazane u rečenici da *ljudima kojima je pomoć potrebna, ista bude i obezbedena na najadekvatniji mogući način.*

Pod pojmom asistirane reproduktivne tehnologije (ART) podrazumevaju se u užem smislu sve procedure u kojima dolazi do manipulacije i muškim i ženskim polnim ćelijama u in vitro uslovima (8). Danas je u rutinskoj praksi preko 15 različitih vrsta tretmana iz oblasti MAR. Ovde pored opšte prihvaćenih, univerzalnih procedura poput intrauterine inseminacije (IUI – koji u klasičnom smislu ne potпадa pod definiciju ART), klasične in vitro fertilizacije (IVF), intracitoplazmatske injekcije spermatozoida (ICSI), testikularna ekstrakcija spermatozoida (TESE), zamrzavanja gameta i embriona (FER), spadaju i kontraverzniye

procedure kao što su preimplantacione genetske dijagnostike (PGD), doniranje muških i ženskih polnih gameta, doniranje embriona, surrogat materinstvo, post-mortem upotreba polnih ćelija i brojne druge, čija je regulativa u različitim zemljama Evrope i sveta veoma raznolika (13, 15). Postoje zemlje u kojima je većina navedenih procedura zabranjena, dok postoje i zemlje sa liberalnijim regulativnim merama u smislu izvođenja svih navedenih procedura. Ta činjenica nameće zaključak da su, ako ništa drugo, ovo sve teme koje zahtevaju adekvatne legislativne mere i brigu društva o njihovom adekvatnom sprovođenju i nadzoru (8, 13).

1.2. Obim medicinskih asistiranih reprodukcija

Za suštinsko razumevanje problema, kojim se rad bavi, neophodno je u samom početku opisati obim pojave koja potпадa pod definiciju medicinskih asistiranih reprodukcija kako bi se stekao kompletan uvid u opseg pojave i shvatile sve implikacije koje ART ima na naše društvo i zdravstveni sistem širom planete.

Do sada je preko pet miliona dece rođeno širom sveta nakon postupaka ART (16).

Na osnovu poslednjeg, 13-og po redu, izveštaja Evropskog IVF monitoring konzorcijuma pri Evropskom udruženju za humanu reprodukciju i embriologiju (European Society of Human Reproduction and Embryology – ESHRE), u 34 zemlje u Evropi (koje podležu prijavljivanju) u toku 2009. godine prijavljano je 537 463 ciklusa ART. Izveštaj obuhvata cikluse IVF, ICSI, FER, donacije oocita, in vitro maturacije (IVM), preimplantacione genetske dijagnostike, odmrzavanja jajnih ćelija (13). Kao rezultat ciklusa sprovedenih u 1179 centra za asistiranu reprodukciju uz 1067 ciklusa na milion stanovnika u proseku, 2009. godine

rođeno je 109 239 dece. Procena je da se u ovim zemljama obavlja nešto više od polovine ciklusa širom sveta iako tačni podaci nedostaju usled nedovoljne konzistentnosti monitoring na svetskom nivou (16). Poređenja radi, u SAD je u izveštaju CDC prijavljeno 146 244 ciklusa, dok je iste godine u izveštaju AIHW za područje Australije i Novog Zelanda prijavljeno 70 541 ciklus (17, 18).

U proseku stopa trudnoće po aspiraciji iznosila je 28,9% za IVF i 28,7 % za ICSI, kao i 20,9% po postupku odmrzavanja u ciklusima FER. Navedeni rezultati pokazuju blagi trend porasta u odnosu na prethodne godine. Prosečna stopa porođaja iznosila je 20,6% po aspiraciji za IVF i 19,3% za ICSI, kao i 13,3% po ciklusu odmrzavanja u postupku FER. Navedene stope uspeha pokazale su manje varijacije po zemljama pojedinačno. Pored navedenog 29 zemalja je prijavilo i stopu kliničkih pobačaja trudnoća nakon postupka ART i ona je iznosila u proseku 18,5% za cikluse sa svežim gametima (9-33%) i 21,0% za FER cikluse (0-39%). Treba napomenuti da je dominantan modus fertilizacije bio ICSI sa 256 651 ciklusa dok je konvencionalnom IVF tehnikom oplodnja izvršena u 126 793 ciklusa (12).

Deca iz postupaka asistiranih reproduktivnih tehnologija (ART deca) činila su i do 4,5 % sve živorodene dece u određenim zemljama (Danska, Slovenija), dok se u većini evropskih zemalja ovaj postotak kreće u opsegu 2-3% uz najmanje prijavljenih 0,6% u Moldaviji (12). Ovaj podatak možda najbolje ilustruje obim pojave kakva je MAR i njenog uticaja na društvo. Naime, od incidentalne pojave pre svega par decenija, asistirana reprodukcija je prerasla u svakodnevni, široko rasprostranjeni, legitimni i sveobuhvatni vid koncepcije čije konsekvene sagledavamo u svakodnevnoj praksi daleko više nego što je to ponekad utisak. Ovakav obim pojave svakako i nameće drugačiji pristup ovim trudnoćama, uz sveobuhvatnije definisanje strategije prevencije potencijalnih komplikacija.

Ukupan udio primene vraćanja samo jednog embriona (Single embryo transfer - SET) iznosio je 24,2% uz zapažen trend porasta ove pojave u odnosu na prethodne godine gde je 2008. iznosio 22,4% a 2007. 21,4%. Vraćanje dva embriona (Double embryo transfer - DET) ostvareno je u 57,7% ciklusa uz trend smanjenja (53,2% u 2008. i 53,4% u 2007), dok su tri embriona vraćena u svega 16,9% ciklusa (22,3% u 2008 i 22,7% u 2007), a četiri i više u svega 1,2% ciklusa (12). Na žalost, navedeni izveštaj još ne nudi podatak o elektivnom SET. Navedeni rezultati su o ovom pitanju pokazali izuzetno velike varijacije među pojedinim zemljama. Tako je udio SET-a iznosio preko 50% u svega 3 zemlje (70,7% Švedska, 65,7% Finska i 53,4% Norveška), i preko 40 % u još tri zemlje (48,9% Belgija, 43,2% Island i 42,0% Danska). U pojedinim zemljama udio SET-a iznosio je ispod 10% (Bugarska 9,1%, Moldavija 8,7%, Litvanija 9,6%) dok je u Srbiji on iznosio 15,7%. Nasuprot tome udio vraćanja tri i više embriona gotovo je iskorenjen u zemljama poput Švedske, Finske, Islanda i Norveške dok je u zemljama poput Bugarske, Grčke, Italije, Makedonije, Crne Gore i Srbije iznosio i preko 40% (za Srbiju 42,4% tri i 21,2% vraćeno četiri embriona) (12).

Stopa multiplih trudnoća za cikluse sa svežim gametima iznosila je u proseku 19,4% za blizanačke i 0,8% za troplodne trudnoće uz lagani trend pada u odnosu na prethodne godine (za blizanačke 20,7% u 2008. i 21,3% u 2007. godini, a za troplodne po 1% u 2008, i 2007. godini). U FER ciklusima zabeležena je stopa blizanačkih trudnoća od 12,7% i troplodnih od 0,3%. *Podaci o stopi multiplih trudnoća, kao i podaci o broju vraćenih embriona od posebnog su značaja za temu ovog rada.*

Analizirajuće izveštaje od prethodnih godina, uočavaju se jasni i značajni trendovi koji ukazuju na sve veći broj ciklusa koji se obavljaju, sve više ART dece koja se rađaju, kao i smanjenje stope multiplih trudnoća uz diskretno ali stabilno povećanje uspeha ciklusa u smislu

stope trudnoća. Tako je za 1997. godinu prijavljeno 203 893 ciklusa sa 482 klinike, uz udeo ART dece od 1,04%-2,63% u ukupnoj populaciji, udeo SET-a od 8%-15,8%, stopu trudnoća po transferu od 26,1% za IVF i 26,4% za ICSI i stopu blizanačkih trudnoća od 25,8% i troplodnih trudnoća od 3,6% (19). Izveštaj za 2004. Godinu navodi 367 066 ciklusa, 0,4% do 4,2% ART dece, 19,25 primenu SET-a, stopu trudnoća po aspiraciji od 26,6% za IVF i 27,1 % za ICSI, kao i 21,7% blizanačkih i 1,0% troplodnih trudnoća (20). Ovaj izveštaj takođe navodi i 4 maternalne smrti u datoј godini, kao i 526 procedura fetalne redukcije (20).

Što se tiče procedura intrauterine inseminacije, bilo spermom partnera (IUI-H) ili donora (IUI-D), za 2009. godinu prijavljeno je 162 843 ciklusa IUI-H uz prosečnu stopu porođaja od 8,3% po započetom ciklusu, stopu blizanačkih trudnoća od 10,4% i troplodnih trudnoća od 0,7%, dok je za proceduru IUI-D prijavljeno 29 235 ciklusa uz stopu trudnoća od 13,4% po ciklusu, stopu blizanaca od 10,3% i trojki od 0,5% (12).

Kako bi stekli utisak i u obim, rezultate i karakteristike sprovođenja postupaka asisitirane reproduktivne tehnologije u našoj zemlji, navodimo iskustva objavljena od strane Kopitović i sar. o rezultatima prvih 1000 ciklusa na našoj klinici od oktobra 2006. do novembra 2009. godine. Prosečna stopa kliničkih trudnoća po aspiraciji iznosila je 30,40% uz prosečnu stopu porođaja po aspiraciji od 24,36% (11). Takođe noviji izveštaji istih autora ukazuju da je stopa kliničkih trudnoća porasla na 33,015, stopa porođaja po aspiraciji na 25,89%, ali i da je prosečan broj vraćenih embriona 2,8 uz gotovo odsustvo elektivnog SET-a, koji je ukupno u rangu do 10%, kao da se i vraćanje tri embriona (TET) praktikuje u gotovo 80% slučajeva. Opisana praksa dovodi do stope višeplodnih trudoća od neverovatnih 44,63% na našoj klinici (na uzorku od 2007. do 2011. godine) uz stopu blizanačkih trudnoća nakon postupaka ART od 39,93% i stopu troplodnih trudnoća nakon postupaka ART od 4,70% (21). Detaljniji razlozi,

i implikacije ovakve prakse, kao i mogućnosti promene iste uz primenu adekvatnih mera biće detaljnije elaborirani u nastavku rada.

1.3. Višeplodne trudnoće - osnovni pojmovi

Trudnoće sa prisustvom više od jednog ploda u materici, poznatije kao višeplodne, multiple ili multifetalne trudnoće, predstavljaju jedan od ključnih izazova i problema savremene medicine, i kao što je navedeno, ključni problem postupaka asistiranih reproduktivnih tehnologija (6, 12).

Gruba podela višeplodnih trudnoća je na blizanačke, troplodne i multiple trudnoće višeg reda koje su doduše veoma retke. Po svojoj etiologiji i patofiziologiji nastanka višeplodne trudnoće mogu nastati kao posledica fertilizacije dve različite jajne ćelije – dizigotni ili fraternalni blizanci ili ređe podelom jedne oplođene jajne ćelije čime nastaju monozigotni ili identični blizanci (6). U formiranju višeplodnih trudnoća višeg reda oba procesa mogu biti zastupljena tako da četvoroplodna trudnoća može nastati od jedne do četiri jajne ćelije.

Patofiziološki mehanizmi koji leže u pozadini razvoja monozigotnih blizanaca nisu u potpunosti razjašnjeni. Manja trauma blastociste u postupcima ART, naročito u slučaju manipulacije zonom pelucidom, pod uticajem uslova u kulturi, ili drugih faktora, dovodi do povećanja incidence monozigotnih blizanaca iz trudnoća nakon ART-a (22). Ishod ovih trudnoća zavisi od vremena kada dolazi do podele zigota. Ukoliko se zigot podeli u prva 72 h nakon fertilizacije, razvijaju se 2 embriona, 2 amnionske i 2 horionske šupljine (takozvani

gemelli diamnioti dichorioti - DADC) koji u smislu perinatalnog ishoda dele slične rizike kao i dizigotni blizanci (6). U ovom slučaju mogu se u daljem toku trudnoće razviti dve odvojene ili jedna fuzionisana posteljica. Ukoliko se podela embriona odigra od 4 do 8 dana, nastaje diamnionska monohorionska trudnoća (DAMC). Do osmog dana nakon fertilizacije, i amnion i horion su kao embrionalne strukture već diferencirane tako da podela nakon ovog perioda rezultira u stvaranju dva embriona unutar zajedničke amnionske kese – monoamnioska monohorionska trudnoća (MAMC) (6,7). Izuzetno retka pojava spojenih, takozvanih “sijamskih” blizanaca, nastaje ukoliko do podele dođe još kasnije (nakon 13-og dana posle fertilizacije). Dugo je bilo prihvaćeno da monohorionicitet podrazumeva i monozigotno stanje, ali postoje retki slučajevi kada i dizigotni blizanci mogu biti monohorionski (6), i njima mogu doprineti manipulacije na zigotima u postupku ART (23).

Iako su višeplodne trudnoće iz postupaka ART usled same geneze (vraćanja više embriona) daleko češće dizigotne i dihorionske u odnosu na spontane višeplodne trudnoće (23), utvrđivanje i jasna definicija horioniciteta u ranoj trudnoći od presudne je važnosti za dalji tok trudnoće, pošto se stepen komplikacija i vođenje ovih trudnoća značajno razlikuje kod monohorionskih i dihorionskih trudnoća (24). Važnost utvrđivanja horioniciteta leži u činjenici da je kod DAMC povećana stopa perinatalnog mortaliteta i morbiditeta u odnosu na DADC blizance (25), dok je i kod monozigotnih, ali dihorionskih blizanaca perinatalni ishod ekvivalentan dizigotnim blizancima (26). Tako je na osnovu velikih studija utvrđeno da perinatalni mortalitet kod dizigotnih blizanaca iznosi oko 10-12%, a kod monozigotnih 15-18% uz 18-20% za DADC, 30-40% za DAMC i 58-60% za MAMC (6).

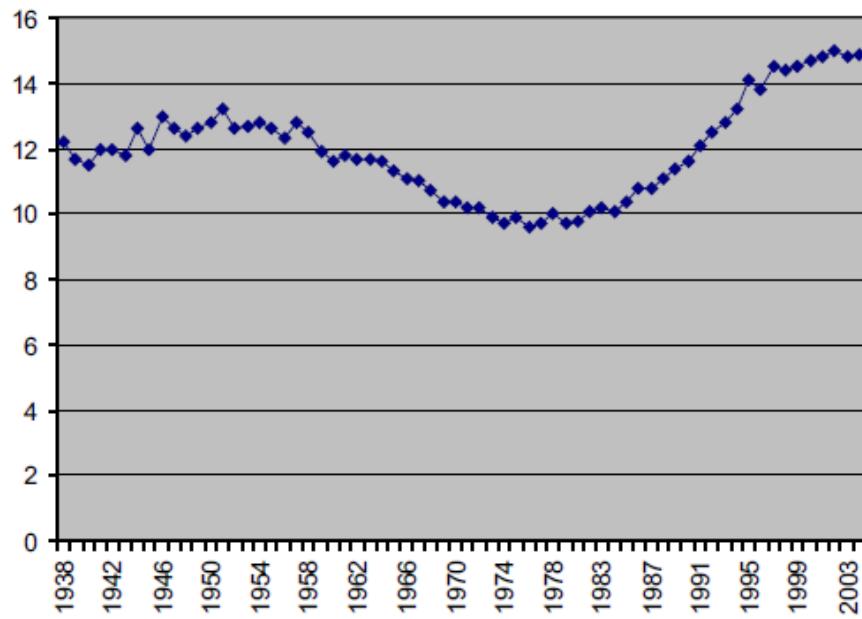
Za epidemiološke razmere blizanačkih trudnoća i njihov dramatični skok u prethodne tri decenije zaslužno je, pored ostalih faktora, pre svega uvođenje ART-a, pošto je stopa

multiplih trudnoća u spontanoj koncepciji oko 1,5% (6), dok nakon postupaka ART ona iznosi oko 21% za Evropu i preko 30% za SAD (12, 18). Između 1980. i 2005. stopa blizanaca je porasla sa 18,9 na 32,1 na 1000 živorodenjih, tako da je broj živorodenih blizanaca u ukupnoj populaciji porastao za 50%, a broj multiplih trudnoća višeg reda za gotovo 400% (27).

1.4. Epidemiologija višeplodnih trudnoća

Kao što je navedeno od početka sedamdesetih godina prošlog veka stopa blizanaca je u istraživanjima u Engleskoj i Velsu porasla u ukupnoj populaciji za 50%, a trojki za preko 400%, uz zabeležene slične trendove u SAD-u i drugim evropskim zemljama, kao i širom sveta (slika 3), (28).

Slika 3. Stopa multiplih trudnoća u Engleskoj i Velsu od 1938. Preuzeto iz (28)



ART, kao dominantan faktor u ovoj pojavi, bazira se na ciklusima u kojima se uspostavljanjem suprafiziološkog ovarijalnog odgovora dobija velik broj jajnih ćelija i posledično embriona, a potreba i trka za što većom šansom za uspeh je dovela do prakse i kulture vraćanja što većeg broja multiplih embriotransfера, sa posledično visokom stopom multiplih trudnoća kako blizanačkih, tako i onih višeg reda (29).

Visoka stopa multiplih trudnoća, sa svim svojim negativnim posledicama, pre svih prevremenim porođajima i celokupnim morbiditetom i mortalitetom, kako majki tako i novorođenčadi, koji iz toga proističu, i ogromnim opterećenjem zdravstvenog sistema, navela je na brigu i promenu stavova kako medicinskih radnika, tako i odgovarajućih legislativnih instanci i fondova zdravstvenog osiguranja da preduzmu odgovarajuće mere (13, 30). Ograničavanje broja embriona koji se mogu transferirati sa tri na dva u Britaniji je već dovelo do praktičnog eliminisanja troplodnih trudnoća (31, 32), i podstaklo na dodatno promovisanje strategije elektivnog SET koji se u sistemima koji su ga aktivno primenjivali poput Belgije, Slovenije i Švedske već pokazao veoma delotvornim po zdravstveni sistem (33, 34).

Aktivno primenjivanje strategije SET predstavlja jednu od dominantnih tema za naučnu i stručnu javnost, kao i sve relevantne činioce u oblasti reproduktivne medicine i perinatologije poslednjih godina (29).

Istorijski gledano stopa multiplih trudnoća u ljudskoj populaciji pokazivala je fascinantne trendove (29). Najraniji pisani podaci o ovoj pojavi iz Švedske sa kraja 18-og veka ukazuju da je stopa multiplih trudnoća čak i prevazilazila današnje vrednosti i dostizala 17 slučajeva na 1000 porođaja (35). Svakako da su reproduktivni obrasci ponašanja, koji su bili prisutni u to vreme, uz poznatu patofiziologiju blizanačkih trudnoća doprineli ovoj pojavi (o

kojoj će dalje biti više reči). Tokom dvadesetog veka incidenca pojave multiplih trudnoća pokazivala je konstantan pad do sedamdesetih godina prošlog veka, nakon čega po uvođenju ART tretmana kreće strmoglavi porast (36). Svežiji podaci iz Engleske ukazuju na stopu multiplih trudnoća od oko 15,5 na 1000 porođaja (37), dok je u SAD-u došlo do više nego dupliranja ove incidence koje je do 2006. godine iznosila 32 na 1000 porođaja (18).

Iako su i stopa blizanačkih i multiplih trudnoća višeg reda pokazali značajan trend porasta u navedenom periodu, ovaj porast je drastično veći baš za multiple trudnoće višeg reda. Tako je od 1972. do 1999. godine stopa troplodnih trudnoća porasla šest puta, a četvoroplodnih čak dvanaest puta (38). Takođe, poslednjih godina se u Engleskoj i drugim evropskim zemljama beleži drastičan pad incidence multiplih trudnoća višeg reda, kao posledica legislativnih i drugih aktivnih mera kojima se, na primer, u Engleskoj od strane Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA), tela zaduženog za regulisanje prakse u oblasti ART, ograničio maksimalni broj embriona koji se mogu vratiti ženi ispod 40 godina sa tri na dva (39).

U Britaniji je u 2009. godini 16 žena na 1000 porođaja imalo multiplu trudnoću i ovo je predstavljalo 3% živorođenih (40). Trenutna stopa multiplih trudnoća nakon postupaka ART iznosi za Veliku Britaniju 24% (40), dok je evropski prosek na nivou od oko 21%, uz navedene drastične varijacije među pojedinim zemljama, tako da i sumiranje i zauzimanje konačnog, uniformnog stava o epidemiologiji multiplih trudnoća nije u potpunosti moguće (12).

Tako stopa višeplodnih trudnoća u Evropi trenutno iznosi 21.8%, uz ogromne varijacije između zemalja koje već godinama aktivno primenjuju strategije za smanjenje višeplodnih

trudnoća, kao što je Švedska, gde ova stopa iznosi ispod 5%, dok u Španiji ona iznosi oko 25% (12).

Razlike u zabeleženim trendovima u Evropi i Americi , gde su trendovi multiplih trudnoća daleko progresivniji i jače izraženi, leže i u različitim navikama u praktikovanju tretmana procedurama ART, koji se ogledaju, pre svega kroz broj embriona koji se u ovom postupku vraćaju u matericu žene (18).

Kao što je navedeno, brojni faktori pojedinačno i udruženo doveli su do ovakvog porasta problema multiplih trudnoća. Nepravedno bi bilo apostrofirati ART proceduru kao jedinog krivca. Pojedinačni faktori, ipak zahtevaju dodatna pojašnjenja.

1.5. Uticaj godina majke na povećanje stope multiplih trudnoća

I drugi sociološki trendovi, odlaganje rođenja deteta za kasnije životno doba, utiču na stopu multiplih trudnoća. Naime, uznapredovalo životno doba samo po sebi predstavlja rizik za blizanačku trudnoću koji je najizraženija u 37-oj godini majke (29).

Ipak, ovo odlaganje stvaranja potomstva, uglavnom usled uvođenja ART tretmana, nije dovelo do značajnijeg pada totalne stope plodnosti (broj živorodene dece na ženu reproduktivnog doba), koja u određenim zemljama, poput Britanije, stoji na zavidnom nivou od 1,97, mada je i ova cifra ispod predviđenih 2,3-2,4 koje se smatra suficijentnim iz ugla održivosti demografskih karakteristika ljudske populacije, ali daleko iznad situacije u našoj zemlji gde iznosi 1,3 (10, 11, 29). Prosečne godine za materinstvo po istoj studiji, iznosile su 29,3 godine 2007. u poređenju sa 26,3 za godinu 1970 (41).

Ovaj kombinovani efekat odlaganja godina roditeljstva i sve veća upotreba tretmana infertiliteta rezultovao je i podatkom da je 2008. 62% multiplih trudnoća zabeleženo kod žena starijih od 30 godina u poređenju sa 51 % tokom 1938. (29, 41).

Procena američkih autora je da je od 1971. do 1997. uticaj godina majke izolovano doprineo porastu stope multiplih trudnoća za 10 % (29). Druge procene ukazuju da godine majke doprinose sa 25-30% u porastu stope multiplih trudnoća (42).

Pored godina majke i drugi nemedicinski faktori doprinose većoj stopi multiplih trudnoća. Ovde se pre svega misli na geografske i etničke karakteristike (29, 43). Geografska širina može da doprinese i dvostrukom uvećanju stope spontanih blizanačkih trudnoća. Prepostavka je da zemlje u sunčanijim područjima, poput Nigerije, usled pozitivnog dejstva izloženosti suncu na nivo hormona FSH, najverovatnije posredstvom melanokortikotropnog hormona doprinose zabeleženoj pojavi (44).

Takođe postoje tvrdnje i o uticaju ishrane i endogamije, kao i visokog pariteta i više vrednosti prosečne telesne visine žene, majčine porodične predisponiranosti kao rizikofaktora za pojavu dizigotnih blizanaca. Kao što je navedeno, vrednosti nivoa FSH se apostrofiraju kao patofiziološki mehanizam iako definitivni uzrok nije poznat (29, 42, 43).

1.6. Uticaj tretmana infertiliteta na stopu multiplih trudnoća

Tretman infertiliteta, pre svega ART tretman, nesumnjivo najviše doprinosi porastu i udelu stope multiplih trudnoća u opštoj populaciji (29). Kao što je navedeno, udeo ART dece iznosi i do 4,5 % u određenim evropskim zemljama (12), dok je u Britaniji procenjen na 1,5%

zajedno sa inseminacijom (29, 30). Procenjeno je da broj ART dece u Britaniji raste oko 8 % svake godine (29). U SAD je tokom devedesetih godina izračunato da sama indukcija ovulacije u okviru non ART tretmana infertiliteta po brojnim medicinskim indikacijama, u sklopu sa intrauterinom inseminacijom, doprinosi ukupnom udelu multiplih trudnoća sa stabilnih 40% (45).

Evropske zemlje su po već navedenim izveštajima ESHRE pokazivale značajnije varijacije u epidemiologiji multiplih trudnoća, koje su još više došle do izražaja poslednjih godina aktivnim primenjivanjem mera za njihovo smanjivanje u određenim zemljama. Ipak, kao najekstremniji se navode izveštaji Češke iz 1997. godine kada je prijavljena stopa troplodnih trudnoća od 10 % i četvoroplodnih trudnoća od fascinantnih 2.5% svih ART trudnoća (19).

Primena adekvatnih mera, koja se u SAD ogleda u preporukama ASRM o broju vraćenih embriona, donekle je zaustavila negativne trendove. Po analizi trendova od 1998 do 2003 ukupan udio ART dece porastao je za 67% uz smanjenje udela troplodnih trudnoća za 8 % i četvoroplodnih za 35%, ali povećanje blizanačkih trudnoća za čitavih 65% (46). Tako je na nivou cele populacije došlo do porasta blizanačkih trudnoća za 17 % bez uticaja na udio multiplih trudnoća višeg reda. Takođe, procenjeno je da su, u 2003. godini 16% blizanaca, 45% trojki i 30% četvorki, bili posledica ART tretmana, dok su 21% blizanaca, 37% trojki i čak 62% četvorki bili posledica indukcije ovulacije (42).

U pokušaju da stvori globalnu sliku u svetu veoma šarenolike incidence multiplih trudnoća nakon postupaka ART Internacionalni Komitet za monitoring asistiranih reproduktivnih tehnologija (ICMART) sproveo je tokom 2002. godine studiju gde je kao

globalni prosek naveo da nakon postupaka ART stopa blizanačkih trudnoća iznosi 25%, a troplodnih trudnoća 2.5% (42).

Daleko je teže proceniti realni doprinos tretmana infertiliteza za postupke koji ne spadaju pod ART (stimulacije ovulacije, IUI i drugo), pre svega zato što za pomenute procedure ne postoje implementirani i funkcionalni registri širom sveta i funkcionalan sistem monitoring, za razliku od ART procedura (21).

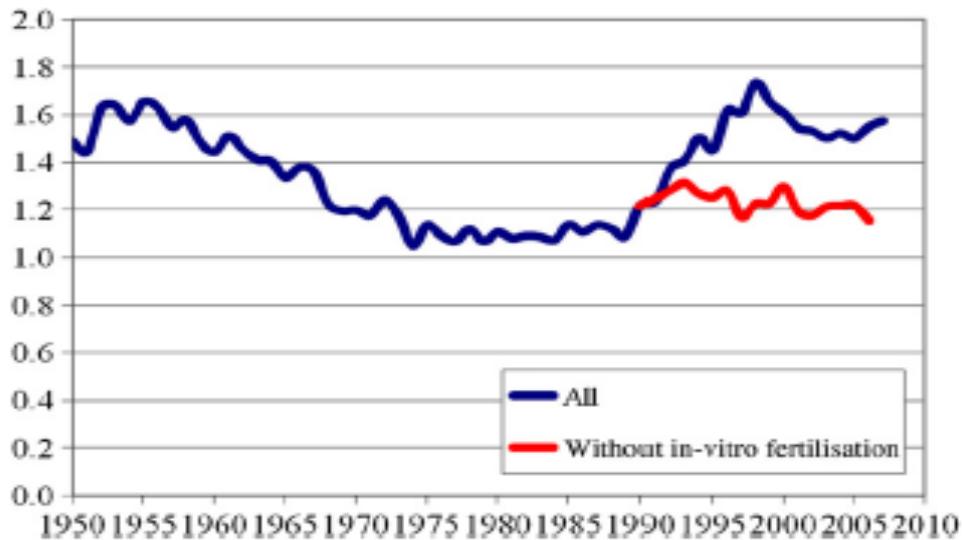
SAD pokazuje izraženiji procenat multiplih trudnoća nakon postupaka ART, tako da je na stopu porođaja nakon vantelesne oplodnje 2006. od 36% došlo 31% multiplih trudnoća. U 1991. godini 22% svih višeplodnih trudnoća u SAD-u dolazili su iz postupaka ART i ovaj procenat je za samo 5 godina narastao na 38,7% dovodeći do zaključka da je, kao i kod nas preko 50% beba iz postupaka VTO produkti multiplih trudnoća (47)

Velika studija sprovedna u Holandiji takođe je pokušala da odgovori na pitanje o doprinosu različitih modaliteta tretmana infertiliteza u udelu incidence multiplih trudnoća (48). Po navedenoj studiji od svih trudnoća 46% su začete spontano, 16% nakon stimulacije ovulacije klonifenskim citratom, 2,45% nakon stimulacije ovulacije primenom recFSH i 14 % nakon postupaka intrauterinih inseminacija nakon kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije.

Vantelesna oplodnja bila je odgovorna za oko 20 % preostalih trudnoća, dok je njen udio u populaciji multiplih trudnoća iznosio preko 50%. Pored navedenog, samo je 11 % multiplih trudnoća u datoј studiji začeto spontano, dok je 18 % začeto nakon postupaka indukcije ovulacije. Ovo je ipak kohortna studija u velikom tercijalnom centru i ne odražava realno epidemiološku situaciju u svetu.

Finska studija autora Tiitinen i sar. grafički je predstavila procenu udela ART trudnoća u ukupnom porastu multiplih trudnoća (slika 4).

Slika 4. Doprinos ART trudnoća multiplim trudnoćama - Preuzeto iz Tiitinen i sar. (42).

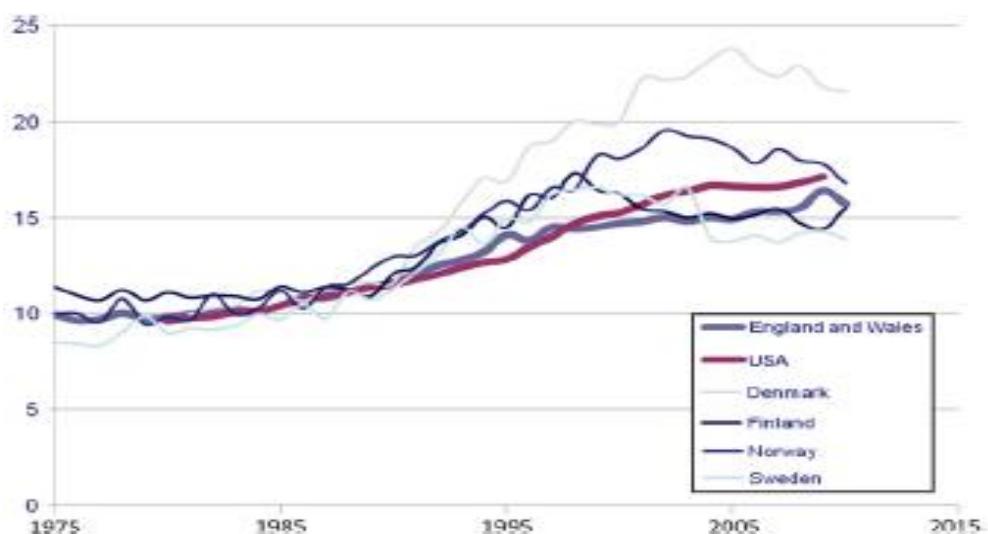


1-3% svih jednoplodnih, oko 30-50% blizanačkih i preko 75 % troplodnih i multiplih trudnoća višeg reda rezultat su tretmana infertilite po podacima iz mnogih Evropskih zemalja (42).

Sumarno o trendovima i epidemiologiji višeplodnih trudnoća (slika 5) možemo reći da je poslednjih decenija došlo do drastičnog porasta stope višeplodnih trudnoća koje su u određenim zemljama, od kraja sedamdesetih godina porasle i dva do tri puta (49). Razlozi ovome su svakako uvođenje ART-a, ali i drugi vidovi terapije infertilnosti, pre svega indukcija ovulacije, kao i sve češće trudnoće žena starijeg reproduktivnog doba, što samo za sebe predstavlja faktor rizika za višeplodne trudnoće. Naime, veći bazalni nivoi folikulostimulirajućeg hormona zapaženih u uznapredovalom reproduktivnom dobu

apostrofiraju se kao mogući uzrok ovoj pojavi (8). Procenjeno je da su ove tri pojave podjednako doprinele uvećanju stope višeplodnih trudnoća, dajući ovoj pojavi danas epidemiske razmere, jer stopa spontanih blizanačkih trudnoća u spontanoj koncepciji iznosi približno 1.5%, dok je nakon IVF-a to slučaj u približno četvrtini slučajeva. Imajući u vidu da se u pojedinim zemljama skoro 4% dece rađa kao posledica ART-a, uticaj ove pojave na celokupni zdravstveni sistem i društvo u celini postaje sve dominantniji (12).

Slika 5. Trendovi višeplodnih trudnoća po zemljama - EURO PERISTAT (50)



1.7. Problem višeplodnih trudnoća

Višeplodne trudnoće predstavljaju značajan problem za zdravstveni sistem svake zemlje, kao i društvo u celini. Pre svega zdravstveni rizici po majku i dete, ali i psihosocijalni problemi porodica kao i ukupno opterećenje zdravstvenog sistema značajno su veći u ovim trudnoćama (30).

Za razumevanje odnosa prema ovom problemu mora se promeniti percepcija uloge reproduktivne medicine i asistiranih reproduktivnih tehnologija. Naime, sam uspeh ciklusa, kao krajnji cilj, davno je prestao da zauzima primarno mesto u fokusu interesovanja i oblikovanju savremene prakse u reproduktivnoj medicini. Sada je pored efikasnosti, na prvom mestu bezbednost i celokupni komfor ili diskomfor koji kratkoročno i dugoročno sam tretman može prouzrokovati infertilnom paru, njegovom potomstvu, zdravstvenom sistemu ili društvu u celini (51). Neophodno je u celosti implementirati svest da samo zdrava beba, iz jednoplodne trudnoće predstavlja uspeh u postupcima VTO i konačno usvojiti još davne 2004. predloženi BEST koncept (Rođenje koje podrazumeva uspešnu jednoplodnu terminsku trudnoću – Birth emphasizing successful singleton at term – BEST) (51).

Stoga se i najveći broj istraživanja i novina u svakodnevnoj kliničkoj praksi u oblasti reproduktivne medicine odnosi pre svega na metode organizacije rada, koordinisanju ove multidisciplinarne oblasti, a ne u svrhu postizanja što veće stope trudnoća, već definisanju takvih postulata rada i sprovođenja metoda asistirane reprodukcije na način koji će u najvećoj mogućoj meri biti prijateljski po pacijenta, zdravstveno osoblje i zdravstveni sistem u celini. Tako je akcenat stavljena na definisanje optimalnog protokola stimulacije koji bi zadovoljio ove postulate “patient friendly” protokola gde u poslednje vreme dominiraju ciklusi sa takozvanom „mild“ ili blažom stimulacijom (52). Sama arhitektonska rešenja i organizacioni pristupi u ustanovama za pružanje usluga iz oblasti reproduktivne medicine, struktura timova koji sa njima rade, odnos sa pacijentom koji je pre svega partnerski, način na koji se pacijent savetuje i brojni drugi aspekti rada, takvi su da daju infertilnom paru što više autonomije, da im omogući što komiforniji pristup tretmanu, koji minimalno interferira i remeti njihove poslovne i privatne obaveze (30, 52).

Postulati bezbednosti se svakako ovde ističu na prvo mesto, pošto je globalna percepcija da je infertilitet stanje koje zahteva adekvatan tretman, ali da je ipak reč o „zdravim“ pacijentima, te da je bilo kakvo ugrožavanje zdravlja i života ljudi koji kroz njega prolaze gotovo neprihvatljivo (13). Ovo rezultuje u brojnim protokolima i organizaciji rada koji bi trebalo da daju rešenja koja zadovoljavaju navedene potrebe. Strategije za borbu protiv hiperstimulacionog sindroma, a pre svega za smanjenje stope multiplih trudnoća i sledstvenih komplikacija, postale su obaveza i osnov gotovo svih ozbiljnijih sistema koji se bave ovom oblašću.

Sama procedura embriotransfера, u smislu broja vraćenih embriona, definiše se na različitim nivoima od zemlje do zemlje bilo u formi kliničkih preporuka, zakonskih ograničenja, koncenzusa stručnih tela ili kombinacijama navedenih mera. Uloga svih aktera u procesu vantelesne oplodnje mora biti maksimalno usklađena i komplementarna.

Mogli bismo reći da se, posle par decenija lutanja, reproduktivna medicina našla na mestu vekovne devize *Primum non nocere*.

Kada se govori o pojmu višeplodne trudnoće, sam naslov ovog rada i uvodne napomene definišu ga kao problem i komplikaciju, a ne uspeh pošto on to svakako nije.

Brojne studije, o kojima će u daljem toku biti više reči, jasno ukazuju da praktično ne postoji aspekt majčinog zdravlja, bebinog zdravlja i uticaja na zdravstveni sistem i društvo u celini koji nije ozbiljno pogoden i narušen i pod značajnim rizikom pojmom višeplodne trudnoće.

Sve komplikacije trudnoće i svi potencijalno negativni ishodi po majku i dete daleko su češći kod višeplođnih trudnoća u odnosu na jednoplodne, kako u spontanim tako i u

trudnoćama iz ciklusa ART podjednako. Psihosocijalni problemi koji se javljaju u funkcionisanju para, porodice i odnosa sa decom u ovim trudnoćama takođe su stavljeni pod posebno opterećenje, pod posebne izazove i pokazuju veću učestalost disfunkcionalnosti u porodici i društvu, kako u toku trudnoće, tako i u daljem toku života. Ekonomski posledice i uticaj na opterećenje zdravstvenog sistema i celokupnog ekonomskog miljea društva dokazano su oštećeni i opterećeni. Javljuju se i brojni medikolegalni, etički i drugi izazovi koji dodatno opterećuju i remete ustaljene doktrine u svakodnevnoj kliničkoj praksi zdravstvenih radnika koji se susreću sa tretmanom ovih trudnoća.

Iako su česti primeri gde sve prođe „u najboljem redu“, obim i učestalost potencijalnih komplikacija po sve navedene aktere i sisteme, ne dozvoljavaju nam da dalje bežimo od ovog problema i doživljavamo ga olako.

Radi preglednijeg uvida u situaciju, kao i iz didaktičkih razloga problemi odnosno komplikacije i konsekvence višeplodnih trudnoća se u globalu mogu podeliti na:

- 1. Komplikacije po majku**
- 2. Komplikacije od strane fetusa**
- 3. Komplikacije iz psihosocijalne sfere porodica sa višeplodnom trudnoćom**
- 4. Komplikacije po zdravstveni sistem**
- 5. Ekonomski komplikacije**
- 6. Komplikacije po postulate savremene kliničke prakse**

U daljem radu smatra se neophodnim adresirati pojedinačno sve od navedenih komplikacija odnosno problema vezanih za pojам višeplodnih trudnoće. Nakon toga rad će se, kako je to i njegov osnovna tema, bliže pozabaviti uticajem same vantelesne oplodnje na

navedene posledice višeplodnih trudnoća uz poseban akcenat na večitu dilemu da li, u kojoj meri i u kakvim okolnostima sama vantelesna oplodnja kao modus koncepcije predstavlja dodatni faktor rizika za negativan perinatalni ishod. Kombinacija ova dva pogleda na problem trebalo bi da rasvetli kompleksan problem naslova ovog rada.

1.7.1. Komplikacije po majku – maternalne komplikacije u višeplodnim trudnoćama

Iako je ova tema dugo u žiji stručne javnosti, brojni zdravstveni sistemi, pre više od deceniju, doživeli su navedene probleme kao goruće i od suštinske važnosti i definisali strategiju za njegovu podrobnu analizu i iznalaženje najboljih rešenja. Tako je HFEA (Human Fertilisation and Embriology Authority), koje predstavlja centralno telo za kontrolu i licenciranje ustanova i stručnjaka za asistiranu reprodukciju u Britaniji, osnovalo ekspertsку grupu sa ciljem da predloži mere za smanjivanje stope multiplih trudnoća nakon IVF-a. Oktobra 2006. godine ekspertska grupa objavila je izveštaj pod nazivom „One child at a time“, jedan od vodećih dokumenata koji se sveobuhvatno bavi ovim problemom i koji je bio među ključnim osloncima i inspiracijama za sprovođenje sopstvenog istraživanja (30).

Grubo rečeno komplikacije u trudnoći od strane majke su višestruko veće u višeplodnim trudnoćama i rastu sa brojem dece. Maternalni morbiditet, ali i mortalitet, povećan je u odnosu na jednoplodnu trudnoću (53). Ukupno je povećan rizik od pobačaja, hipertenzivnih poremećaja u trudnoći, anemije, preeklampsije, gestacionog dijabetesa, prevremenog porođaja i operativnog završetka istog. Praktično, ne postoji komplikacija i poremećaj u trudnoći čija učestalost nije veća u višeplodnim trudnoćama u odnosu na jednoplodne.

Od najčešćih poremećaja u trudnoći 20-25% žena ima PIH (trudnoćom uzrokovana hipertenzija, gestacijska hipertenzija) za razliku od 1-5% kod jednoplodnih trudnoća (30). Jedna kohortna studija sprovedena na gotovo trideset pet hiljada trudnica našla je učestalost hipertenzivnog sindroma u trudnoći 6-6,5% za jednoplodne i 12,7-19,7% za multiple trudnoće (54). Sibai i saradnici su u prospektivnoj multicentričnoj studiji na 684 blizanačke trudnoće našli preko dva puta veću učestalost i hipertenzivnog sindroma i preeklapmsije u odnosu na jednoplodne trudnoće (55). Pored navedenog i teži oblici preeklapmsije i pojava HELLP sindroma takođe su bili češći u multiplim trudnoćama. Metaanaliza na datu temu je takođe pokazala da blizanačka trudnoća utrostručuje rizik za preeklapmsiju u poređenju sa jednoplodnom (56), dok troplodna trudnoća dodatno utrostručuje rizik za preeklapmsiju u odnosu na blizanačku trudnoću (56).

Cirkulatorni volumen je takođe za 50-60% povećan u višeplodnim trudnoćama (57), a veličina materice, koja prati ove trudnoće, dodatno kompromituje venski tok krvi u srce i uzrokuje, pored češće pojave sindroma donje šuplje vene, i češći bol u leđima, pojavu verikoziteta, potom značajnije razdvajanje ravnog trbušnog mišića i dispnoične tegobe usled pritiska na dijafragmu (53). Rizik od kompletног pobačaja je povećan u višeplodnim trudnoćama (53).

Hiperemeza i anemija su takođe daleko izraženiji u višeplodnim trudnoćama (58).

Ukupni maternalni mortalitet je takođe povećan u ovim trudnoćama (59), iako je absolutni rizik u razvijenim zemljama i dalje vrlo mali (29).

Najčešći uzroci materalnog mortaliteta su eklampsija i obilna peripartalna hemoragija, i višeplodne trudnoće su nezavisni faktori rizika za obe navedene pojave uz kombinovanu OR

za navedene pojave od 2,21 (60). Starija životna dob majke dodatno doprinosi svim navedenim rizicima.

Stopa spontane redukcije višeplodne na jednoplodnu trudnoću procenjena je na 14% (53). Ovaj sindrom nestajućeg blizanca u brojnim radovima naglašen je kao nedovoljno prepoznat entitet koji značajno može doprineti negativnom perinatalnom ishodu jednoplodne trudnoće iz postupka VTO za koju nije adekvatno ukazano da je zapravo reč o višeplodnoj trudnoći sa sledstvenom komplikacijom (53).

Rizik antepartalnog, kao i postpartalnog krvarenja, značajno je povišen u višeplodnim trudnoćama usled povećane površine korita posteljice (61).

Po određenim studijama dva do tri puta je češća pojava gestacijskog dijabetesa (GDM). Sa druge strane velike kohortne studije na gotovo trideset hiljada porođaja dobole su rizik od GDM za blizanačke trudnoće od 7,7% naspram 4,4%, koliko je iznosio za jednoplodne trudnoće (62). Ovo je potvrđeno i drugim populacionim studijama gde su na 23 056 žena i 553 blizanačke trudnoće dobili rizik za GDM od 3,98% za blizanačku u odnosu na 2,32% kod jednoplodnih trudnoća (63). U našoj sredini gde GDM svakako predstavlja značajniji problem od navedenih postotaka ova osobina višeplodne trudnoće dobija dodatno na težini.

Ogromna kohortna studija Simsona i saradnika, na gotovo 400 hiljada trudnica, dobila je i značajno povećanje rizika od dubokog venskog tromboembolizma kod višeplodnih trudnoća (64), kako antepartalnog tako i postpartalnog kako su svi elementi Virhofove trijade u ovim trudnoćama dodatno izraženi. Ova potencijalno i neretko fatalna komplikacija predstavlja jednu od najčešćih razloga maternalnog mortaliteta u savremenom akušerstvu.

Operativno završavanje trudnoće carskim rezom, sa svim svojim dodatnim faktorima koji povećavaju maternalni morbiditet, čak i mortalitet, takođe je značajno češće u višeplodnim trudnoćama, i to višestruko (53). Stavovi koji se po ovom pitanju nalaze u literaturi, a koji se praktikuju i kod nas, iako ne uniformno i jasno definisano, sugerisu pokušaj vaginalnog porođaja u nekomplikovanim blizanačkim trudnoćama uz glavicu kao prednjačeći deo oba ploda (53).

Što se tiče višeplodnih trudnoća višeg reda, logično je da većina navedenih komplikacija eksponencijalno raste sa brojem plodova uz dozno zavisne odgovore u smislu broja plodova koji se odnose na stanja hipertenzivnog sindroma GDM-a, abrupcije posteljice. Ove se trudnoće vrlo često završe prevremeno, tako da prematuritet, kao dominantni problem zahvata 98% ovih trudnoća (65), donekle prevenirajući majku od opasnijih maternalnih komplikacija koje bi se razvile u daljem toku. Ipak, Collins i saradnici su na uzorku od 71 četvoroplodne trudnoće naveli učestalost hipertenzivnog poremećaja od 32%, anemije od 25%, infekcije urinarnog trakta od 14 %, GDM-a od 10%, kao i ozbiljnijeg pospartalnog krvarenja u 21% slučajeva (65).

Od najčešćih komplikacija ponavlja se da je rizik od razvoja anemije takođe dupliran, dok je rizik od preeklampsije tri puta veći kod blizanačkih i čak devet puta veći kod troplodnih trudnoća (29).

Sve ukupno rizik od hospitalizacije u trudnoći, kao i mera opterećenja zdavstvenog sistema skoro je tri puta veći kod blizanačkih i pet puta veći kod troplodnih trudnoća, dok je maternalni mortalitet više nego dupliran u ovim trudnoćama (29).

1.7.2. Komplikacije od strane fetusa

Monohorionski blizanci nose pet do deset puta veći rizik za antenatalne i perinatalne komplikacije (42). Stoga je od izuzetne važnosti tačno utvrđivanje horioniciteta na prvim ultrazvučnim pregledima. Većina ART blizanaca su dizigotni i sledstveno DADC, ali jedna studija je pokazala da blastocistne kulture nose značajan rizik za monozigocitet (42), dok postupak krioprezervacije, protokol stimulacije ICSI način fertilizacije, niti uklanjanje zone pelucide prilikom asistiranog „hatching“- a, ne utiču na učestalost ove pojave. Ukupna šansa da se oplođena jajna ćelija podeli i do tri puta veća je u in vitro uslovima, ali je, s obzirom na činjenicu da višeplodnost uglavnom nastaje usled vraćanja više embriona, ideo monozigociteta u ART trudnoćama ispod 2 % dok u spontanim blizanačkim trudnoćama ide i do 20% (6).

Dodatan rizik monohorionskih blizanaca leži u činjenici da dele placentarni krvotok, te su podložni razvoju sindroma interblizanačke transfuzije (TTTS – Twin to twin transfusion syndrome) koji se javlja u 10-15% MC blizanačkih trudnoća i odgovoran je za većinu teškog perinatalnog morbiditeta (66). MAMC varijanta koja čini oko 1% blizanačkih trudnoća, nosi dodatni rizik zapetljavanja pupčanika (66). Stoga se i navedene trudnoće moraju voditi pod intenzivnim nadzorom specijaliste uz minimalno dvonedeljne preglede i sonografske evaluacije rasta i kondicije plodova.

Svakako najznačajniju fetalnu, odnosno perinatalnu komplikaciju ili rizik, predstavlja pojam prematuriteta koji je vodeći uzrok neonatalne smrti i ranog i kasnog morbiditeta (6). Oko 94 % multiplih trudnoća su blizanačke (53). Od njih procena je da se oko 60% porodi pre

37, a čak 11,45 pre 32. gestacijske nedelje (67). U istoj studiji na 5095 troplodnih trudnoća 94,7% rodilo se pre 37, a 36,8% pre 32. gestacijske nedelje.

Prevremeno rođeni blizanci, nasuprot opštem mišljenju zapravo imaju veću stopu RDS-a u odnosu na prevremeno rođenu jednoplodnu decu (42).

Prematuritet dovodi ove plodove u rizik od intraventrikularne hemoragije, periventrikularne leukomalacije, nekrotizirajućeg enterokolitisa, retinopatije, respiratornog distres sindroma, neonatalne sepse i brojnih drugih stanja koji drastično povećavaju mortalitet, kratkoročni i dugoročni morbiditeti i šansu za pojavu sekvela (53).

Stopa neonatalnog mortaliteta je 6-7 puta veća za blizance nego za jednoplodne trudnoće uz 180 slučajeva na 1000 živorođenih, dok je za trojke i višeplodne trudnoće višeg reda 39,6 na 1000 živorođenih (67).

Perinatalni ishodi dece iz višeplodnih trudnoća su opšte govoreći neuporedivo gori nego u jednoplodnim trudnoćama.

HFEA takođe u svojim izveštajima navodi da prevremeno rođenje pogoda preko 50% blizanaca (68). Na 137 217 blizanačkih porođaja u SAD 2009. godine, 56,6% je imalo porođajnu težinu ispod 2,5 kg, a 9,9 % ispod 1,5 kg. (67).

Rizik kongenitalnih anomalija, pre svega fetalnih trizomija, defekata neuralne cevi i strukturnih malformacija gastrointestinalnog trakta povećan je u multiplim trudnoćama (69). Po najnovijoj studiji sprovedenoj u Evropi na 5,3 miliona rođenja od 1984 do 2007 rizik od kongenitalnih anomalija bio je 27% veći u grupi multiplih u odnosu na jendoplodne trudnoće

(70). Preko 50% blizanaca i preko 90% trojki rodi se pre 37 GN ili sa telesnom masom manjom od 2500g (71).

Ukupno rizik za intrauterini zastoj u rastu je 10 puta veći u blizanačkim u odnosu na jednoplodne trudnoće (42). Jedan od ključnih parametara koji ukazuju na potencijalni morbiditet je interblizanačka diskonkordantnost u telesnoj masi, i ovo je parametar koji se aktivno prati i analizira kao komplikacija ovakvih trudnoća (42). Pored navednog i prevremeno prsnuće plodovih ovojaka (PPROM), kao i pojava intrauterine smrti ploda, značajno su češći u blizanačkim trudnoćama (72)

Oko 50 % blizanaca i 80 % trojki prima se na odeljenja intenzivne nege (6). Jedna studija je izračunala da 15 % jednoplodnih, 48% blizanaca i 78% trojki zahteva tretman na odeljenju intenzivne nege i terapije (73), uz gotovo identične rezultate i u jednoj Finskoj studiji (74), gde je perinatalni mortalitet bio 4-5 puta povećan kod blizanaca u odnosu na jendoplodne trudnoće.

Brojnim studijama je dokazano da je baš nedonesenost glavni uzrok morbiditeta u mortaliteta ove dece. Perinatalna smrtnost je tri do šest puta veća kod dvoplodnih i devet puta veća kod troplodnih trudnoća. Tretman zahteva 40-60% blizanaca u odeljenjima intenzivne nege od kojih 6% razvije RDS, što je slučaj sa samo 20% dece iz jednoplodnih trudnoća, kod kojih je učestalost RDS svega 0.8%. Preko 10% blizanaca provede više od dvadeset osam dana na odeljenjima intenzivne nege (71).

Rizik od smrtnosti u prvoj godini života je šest do sedam puta veći kod blizanaca, dok je rizik od težeg oboljenja nakon ovog perioda manji, ali i dalje blizu 50% veći nego kod jednoplodnih. Sveukupno, iako oskudevamo validnim podacima o dugoročnim ishodima,

sekvelama i razvoju dece iz multiplih trudnoća, smatra se da je i ovaj segment pogoden većom učestalošću komplikacija (30). Iako je ekstremni prematuritet ispod 26 gestacijske nedelje veoma diskutabilan u smislu kvalitetnog preživljavanja (29), čak je i umereni prematuritet, koji se dominatno javlja u blizanačkim trudnoćama, u određnim studijama povezan sa dugoročnim problemima iz kognitivne sfere, pre svih bihevioralnim i edukacionim problemima, ali i sindromom iznenadne smrti deteta (42).

Učestalost neuroloških sekvela, pre svega dečje cerebralne oduzetosti, šest puta je veća kod blizanaca i čak osamnaest puta kod trojki (30).

Petterson i saradnici su u studiji na preko 5000 blizanačkih trudnoća u Australiji dobili 4-6 puta veći rizik od cerebralne paralize kod blizanačkih u odnosu na jednoplodne trudnoće (75). Druga evropska studija dobila je relativan rizik od 4,36 za navedenu pojavu u slučaju multiplih trudnoća (76), dok ima i studija koje navode da rizik nosi povećanje od 5-10 puta (53).

Ukupna stopa mrtvorodenosti raste sa multiplim trudnoćama i procenjena je na 12,3 na 1000 porođaja za blizance, 31,1 na 1000 porođaja za trojke i 5 na 1000 porođaja za jednoplodne trudnoće (61).

Konačno pomenuti sindrom smrti samo jednog ploda po određenim autorima i studijama ne utiče na tok i ishod trudnoće preostalog ploda u slučaju da se desi u prvom trimestru, ali ukoliko se javi krajem drugog ili početkom trećeg trimestra može izazvati prevremeni porođaj i povezan je sa dodatno povećanim rizikom od cerebralne paralize (53). Dodatna analiza problema nestajućeg blizanca i neka oprečna opažanja autora na ovu temu biće izneta u daljem radu prilikom analize perinatalnih ishoda ART trudnoća.

1.7.3. Fetalna redukcija

Ova krajnje nepopularna mera, kako iz ugla njenog potencijalnog toka na dalji ishod trudnoće, tehničke zahtevnosti, ali i potencijalnih psiholoških konsekvenci po roditelje koji se u datim okolnostima odlučuju za nju, može se smtarati i merom za borbu protiv višeplodnih trudnoća (što svakako jeste), ali i fetalnom komplikacijom višeplodnih trudnoća.

Fetalna redukcija definiše se kao redukcija jednog ili više od ukupnog broja fetusa u višeplodnoj trudnoći, u prvom ili početkom drugog trimestra trudnoće, a sa ciljem da se smanji morbiditet i mortalitet koje sa sobom nose višeplodne trudnoće (76). Izvodi se po pravilu u tercijarnim ustanovama gde se pod kontrolom transabdominalne sonografije, pod kontrolom ultrazvuka igлом ubrizgava rastvor kalijum hlorida u srce ploda koji se želi redukovati (53). Standardno se izvode redukcije troplodnih i višeplodnih trudnoća višeg reda uz ostavljanje dva ploda kako bi rizik trudnoće sveo na razumnu meru, uz ostavljanje mogućnosti za dodatnom intervencijom selektivnog feticida ukoliko se u daljem toku trudnoće detektuje određena anomalija koja je osnov za ovaku intervenciju.

Glavni rizik ove procedure predstavlja svakako gubitak cele trudnoće (svih plodova) u daljem toku koji je na najvećoj sprovedenoj studiji na ovu temu na 3515 pacijenata kod kojih je procedura sprovedena iznosio 9,6% (77), što je poboljšanje u odnosu na ranije objavljene rizike od 12,3% (53). Prihvatanje ove procedure kao opcije od strane pacijenata i lekara razlikuje se od sredine do sredine u zavisnosti od brojnih zakonskih, običajnih i drugih normi i u određenim zemljama se kreće do 95% troplodnih trudnoća i 92% četvoroplodnih trudnoća (53).

U literaturi su, uprkos odsustvu dobro dizajniranih studija koje iz objektivnih razloga u datim okolnostima ne mogu ispuniti uslove objektivne randomizacije, dobro dokumentovane prednosti redukcije četvoroplodnih i trudoča višeg reda dok benefit redukcije troplodnih i naročito dvoplodnih trudnoča ostaje kontraverzan.

Jedna studija u redukciji troplodnih na jednoplodne ili dvoplodne trudnoče dokazala je da je redukcija na samo jedan plod ono što će dati značajno veću stopu terminskih porođaja (72,5% naspram 46,9%) bez značajne razlike u stopi gubitka trudnoče (9,1% naspram 5,1%), i ovo je u skladu sa drugim studijama koje nisu dobile značajnije javljanje gubljenja trudnoče kod troplodnih trudnoča koje nisu redukovane u odnosu na one koje su redukovane na blizanačke trudnoče (78).

Ipak, ovi izbori su veliki izazov za pacijente, uvek nose povećano breme anksioznosti i druge psihološke konsekvene, a i u kliničkom pogledu su zahtevni naročito u slučaju monohorionskog para višeplodnih trudnoča koje se ili redukuju u paketu ili se koriste opisane procedure, metodama fetoskopije i selektivne ablacji pupčanika ploda koji se želi redukovati (53).

1.7.4. Psihosocijalne konsekvene – rizici višeplodnih trudnoča

Kvalitet života, danas jedan od ključnih zadataka tretmana na svim poljima savremene medicine, značajno je oštećen u porodicama sa višeplodnim trudnoćama u odnosu na jednoplodne (79). Ovo je najverovatnije povezano sa većom količinom maternalnog emocionalnog stresa u navedenim situacijama (29), kao i stresa od strane oca i poremećaja bračnih odnosa.

Logično pitanje koje svi postavljamo je kako u praksi izgleda naći se u takvoj situaciji, čak i da su izbegnute ključne maternalne i fetalne komplikacije. Pitanje organizacije slobodnog vremena, usklađivanje profesionalnih obaveza, socijalnog života, adekvatnog stambenog prostora, prevoznog sredstva, hranjenja dece, njihovog oblačenja, školovanja i izdržavanja, izazov su i u jednoplodnim trudnoćama, a kamoli u situaciji kada jedan dom naseli dva, tri ili četiri nova stanara. I bez adekvatne studije, koje bi potkrepile ove tvrdnje, možemo sebi postaviti pitanje kad su se roditelji jednih trojki poslednji put naspavali, gde su našli prateću dečju opremu, i odakle crpe energiju kada entuzijazam dugo lečenog infertilitea konačno dođe na realnu meru.

Određene studije ukazuju da je psihosocijalno funkcionisanje porodica sa višeplodnom trudnoćom praćeno učestalijom pojavom brojnih komplikacija iz ovog polja.

Roditelji, pored ionako teškog perioda adaptacije na roditeljstvo, neretko moraju da se susreću sa brigom o bolesnom ili detetom sa posebnim potrebama bilo u smislu prematuriteta, drugih perinatalnih komplikacija ili dugoročnih sekvela.

Studije su opisale osećanja neadekvatnosti i nemoći, kao i nesigurnosti koju ovi roditelji češće osećaju u poređenju sa roditeljima jednoplodnih trudnoća, što često vodi povećanom parentalnom stresu, anksioznosti i depresivnosti, te potrebi za daljim tretmanom (80). I u spontanoj koncepciji zabeležena je veća stopa depresije kod majki blizanaca u odnosu na jednoplodne trudnoće (81).

Maternalna anksioznost i stres svakako mogu zahvatiti funkcionisanje cele porodice. Takođe nošenje blizanaca teže se podnosi od strane već prisutnog deteta u kući u smislu prilagođavanja na prinovu, što dodatno povećava pritisak na roditelje (82). Evidentno je da je

blizanačko roditeljstvo glavni faktor rizika za mentalno zdravlje pacijenata sa decom iz postupaka VTO (42). Finska studija je dodatno pokazala da je samo blizanačko roditeljstvo, a ne ART tretman glavni uzrok stresa i faktor koji otežava „tranziciju“ u period roditeljstva (42).

1.7.5. Komplikacije po zdravstveni sistem i ekonomski komplikacije

Uticaj na zdravstveni sistem i njegove troškove takođe je parametar koji se mora uzeti u obzir kada se analizira jedan ovako kompleksan problem. Sve gore navedeno ukazuje na ogromnu opterećenost zdravstvenog sistema i sledstvenih troškova koji eksponencijalno rastu sa brojem plodova. Ovi troškovi, i to samo neposredno sabrani sa trenutnim opterećenjem perinatoloških i neonatoloških odeljenja zdravstvenog sistema, bez nesagledivih i neprocenjivih troškova dugoročne onesposobljenosti dece iz ovih trudnoća, u realnoj i objektivnoj analizi drastično premašuju većinu troškova koje sama reproduktivna medicina nosi, iako se vrlo često ona percipira kao skuplji deo zdravstvenog sistema.

Na ovim osnovama su, kao što će kasnije biti ukazano, stručna tela u većini zemalja где је овај проблем успешио решен, dobili neophodnu podršku zakonodavnih struktura i društva у целини како би спровели свој програм.

Ove studije ispitivale су direktnе i indirektnе troškove IVF tretmana, ekonomski implikacije, uticaj na pristupačnost tretmanu, svakodnevnu kliničku praksu, kao i šire ekonomski posledice ART začete dece. Direktni troškovi ART tretmana variraju različito od zemlje do zemlje i SAD prednjači u ceni istog (42). Ipak, evropski modeli zdravstvenog sistema mahom se zasnivaju na konceptu solidarnosti i dostupnosti zdravstvene zaštite za sve

članove društva, tako da celokupni teret konačno i pada na zdravstveni sistem i budžet jedne zemlje (83).

Bitno je napomenuti da ukoliko se samo pacijentu ostavi da učestvuje u troškovima tretmana, to će neminovno iz maksimalne želje za uspehom i smanjivanjem ličnih troškova i oblikovati praksu u pravcu vraćanja većeg broja embriona i sledstvenog visokog broja multiplih trudnoća (84).

Procenjeno je da je u blizanačkim trudnoćama briga o majci skuplja dva puta, dok je neonatalna briga skuplja 16 puta, a kod trojki briga o ženi je skuplja četiri puta, a neonatalna briga čak 109 puta u odnosu na jednoplodne trudnoće (30). Jedna britanska studija je dobila procenu da se sredstvima utrošenim za brigu o troplodnoj trudnoći sa svim njenim posledicama moglo finansirati oko 2000 ciklusa VTO (71).

U Velikoj Britaniji je data procena da ukoliko bi se stopa multiplih trudnoća svela na 10%, troškovi zdravstvenog sistema koji se izdvajaju za lečenje posledica multiplih trudnoća, bila bi smanjeni u tolikoj meri, da bi ušteda pokrivala celokupno izdvajanje za vantelesnu oplodnju godišnje (30).

I druge studije su zaključile da multiple trudnoće doprinose povećanim troškovima zdravstvenog sistema pre svega kroz troškove intenzivnijeg antenatalnog monitoringa, i tretmana navedenih maternalnih i fetalnih komplikacija (85). Visok procenat operativnog porođaja, prematuriteta i sledstvenih troškova novorođenčeta i odojčeta generišu većinu ovih troškova (29). Podaci iz studija praćenja ART dece zaključuju da ART blizanci u prvoj godini života prave veće troškove nego ART jednoplodne trudnoće.

Belgijska studija je, pre uvođenja strategije o smanjenju multiplih trudnoća 2003. godine, pred zakonodavce iznela procenu da se smanjenjem stope multiplih trudnoća od 50% može uštedeti dovoljno sredstava za finansiranje celokupnog IVF programa u toj zemlji (86).

1.7.6. Komplikacije po postulate savremene kliničke prakse

Savremena akušerska i perinatološka praksa uspostavila je brojne standarde, protokole rada bazirane uglavnom na vodičima dobre kliničke prakse i medicine zasnovane na dokazima. Svedoci smo da sprovođenje istih postulata u praksi vrlo često može da bude veoma izazovno i da nosi sa sobom brojne kliničke, etičke, ali i medikolegalne komplikacije i dileme.

Tako je ceo sistem skrininga na hormozomopatije u prvom trimestru, sa svojim ogromnim konsekvcama, metode kariotipizacije, postulati aktivnog skrininga i prevencije prevremenog porođaja dostupnim kliničkim intervencijama i brojnih drugih specifičnih stanja sa kojima se svakodnevno susrećemo, u mnogome doveden u pitanje masovnom pojавom multiplih trudnoća iz postupaka ART (87).

Perinatolozi, koji se bave ovom oblašću, gde i sebe svrstavam, danas na raspolaganju imaju više alatki koje zadovoljavaju postulate medicine zasnovane na dokazima kojima mogu da se koriste sa sve većom pouzdanošću u navedenm situacijama, ali smo duboko svesni nesigurnosti, dodatnih komplikacija, i potencijalnih implikacija na naše svakodnevne odluke i njihove konsekvene.

Stoga je od izuzetne važnosti dalje usavršavanje svih navedenih postulata kliničkog rada, i razvoj adekvatnih protokola rada, ali načinom koncepcije i brojem plodova kao ključnim varijablama u interpretaciji rezultata i donošenju daljih kliničkih odluka.

Sumirajući dokaze o nepotrebno visokoj učestalosti brojnih komplikacija po navedenim poljima koje su zastupljene u višeplodnim trudnoćama, koje pak čine četvrtinu svih ART trudnoća, važno je napomenuti da je brojnim studijama dokazano da je učestalost svih komplikacija, o kojima se govori, bila uglavnom podjednaka u ART i spontanim višeplodnim trudnoćama, ukazujući da je višeplodonost i posledična nedonesenost ove dece, glavni uzrok lošijih perinatalnih ishoda, a ne ART sam po sebi (42).

Sve komplikacije višeplodnih trudnoća doprinele su tome da stručni krugovi na ovu pojavu danas gledaju kao na komplikaciju, a ne kao na uspeh postupaka ART-a, i da smanjenje stope višeplodnih trudnoća mora biti jedan od glavnih prioriteta pri kreiranju strategija i programa u asistiranoj reprodukciji.

1.8. Perinatalni ishod asistiranih reprodiktivnih tehnologija

Ovo pitanje takođe zahteva detaljnu elaboraciju rada, jer se isti bavi baš poređenjem perinatalnih ishoda ART i non ART trudnoća u jednom kompleksnom okruženju. Sam pojam trudnoće iz postupka VTO je kontraverzan i uprkos brojnim publikacijama i akumuliranim dokazima i dalje ostavlja dileme po pitanjima da li su ART trudnoće praćene lošiji perinatalnim ishodom, da li je on isto zastupljen u jendoplodnim i višeplodnim trudnoćama, kakve su posledice po decu i brojna druga pitanja. Ova pitanja svakako izazivaju i veliko interesovanje

ne samo stručne već i šire javnosti. Pored navedenih dilema, postoji i dilema da li unutar posmatranih okvira i drugi faktori (poput IVF ili ICSI procedure fertlizacije) dodatno doprinose zabeleženoj pojavi.

Ukupno gledano, ishod trudnoće iz postupaka VTO je gori nego nakon spontane koncepcije, ali primarno usled izrazito veće učestalosti mulitplih trudnoća (29, 42, 53).

Takođe, postoje indicije da je ovaj rizik i dalje povećan, mada značajno manje čak i kada se nezavisno porede ART i nonART jednoplodne i višeplodne trudnoće.

Pored opštih napomena vezano za ART trudnoću ističe se da dodatni faktor koji bi mogao da komplikuje ove trudnoće predstavlja i uznapredovala reproduktivna dob majke, nuliparitet, različiti faktori infertilitea, koji sam po sebi predstavlja faktor rizika za negativan ishod trudnoće, različita oboljenja koja eventualno dovode do infertilitea, upotreba različitih dijagnostičkih i terapijskih intervencija pre svega lekova, ali i operativnih procedura u lečenju infertilitea i brojnih drugih faktora (53). Detaljnija uloga ovih opisanih pojava objašnjenja je u diskusiji dobijenih rezultata. Opšte je zapažanje da brojne žene sa medicinskim stanjima i u starostnoj dobi u kojoj bi spontana koncepcija bila gotovo nemoguća danas postupcima ART mogu da dođu do trudnoće, unoseći u nju sve svoje karakteristike i komorbidna stanja koja ih prate, dodatno komplikujući tok trudnoće. Ovo je svakako dovelo do pandemijskih komplikacija iz oblasti maternalne medicine i pojavu trudnoća u senijumu, nakon multiplih transplantacija i brojnih drugih osobenosti (88).

ART nosi i određene protektivne faktore na tok i ishod trudnoće. To su pre svega dobra prekoncepcija, priprema pacijentkinje koja često izostaje u spontano začetim trudnoćama, češće viši socioekonomski status koji je bitan prediktor perinatalnog ishoda, potom smanjenje

ukupne učestalosti monohorionskih trudoća u blizanačkim trudnoćama, uglavnom niži prekoncepcijski indeks telesne mase i ređa pojava pušenja koja u određenim zemljama isključuje pacijenta iz šanse za ostvarivanje refundiranih postupaka VTO (89).

1.8.1. Perinatalni ishodi ART i non ART jednoplodnih trudnoća

Postoje dobro dokumentovani dokazi da je ishod jednoplodnih trudnoća iz postupka VTO po brojnim parametrima diskretno gori i kompromitovan u odnosu na spontano začete jednoplodne trudnoće. Skorija metaanaliza na ovu temu, koja je analizirala preko deset studija, dobila je da je rizik u jednoplodnim trudnoćama iz postupka VTO za antepartalno krvarenje 2,5 puta veći, rizik od kongenitalnih anomalija 1,67 puta veći, rizik od pojave hipertenzivnog sindroma u trudnoći 1,49 puta veći, rizik od prevremenog prsnuća plodovih ovojaka 1,16 puta veći, rizik od carskog reza 1,56 puta veći, ukupan rizik od perinatalnog mortaliteta 1,87 puta veći, rizik od prevremenog porođaja 1,54 puta veći, rizik od pojave gestacijskog dijabetesa 1,48 puta veći, rizik od indukcije porođaja 1,18 puta veći, rizik za intrauterine zastoj u rastu 1,39 puta veći kao i ukupni rizik od male porođaje telesne mase koji je za ove trudnoće bio 1,65 puta veći u odnosu na kontrolne spontane jednoplodne trudnoće (89).

Detaljnije objašnjenje ove pojave i pokušaj da odgovori na zadato pitanje zašto su ART jednoplodne trudnoće sa lošijim perinatalnim rizicima od non ART trudnoća dali su i Pinborg i saradnici u najnovijoj metaanalizi na datu temu (90). Oni su kao faktor rizika za prevremeni porođaj i sledstveni negativan ishod trudnoće ustanovili i vreme za ostvarivanje trudnoće od preko godinu dana (odnosno samo prisustvo infertiliteta) sa 1,35 puta većim rizikom za spontane trudnoće koje su imale ovu osobinu u odnosu na one koje su do začeća došli za manje

od godinu dana. Ipak, ART trudnoće su i od ove grupe pacijenata imale 1,55 puta veću šansu za prevremen porođaj. Indukcija ovulacije i IUI je takođe nosila 1,45 puta veći rizik od prevremenog porođaja u odnosu na normalno fertilne parove, i jedan od krucijalnih rezultata same studije je proizašao iz poređenja šanse za prevremen porođaj kod ART jednoplodne dece i njihovih rođenih braće i sestara začetih spontano kod određenog broja parova gde se ova pojava desila, a koji je bio 1,27 puta veći u ART grupi (90).

Sa druge strane, postupak ICSI je bio blago protektivan u odnosu na postupak IVF –a kako je nosio 20% manju šansu za prevremen porođaj, dok je isto zabeleženo i za cikluse sa zamrznutim embrionima kod kojih je šansa od prevremenog porođaja bila 15% manja nego u ciklusima sa svežim embrionima.

Konačan zaključak je da ART trudnoće nose male, ali jasno prisutne rizike od perinatalnog ishoda, i da pored subfertilitea kao dokazanog faktora negativnog perinatalnog ishoda i sama ART procedura, nosi dodatne rizike. Potencijalna uloga same procedure vantelesne oplodnje i/ili stimulacije ovulacije u postupku VTO najverovatnije imaju ulogu u tome (90).

1.8.2. Perinatalni ishodi ART i non ART višeplodnih trudnoća

Studije na ovu temu nisu tako jednoobrazne i sa konzistentnim zaključcima kao kod jednoplodnih trudnoća. Iako ima studija koje su identifikovale povećanje rizika za negativan ishod trudnoće kod ART višeplodnih trudnoća, nakon standardizovanja po godinama i drugim karakteristikama majke većina studija ukazuje na gotovo identične rizike u ART i non ART

višeplodnim trudnoćama, uz čak i većinu studiju koji dobijaju bolje perinatalne ishode u ART blizanačkim trudnoćama.

Tako metaanaliza na ovu temu dobija da kada se parovi blizanačkih trudnoća ART i non ART upare po godinama majke relativni rizik za prevremeni porođaj u ART vs no ART blizancima iznosi 1,07, i to za rođaj od 32 do 36 gestacijske nedelje dok rizik za porođaj pre 32. gestacijske nedelje relativni rizik iznosi svega 0,85. ART blizanci imaju samo viši rizik od carskog reza (1,05 -1,21 puta) (91). Postoje i studije gde je rizik prevremenog porođaja u ART blizanačkim trudnoćama išao i do 1,48 puta. Ipak, većina studija nije dobila statistički značajne razlike u ukupnoj učestalosti perinatalnog mortaliteta, intrauterinog zastoja u rastu, prisustvu i pojavi kongenitalnih anomalija kod ART i non ART blizanačkih trudnoća (92). Carski rez, kao što je navedeno, ostaje problem i druge studije su dobole za trećinu veće šanse za operativno završavanje trudnoće. Takođe, ni daljim praćenjem dece nije uočena povećana pojava razvojnih problema i kognitivnih deficitova (93).

Postoje i studije koje navode da su niska telesna masa i nedonošenost češće kod ART višeplodnih trudnoća, ali one su ipak ređe i uglavnom sa odsustvom standardizacije pacijenata (29).

Malo studija je poredilo i rizike troplodnih ART u odnosu na non ART trudnoće i dobitno je da je u ART troplodnim trudnoćama moguća veća pojava malformacija, ali je opisan broj slučajeva bio mali da se izvuku validni zaključci (94).

Velika danska studija, koja je poredila perinatalne ishode IVF i ICSI trudnoća, zaključila je da ART blizanci imaju slične neonatalne ishode kao i non ART blizanci. Takođe postoji i ekvivalentni dugoročni ishod među navedenim grupama, bez razlike u stopi cerebralne

paralize, hroničnih bolesti, potrebe za operativnim tretmanom ili prijemom u bolnici u daljem toku života (95). Ipak, ART blizanci imali su značajno veći rizik za većinu kratkoročnih i dugoročnih komplikacija i sekvela, uključujući i neurološko oštećenje i slabiji intelektualni razvoj u poređenju sa ART jednoplodnim trudnoćama (95).

U možda najvećoj pojedinačnoj studiji u jednom centru Ombelet i saradnici na 1655 ICSI i 3974 IVF jednoplodnih i 1102 ICSI i 2901 IVF blizanačkih trudnoća iz baze o 430565 rođenja pokušavaju da rasvetle ulogu kako modusa fertilizacije, tako i uticaja višeplodne trudnoće na obstetričke i perinatalne ishode (96).

Kod njih su IVF i ICSI jendoplodne trudnoće pokazale gotovo iste obstetričke i perinatalne varijable osim rizika o prematuritetu pre 37 gestacijske nedelje koji je za IVF trudnoće iznosio 12,4% a za ICSI trudnoće 9,2% uz OR od 1,39.

Za blizanačke trudnoće takođe rizici nisu pokazali značajnije varijacije u smislu IVF ili ICSI trudnoća osim blago veće učestalosti mrtvorođenja koje je za ICSI grupu iznosio 2,08% a za IVF grupu blizanaca 1,03% uz OR od 2,04. Takođe, intrauterine zastoj u rastu je u navedenoj studiji ART blizanaca bio češći u ICSI grupi (96).

Potencijalna uloga same procedure ili paternalnih karakteristika u ICSI grupi u navedenom periodu nije uzimana u razmatranje.

Sumarno o deci iz postupaka VTO navodimo zaključke velike studije Bergh i saradnika koji zaključuju da su većina dece iz programa VTO zdrava, uz veoma malu, ali statistički značajnu veću stopu malformacija, kao i da je glavni problem perinatalnog ishoda sama pojava višeplodnih trudnoća za koju SET daje sjajne stope porođaja uz drastično poboljšanje

perinatalnih ishoda. Većina zabeleženih negativnih aspekata ovih trudnoća najverovatnije je posledica određenih karakteristika samih roditelja, a ne IVF procedure kao takve (88).

1.9. Mere za smanjenje stope blizanačkih trudnoća u Evropi

Sve navedeno u prethodnom delu rada nameće, ne samo zaključak, već i osnovni zadatak rada u oblasti asistirane reprodukcije, strategiju za smanjenje stope multiplih trudnoća.

Preciznje govoreći i u skladu sa naslovom rada, strategija za rešavanje problema multiplih trudnoća iz postupaka VTO mogla bi se podeliti na mere za sprečavanje njihovog nastanka koje su svakako prioritetne i primarni cilj svih aktera u ovoj kompleksnoj oblasti, kao i mere za ublažavanje njihovih posledica.

I jedne i druge mere traže multidisciplinaran pristup, angažovanje svih aktera zdavstvene zaštite i celog društva u celini i po svojoj strukturi su u pravom smislu te reči sistemske mere.

Rešavanje posledica već nastalih višeplodnih trudnoća zasniva se na organizovanju perinatalne zaštite u smislu maksimalne šanse za optimalan ishod ovih trudnoća. Tu pored ranog upućivanja ovih visoko rizičnih trudnica u odgovarajuću specijalizovanu zdravstvenu ustanovu uz predloge za osnivanja i posebnih „blizanačkih klinika“ (30), glavnu strategiju predstavlja dalji razvoj i evaluacija postulata savremene kliničke prakse i unapređivanje svih opštih perinatoloških ciljeva. U prvom redu ova strategija podrazumeva pažljivo i od strane iskusnog kliničara vođenje ovakve trudnoće, uz neophodno razvijanje odgovarajućih smernica

i preporuka dobre kliničke prakse, a na postulatima medicine zasnovane na dokazima. Nije dovoljno samo preuzeti opšte preporuke iz oblasti perinatologije već se sa posebnom pažnjom svi aspekti vođenja trudnoće moraju prilagoditi specifično blizanačkoj trudnoći.

Drugi set mera sa ciljem na smanjenje učestalosti stope višeplodnih trudnoća je daleko bitniji pošto eliminiše ogroman deo problema pre nego što i nastane.

Ovo je opet izuzetno kompleksan i multidisciplinaran zadatak u kome je dovoljno da samo jedna karika zakaže pa da konačni rezultati izostanu. Rečeno je da ova strategija pored kliničara i IVF timova traži angažovanje i samih pacijenata, kao i upravnih struktura u zdravstvenom sistemu, zakonodavnih tela i domaćih i međunarodnih stručnih i nadzornih tela iz oblasti asistirane reprodukcije.

Osnovni zadaci navedenih mera su da redefinišu pojam uspeha vantelesne oplodnje, da uspostave uslove za implementaciju SET-a, da obezbede preduslove adekvatnog monitoringa, finansiranja i regulacije postupaka VTO, da se usvoje jasne strategije za smanjenje višeplodnih trudnoća koje bi se definisali domaćim i međunarodnim zakonskim odredbama.

Kako praktično polovina rođene IVF/ICSI dece u svetu pripada „setu multiplih beba“, grupa evropskih i američkih eksperata Bertarelli Group, 2003, predstavila je problem multiplih trudnoća kao multidimenzionalni problem i dala smernice o potrebi i načinu izbegavanja rađanja trojki i minimiziranju rađanja dvojki (97). Veliki broj naučnika koji se bave ovom problematikom još je pre više od decenije naveo potrebu uvođenja „single embryo transfer“ (SET) kako bi se smanjila mogućnost stvaranja multiplih trudnoća i svih komplikacija koja ona nosi sa sobom (98). Danas je o primenjivosti, rezultatima i neophodnosti SET kao standarda u IVF tretmanu uspostavljen gotovo univerzalni koncenzus, sa dobro

dokumentovanim podacima iz svakodnevne prakse, ali i sa brojnim analizama zašto njegova implementacija još ne dostiže željeni obim. Ovim aspektima SET detaljnije se bavi diskusija rada, kako baš oni definišu rešavanje problema VTO.

Pokušaj da se prvobitno uvede embryo transfer dva embriona, „double-embryo transfer“ (DET) ukazao je da je moguće eliminisati većinu trojki, ali se stopa blizanačkih trudnoća nije značajno smanjila. Takođe, iste studije dokazale su i da je ukupna stopa trudnoća primenom TET i DET bez statistički značajne razlike tako da je iz tog ugla TET absolutno neprihvatljiv kako nije realno očekivati benefit, a nosi sa sobom brojne multiplikovane rizike (30, 99, 100). Četiri velike randomizirane studije ukazuju da, kada se primenjuje SET jednog svežeg embriona i potom transfer jednog zamrznutog embriona FER (SET plus FER) kod selektirane populacije žena, stopa trudnoće (39,7%) je statistički bez razlike u odnosu na stopu trudnoće nakon vraćanja dva embriona DET (43,5%) (101, 102, 103, 104). Pojam selektiranja dobro-prognostičkih pacijenata koje imaju najveću šansu za uspeh ciklusa VTO, a samim tim i šansu za višeplodnu trudnoću u navedenom periodu još je predstavljala svakodnevnu praksu, iako svi noviji podaci ukazuju da se SET uspešno može primenjivati i u starijem životnom dobu, kod manje prognostički optimalnih pacijenata sa istim uspehom. Ovo se pre svega odnosi na starije pacijentkinje. Danas se SET ipak primenjuje neselektivno u većini slučajeva.

Grupa holandskih autora (105) ranije je (2006.) prikazala u grupi neselektiranih pacijentkinja da je SET daleko jeftiniji za društvo, ali i manje efikasan u stopi trudnoće u odnosu na DET (20,8% i 39,6%). ESHRE Capri Workshop Group ukazuje da je kod selektiranih pacijenata, kao rezultat više studija, stopa trudnoće signifikantno niža u grupi SET (30%) u odnosu na DET (46%), ali je stopa multiplih trudnoća kod SET daleko niža (2%) u odnosu na DET (35%) (106). Nasuprot većine evropskih autora nalaze se i neki, uglavnom

američki autori koji na osnovu svojih rezultata ukazuju na potrebu SET samo kao individualni pristup odabranim pacijentima (107). Ovo, kako je navedeno, više ne predstavlja standard u većini evropskih zemalja, a i vodiči američkog udruženja, o kojima će biti više reči u diskusiji, polako favorizuju SET.

Imajući u vidu saznanje o potrebi smanjivanja stope multiplih trudnoća i činjenicu da pozitivan test na trudnoću nije uspeh, a da zdrava beba jeste, već navedena australijska grupa (108) lansirala je novi koncept pod imenom „BESST“(birth emphasizing a successful singleton at term) kao najbolji kriterijum uspeha asistirane reprodukcije. BESST skor podrazumeva kompariranje podataka između IVF centara prepoznajući važnost porodjaja jedne zdrave bebe u pravo vreme.

Prvi izveštaj o „single“ embryo transferu - SET potiče od finske grupe autora 1997. (109). Treba napraviti razliku između **obavezognog SET** („compulsory“cSET) koji podrazumeva jedini dostupni embrion, obično lošijeg kvaliteta, sa niskom stopom implantacije i koga srećemo kod „poor respondera“ ili starijih žena. Druga vrsta je **medicinski SET** (mSET) kod žena kod kojih postoji rizik od multiple trudnoće zbog prethodne loše obstetričke istorije bolesti, kongenitalne anomalije uterusa, prethodno izgubljene multiple trudnoće, prethodnog prematuriteta, teške sistemske bolesti ili striktne želje pacijenta da izbegne blizanačku trudnoću. **Elektivni ili izborni SET** (eSET) potiče od latinske reči „eligere“ što znači birati i dati prednost, te se time odnosi na izabrani najbolji embrion od dva ili više dobra embriona (101).

Kako je potreba za smanjenjem stope višeplodnih trudnoća prepoznata pre više od decenije, brojni modeli širom sveta su uspostavljeni kako bi ispunili ovaj cilj. Preporuke

udruženja koje se bave humanom reprodukcijom savetovali su da se ograniči broj embriona koji se u određenom slučaju može vratiti u matericu žene. Kako je priroda ovih preporuka bila više savetodavna, a ne obavezujuća, neke zemlje su bile primorane da zakonom ograniče broj embriona.

Tako je u Velikoj Britaniji od 2003. godine na snazi zakon koji ograničava broj embriona koji se mogu vratiti u matericu na dva, kod žena do 40 godina i na tri, kod žena preko 40 god. Ove mere su praktično eliminisale trojke i trudnoće višeg reda, ali se stopa blizanačkih trudnoća nije značajno smanjila. Zbog toga je HFEA (Human Fertilisation and Embriology Authority) koje predstavlja centralno telo za kontrolu i licenciranje ustanova i stručnjaka za asistirano reprodukciju u Britaniji, osnovalo ekspertsку grupu sa ciljem da predloži mere za smanjivanje stope multiplih trudnoća nakon IVF-a. Tako je oktobra 2006. godine ekspertska grupa objavila izveštaj pod nazivom „One child at a time“. U njemu su analizirana iskustva i zakonske regulative različitih zemalja u Evropi, a koja se odnose na broj transferiranih embriona sa ciljem da se smanji stopa multiplih trudnoća (30).

Navedena analiza radne grupe navodi da je Belgija prva i za sada jedina zemlja koja je zakonski regulisala transfer ne više od jednog selektovanog embriona (eSET), kod pacijentkinja mlađih od 35 godina i to u prva dva pokušaja od ukupno šest pokušaja koje finasnira država. Od trećeg do šestog pokušaja u ovoj starosnoj grupi pacijentkinja, dozvoljen je prenos dva embriona.

Kod pacijentkinja starosne dobi od 35-39 godina dozvoljen je prenos dva embriona u prva dva pokušaja, dok je od trećeg do šestog pokušaja dozvoljen prenos tri embriona.

Kod pacijentkinja starijih od 39 godina nema limita u broju transferiranih embriona. Time su se u poptunosti izbegle trojke i multiple trudnoće višeg reda. Ovim modelom, blizanački porođaji su smanjeni na 7% od ukupnog broja svih porođaja nakon IVF-a. Belgijski model je prikazan kao prvi zakonski regulisan pozitivni model smanjivanja multiplih trudnoća i porođaja, pre svega zbog uloge države koja je prihvatile finansiranje šest pokušaja IVF-a na ovaj način. Time se pokazalo da struka i država odgovarajućom zakonskom legislativom mogu doprineti rešavanju problema višeplodnih trudnoća (110). Slovenija je odmah po uspostavljanju belgijskog modela i sama promovisala i implementirala sličnu strategiju baziranu na finansijskom favorizovanju SET-a sa velikim uspehom i ogromnim implikacijama po praksi o kojima će dalje biti više reči.

Navedeni izveštaj radne grupe detaljnije analizira stanje regulacije i primene SET po različitim zemljama sveta. Po njihovim analizama Švedska i Finska su zemlje u kojima je Nacionalni bord zdravlja dao preporuku da bi trebalo raditi eSET, pri čemu to nije zakonska legislativa, nego samo preporuka, koja je dovela da se tada 70% svih IVF ciklusa izvodi kao eSET, pri čemu je održana ista stopa trudnoće, ali je stopa blizanačkih trudnoća smanjena na 5% (30, 111). Danas ovaj postotak prelazi i 80 % uz još bolje rezultate i gotovo eliminisanje višeplodnih trudnoća nakon postupaka VTO (12). Ovi primeri takođe su praktičnim implikacijama nagomilali dokaze koji su osnov za definisanje ciljeva i planiranje strategija u smanjenju stope multiplih trudnoća nakon postupaka VTO.

Ranije opisana varijabilnost u implementaciji SET-a i stopu multiplih trudnoća (12), pored svih navedenih faktora, pre svega je posledica legilsativnih mera i regulisanje oblasti asistirane reprodukcije koja značajno varira po zemljama. Potreba za usklađivanjem regulative IVF postupaka nameće se kao poseban zadatak ESHRE-a, kao i Evropske komisije (12, 16).

Po izveštaju ekspertske grupe Nemačka, Austrija i Švajcarska, za razliku od prethodnih zemalja, aktom o zaštiti embriona 1990. godine, nisu dozvolile kultivaciju više od tri oocite dalje od stadijuma pronukleara pri čemu nema embrio selekcije i zamrzavanja emrbiona u stadijumima deobe, a svi nastali emrbioni se moraju transferirati (30).

Italija, takođe, ima rigorozan zakon, koji je doveo do značajnih posledica po praksi i čija je izmena uveliko najavljena i u proceduri je sprovođenja. Po trenutno važećoj regulativi dozvoljena je fertilizacija samo tri oocite i svi nastali embrioni moraju biti transferirani, pri čemu nema njihovog zamrzavanja. To je uzrokovalo da je Italija dugo imala najveću stopu transfera tri emrbiona u Evropi (30).

Francuska, Španija, Portugalija i Grčka nemaju legislativu i regulaciju smanjivanja broja mulutplih trudnoća, niti broja emrbiona koji se vraćaju, ali isto tako nisu značajni pokušaji da se implementira model eSET od strane stručnih tela (30).

U SAD nema zakonske regulacije, ali postoji vodič izdat od strane ASRM (American Society of Reproductive Medicine) koji savetuje transfer ne više od dva embriona kod pacijentkinja sa dobrom prognozom ili četiri emrbiona kod pacijentkinja sa lošom prognozom(30). Revidirana verzija navedenog vodiča dodatno smanjuje savetovani broj emrbiona, ali i dalje ni u jednom slučaju eksplisitno ne zahteva sprovođenje SET-a.

Na osnovu švedskog modela koji primenjuju eSET u skoro 70% svih IVF ciklusa, zaključeno je da primena eSET u 50% svih IVF ciklusa može dovesti do stope multiplih trudnoća koja se sigurno kreće ispod 10%, što predstavlja zadovoljavajući rezultat i trenutni cilj za mnoge zdravstvene sisteme, iako i on daleko odudara od 1,5% višeplodnih trudnoća u spontanoj koncepciji (111). Takođe je zaključeno da su preduslovi za ostvarivanje ovog cilja

kvalitetni kriterijumi za selektovanje pacijenata pogodnih za eSET, što se danas smatra manje bitnim.

Neophodna je edukacija stručnog kadra i podizanje svesti o rizicima multiplih trudnoća i porođaja, kako među lekarima, tako i među pacijentima. I na kraju, zaključak ovog centralnog tela u Velikoj Britaniji je da je neophodna saradnja i angažovanje svih relevantnih institucija uključenih u zdravstveni sistem zemlje kako bi se ispoštovale preporuke NICE (National Institute of Clinical Excellence) o potrebi za minimum tri ciklusa finansiranih od strane države. Pod ciklusom se pri tome podrazumeva, ciklus sa transferom svežih i odmrznutih embriona koji se dobijaju pri jednom pokušaju stimulacije.

Situacija u našoj zemlji je komplikovana i u datim okolnostima teško rešiva bez uključivanja svih gore pomenutih faktora koji će imati zajednički cilj - smanjivanje stope multiplih trudnoća i porođaja (112). Samo dva pokušaja finansirana od strane države, kao i do skora odsustvo sistema za krioprezervaciju embriona koji ni danas nisu pokriveni zdravstvenim osiguranjem u državnim institucijama, onemogućava primenu bilo koje efikasne strategije za smanjivanjem stope multiplih trudnoća.

Očekuje se da je zakon o biomedicinski potpomognutoj oplodnji, kao i podzakonska akta koja su nedavno uvedena, prvi korak u kompleksnoj borbi za smanjenje multiplih trudnoća. Ipak, od ovih mera koje su odredili maksimalni broj embriona na tri, ne može se очekivati da će dati konkretnе vodiče kliničke prakse u broju primene SET-a, kao i u smislu obaveznog eSET-a kao što je to urađeno u slovenačkom i belgijskom modelu.

Ipak, najveći teret problema ostaje na leđima i u domenu stručnih institucija i timova koji se bave asistiranom reprodukcijom, pri čemu će njihov glas biti presudan. Neophodna

karika u ovom lancu uspeha i rođenja jednog zdravog deteta u pravo vreme, sigurno jeste i podrška državnih organa koji bi bili spremni da povećaju broj pokušaja IVF ciklusa, minimum na tri, ali uz konačno započinjanje zakonski regulisane primene elektivnog SET-a (112).

U prilog tome ide veliki broj rezultata različitih studija koji svi zajedno ukazuju na ogroman trošak za državu u smislu perinatalne zaštite, lečenja i rehabilitacije dece iz multiplih trudnoća.

1.10. Društvena i naučna opravdanost istraživanja

Potrebe ovog istraživanja proistekle su kao posledica situacije asistiranih reproduktivnih tehnologija u našoj zemlji. Situacija je takva da je dugo očekivani zakon o biomedicinski potpomognutoj oplodnji (BMPO) usvojen tek pre par godina i da je ova oblast po prvi put zakonski regulisana u našoj zemlji, ali izostajanje njegove pune implementacije u svakodnevnoj praksi je i dalje prisutno.

To je bio prvi korak prvenstveno u kontroli ciklusa asistirane reprodukcije, a potom i svih njenih posledica i implementacija na svakodnevnu kliničku praksu.

Do sada se može sa pravom reći da je kod nas postojao period dugogodišnjeg rada bez ikakve kontrole prijave ART ciklusa i njihovih ishoda. Država nije imala saznanje kako o broju urađenih ART ciklusa u našoj zemlji, tako i o njihovim ishodima, perinatalnom morbiditetu i mortalitetu rođene dece, a isto tako o broju i problemima višeplodnih trudnoća. Postojao je samo subjektivni utisak ginekologa i akušera u ovoj zemlji da postoji problem, posebno u

perinatalnim ishodima višeplodnih trudnoća i velikom broju nedonešene dece i svim problemima koja ona sa sobom nose.

Mere za sprečavanje ove pojave nisu postojale, prvenstveno iz razloga što nije bilo zakonske kontrole broja transferiranih embriona, te se on, ne retko, svodio na više od tri embriona. Isto tako nije postojala kontrola ustanova, posebno privatnih, ali i državnih, što je sve omogućavalo da se asistirana reprodukcija sprovodi stihijski, bez pravog reda.

Uvođenje Nacionalnog programa vantelesne oplodnje finansiranog od strane države krajem 2006. godine, prvobitno u državne institucije, a potom i u privatne, po prvi put je dalo rezultat relativne kontrole toka i ishoda IVF ciklusa. Prvobitno je dat jedan IVF pokušaj bez krioprezervacije i odmrznutih ciklusa, a od skora je uveden i drugi pokušaj IVF-a sa uvođenjem zamrzavanja i odmrznutog ciklusa, finansiran od strane države.

Pojam „relativna kontrola“ proistekla je iz malo refundiranih pokušaja sa rezultatima visoke stope trudnoća transferiranjem većeg broja embriona, ali na račun velikog broja nastalih višeplodnih trudnoća. Ovo, uz nemogućnost zamrzavanja embriona, i refundacije istih, dalo je ogromnu stopu višeplodnih trudnoća čiji smo mi svedoci, a koji se na našoj Klinici kreće i do 35% (24).

Ova činjenica je nametnula kao potrebu analizu rezultata ishoda višeplodnih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje, kako bi se identifikovalo da li su i u kojoj meri ove trudnoće lošijeg perinatalnog ishoda u odnosu na spontano začete višeplodne trudnoće, kao i da se kvantificuje svakako očekivani problem multiplih trudnoća na našim rezultatima u poređenju sa jednoplodnim trudnoćama, i da rezultati ovog istraživanja, kao autentičnog u našoj sredini, budu osnov za predlaganje mere za njihovo smanjivanje nadležnim instanicama.

Još jedna velika uloga i cilj našeg istraživanja je i obezbeđivanje svežih i validnih kliničkih podataka za koje očekujemo da će biti od velike koristi u konsultativnom radu sa našim pacijentima i pružiti im sve neophodne dokaze da donesu najbolju odluku o svom i zdravlju svog potomstva.

2. Ciljevi istraživanja sa naglaskom na rezultate koji se očekuju

Primarni cilj istraživanja je analiza toka i ishoda višeplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama u odnosu na višeplodne trudnoće nastale spontanim putem.

Pored navedenog cilj je i analizirati tok i ishod višeplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama u odnosu na jednoplodne trudnoće nastale asistiranim reproduktivnim tehnologijama.

Na osnovu definisanih ciljeva neophodno je utvrditi da li postoji razlika između dece rodene iz višeplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama, jednoplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama i spontanih višeplodnih trudnoća.

Očekivani rezultati, na osnovu analize stranih studija, ukazuju na bolje perinatalne ishode jednoplodnih u odnosu na višeplodne trudnoće koji se očekuju, kao i odsustvo razlike u perinatalnom ishodu višeplodnih trudnoća kada se kao mera poređenja uzima modus koncepcije, odnosno izvođenje postupaka vantelesne oplodnje.

Na osnovu literaturnih podataka, analize stanja legislativnih mera u našoj sredini kao i primerima iz drugih zdravstvenih sistema, cilj je identifikovati i ukazati na moguću strategiju u smanjenju broja multiplih trudnoća nakon vantelesne oplodnje, uz pažljivu evaluaciju rezultata sprovođenja istih mera u zdravstvenim sistemima gde je ona sprovedena i prevođenja ovih dostignuća u našu svakodnevnu praksu.

Poseban cilj je navedeno ovladavanje relevantnim kliničkim pokazateljima iz naše prakse koji će nam služiti kao osnov za svaku dalju legislativnu, stručnu i naučnu delatnost, a u prvom redu i kao meru za kvalitetno savetovanje naših pacijenata kako ih ne bi uskratili za pravo da usled odsustva kvalitetnih informacija koje su im dostupne budu uskraćeni za mogućnost donošenja najbolje odluke.

3. Hipoteze koje proizilaze iz ciljeva istraživanja

1. Postoji statistički značajna razlika u većini ispitivanih parametara perinatalnog ishoda između višeplodnih i jednoplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama, a u korist jednoplodnih trudnoća iz postupaka vantelesne oplodnje, ogledanih pre svega kroz manju dostignutu gestacijsku starost, manju porođajnu telesnu masu, povećanu učestalost prevremenog porođaja, gore ukupno zdravstveno stanje novorođenčadi, kao i povećanu učestalost većine komplikacija po zdravlje majke u trudnoći.

2. Broj komplikacija tokom trudnoće i porođaja kod jednoplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama manji je u odnosu na višeplodne trudnoće nastale asistiranim reproduktivnim tehnologijama.

3. Deca iz jednoplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama rađaju se bliže terminu porođaja, veće prosečne gestacijske starosti i veće porođajne telesne mase, sa boljim Apgar-skorom, manjom potrebom za neonatalnom intenzivnom negom, manjom smrtnošću i uz manje komplikacija.

4. Perinatalni ishodi višeplodnih trudnoća nastalih asistiranim reproduktivnim tehnologijama i višeplodnih trudnoća nakon spontane koncepcije neće pokazati statistički značajnu razliku u perinatalnim ishodima toka i ishoda trudnoće, po gotovo svim ispitivanim parametrima ishoda kako po zdravlje majke tako i po zdravlje deteta.

4. Materijal i metode

Istraživanje je sprovedeno u dve suksesivne faze na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine i sastojalo se iz faze retrospektivne komparativne studije - analize podataka porođaja svih ispitanica uz identifikovanje višeplodnih trudnoća, kao i trudnoća za koje su postojali podaci o začeću postupkom vantelesne oplodnje, u periodu od dve godine i to počevši od 01.01.2008. godine do 31.08.2009. godine, kao i druge faze koja je prospektivnim longitudinalnim praćenjem toka i ishoda višeplodnih trudnoća iz postupka vantelesne oplodnje ili spontano začetih višeplodnih trudnoća, kao i jednoplodnih trudnoća začetih postupkom vantelesne oplodnje analizirala tok trudnoće i perinatalne ishode za trudnice porođene od 01.01.2010. godine do 31.12.2010. godine.

Prva faza sprovedene je po dizajnu kao retrospektivna opservaciona komparativna studija ishoda svih porođaja na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra

Vojvodine u period od 01.01.2008. do 13.12.2009. godine. Klinika za ginekologiju i akušerstvo KCV predstavlja tercijarni centar za oblast kojoj gravitira populacija od približno dva miliona ljudi, i u koju se upućuju većina trudnica iz pomenute oblasti čiji tok i karakteristike trudnoće definišu istu kao rizičnu trudnoću i gde po pravilu spadaju višeplodne trudnoće. One se, međutim, upućuju, ne retko, samo radi samog akta porođaja tako da je za dati period porođajnih protokola uz uvid u medicinsku dokumentaciju, koja se skladišti u arhivi Klinike za ginekologiju i akušerstvo KCV, predstavljala osnov dobijanja kliničkih podataka za analizu.

U navedenom periodu na Klinici za ginekologiju i akušerstvo porođeno je 12888 žena. Od navedenog broja 282 trudnoće bile su višeplodne, i to 262 blizanačke i 20 troplodnih trudnoća, i one su obuhvaćene analizom. Sve blizanačke trudnoće bez obzira na horionicitet uzete su u razmatranje.

Trudnoće koje su se završile pre navršene 24 gestacijske nedelje ili sa telesnom masom novorođenčadi ispod 500g nisu bile predmet analize. Kako navedena ustanova predstavlja jedino i centralno porodilište u svom okrugu u analizu su uključene sve višeplodne trudnoće za koje je identifikovano da su produkt spontane koncepcije ili asistiranih reproduktivnih tehnologija metodama IVF ili ICSI, bez obzira na mesto i način izvođenja metoda asistirane reprodukcije, odnosno analiza je obuhvatila i trudnoće iz postupka vantelesne oplodnje koje nisu sprovedene na našoj klinici i za koje nismo imali uvid u protokol rada samog postupka vantelesne oplodnje.

Pored višeplodnih trudnoća koje su posmatrane u navedenom periodu, analizirane su i jednoplodne trudnoće iz postupka vantelesne oplodnje, ali samo one kod kojih je sam postupak vantelesne oplodnje sproveden na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV po utvrđenoj i

dalje opisanoj metodologiji rada. Na zavodu za Humanu reprodukciju KCV vodi se i arhivira baza podataka svih ciklusa vantelesne oplodnje za posmatrani period, te su podaci dobijeni uvidom u navedenu bazu upoređivani sa dobijenim podacima opisanom metodologijom rada.

Od višeplodnih trudnoća u navedenom periodu za četiri je utvrđeno da su produkt lečenja infertiliteta metodama koje ne podrazumevaju upotrebu asistiranih reproduktivnih tehnologija (stimulacija ovulacije, IUI), te su one isključene iz dalje studije.

Kako je prva faza ispitivanja vođena kao retropsektivna studija, osnovni izvor podataka su bili navedeni protokoli Zavoda za perinatologiju KCV i arhivirane medicinske istorije bolesti. Od 282 porođene višeplodne trudnoće u navedenom period za 56 trudnoća u pratećoj medicinskoj dokumentaciji nije postojao podatak o načinu koncepcije, što spada u domen prava pacijenata, i kako ne postoji centralni nacionalni registar postupaka vantelesne oplodnje i njihovog daljeg praćenja i ishoda, kao ni drugi vid implementiranog nacionalnog nadzora postupaka vantelesne oplodnje, koji bi mogao biti korišćen u svrhu prikupljanja navedenih kliničkih podataka, ove ispitnice su isključene iz dalje analize, kao i prethodno opisane četiri pacijentkinje.

Podaci su nakon adekvatne selekcije ispitanica, unošeni u posebno dizajniranu bazu podataka, od strane obučenih kliničkih lekara angažovanih u svemu istraživanja, po utvrđenoj metodologiji rada i naknadno objedinjeni u centralnu bazu podataka zajedno sa grupom ispitanica iz druge faze istraživanja.

Iz medicinske istorije bolesti sakupljeni su podaci o osnovnim demografskim, antropometrijskim i medicinskim karakteristikama samih pacijentkinja, kao i dostupni podaci o toku trudnoće, potencijalnim komplikacijama i perinatalnim ishodima po majku i dete koji

su dalje dodatno definisani. Ovu fazu istraživanja, s obzirom na njen retrospektivni dizajn, karakteriše slabija validnost kliničkih podataka koji su bili dostupni o toku samih trudnoća usled odsustva praktično implementirane uniformnosti ispunjavanja podataka od kliničke značajnosti za tok i ishod višeplodnih trudnoća.

Druga faza je po svom dizajnu predstavljala prospektivnu kohortnu longitudinalnu studiju u kojoj su u periodu od 01.01.2010. do 31.12.2010. prospektivno praćeni i analizirani tok trudnoće i perinatalni ishodi jednoplodnih trudnoća iz postupaka vantelesne oplodnje sprovedenih na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine, višeplodne trudnoće nastale iz postupaka vantelesne oplodnje na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine, kao i višeplodne trudnoće za koje je anamnestički potvrđeno da su produkt spontane koncepcije i koje su u našu ustanovu upućene do 14. gestacijske nedelje, kada se nakon ultrazvučnog pregleda na našoj Klinici od strane jednog kliničara, utvrđivanja horioniciteta i osnovnih karakteristika trudnice i trudnoće, a nakon isključivanja lečenja infertiliteta drugim metodama, ovakva trudnoća uključivala u studiju. Prethodni paritet nije bio razlog za isključivanje iz studije.

Druga faza istraživanja je obuhvatila ukupno 125 višeplodnih trudnoća od kojih su sedam bile troplodne i 118 blizanačkih. Od navedenih ispitanica smo, u ovoj fazi istraživanja, posedovali podatke o modusu koncepcije za svaku ispitanicu tako da one po navedenom osnovu nisu bile isključene iz dalje analize. Kako se šest pacijentkinja nisu porodile na našoj klinici (četiri spontano začete višeplodne trudnoće i dve iz postupka vantelesne oplodnje), za njih nismo imali direktni uvid u medicinsku istoriju i perinatalne ishode, a telefonska anketa nije podrazumevala metodologiju rada u aktuelnoj studiji, one su isključene iz dalje studije.

Od navedenih 125 višeplodnih trudnoća inicijalno 67 bilo je iz postupaka vantelesne oplodnje, a 58 spontano začetih višeplodnih trudnoća od kojih je, nakon gubljenja iz daljeg toka studije, finalno ostalo 65 višeplodnih trudnoća iz postupka VTO i 54 spontano začete višeplodne trudnoće. Ukupan broj porođaja za datu godinu nije bio predmet istraživanja. Navedena prospektivna analiza nije obuhvatala sve višeplodne trudnoće, već samo one začete na našoj klinici i upućene na našu kliniku do 14 gestacijske nedelje u slučaju da je reč o spontanoj koncepciji.

Podaci o toku i ishodu navedenih višeplodnih trudnoća finalno su uneti u posebno dizajniranu bazu podataka kompjuterskog programa „Microsoft Excell 2007“ gde su spojeni sa retrospektivno dobijenim podacima o toku i ishodu višeplodnih trudnoća iz prve faze studije.

Posebna faza predstavljala je pomenuta analiza toka i ishoda jednoplodnih trudnoća nastalih postupkom vantelesne oplodnje na Klinici za Ginekologiju i akušertsvo u posmatranom periodu od tri godine, koje su na našoj Klinici i porođene i ovi podaci su preuzeti sa pomenute interne baze podataka Zavoda za humanu reprodukciju KCV. Podaci o jednoplodnim trudnoćama iz postupka vantelesne oplodnje, a u smislu toka trudnoće i osnovnih perinataknih ishoda, korišćeni su kao kontrolna grupa za poređenje sa višeplodnim trudnoćama iz postupka vantelesne oplodnje identifikovanih u toku istraživanja i uključenih u studiju.

Rezultati celokupnog programa vantelesne oplodnje, dobijeni uz odobrenje iz navedene baze, korišćeni su u svrhu uvida u protokol rada, doktrinu sprovođenja svih aspekata postupka vantelesne oplodnje na našoj Klinici, kako ovo nije bila tema istraživanja, a dobijeni podaci u

mnogome određuju osnovne karakteristike naše studije, pre svega u smislu analiziranja stope višeplodnih trudnoća i broja vraćenih embriona u postupcima VTO.

Finalno je studija od primarno identifikovanih 407 višeplodnih trudnoća obuhvatila 337 višeplodnih trudnoća u posmatranom periodu od tri godine od kojih je 163 trudnoća nastalo postupkom vantelesne oplodnje (grupa I), a 174 nakon spontane koncepcije (grupa II). Od navedenih 337 višeplodnih trudnoća 320 predstavljale su blizanačke a 27 troplodne trudnoće (od kojih je 24 nastalo postupkom vantelesne oplodnje, a tri su bile spontane troplodne trudnoće), jer je jedna od trudnica isključenih iz studije zbog lečenja infertilitea drugim metodama sem postupcima ART bila iz kategorije troplodnih trudnoća. Kontrolnu grupu jednoplodnih trudnoća nakon postupka vantelesne oplodnje (grupa III) preuzetih iz pomenute baze sačinjavalo je ukupno 155 trudnica kako nisu sve trudnoće iz pomenute baze porođene na našoj klinici što je radi standardizacije rada i validnosti kliničkih podataka postavljeno kao metodološki standard u sprovođenju istraživanja.

Ukupan uzorak ispitanica je dakle od primarno obrađenih 562 iznosio 492 ispitanice.

4.1. Način izbora i konstrukcija uzorka

Na osnovu prepostavljenih 10% razlike za parametre perinatalnog ishoda koji je uzet kao statistički značajan i dozvoljenu mogućnost statističke greške od $\alpha=0,05$ konsultacijom sa statističarom i analizom mogućeg obima pojave u posmatranom trogodišnjem periodu predviđeni uzorak ispitanica koje pripadaju višeplodnim ART i non ART trudnoćama i porođajima, kao i jednoplodnim ART trudnoćama i porođajima iznosio je oko 500 uz

prepostavljenu približno simetričnu raspodelu po navedenim kategorijama. Uzorak je finalno dostigao željene ciljeve uz 492 finalno obrađene trudnice koje su po gore navedenim karakteristikama predstavljale tri ispitivane grupe, premda su jednoplodne trudnoće iz postupka ART u užem smislu te reči predstavljale kontrolnu grupu.

Kriterijumi za uključivanje u istraživanje bili su:

- porođaj trudnice sa višeplodnom trudnoćom nakon postupaka vantelesne oplodnje metodom IVF ili ICSI, ili spontano začete višeplodne trudnoće koji je obavljen na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV u period od 01.01.2008. do 31.12.2009. godine;
- porođaj trudnice sa višeplodnom trudnoćom nakon postupaka vantelesne oplodnje metodom IVF ili ICSI, ili spontano začete višeplodne trudnoće koji je obavljen na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV u period od 01.01.2010. do 31.12.2010. godine uz uslov da je trudnica do 14. gestacijske nedelje bila uključena u istraživanje na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV;
- porođaj trudnice sa jednoplodnom trudnoćom nakon postupaka vantelesne oplodnje metodom IVF ili ICSI, sprovedene na Klinici za ginekologiju i akušerstvo i porođene na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV u period od 01.01.2008. do 31.12.2010. godine.

Pod porođajem je smatran kompletan porođaj svih plodova, mrtvih ili živih nakon navršene 24 gestacijske nedelje ili dostizanja telesne mase od 500 grama.

Paritet, horionicitet, intervencije u trudnoći, i druge maternalne karakteristike, nisu za navedeni period uzeti kao kriterijum za uključivanje.

Kriterijumi za isključivanje iz istraživanja bili su:

- svi pobačaji iz višeplodnih trudnoća ART-a i višeplodnih spontanih trudnoća, kao i jednoplodni pobačaji iz ART-a po kriterijumima lokalno primenjene doktrine za definiciju pobačaja (svi mrtvorodeni plodovi ispod 500 grama ili manji od 24 gestacijske nedelje bez obzira na gestacijsku starost);

- postojanje azoosoermije kod muškog partnera, te potrebe za biopsijom testisa kao metode asistirane reprodukcije (TESE);

- nepostojanje podataka o načinu koncepcije za porođene trudnice u posmatranom periodu, kao i postojanje podataka o koncepciji iz domena ART, a koji ne podrazumevaju klasičan IVF ili ICSI (ciklusi sa doniranim gametima, IVM, PGD, i drugo);

- trudnoće nastale drugim metodama lečenja infertiliteta koje ne podrazumevaju vantelesnu oplodnju.

Ispitivanje je sprovedeno uz pismenu saglasnost pacijentkinja u drugoj prospektivnoj fazi istraživanja, kao i potvrde o pisanoj saglasnosti o upotrebi podataka u svrhu dalje analize notiranoj i evidentiranoj u istorijama bolesti trudnica iz prve faze ispitivanja, a u skladu sa praksom ispitivanja na našoj klinici.

Ispitivanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Kliničkog centra Vojvodine, kao nadležnih instanci same Klinike za ginekologiju i akušerstvo KCV.

4.2. Metodologija rada

Sam postupak vantelesne oplodnje sproveden je u Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i akušerstvo KCV po utvrđenim protokolima i standardima rada na odeljenju. Svi postupci vantelesne oplodnje sprovedeni su u okviru kontrolisane ovarijalne

hiperstimulacije. Primjenjivan je, po kliničkim indikacijama, jedan od tri standardno korišćena protokola kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije:

1. Dugi protokol sa GnRH agonistima obuhvatao je sledeće: svakodnevno korišćenje aGnRH (Triptorelin 0,1 mg) od 16. dana prethodnog ciklusa. Stimulacija gonadotropinima (rekombinantni FSH i humani menopauzalni hMG) počinjala je kada su kontrolne vrednosti LH i Estradiola bile za LH manje od 1,5 IUI/ml, a za E2 manje od 20 pg/ml. Svakodnevni ultrazvučni monitoring primjenjivan je do momenta postizanja vrednosti od 20 mm minimum tri dominatna folikula, kada se davala injekcija hCG u dozi od 10.000 ij.

2. Kratki protokol sa GnRH agonistima razlikovao se po tome što je obuhvatao primenu Triptorelina 0,1 mg u svakodnevnoj dozi počevši od prvog dana ciklusa, a potom primenu egzogenih gonadotropina od drugog dana ciklusa. Dalja procedura je bila istovetna kao u dugom protokolu.

3. Kratki protokol sa GnRH antagonistima predstavljaо je fleksibilni protokol koji je podrazumevao primenu egzogenih gonadotropina u individualnim dozama (rekombinantni FSH i humani menopauzalni hMG). Uklučivanje antagonista (cetrorelix acetat 0,25 mg) sledilo je kada bi vrednost estradiola premašila 300 ng/ml ili ultrazvučni monitoring pokazao vrednost folikula veću od 13 mm. Stimulacija se nastavljala do postizanja vrednosti od 18mm minimum 3 dominatna folikula kada se davala injekcija hCG u dozi od 10.000 ij.

35-36 h nakon finalne injekcije hCG-a, bilo koji protokol stimulacije da je korišćen, u kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji sprovedena je punkcija i aspiracija kompleksa kumulus oocita pod kontrolom transvaginalne endosonografije. Dobijene jajne ćelije upućivane su u embriološku laboratoriju zajedno sa svežim uzorkom partnera gde je kliničko

osoblje laboratorije dalje sprovodilo metode in vitro fertilizacije po embriološkim indikacijama (IVF ili ICSI) po važećoj embriološkoj proceduri. Nakon kultivacije embriona u odgovarajućem medijumu i adekvatnim laboratorijskim uslovima, procedura embriotransfера sprovedena je trećeg dana nakon oplodnje u in vitro uslovima vraćanjem 1-3 embriona, na osnovu odluke pacijenta, uz prethodne konsultacije sa lekarom i embriologom. Sama procedura sprovedena je plasiranjem embriotransfer katetera i naknadnom ultrazvučnom verifikacijom pozicije medijuma sa embrionima u kavumu uterusa. Do 12. gestacijske nedelje svim pacijentima ordinirani su preparati mikronizovanog progesterona u dozi od 600 mg dnevno i savet za vaginalnu aplikaciju.

U daljem toku trudnoće, u drugoj fazi studije, ultzrazvučni pregled od 11. do 14. gestacijske nedelje, obavljen je transabdominalnom sondom ili ređe transvaginalnom endosonografijom po smernicama Fetal Medicine Foundation za ultrazvučni pregled u prvom trimestru. Tom prilikom je pored standarnog pregleda definisanog opisanim smernicama utvrđivan, između ostalog, i broj plodova, horionicitet postojanjem lambda ili T znaka, i od presudne važnosti je tačno datiranje trudnoće, gde je za spontano nastale trudnoće datiranje sprovedeno na osnovu datuma početka poslednje menstruacije. U navedenim trudnoćama eventualna korekcija datuma trudnoće i verovatnog termina porođaja vršena je na osnovu biometrije ploda (merenjem temenotrtične distance od 11. do 14. gestacijske nedelje). Ukoliko bi ovakvo merenje odstupalo za više od pet dana u odnosu na prethodno utvrđivanje starosti trudnoće, tada bi se gestacijska starost, utvrđena biometrijom, uzimala kao validna. Za trudnoće iz postupka VTO datum aspiracije uziman kao 14. dan nakon početka poslednje menstruacije i na osnovu ovog podatka vršeno je datiranje trudnoće.

Dalje praćenje trudnoće ispitanica bazirano je na praćenju kliničkog toka trudnoće, laboratorijskih analiza i ultrazvučnih parametara praćenja rizične trudnoće.

Kontrolni pregledi obavljeni su standardno na 4-6 nedelja do 36. gestacijske nedelje trudnoće, a nakon toga jednom nedeljno do momenta porođaja, a po potrebi i ranije.

Praćenje kliničkog toka trudnoće je obuhvatalo sledeće objektivne parametre: merenje telesne mase, arterijskog krvnog pritiska, pojave i intenziteta otoka ekstremiteta, praćenje diureze, procenu kompetentnosti grlića materice manuelnom proverom njegove dužine, konzistencije, dilatacije, i pozicije.

Laboratorijske analize su u indikovanim situacijama obuhvatale standardne analize kompletne krvne slike, šećera u krvi, CRP, urina, jetrene enzime, proteina u serumu, nefrograma, koaglacioni status.

Kontinuirani pregledi tokom praćenja višeplodnih trudnoća u drugoj fazi istraživanja podrazumevali su: pregled abdominalnom sondom i procenu biometrije ploda određivanjem biparijetalnog i okcipitofrontalnog dijametra glavice ploda, cirkumference glavice ploda i abdominalne cirkumference ploda, kao i merenje dužine femura ploda. Na osnovu navedenih parametara procenjivana je aktuelna telesna masa ploda te se poređenjem sa važećim nomogramima za gestacijsku starost postavljala dijagnoza intrauterinog zastoja u rastu ili akceleracije rasta ploda.

Sledeći bitan ultrazvučni parametar bila je procena položaja i maturacije posteljice, kao i procena količine plodove vode izražene kroz indeks amnionske tečnosti (AFI) odnosno zbir dubina džepova plodove vode u četiri uterina kvadranta merenim u mm.

Pregled transvaginalnom endosonografijom korišćen je za procenu dužine grlića materice i definisanje rizika od prevremenog porođaja.

Pacijentkinje su praćene u vanbolničkim uslovima do porođaja, dok su određeni slučajevi zahtevali i hospitalni tretman na osnovu različitih kliničkih indikacija.

Ovde su, pre svega, spadali razvoj hipertenzivnog sindroma, gestacijski dijabetes i određene specifične komplikacije blizanačkih trudnoća poput TTTS-a, sindrom prevremenog porođaja i drugi poremećaji iz domena perinatologije, uz dijagnostiku i terapiju po utvrđenim kliničkim doktrinama, a koji su bili od posebnog interesa za definisanje komplikacija toka posmatranih trudnoća.

Od entiteta hipertenzivnog sindroma gestacijska hipertenzija je podrazumevala vrednosti arteriskog krvnog pritiska preko 140 mm Hg za sistolni i 90 mm Hg za dijastolni (u daljem tekstu 140/90) uz odsustvo signifikantne proteinurije i vraćanje vrednosti krvnog pritiska u normalne opsege do 12 nedelja postpartalno.

Preeklampsija je definisana povećanjem arterijskog krvnog pritiska preko 140/90 mm Hg praćeno prisustvom proteinurije od preko 300 mg/24 h. Ovaj entitet je dodatno podeljen na blaži oblik (arterijski pritisak ispod 160/110, proteinurija do 2 g/24h, odsustvo glavobolje, vizuelnih smetnji, epigastričnog bola, oligourije, trombocitopenije (ispod 100 000/ul), normalnog nivoa serumskog kreatinina uz minilmalno povećanje jetrenih transaminaza i odsustvo fetalnog zastoja u rastu) i teži oblik preeklampsije (neke ili sve od sledećih karakteristika - arterijski pritisak preko 160/110, proteinurija preko 2 g/24h, prisustvo glavobolje, vizuelnih smetnji, epigastričnog bola, oligourije, trombocitopenije (ispod 100

000/ul), povećanog nivoa serumskog kreatinina uz izrazito povećanje jetrenih transaminaza i prisustvo fetalnog zastoja u rastu).

Eklamspiju je definisalo prisustvo konvulzivnih napada koji se ne mogu pripisati drugim uzrocima, a superponiranu preeklampsiju pojava proteinurije ili trombocitopenije nakon 20. gestacijske nedelje kod pacijentkinje koja je imala hipertenziju pre 20 gestacijske nedelje.

Tretman ovih pacijenata podrazumevao je utvrđene kliničke protokole u zavisnosti od stanja majke uz primenu antihipertenzivne terapije metildopa (racemat) – METILDOPA (Srbolek, Srbija) u peroralnoj dozi od 500 do 1500 mg/24h i urapidil – EBRANTIL (Altana Pharma AG, Nemačka) za tešku preeklampsiju (10 mg iv bolus te potom 250 mg/500 ml izotonog rastvora u sporoj infuziji).

Preteći prevremeni porođaj dijagnostikovan klinički i ultrazvučno tretiran je u određenim definisanim slučajevima i primenom tokolitičke terapije fenoterol – PARTUSISTEN (Boehringer Ingelheim, Austrija) 1 mg u 500 ml izotonog rastvora i kortikosteroidne terapije deksametazon – DEXASON (Galenika, Srbija) u dozi od 24 mg /48h.

Porođaj je sproveden na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV. Način završetka trudnoće – vaginalni porođaj ili operativno završavanje trudnoće carskim rezom – sproveden je po važećim i utvrđenim kliničkim indikacijama od strane majke ili ploda. Po važećim standardima akušerske struke na Klinici za ginekologiju i akušerstvo u datom periodu je doktrina završavanja trudnoće za jednoplodne trudnoće iz postupka VTO u odsustvu drugih akušerskih indikacija predstavljala pokušaj vaginalnog porođaja, kao i za spontano nastale blizanačke trudnoće u slučaju prednjačeće glavice kod oba ploda. Višeplodne trudnoće iz

postupka VTO su smatrane indikacijom za carski rez. Konačnu odluku o načinu porođaja, uz navedene smernice, donosio je ordinirajući lekar u samom toku porođaja.

Od podataka koji su analizirani za tok i ishod trudnoće prvi set informacija ticao se demografskih, antropometrijskih i drugih maternalnih karakteristika.

Tu su analizirani godište žene, telesna visina i masa, kao i vrednosti indeksa telesne mase (BMI), kao i paritet, tip koncepcije, postojanje i razlog infertilitea i drugi opšti pokazatelji.

Od specifičnih pokazatelja perinatalnog ishoda, odnosno pokazatelja toka i ishoda trudnoće analizirani su:

- gestacijska starost izražena u kompletnim nedeljama, računata po prethodno opisanoj metodologiji. U daljoj analizi gestacijske starosti je pored ukupnog trajanja trudnoće posebno računat udio prevremenog porođaja koji je definisan kao porođaj pre 37. gestacijske nedelje, i dodatno podeljen na izrazito prevremeni porođaj koji je definisan kao porođaj pre 32. gestacijske nedelje;
- telesna masa novorođenčadi izražena u gramima, kao i udio novorođenčadi niske telesne mase (ispod 2500 g), kao i udio novorođenčadi izrazito niske telesne mase koja je definisana sa vrednostima ispod 1500g;
- objektivno stanje novorođenčadi zasnovanog na proceni vitalnosti novorođenčeta bodovanjem po Virginiji Apgar u prvom i petom minutu nakon rođenja (Apgar-skor koji je podrazumevao ocenjivanje sa vrednošću 0-2 sledećih pet parametara novorođenčeta i to frekvencije pulsa, disanja, mišićnog

tonusa, refleksne nadražljivosti, kao i ukupnim sabiranjem navedenih rezultata i dobijanjem jedinstvenog rezultata vrednosti 0-10);

- postojanje objektivne simptomatologije i dijagnoze pretećeg pobačaja (krvarenje i bolovi, uz odgovarajuće druge kliničke parametre);
- postojanje objektivne simptomatologije i dijagnoze stanja pretećeg porođaja (krvarenje i bolovi uz odgovarajuće druge kliničke parametre);
- postojanje gestacijskog dijabetesa i drugih metaboličkih poremećaja u trudnoći;
- pojava prevremenog prsnuća plodovih ovojaka pre 37. gestacijske nedelje (PPROM) potvrđenog kliničkim pregledom;
- pojava i učestalost prethodno definisanih entiteta hipertenzivnog sindroma u trudnoći;
- prisustvo urinarnih infekcija;
- prisustvo anemije;
- poremećaji količine plodove vode izražene kroz vrednosti indeksa količine plodove vode (AFI amniotic fluid index), a po različito definisanim kliničkim kriterijumima za jednoplodne i višeplodne trudnoće;
- poremećaji insercije i druge poremećaje posteljice poput prednjačeće posteljice, prevremenog odlubljuvanja posteljice, insuficijencije posteljice;
- prisustvo faktora poput krvarenja iz uterusa u trudnoći, kao i peripartalnih i postpartalnih hemoragija;
- izvođenje određenih invazivnih intervencija u trudnoći, kao i prisustvo određenih komplikacija specifičnih za višeplodne trudnoće poput razvoja TTTS-a;

- prisustvo preteće ili početne hipoksije ploda, u toku porođaja;
- prisustvo intrauterinog zastoja rasta jednog ili više plodova, a prema definisanim nomogramima za datu gestacijsku starost;
- postojanje diskordantnosti blizanaca i trojki koja je definisana kao procenat razlike u telesnoj masi plodova u odnosu na telesnu masu krupnijeg ploda (klinički značajnom diskonkordantnošću smatrane su vrednosti preko 10 % a naročito preko 20%);
- analiza izgleda i boje plodove vode na porođaju kao jednog od prihvaćenih parametara stanja intrauterine patnje ploda;
- potreba da jedan ili više plodova iz date trudnoće zahtevaju intenzivnu ili poluintenzivnu neonatalnu negu na rođenju;
- neonatalni mortalitet definisan kao smrt ploda u trudnoći nakon završene 24 gestacijske nedelje ili 500 g, ili u toku prvih 7 dana po rođenju (kasni neonatalni mortalitet nije određivan);
- modus završavanja trudnoće.

Navedeni parametri su unošeni u posebno dizajniranu bazu podataka za jednoplodne i višeplode trudnoće i naknadno statistički obrađivani.

4.3. Statistička obrada podataka

Svi podaci koji su obrađeni na osnovu pregleda istorija bolesti toka trudnoće i porođaja, kao i na osnovu posebno dizajniranog kompjuterskog programa „Microsoft Excell“ za analizu svih podataka pacijentkinja koje su započele i završile program vantelesne oplodnje na zavodu

za humanu reprodukciju KCV, unošeni su u zbirnu bazu podataka radi analize ishoda svih jednoplodnih i višeplodnih porođaja ART-a. Takođe, u istu bazu podataka unošeni su i ishodi porođaja svih spontanih višeplodnih trudnoća non ART-a.

Podaci o toku i ishodu trudnoće unošeni su u posebno kreiranu bazu podataka i dalje obrađivani na personalnom računaru korišćenjem MS office paketa i programa JMP ver. 9 (SAS). Tokom statističke obrade podataka dobijenih navedenim ispitivanjima korišćene su sledeće statističke metode:

- deskriptivne statističke metode: absolutni broj, procenat, aritmetička sredina, medijana, standardna devijacija, uz intervale povereanja i interkvantilne intervale kao bliže pokazatelje navedenih obeležja.
- testovi statističke signifikantnosti: studentov t-test, parametrijski t-test, i neparametrijski Pearsonovim χ^2 testom, kao i testovi korelacije.
- univarijantne i multivarijantne statističke metode: ANOVA i linearna regresiona analiza uz izračunavanje koeficijenta linearne korelacije.

Dominantno su računate i u rezultatima kao statistički značajne predstavljene srednje vrednosti i standardna devijacija za kontinuirane numeričke varijable uz korišćenje ANOVA analize za testiranje statističke značajnosti između srednjih vrednosti, dok je statistička značajnost razlike učestalosti kategorijskih varijabli određivana Pearsonovim χ^2 testom.

Izbor adekvatnog statističkog testa za određivanje signifikantnosti uočene razlike sledio je nakon detaljnije analize distribucije svake pojedinačne varijable kako bi se u zavisnosti od rasporeda obeležja izabrala odgovarajuća parametrijska ili neparametrijska metoda statističke obrade uzorka.

Pored navedenih, bitan metodološki aspekt rada predstavlja je i analiza legislativnih mera oblasti asistirane reprodukcije kako kod nas, tako i u zemljama u okruženju i drugim evropskim i svetskim zemljama. Ovo je vršeno sistematskim pretraživanjem literature, odnosno saopštenja i publikacija referentnih tela iz date oblasti, ali i direktnim anketama sa akterima iz ovog polja kako kod nas, tako i širom sveta.

Ovo je jedan od ključnih zadataka rada pošto je, kako je i u uvodu definisano, tema istraživanja problema višeplodnih trudnoća iz postupka vantelesne oplodnje, ne samo analiza perinatalnih ishoda istih već i definisanje zakonskog i društvenog okvira u kojima se obavlja i predviđanja i definisanja posledica koje ovakve regulative imaju na način izvođenja ovih procedura i njihove rezultate. Ovakvi primeri su svakako dobro dokumentovani u savremenoj praksi, te su u poslednjem delu rada i predstavljeni.

Uloga ovog dela istraživanja bila je u donošenju predloga sistema mera za smanjivanje stope višeplodnih trudnoća i porođaja ART-a, koristeći iskustva različitih zemalja i najboljih modela datih od strane legislativa različitih država i njihovih stručnih tela sa podacima dobijenim našim istraživanjem i našom zakonskom legislativom, kao i predlaganju sistema mera u kojima bi se uključila struka i država sa ciljem dobijanja ne više od 10% višeplodnih trudnoća ART-a, te načina kontrole i drugih vidova asistirane reprodukcije.

Isti postupci omogućili su i izvođenje zaključaka koji će biti usmereni na rezultate višeplodnih trudnoća i porođaja nastalih nakon primene asistiranih reproduktivnih tehnologija, te ukazivanje na potrebu dobijanje zdrave dece u pravo vreme primenom predloženih mera za smanjivanje stope višeplodnih trudnoća ART-a proisteklih ovim istraživanjem.

5. Rezultati

Studija je finalno obuhvatila 492 porođene žene. Od navedenog broja 337 pripadalo je grupi višeplođnih trudnoća dok su 155 žena bile iz grupe jednoplođnih trudnoća nastalih postupcima asistirane reprodukcije.

Od 337 višeplođnih trudnoća 163 trudnoće nastale su postupcima vantelesne oplodnje i one su predstavljale prvu ispitivanu grupu – Grupa I. Unutar Grupe I zabeleženo je 139 blizanačkih trudnoća – Grupa IA. Kod 24 preostale pacijentkinje bilo reč o troplodnim trudnoćama – Grupa IB. Drugu ispitivanu grupu sačinjavale su pacijentkinje sa spontano začetom višeplođnom trudnoćom, bez prethodnog lečenja infertilite. U dатој grupi nalazilo se 177 višeplođnih trudnoća – Grupa II. Unutar grupe II kod 171 pacijentkinje radilo se o blizanačkoj trudnoći – Grupa IIA. Kod tri pacijentkinje o troplodnoj trudnoći – Grupa IIB. 155 žena sa jednoplođnom trudnoćom iz postupka vantesesne oplodnje predstavljalo je treću ispitivanu grupu – Grupa III (Tabela 1).

Tabela 1. Raspored pacijentkinja u zavisnosti od načina koncepcije i broja plodova.

		Spontana koncepcija	Udeo	Vantelesna oplodnja	Udeo	Ukupno
Višeplođne trudnoće	Blizanačke trud.	171 (IIA)	55,16%	139 (IA)	44,84%	310 (91,99%)
	Troplodne trud.	3 (IIB)	11,11%	24 (IB)	88,89%	27 (8,01%)
	Ukupno	174 (II)	51,63%	163 (I)	48,37%	337
Jednoplođne trudnoće		0	0%	155 (III)	100%	155

Tako je u datom uzorku koji ne reprezentuje populaciju svih trudnoća 31,5% ispitanica pripadalo jednoplodnim trudnoćama, a 68,55 ispitanica grupi višeplodnih trudnoća. 51,63% višeplodnih trudnoća začete su spontano a 48,37% ispitivanih višeplodnih trudnoća bile su produkt vantelesne oplodnje. 92% višeplodnih trudnoća bile su blizanačke od kojih je sponatano začeto 55,16%, a postupcima vantelesne oplodnje 44,84%, dok je troplodnih trudnoća u ispitivanom uzorku bilo 8%, i tu je ideo spontano začetih troplodnih trudnoća iznosio 11,11%, a ART postupcima začetih troplodnih trudnoća 88,89%.

Analiza demografskih i antropometrijskih karakteristika pacijentkinja dobila je prosečnu starost godina za sve pacijentkinje od $31,73 \pm 4,82$ godine i interkvartilni interval od 29-35 godina. 30,53 % pacijentkinja bilo je mlađe od 30 godina, 38,73 % pacijentkinja nalazilo se u grupi od 30-35 godina, 28,48% pacijentkinja nalazilo se u grupi žena starosti od 35—40 godina, 1,8% bilo je starije od 40 godina, a svega 0,41% starije od 44 godine.

Prosečna vrednost indeksa telesne mase za sve ispitanice iznosila je $28,49 \pm 4,64$ uz interkvartilni interval od 26,08 do 30,83, najnižu vrednost od 21,67 i najvišu od 43,58. 14,96% pacijentkinja nalazilo se u grupi normalno uhranjenih pacijentkinja (BMI 18-25), dok je 52,97 % njih imalo vrednosti BMI od 25 do 30, 24,23% pacijentkinja vrednosti BMI od 30-35 a 7,84 % njih vrednosti BMO preko 40.

Posmatrani po grupama pacijentkinje iz grupe II – spontano začete višeplodne trudnoće, imale su statistički značajno manje godina, kao i najveći ideo žena u starosnoj grupi do 30 godina u odnosu na grupu I i III kod kojih ova razlika nije bila izražena (Tabela 2, Tabela 3, Grafikon 1). Pacijentkinje iz grupe III imale su diskretno, ali statistički značajno manje vrednosti BMI u odnosu na pacijentkinje sa višeplodnim trudnoćama, gde se vrednosti BMI

nisu statistički značajno razlikovale u odnosu na način koncepcije. Sa druge strane, nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji vrednosti BMI i pripadanju različitim kategorijama uhranjenosti niti kod ART i non ART višeplodnih, niti kod jednoplodnih trudnoća (Tabela 2, Tabela 4, Grafikon 2).

Tabela 2. Prosečne vrednosti godina pacijentkinja i BMI po grupama.

	Godine žene	BMI
Grupa I	33,02±3,98	29,20±3,81
Grupa II	28,85±5,04	28,44±5,36
Grupa III	33,55±3,81	27,69±4,49
P vrednost	<0,0001	0.028

BMI – Indeks telesne mase određen pri prijemu za porođaj. P vrednost računata metodom ANOVA.

Tabela 3. Udeo pacijentkinja u određenim starosnim kategorijama po grupama.

Godine žene	Grupa I	Grupa II	Grupa III
< 30	17.19%	55.56%	16.13%
30-35	45.68%	32.75%	38.06%
35-40	34.57%	9.36%	43.23%
40-44	0.62%	2.34%	2.58%
>44	1.23%	0%	0%

p vrednost < 0,0001, računata Pearsonovim χ^2 testom.

Grafikon 1. Udeo pacijentkinja u određenim starosnim kategorijama po grupama.

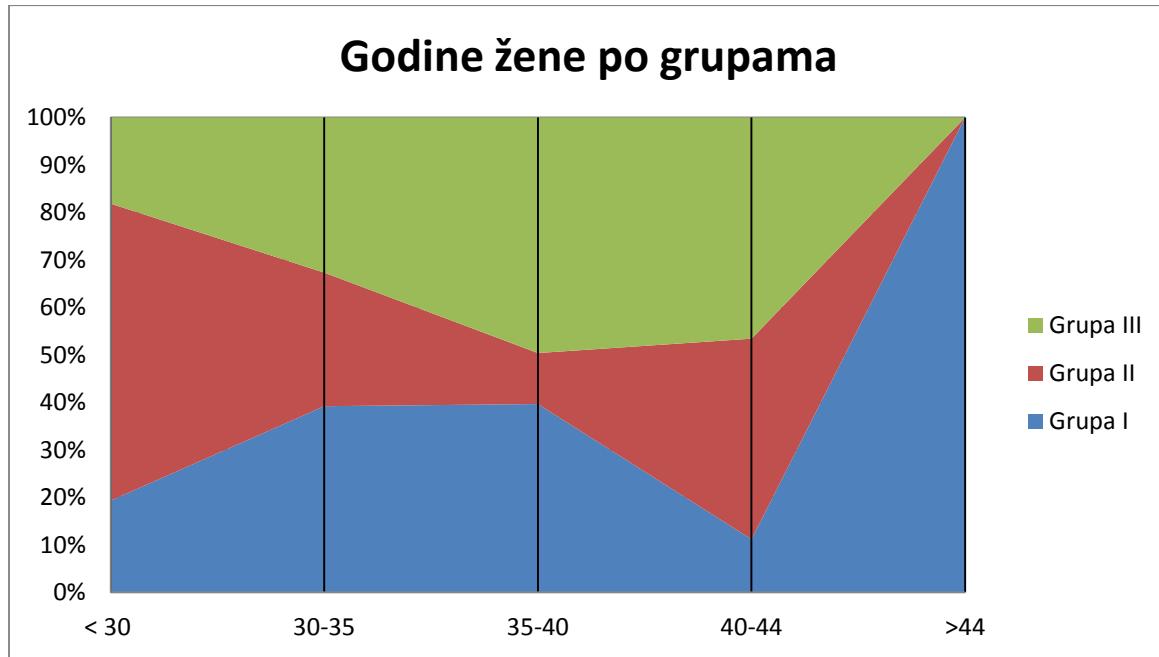
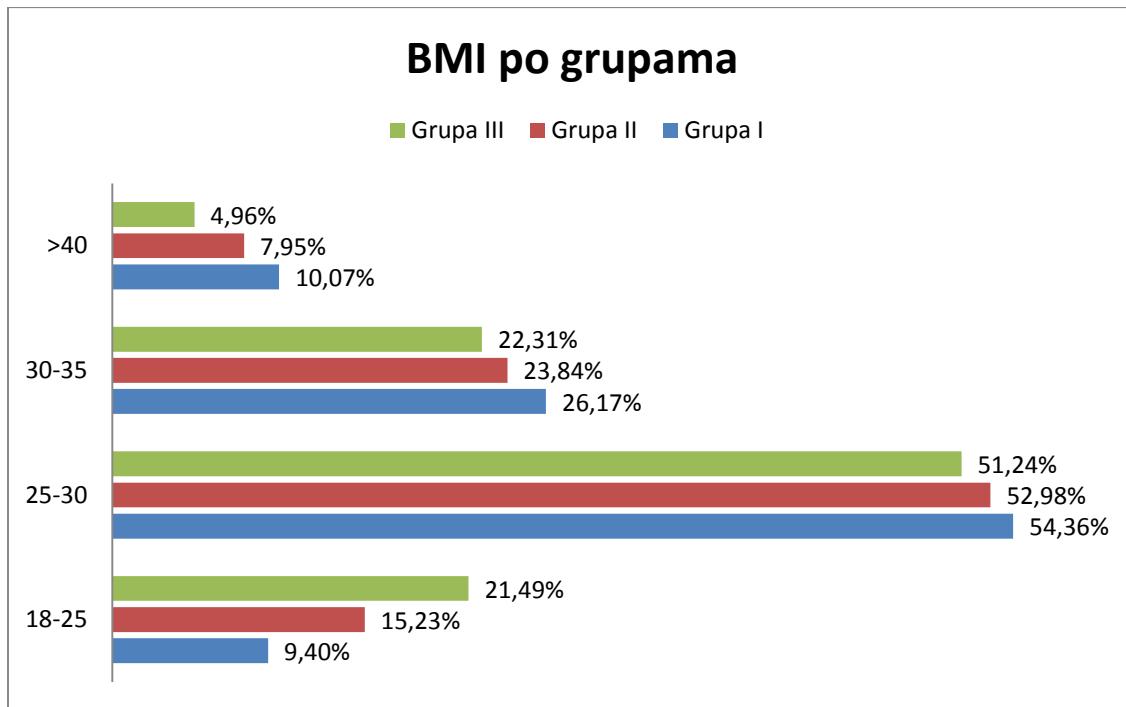


Tabela 4. Distribucija gojaznosti kroz kategorije BMI po grupama

BMI	Grupa I	Grupa II	Grupa III
18-25	9.40%	15.23%	21.49%
25-30	54.36%	52.98%	51.24%
30-35	26.17%	23.84%	22.31%
>40	10.07%	7.95%	4.96%

p vrednost 0,157, računata Pearsonovim χ^2 testom.

Grafikon 2. Distribucija gojaznosti kroz kategorije BMI po grupama



Analiza gestacijske starosti, kako u kompletnim nedeljama gestacije trudnoće, tako i po određenim kategorijama i učestalosti različitih entiteta prevremenih porođaja, takođe se statistički značajno razlikovala po posmatranim grupama. Očekivano najduže trajanje gestacije od prosečnih 38,26 gn zabeleženo je u grupi jednoplodnih trudnoća, dok je u grupi višeplodnih trudnoća ono iznosilo 35,29 gn za ART trudnoće i 35,99 za trudnoću iz spontane konceptcije (SK). Ukupan udeo prevremenih porođaja bio je najmanji u grupi jednoplodnih trudnoća – 12,90%, dok je pokazao i statistički značajne razlike između višeplodnih ART (63,80%) i SK trudnoća 50,57%, najviše na račun troplodnih trudnoća koje su imale udeo prevremenog porođaja od blizu 100%, a kojih je bilo najviše u ART grupi višeplodnih trudnoća. Ipak, i izolovano blizanačke trudnoće iz postupka VTO imale su kraće prosečno trajanje trudnoće i veći udeo prevremenog porođaja u odnosu na spontano začete blizanačke trudnoće, i to najviše na račun prevremenog porođaja u periodu nakon 32. gestacijske nedelje.

Sve navedene razlike iskazale su statistički značajnu razliku računatu adekvatnim metodama.
 (Tabela 5 i 6, Grafikon 3, 4 i 5).

Tabela 5. Analiza gestacijske starosti i udela prevremenog porođaja po grupama.

	Trudnoća u gn	GS < 28 gn	GS 28-32 gn	GS 32-37 gn	Prevremenih porođaja
Blizanci ART	35.60±3.12	2.88%	7.91%	47.48%	58.27%
Trojke ART	33.51±2.57	4.17%	12.50%	79.17%	95.83%
Blizanci SK	36.08±3.12	2.34%	8.77%	38.60%	49.71%
Trojke SK	30.76±4.88	33.33%	33.33%	33.33%	100%
Jednoplodne ART	38.26±2.22	1.29%	0.65%	10.97%	12.90%
p vrednost	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

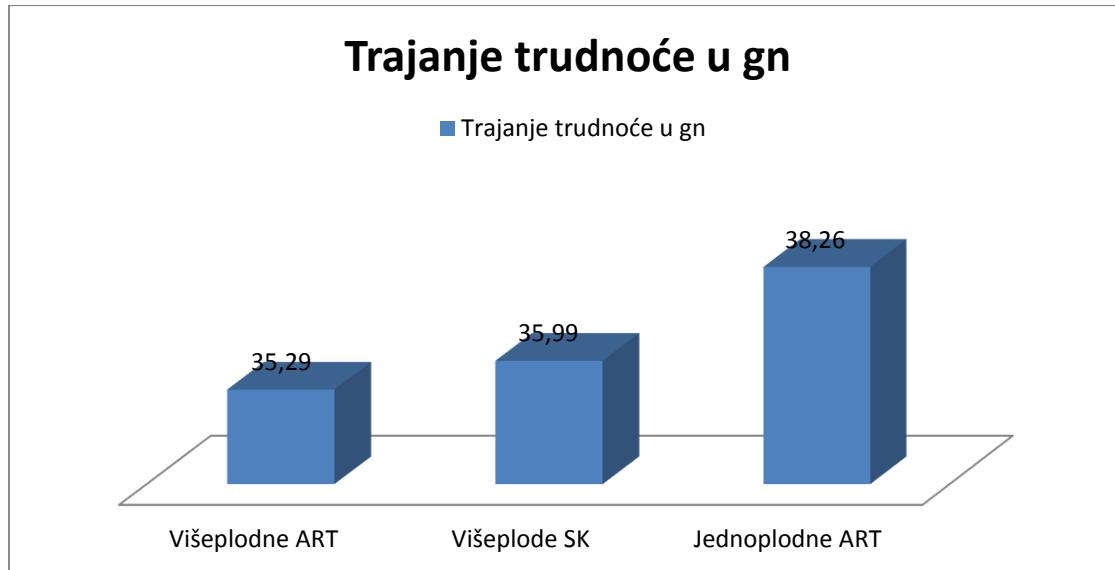
GS - Gestacijska starost, gn – gestacijske nedelje. P vrednost računata metodom ANOVA za trajanje trudnoće i Pearsonovim χ^2 testom za udele određenih kategorija prevremenog porođaja.

Tabela 6. Analiza gestacijske starosti i udela prevremenog porođaja po grupama.

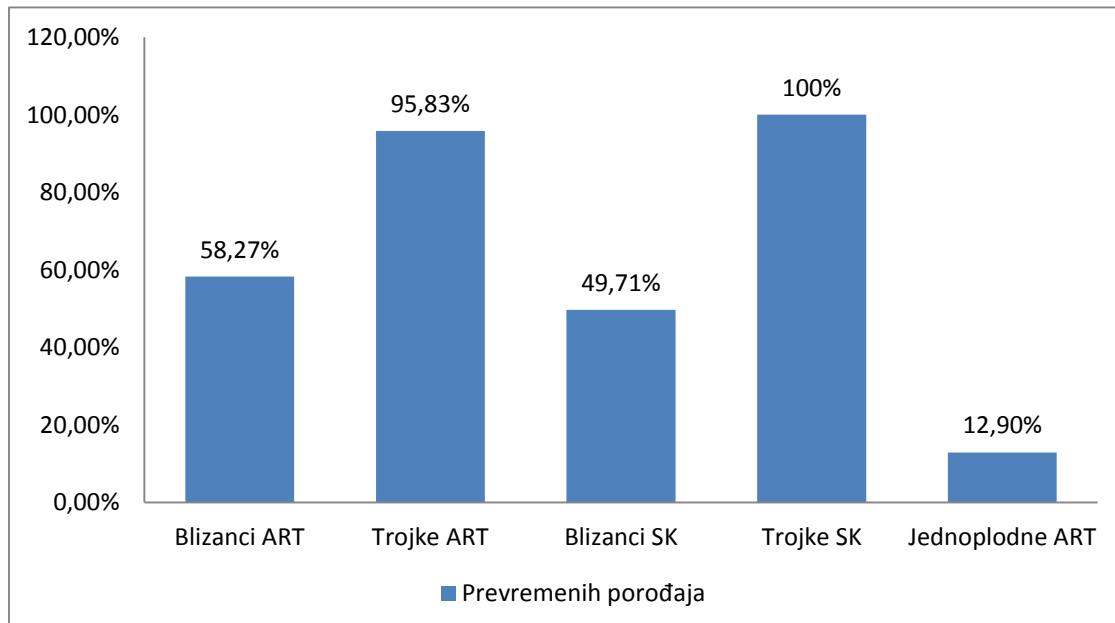
	Trudnoća u gn	GS < 28 gn	GS 28-32gn	GS 32-37gn	Prevremeni porođaji
Višeplodne ART	35.29±3.13	3.07%	8.59%	52.15%	63.80%
Višeplode SK	35.99±3.21	2.87%	9.20%	38.51%	50.57%
Jednoplodne ART	38.26±2.21	1.29%	0.65%	10.97%	12.90%
P vrednost	<0.0001	<0,0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

GS - Gestacijska starost, gn – gestacijske nedelje. P vrednost računata metodom ANOVA za trajanje trudnoće i Pearsonovim χ^2 testom za udele određenih kategorija prevremenog porođaja.

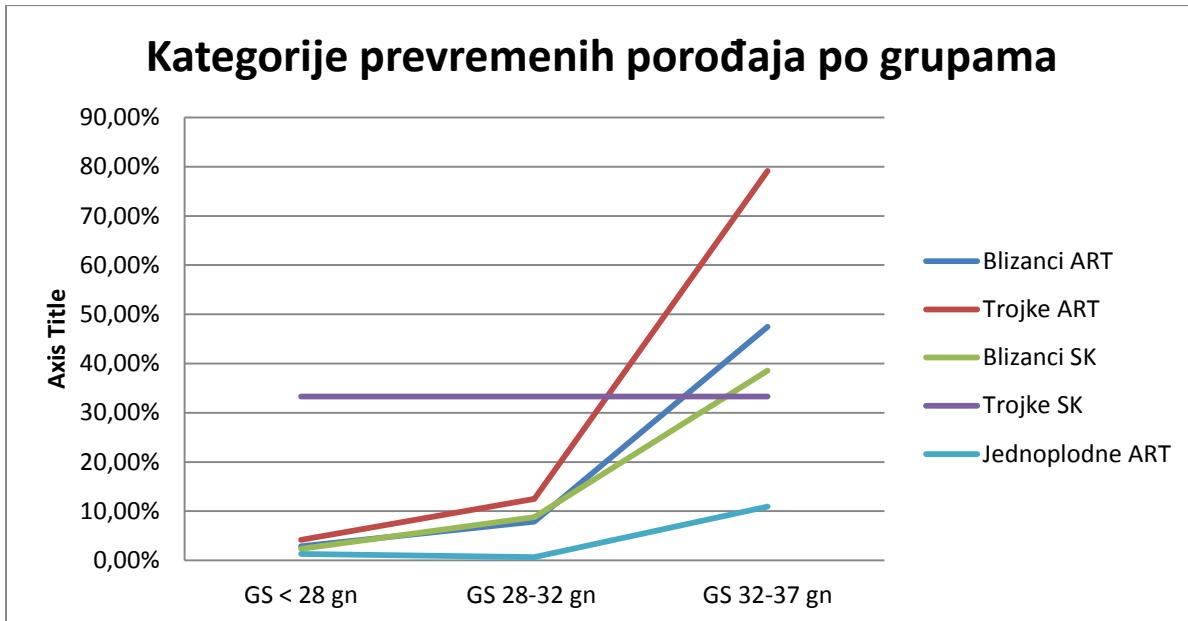
Grafikon 3. Trajanje trudnoće u kompletnim gestacijskim nedeljama (gn) po grupama.



Grafikon 4. Ukupan udio prevremenih porođaja po grupama.



Grafikon 5. Kategorije prevremenih porođaja po grupama



Analizom porođajne telesne mase dobila je očekivano najveću porođajnu telesnu masu u grupi jednoplodnih trudnoća od 3258 g koja je bila statistički značajno veća od oba seta multiplih trudnoća bilo da su iz postupka vantelesne oplodnje ili ne. Za njih je prosečna telesna masa iznosila 2262,83 g za ART multiple trudnoće i 2409,86 g za SK multiple trudnoće. Ovde je zapažena blaga statistički značajna razlika koja se gubi kada se dodatno porede samo blizanačke i troplodne multiple trudnoće, gde su prosečne telesne mase za blizance u grupi ART trudnoća iznosile 2374,28 g a za trojke 1832,50g (Tabele 7 i 8, Grafikon 6). Dodatna analiza udela dece sa veoma niskom telesnom masom (VNTM<1500g) i niskom telesnom masom (NTM 1500-2500) pokazala je da se najveći procenat i jedne i druge kategorije nalazio u grupi ART multiplih trudnoća (13,43% za VNTM i 49,71% za NTM), dok su jednoplodne trudnoće imale svega 1,29% dece sa VNTM i 10,97% dece sa NTM. Ukupan udeo dece TM ispd 2500 g za ceo uzorak iznosio je 49,24%. Opisana razlika je u oba navedena slučaja bila statistički značajna (Tabela 7 i 8, Grafikon 7).

Tabela 7. Prosečna porođajna telesna masa u g po grupama.

	TM u gramima	TM<1500 g	TM 1500-2500 g
Blizanci ART	2374.28±653.4	10.07%	44.96%
Trojke ART	1832.50±500.35	23.39%	68.06%
Blizanci SK	2433.20±636.85	9.09%	41.35%
Trojke SK	1525±631.56	44.44%	55.56%
Jednoplodne ART	3258.00±666.5	1.29%	10.97%
p vrednost	<0.0001	<0.0001	<0.0001

TM telesna masa. P vrednost računata metodom ANOVA za prosečnu telesnu masu i

Pearsonovim χ^2 testom za udele određenih kategorija niske porođajne težine.

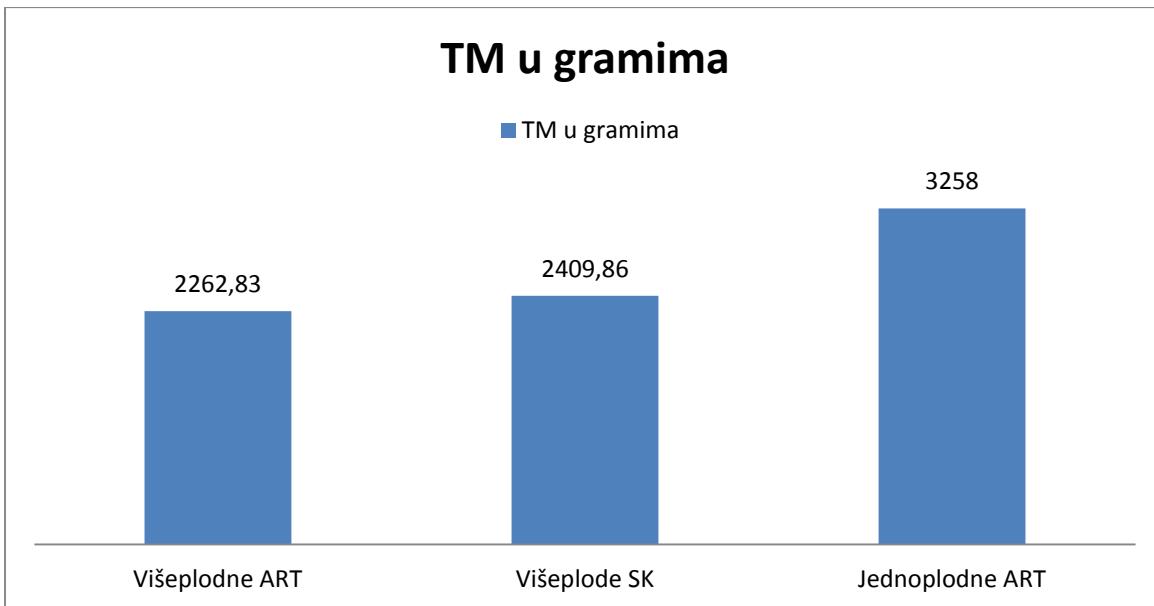
Tabela 8. Prosečna porođajna telesna masa po grupama

	TM u gramima	TM<1500 g	TM 1500-2500 g
Višeplodne ART	2262.83±661.74	13.43%	49.71%
Višeplodne SK	2409.86±651.89	10.00%	41.71%
Jednoplodne ART	3258±666.50	1.29%	10.97%
p vrednost	<0.0001	<0.0001	

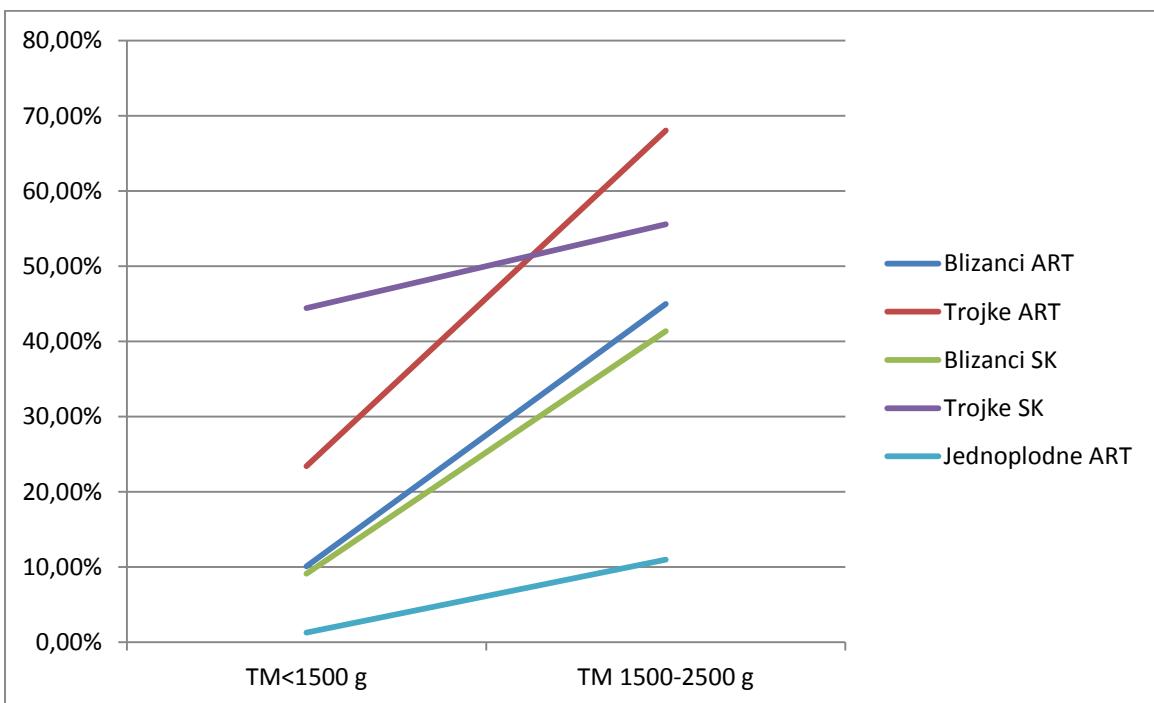
TM telesna masa. P vrednost računata metodom ANOVA za prosečnu telesnu masu i

Pearsonovim χ^2 testom za udele određenih kategorija niske porođajne težine.

Grafikon 6. Prosečna porođajna telesna masa po grupama



Grafikon 7. Udeo VNTM i NTM na porođaju po grupama



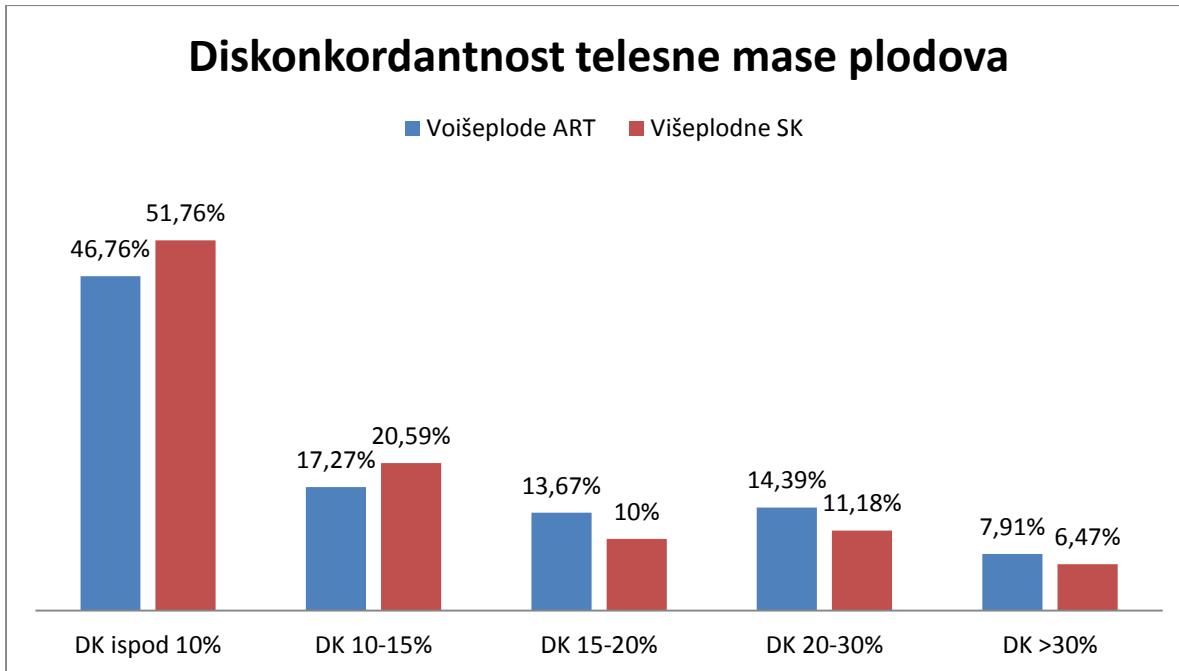
Analiza diskonkordantnosti telesne mase plodova u višeplodnim trudnoćama pokazala je da je 49,51% plodova imalo razliku u telesnoj masi manju od 10%, 19,09% u opsegu 10-15%, 11,65% u opsegu 15-20% i 19,74 razliku veću od 20 %. Nije dobijena statistički značajna razlika među ART i SK višeplodnim trudnoćama, kako u smislu prosečne razlike u telesnoj masi plodova koja je iznosila 13,36% za ART grupu i 12,81% za SK grupu (izražene u prosečnoj vrednosti udela razlike telesne mase među plodovima u odnosu na telesnu masu krupnijeg ploda), tako ni u smislu različite distribucije zabeležene pojave po kategorijama koje definišu i ozbiljnost kliničke slike (Tabela 9, Grafikon 8). Prosečna diskonkordantnost u grupi troplodnih SK trudnoća iznosila je 29,8%, ali je broj slučajeva u grupi mali kako bi ova razlika imala statističku značajnost ($p=0,132$).

Grafikon 9. Diskonkordantnost (DK) kod ART i SK multiplih trudnoća

	Prosečna diskonkordantnost (%)	DK <10%	DK 10-15%	DK 15-20%	DK 20-30%	DK >30%
Blizanci ART	13.61%	46.76%	17.27%	13.67%	14.39%	7.91%
Trojke ART	11.91%					
Blizanci SK	12.51%	51.76%	20.59%	10%	11.18%	6.47%
Trojke SK	29.80%					
p vrednost	13.16%	0.6348				

DK – diskonkordantnost. p vrednost računata metodom ANOVA za prosečnu diskonkordantnost trudnoće i Pearsonovim χ^2 testom za udele određenih kategorija diskonkordantnosti porođaja.

Grafikon 8. Diskonkordantnost telesne mase plodova



Analizom kondicije ploda na rođenju izražene kroz vrednosti Apgar skora dobijene su statistički značajne razlike u ispitivanom parametru kako u prvom tako i u petom minutu po analiziranim grupama. Tako je prosečna vrednost Apgar skora u prvom minuti za jednoplodne trudnoće iznosila 8,33, za višeplodne iz postupka ART 7,27 i za spontano začete višeplodne trudnoće 7,33 ($P<0,0001$). U svim grupama uočeno je značajno poboljšanje vrednosti Apgar skora do petog minuta kada je u proseku iznosio 9,21 za jednoplodne , 8,67 za ART multiple i 8,56 za SK multiple (Tabela 10, Grafikon 9).

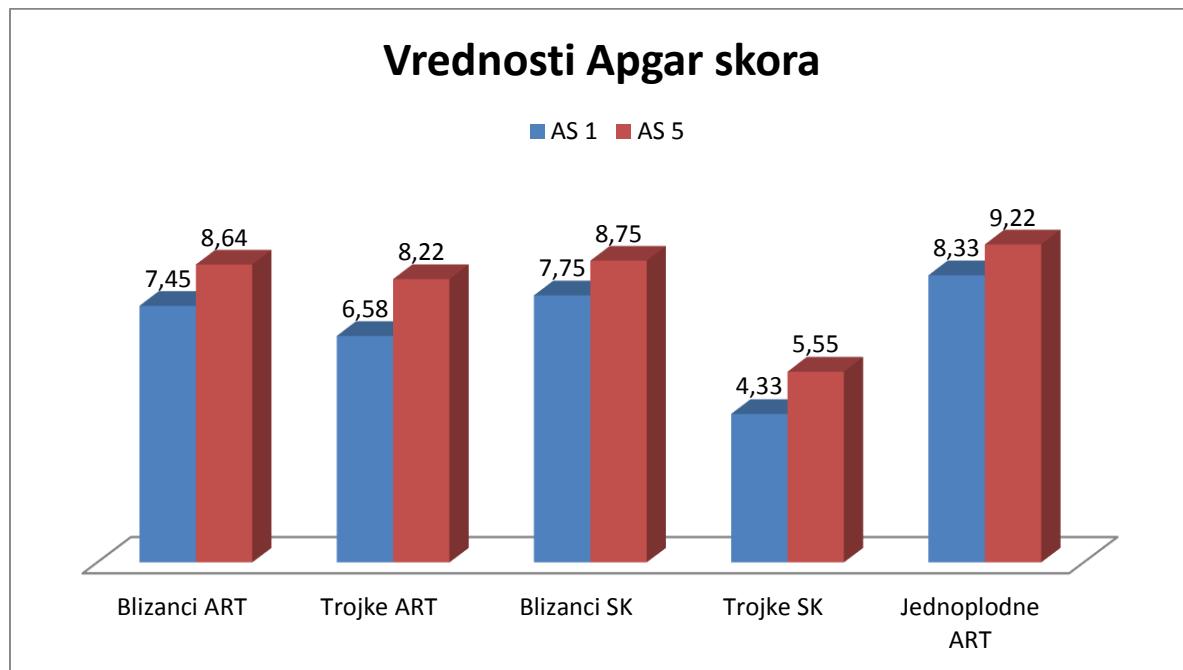
Tabela 10. Vrednost Apgar skora (AS) u 1. i 5. minuti nakon porođaja

	AS 1	AS 5		AS 1	AS 5
Blizanci ART	7.45±2.24	8.64±1.77	Višeplodne ART	7.27±2.24	8.56±1.70
Trojke ART	6.58±2.09	8.22±1.36	Višeplodne SK	7.66±2.18	8.67±1.76
Blizanci SK	7.75±2.07	8.75±1.63	Jednoplodne ART	8.33±1.46	9.21±1.49
Trojke SK	4.33±3.24	5.55±3.43	p vrednost	<0.0001	0.0003
Jednoplodne ART	8.33±1.46	9.22±1.49			
p vrednost	<0.0001	<0.0001			

AS 1 – Apgar skor u 1. minuti; AS 5 – Apgar skor u 5. minuti; p vrednost određena metodom

ANOVA.

Grafikon 9. Vrednosti Apgar skora



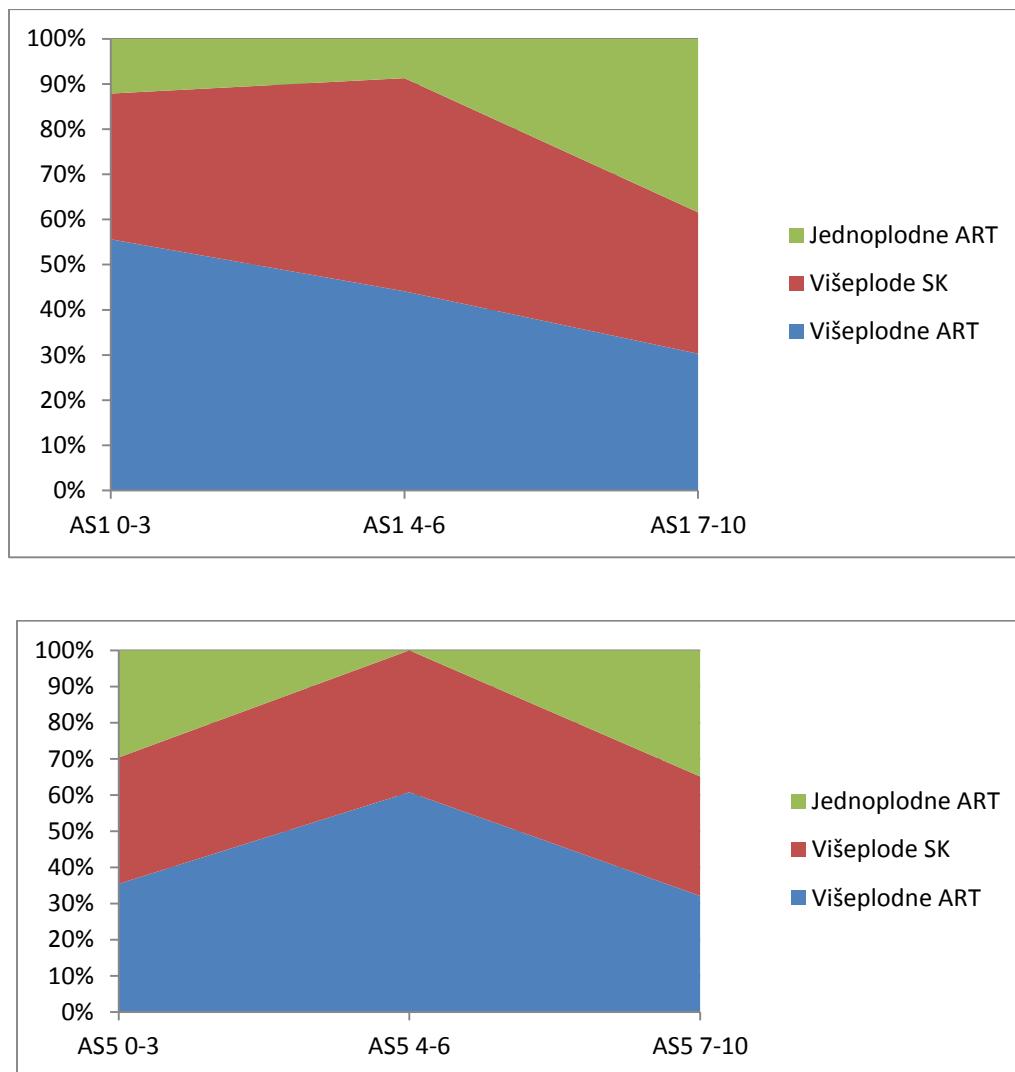
Pored apsolutnih vrednosti Apgar skora analiziran je i udeo novorođenčadi u grupama koje ukazuju na izraženo teško stanje po rođenju (AS vrednosti 0-3), umereno teško stanje koje zahteva primenu tretmana (vrednosti AS 4-6) i dobru kondiciju ploda (vrednosti AS 7-10), kako u prvom, tako i u petom minutu. Očekivano najmanje novorođenčadi sa lošim vrednostima AS bilo je u grupi jednoplodnih trudnoća, kako je svega 1,94% njih imalo AS od 0-3, i 3,23% u opsegu od 4-6, dok je statistički značajno najviše ozbiljno ugroženih novorođenčadi bilo u grupi ART višeplodnih trudnoća (8,91% vrednosti AS u prvom minutu od 0-3). I razlike između ART i SK višeplodnih i razlike između višeplodnih i jednoplodnih trudnoća bile su statistički značajne (Tabela 11, Grafikoni 10 i 11)

Tabela 11. Vrednosti AS u 1. i 5 . minutu po kategorijama i analizirano po grupama.

	AS1 0-3	AS1 4-6	AS1 7-10	AS5 0-3	AS5 4-6	AS5 7-10
Blizanci ART	7.97%	13.77%	78.26%	2.92%	6.57%	90.51%
Trojke ART	12.50%	26.39%	61.11%	0%	11.27%	88.73%
Blizanci SK	4.42%	16.81%	78.76%	1.76%	4.71%	93.53%
Trojke SK	33.33%	44.44%	22.22%	22.22%	11.11%	66.67%
JednoplodneART	1.94%	3.23%	94.84%	1.94%	0%	98.06%
p vrednost	<0.0001			<0.0001		

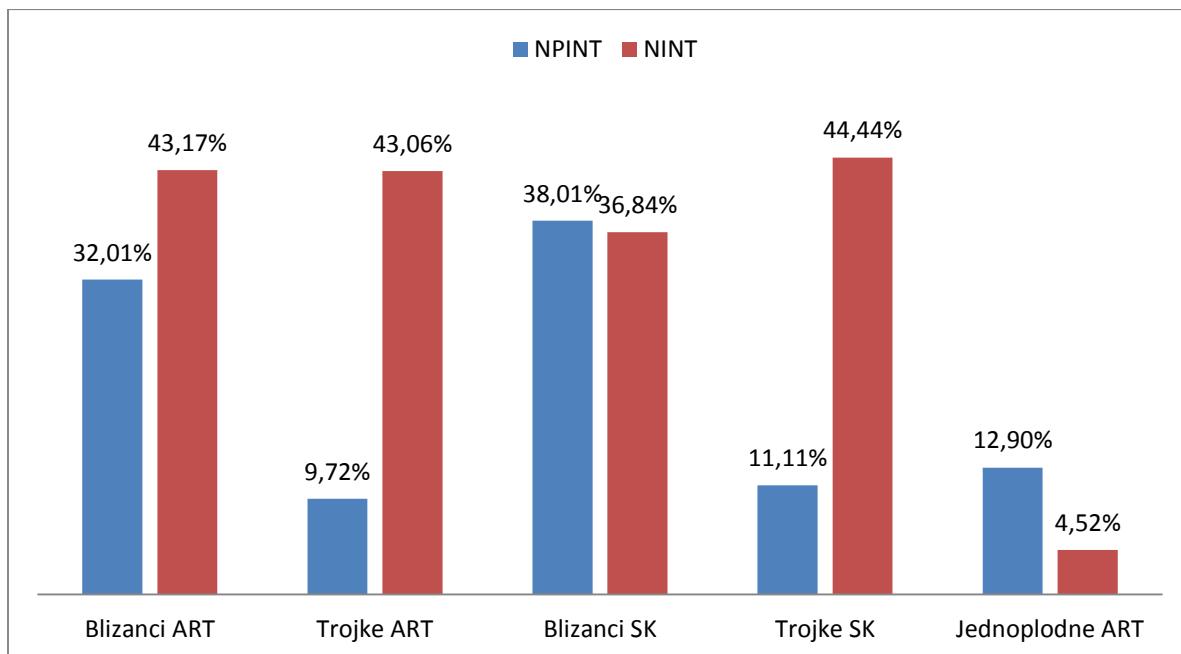
AS 1 Apgar skor u 1. minutu; AS 5- Apgar skor u 5. minutu. p vrednost određena Pearsonovim χ^2 testom

Grafikoni 10 i 11. Vrednosti AS u 1. i 5 . minutu po kategorijama i analizirano po grupama.



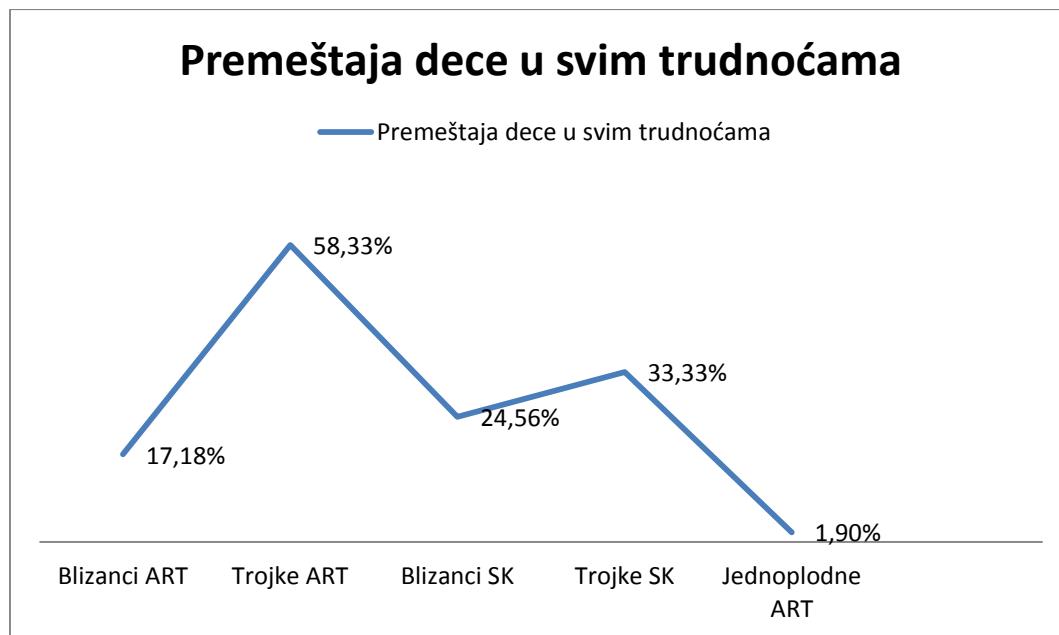
12,9% dece iz jednoplođnih ART trudnoća, 37,32% dece iz SK višeplodnih i 27,43% dece iz ART višeplodnih trudnoća zahtevali su po rođenju tretman i boravak na pedijatrijskom odeljenju klinike (neonatalna polointenzivna nega i terapija (NPINT), dok su neonatalnu intenzivnu negu i terapiju (NINT) zahtevali 43,14% dece iz ART višeplodnih trudnoća, 37,04% dece iz SK višeplodnih trudnoća i 4,52% dece iz ART jednoplođnih trudnoća. Statistički značajna razlika zabeležena je primarno između ART jednoplođnih i višeplodnih, ali i u potrebi za NINT kod ART i SK višeplodnih trudnoća ($p<0,0001$) (Grafikon 12).

Grafikon 12. Udeo dece koji su zahtevali polointenzivnu i intenzivnu negu i terapiju.



Jedan od analiziranih parametara fetalnog stanja po rođenju i opterećenja zdravstvenog sistema predstavlja je i broj novorođenčadi koji su zahtevali premeštaj u odgovarajuću kliniku sa planiranim dugoročnim boravkom na odenjenju intenzivne neonatalne nege. Ovo je jedini parametar koji procenjuje dužinu neonatalne nege, pošto potreba za premeštajem ukazuje na istu. Premeštaj dece u drugu ustanovu radi neonatalne intenzivne nege i terapije (NINT) izveden je 28 puta (17,18%) u grupi ART blizanačkih trudnoća, 14 puta u grupi ART troplodnih trudnoća (58,33%), 42 puta u grupi SK blizanačkih trudnoća (24,56%), 33% SK troplodne trudnoće i 3 puta u grupi jednoplodnih ART trudnoća(1,90%). Postojala je statistički značajna razlika između jednoplodnih, blizanačkih i troplodnih trudnoća, ali ne i višeplodnih trudnoća u odnosu na način koncepcije (Grafikon 13).

Grafikon 13. Premeštaj dece u drugu ustanovu radi NINT



Perinatalna smrtnost po definicije gubitka smrti svih plodova odigrala se samo u jednom slučaju višeplodne, blizanačke trudnoće iz grupe ART trudnoće (0,72% blizanačkih ART trudnoća). Sa druge strane smrt plodova pojedinačno intrauterino, peripartalno ili u ranom neonatalnom periodu desio se kod 11/422 dece iz grupe višeplođnih ART trudnoća (3,14%), 6 od 351 (1,71%) dece iz grupe višeplođnih trudnoća spontano začetih i 3 od 155 jednoplodnih trudnoća iz postupka VTO (1,93%) (Tabela 12). Ukupan broj ovih tragičnih slučajeva nije bio dovoljan da bi se uočene razlike pokazale kao statistički značajne ($p=0,44$).

Tabela 12. Perinatalni mortalitet po analiziranim grupama.

	Mrtvorodeno	Rana neonatalna smrт	Ukupno perinatalno umrlo	Rођено dece		Perinatalno umrlo dece	Perinatalni mortalitet na 1000
Blizanci ART	6	4	10	278	Višeplodne ART	11	31.4
Trojke ART	0	1	1	72	Višeplode SK	6	17.1
Blizanci SK	4	2	6	342	Jednoplodne ART	3	19.3
Trojke SK	0	0	0	9			
Jednoplodne ART	1	2	3	155			

Analiza parametara fetale kondicije i ugroženosti u toku trudnoće i porođaja nije pokazala statistički značajnu razliku u dijagnozi Hypoxio fetus imm koju bi u toku porođaja služila kao ocena za ugroženost ploda i indikacija za operativno završavanje istog. Tako se ova dijagnoza videla kod 33,13% ART multiplih trudnoća, 35,37% SK višeplodnih trudnoća i 31,50% ART jednoplodnih trudnoća i p vrednost od 0,361. Od drugih parametara koji ukazuju na ugroženost ploda intrauterini zastoj u rastu (IUGR) najčešće se javljaо u višeplodnim ART

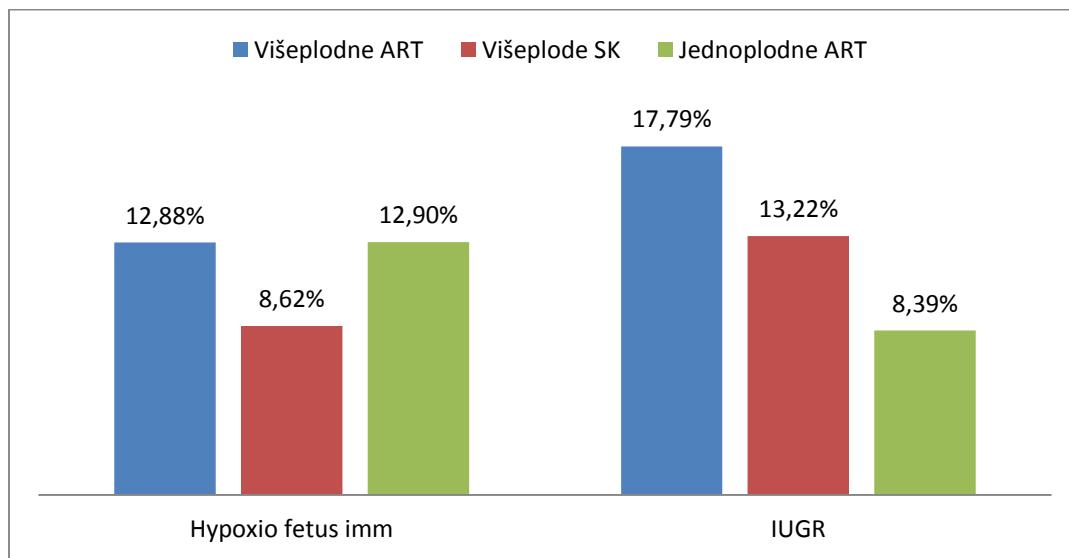
trudnoćama 17,79%, za njima su sledile SK višeplodne trudnoće sa 13,22% dok je ova dijagnoza bila prisutna u 8,39% jednoplodnih ART trudnoća. Razlika je bila statistički značajna ($p=0,0467$). Detaljniji prikaz ovih parametara je šematski (Tabela 13, Grafikon 14)

Tabela 13. Učestalost stanja intrauterine ugroženosti ploda po grupama

	Hypoxio fetus imm.	IUGR
Blizanci ART	12.23%	15.83%
Trojke ART	16.67%	29.17%
Blizanci SK	8.77%	13.45%
Trojke SK	0%	0%
Jednoplodne ART	12.90%	8.39%
p vrednost	0.616	0.044

p vrednost određena Pearsonovim χ^2 testom

Grafikon 14. Učestalost stanja intrauterine ugroženosti ploda po grupama



Prematurno prevremeno prsnuće plodovih obojaka (PPROM) zabeleženo je u 31,9% višeplodnih ART trudnoća, 22,41% višeplodnih SK trudnoća i 7,61% jednoplodnih ART trudnoća i ova razlika je bila statistički značajna među svim grupama ($p<0,0001$).

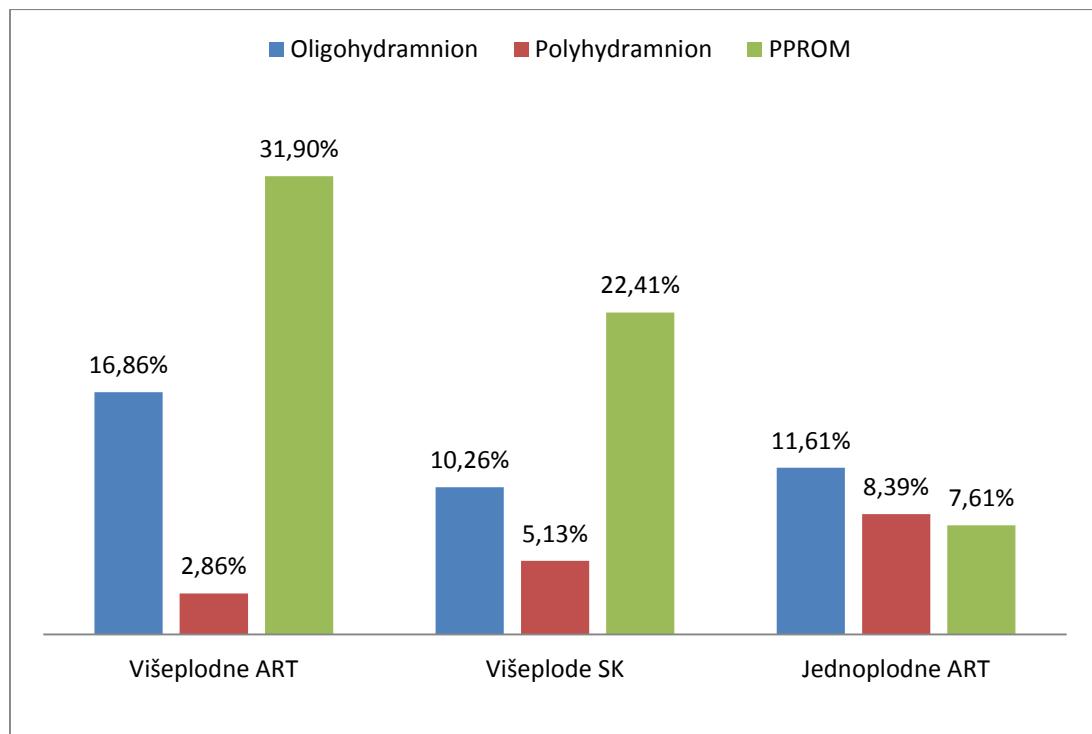
I poremećaji količine plodove vode, kako u smislu smanjenja (oligohidramnion), tako i povećanja (polihidramnion), zabeležili su različite vrednosti u posmatranim grupama. Smanjenje količine plodove vode bilo je najčešće u grupi višeplodnih ART trudnoća sa 16,86%, i statistički značajno veće nego u drugim dvema posmatranim grupama, dok je polihidramnion baš u pomenutoj grupi višeplodnih ART trudnoća pokazao najmanju učestalost od svega 2,86%, dok je za grupu višeplodnih SK trudnoća njegova učestalost iznosila 5,13%, a u grupi jednoplodnih ART trudnoća 8,39%. Razlike su dostigle statističku značajnost (Tabela 14, Grafikon 15).

Tabela 14. Učestalost polihidramniona, oligohidramnion i prevremenog prsnuća ovojaka

	Oligohydramnion	Polyhydramnion	PPROM
Blizanci ART	16.55%	2.52%	34.53%
Trojke ART	18.06%	4.17%	16.67%
Blizanci SK	10.53%	4.97%	22.81%
Trojke SK	0%	11.11%	0%
Jednoplodne ART	11.61%	8.39%	7.61%
p vrednost	0.0488		<0.0001

p vrednost određena Pearsonovim χ^2 testom

Grafikon 15. Učestalost polihidramniona, oligohidramniona i prevremenog prsnuća ovojaka



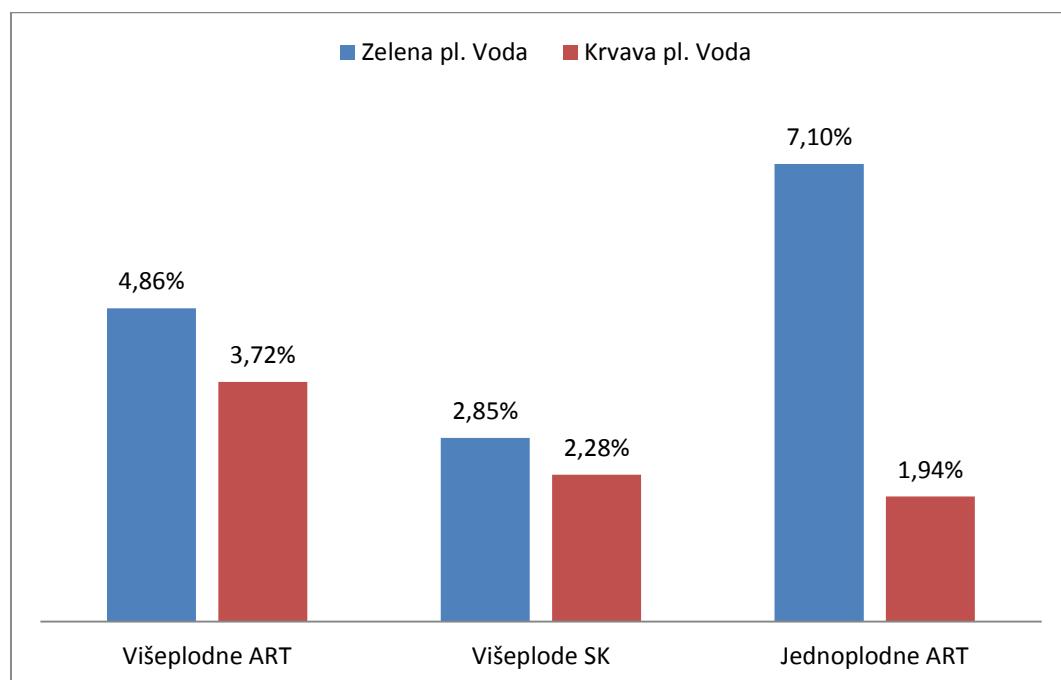
Zelena plodova voda u porođaju, kao znak ugroženosti ploda, bila je najčešća u grupi jednoplodnih ART trudnoća i iznosila je 7,1%, dok se udeo ove pojave nije statistički značajno razlikovao u ART i SK višeplodnim trudnoćama i iznosio je 4,86% i 2,85% istim redom. Krvava plodova voda se najčešće viđala kod ART višeplodnih trudnoća, ali uz male razlike od 3,72% ART višeplodnih naspram 2,28% SK višeplodnih i 1,94% ART jednoplodnih, koje su dostigle statističku značajnost uz $p=0,0376$ (Tabela 15, Grafikon 16)

Tabela 15. Izgled plodove vode po grupama

	Zelena pl. voda	Krvava pl. voda
Blizanci ART	3.96%	4.68%
Trojke ART	8.33%	0%
Blizanci SK	2.92%	2.33%
Trojke SK	0%	0%
Jednoplodne ART	7.10%	1.94%
p vrednost	0.0482	

p vrednost određena Pearsonovim χ^2 testom

Grafikon 16. Izgled plodove vode po grupama



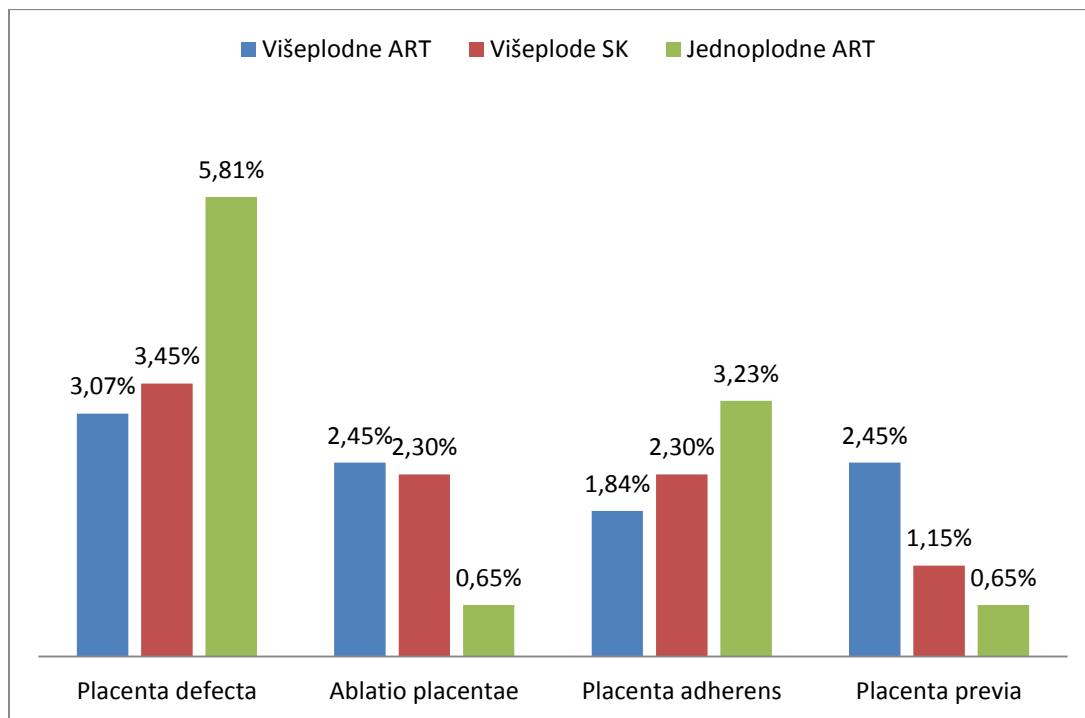
Konačno i analiza patologije, od strane posteljice pokazala je varijabilnost po grupama, ali bez statistilki značajne razlike. Placenta praevia viđena je kod 2,45% ART i 1,15% SK višeplodnih trudnoća, kao i kod 0,65 ART jendoplodnih trudnoća, odnosno u jednom slučaju (Tabela 16, Grafikon 17).

Tabela 16. Komplikacije od strane posteljice

	Placenta defecta	Ablatio placentae	Placenta adherens	Placenta praevia
Blizanci ART	3.60%	2.16%	2.16%	1.44%
Trojke ART	0%	4.17%	0%	8.33%
Blizanci SK	2.34%	2.34%	2.34%	1.17%
Trojke SK	0%	0%	0%	0%
Jednoplodne ART	5.81%	0.65%	3.23%	0.65%
p vrednost			0.2716	

p vrednost određena Pearsonovim χ^2 testom

Grafikon 17. Komplikacije od strane posteljice



Analizirajući komplikacije u trudnoći koje su zahtevali hospitalni tretman dobijeno je sledeće. Hospitalizacija usled pretećeg prevremenog porođaja dogodila se kod 30,06% višeplodnih ART trudnoća, 27,59% višeplodnih trudnoća nakon spontane koncepcije i 20,65% ART jednoplodnih trudnoća, bez statistički značajne razlike ($p=0,142$).

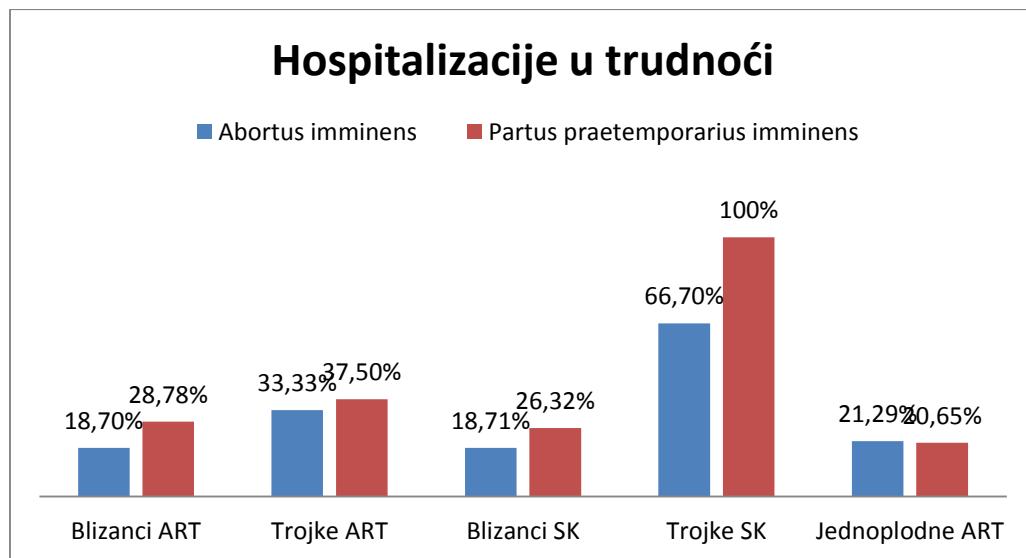
Hospitalizacija usled pretećeg abortusa dogodila se kod 20,86% višeplodnih ART trudnoća, 19,54% višeplodnih trudnoća nakon spontane koncpecije i 21,29% ART jednoplodnih trudnoća, bez statistički značajne razlike ($p=0,918$) (Tabela 17, Grafikon 18).

Tabela 17. Hospitalizacije zbog pretećeg pobačaja/prevremenog porođaja.

	Abortus imminens	Partus praetemporarius imminens
Blizanci ART	18.70%	28.78%
Trojke ART	33.33%	37.50%
Blizanci SK	18.71%	26.32%
Trojke SK	66.70%	100%
Jednoplodne ART	21.29%	20.65%
p vrednost	0,135	0,011

p vredost računata Pearsonovim χ^2 testom.

Grafikon 18. Hospitalizacije zbog pretećeg pobačaja/prevremenog porođaja.



Gestacijski dijabetes melitus (GDM) takođe je komplikacija koja se statistički značajno javljala u višeplodnim ART trudnoćama sa učestalošću od 16,56%, dok je u ostalim posmatranim grupama bila na nivou oko 7% (Tabela 18). Pored GDM i učestalost anemije je

pokazala statistički značajno različitu učestalost u analiziranim grupama, ali je ona bila ubedljivo najmanje zastupljena u grupi jednoplodnih ART trudnoće (41,94%), dok je kod obe grupe višeplodnih trundoća bila značajno veća ($p<0,0001$). (Tabela 18, Grafikon 19).

Hipertenzivni sinrom u trudnoći je takođe, kao pokazao varijacije u svojoj distribuciji po grupama i to ne samo u svojoj ukupnoj učestalosti, već i po učestalosti različitih entiteta ovog sindroma. Tako se hipertenzivni sindrom najčešće viđao u višeplodnim ART trudnoćama (30,06%) i to svega u troplodnim ART trudnoćama (54,17%), dok je u SK višeplodnim trudnoćama bio prisutan u 18,97% trudnoća (Tabela 18). Najredji je bio u jednoplodnim ART trudnoćama (12,26%). Iako mu je ukupna učestalost u višeplodnim ART trudnoćama bila najveća, ovde je znatno ređe dolazilo do teške preeklamsije koja se razvila u samo 6% slučajeva gde je došlo do razvoja hipertenzivnog sindroma, dok je u grupi SK višeplodnih trudnoća ovaj udeo iznosio 18%, a u grupi jednoplodnih ART trudnoća 11% (Tabela 19, Grafikoni 20, 21 i 22).

Tabela 18. Učestalost GDM, hipertenzivnog sindroma i anemije u trudnoći

	GDM	Anemija	Hipertenzivni sindrom
Blizanci ART	15.11%	78.42%	25.90%
Trojke ART	25.00%	83.33%	54.17%
Blizanci SK	7.02%	67.84%	19.30%
Trojke SK	0%	66.67%	0%
Jednoplodne ART	10.16%	41.94%	12.26%
p vrednost	0.0099	<0.0001	0,0014

p vrednost računata Pearsonovim χ^2 testom

Grafikon 19. Učestalost GDM i anemije u trudnoći

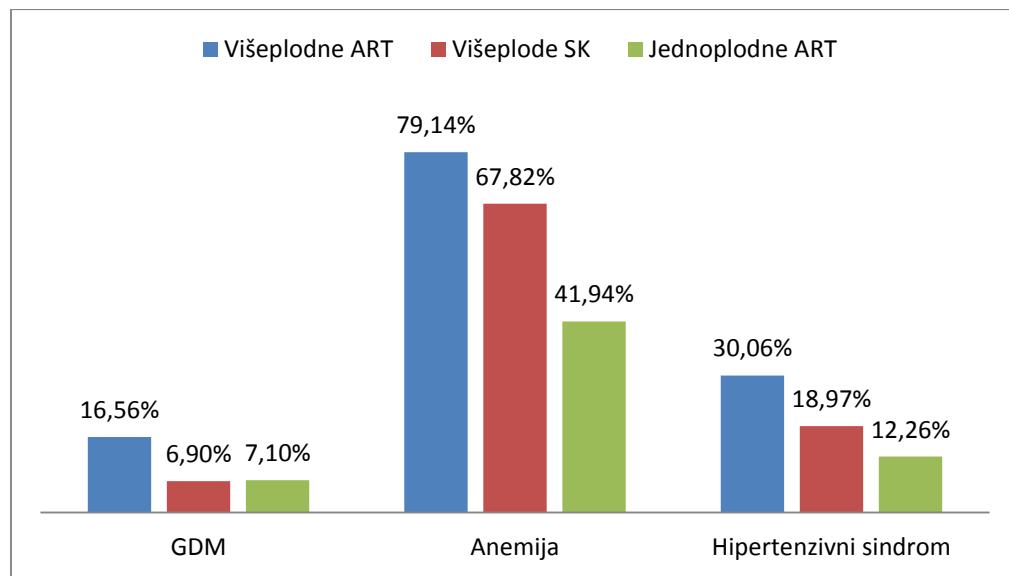
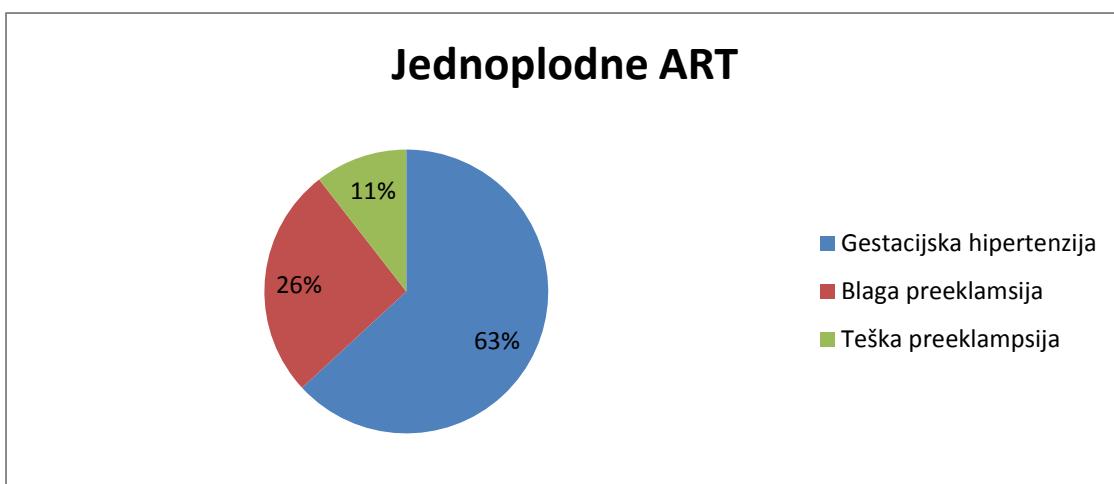
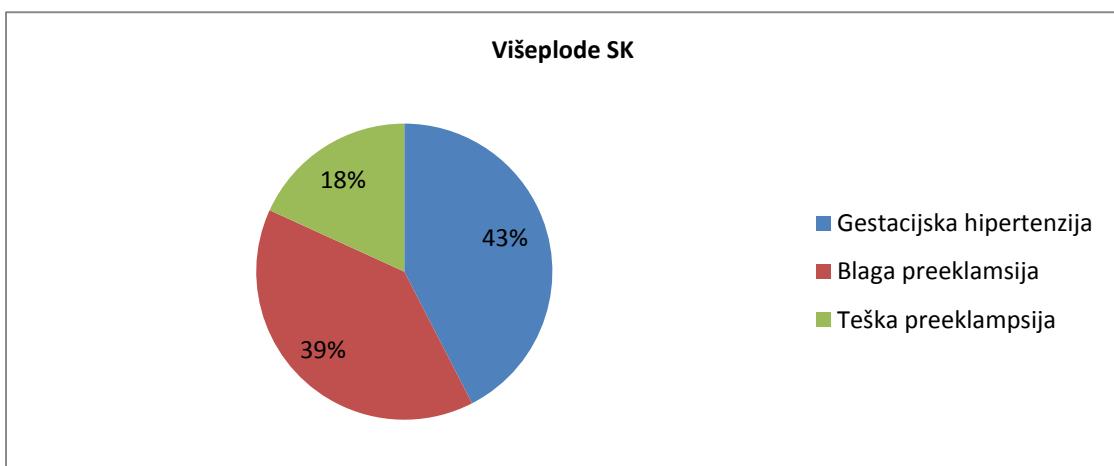
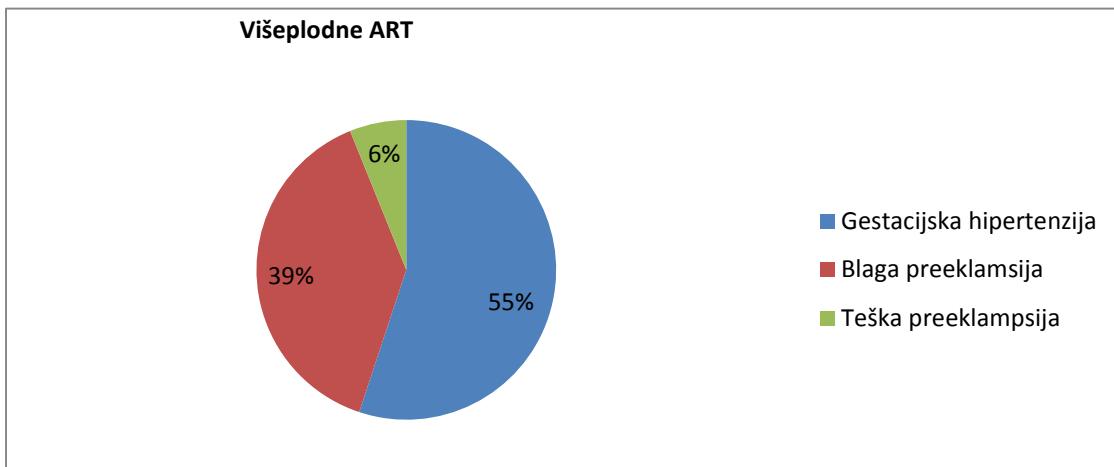


Tabela 19. Ukupna učestalost različitih entiteta hipertenzivnog sindroma po grupama

	Gestacijska hipertenzija	Blaga preeklampsija	Teška preeklampsija
Blizanci ART	13.67%	10.79%	1.44%
Trojke ART	33.33%	16.67%	4.17%
Blizanci SK	8.19%	7.60%	3.51%
Trojke SK	0%	0%	0%
Jednoplodne ART	7.74%	3.23%	1.29%
p vrednost	0.0014		

p vrednost računata Pearsonovim χ^2 testom

Grafikoni 20, 21 i 22. Udeo različitih entiteta hipertenzivnog sindroma po grupama



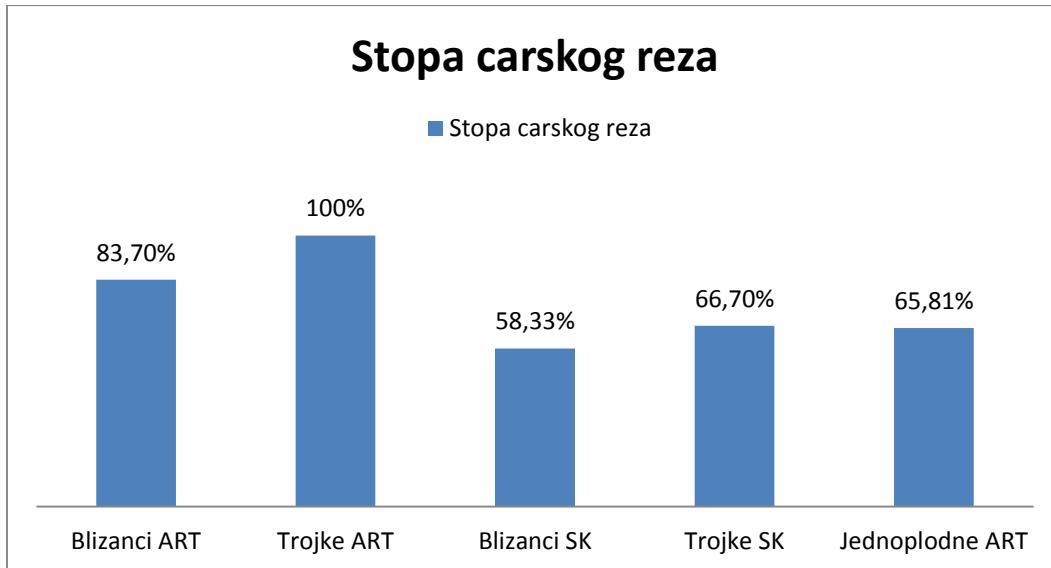
U analizi načina završavanja trudnoće stopa carskog reza (SC) na celom uzorku iznosila je 69,83%, uz statistički značajne razlike među analiziranim grupama. Tako je samo 16,30% blizanačkih ART trudnoća i 34,19% jednoplodnih ART trudnoća porođeno vaginalno, dok je vaginalni porođaj bio modus porođaja za 41,07% spontano začetih blizanačkih trudnoća. Jedini slučaj vakum ekstrakcije desio se na porođaju blizanačke trudnoće spontano začete. Sve troplodne trudnoće iz ART grupe porođene su carskim rezom, za razliku od spontano začetih troplodnih trudnoća gde je jedna žena porođena vaginalno. Jedna trudnoća iz grupe ART blizanačkih trudnoća završena je vaginalnim porodajem za prvi plod, a carskim rezom za drugi plod. Ukupna stopa carskog reza za višeplodne ART trudnoće iznosila je 86,16%, a za SK višeplodne trudnoće 58,24% (Tabela 20, Grafikon 23).

Tabela 20. Modus porođaja po grupama

	Vaginalni porođaj	Carski rez	Vakum ekstrakcija		Carski rez
Blizanci ART	16,30%	83.70%	0%	Višeplodne ART	86.16%
Trojke ART	0%	100%	0%	Višeplode SK	58.24%
Blizanci SK	41,07%	58.33%	0,6%	Jednoplodne ART	65.81%
Trojke SK	33,3%	66.70%	0%		
Jednoplodne ART	34,19%	65.81%	0%		
p vrednost	<0,0001	<0,0001			<0,0001

p vredost računata Pearsonovim χ^2 testom.

Grafikon 23. Stopa carskog reza po analiziranim grupama.



Od posebnih napomena koje su zabeležene prolaps pupčanika zabeležen je u tri trudnoće (jedna ART jednoplodna i dve SK višeplodne), velametozna insercija pupčanika zabeležena je u jednom slučaju ART blizanačke trudnoće, sprovedena je jedna embrioredukcija za troplodnu trudnoću iz ART grupe na dvoplodnu, te je nastavljena kao blizanačka, tri procedure feticida (Sy Down i hidrocefalus u ART višeplodnim trudnoćama, i jedan Sy Edwards u SK blizanačkoj trudnći). TTTS se razvio u dve monohorionske blizanačke trudnoće iz II grupe.

Sumarno su, radi precizne komparacije u istovetnim uslovima neposredno poređeni svi relevantniji parametri perinatalnog ishoda za komparaciju ART i spontano nastalih višeplodnih trudnoća, ART i spontano nastalih blizanačkih trudnoća, ART blizanaca i ART trojki, ART jednoplodnih i blizanačkih trudnoća. Predstavljeni su tabelarno (Tabele 21, 22, 23, i 24).

Tabela 21. Ishod trudnoće i porođaja ART i non ART višeplodnih trudnoća

	non ART multiple trudnoće	ART multiple trudnoće	p vrednost
godine	28.85±5.03	33.02±3.98	<0.0001
<30 god	55.56%	17.90%	
30-35 god	32.75%	45.68%	
35-40 god	9.36%	34.57%	
40-44 god	2.34%	0.62%	
>44 god	0%	1.23%	
BMI	28.44±5.36	29.20±3.81	0.159
BMI>30	23.84%	26.17%	0.4513
GS (gn)	35.99±3.21	35.29±3.12	0.0448
GS <28 gn	2.87%	3.07%	0.0738
GS 28-32	9.20%	8.59%	
GS 32-37	38.51%	52.15%	
Prevremen porođaj	50.57%	63.80%	0.0142
TM (g)	2409±651	2262±661	0.0032
TM<1500g	10%	13.43%	0.083
TM<2500g	41.91%	49.71%	
Diskonkordantnost	12.81%±13.5%	13.36%±12.7%	0.7
DK<10%	51.76%	46.76%	0.63
DK>20%	17.65%	22.30%	
AS 1	7.66±2.18	7.27±2.24	0.02
AS 1 OD 0-3	5.17%	8.91%	0.1543
AS 1 OD 4-6	17.53%	16.38%	
AS 5	8.67±1.76	8.56±1.70	0.399
AS 5 OD 0-3	2.29%	2.32%	0.345
AS 5 OD 4-6	4.87%	7.54%	
NINT	37.04%	43.14%	0.019
Stopa SC	58.24%	86.16%	<0.0001
Perinatalni mortalitet	17.1/1000	31.4/1000	0.539
PPI	27.59%	30.06%	0.616
ABI	19.54%	20.86%	0.7631
HFI	8.62%	12.88%	0.205
Zelena plodova Voda	2.85%	4.86%	0.03
IUGR	13.22%	17.79%	0.2455
Olygohydramnion	10.26%	16.86%	0.0158
Polihydramnion	5.13%	2.86%	0.0158
Ablatio plac	2.30%	2.45%	0.35
Pl. Previa	1.15%	2.45%	
GDM	6.90%	16.56%	0.0056
Anaemia	67.82%	79.14%	0.0189

Hipertenzivni sindrom	18.97%	30.06%	0.0327
Preeklampsija	10.92%	13.50%	
PPROM	22.41%	31.90%	0.049

p vrednost određena metodom ANOVA za poređenje aritmetičkih sredina kontinuiranih varijabli i Pearsonovim χ^2 testom za poređenje učestalosti kategorijskih varijabli.

Tabela 22. Ishod trudnoće i porođaja ART i non ART blizanačkih trudnoća

	non ART blizanačke trudnoće	ART blizanačke trudnoće	p vrednost
godine	28.8±5.06	32.92±4.13	<0.0001
<30 god	54.76%	20.29%	<0.0001
30-35 god	33.33%	42.75%	
35-40 god	9.52%	34.78%	
40-44 god	2.38%	0.72%	
>44 god	0%	1.45%	<0.0001
BMI	28.48±5.40	28.85±3.48	0.515
BMI>30	32.43%	33.86%	0.674
GS (gn)	36.08±3.12	35.60±3.12	0.1792
GS <28 gn	2.34%	2.88%	0.4258
GS 28-32	8.77%	7.91%	
GS 32-37	38.60%	47.48%	
Prevremen porođaj	49.71%	58.27%	0.1326
TM (g)	2433.2±636.85	2374.28±653.41	0.258
TM<1500g	9%	10.07%	0.5217
TM<2500g	41.35%	44.96%	
Diskonkordantnost	12.51%±13.28%	13.61%±12.9%	0.464
DK<10%	51.76%	46.76%	0.633
DK>20%	17.65%	22.30%	
AS 1	7.75±2.07	7.45±2.24	0.087
AS 1 OD 0-3	4.42%	7.97%	0.128
AS 1 OD 4-6	16.81%	13.77%	
AS 5	8.75±1.63	8.65±1.77	0.44
AS 5 OD 0-3	1.79%	2.92%	0.36
AS 5 OD 4-6	4.71%	6.57%	
NINT	36.84%	43.17%	0.21
Stopa SC	58.33%	83.70%	<0.0001

Perinatalni mortalitet	17.1/1000	35.9/1000	0.517
PPI	26.32%	28.78%	0.629
ABI	18.71%	18.71%	0.998
HFI	8.77%	12.23%	0.3196
Zelena plodova Voda	2.92%	3.96%	0.0395
IUGR	13.45%	15.83%	0.55
Olygohydramnion	10.53%	16.55%	0.033
Polihydramnion	4.97%	2.52%	0.033
Ablatio plac	2.34%	2.16%	0.586
Pl. Previa	1.17%	2.46%	
GDM	7.02%	15.11%	0.0216
Anaemia	67.84%	78.42%	0.037
Hipertenzivni sindrom	19.30%	25.90%	0.192
Preeklampsija	11.11%	12.23%	
PPROM	22.81%	34.53%	0.022

p vrednost određena metodom ANOVA za poređenje aritmetičkih sredina kontinuiranih varijabli i Pearsonovim χ^2 testom za poređenje učestalosti kategoriskih varijabli.

Tabela 23. Ishod trudnoće i porođaja ART blizanaca i ART trojki

	ART blizanačke trudnoće	ART trojke	p vrednost
godine	32.92±4.13	33.62±2.93	0.425
<30 god	20.29%	4.17%	0.2628
30-35 god	42.75%	62.50%	
35-40 god	34.78%	33.33%	
40-44 god	0.72%	0.00%	
>44 god	1.45%	0.00%	0.2628
BMI	28.85±3.48	31.234.93	0.006
BMI>30	33.86%	50.00%	0.0331
GS (gn)	35.60±3.12	33.510±2.57	0.002
GS <28 gn	2.88%	4.17%	0.0058
GS 28-32	7.91%	12.50%	
GS 32-37	47.48%	79.17%	
Prevremeni porođaj	58.27%	95.83%	0.0004
TM (g)	2374.28±653.41	2374.28±653.41	0.258

TM<1500g	10.07%	10.07%	0.5217
TM<2500g	44.96%	44.96%	
Diskonkordantnost	13.61%±12.9%	11.91%±11.6%	0.5473
AS 1	7.45±2.24	6.58±2.09	0.0033
AS 1 OD 0-3	7.97%	12.50%	0.010
AS 1 OD 4-6	13.77%	26.39%	
AS 5	8.65±1.77	8.22±1,36	0.060
AS 5 OD 0-3	2.92%	0%	0.153
AS 5 OD 4-6	6.57%	7,54%	
NINT	43.17%	43.17%	0.210
Stopa SC	83.70%	100.00%	0.033
Perinatalni mortalitet	35.9/1000	41.7/1000	0.912
PPI	28.78%	37.50%	0.3894
ABI	18.71%	33.33%	0.103
HFI	12.23%	16.67%	0.5491
Zelena plodova Voda	3.96%	3.96%	0.0395
IUGR	15.83%	29.17%	0.114
Olygohydramnion	16.55%	16.55%	0.033
Polihydramnion	2.52%	2.52%	0.033
Ablatio plac	2.16%	4.17%	0.319
Pl. Previa	2.46%	8.33%	
GDM	15.11%	25.00%	0.228
Anaemia	78.42%	83.33%	0.584
Hipertenzivni sindrom	25.90%	54.17%	0.035
Preeklampsija	12.23%	20.84%	
PPROM	34.53%	16.67%	0.082

p vrednost određena metodom ANOVA za poređenje aritmetičkih sredina kontinuiranih varijabli i Pearsonovim χ^2 testom za poređenje učestalosti kategoriskih varijabli.

Tabela 24. Ishod trudnoće i porođaja ART blizanaca i ART jednoplodnih

	ART blizanačke trudnoće	ART jednolodne	p vrednost
godine	32.92±4.13	33.54±3.80	0.177
<30 god	20.29%	16.13%	0.188
30-35 god	42.75%	38.06%	0.188
35-40 god	34.78%	43.23%	
40-44 god	0.72%	2.58%	
>44 god	1.45%	0.00%	
BMI	28.85±3.48	27.68±3.48	0.0233

BMI>30	33.86%	27.27%	0.102
GS (gn)	35.60±3.12	38.26±2.21	<0.0001
GS <28 gn	2.88%	1.29%	<0.0001
GS 28-32	7.91%	0.65%	<0.0001
GS 32-37	47.48%	10.97%	<0.0001
Prevremeni porođaj	58.27%	12.90%	<0.0001
TM (g)	2374.28±653.41	3258.00±666.5	<0.0001
TM<1500g	10.07%	1.29%	<0.0001
TM<2500g	44.96%	10.97%	
AS 1	7.45±2.24	8.35±1.46	<0.0001
AS 1 OD 0-3	7.97%	1.94%	<0.0001
AS 1 OD 4-6	13.77%	3.23%	
AS 5	8.65±1.77	9.21±1.49	0.0008
AS 5 OD 0-3	2.92%	1.94%	0.0038
AS 5 OD 4-6	6.57%	0.00%	
NINT	43.17%	4.52%	<0.0001
Stopa SC	83.70%	65.81%	0.0005
Perinatalni mortalitet	35.9/1000	19.3/1000	0.182
PPI	28.78%	20.65%	0.105
ABI	18.71%	21.29%	0.58
HFI	12.23%	12.90%	0.862
Zelena plodova Voda	3.96%	7.10%	0.21
IUGR	15.83%	8.39%	0.0492
Olygohydramnion	16.55%	11.61%	0.01
Polihydramnion	2.52%	8.39%	0.01
Ablatio plac	2.16%	0.65%	0.569
Pl. Previa	2.46%	0.65%	
GDM	15.11%	7.10%	0.027
Anaemia	78.42%	41.94%	<0.0001
Hipertenzivni sindrom	25.90%	12.26%	0.016
Preeklampsija	12.23%	4.52%	
PPROM	34.53%	11.16%	<0.0001

p vrednost određena metodom ANOVA za poređenje aritmetičkih sredina kontinuiranih varijabli i Pearsonovim χ^2 testom za poređenje učestalosti kategorijskoih varijabli.

6. Diskusija

Sprovedena studija je dobila rezultate koji su u skladu sa zapažanjima većine drugih autora u smislu perinatalnih ishoda trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje, i to kako višeplodnih tako i jednoplodnih trudnoća (42, 53, 113).

Grubo rečeno, studija je, uprkos svojim objektivnim metodološkim nedostacima, u datim uslovima sprovođenja postupaka vantelesne oplodnje u našoj sredini, dokazala da su perinatalni ishodi višeplodnih trudnoća, nastalih spontano i nakon postupaka vantelesne oplodnje komparabilni, ekvivalentni po svim posmatrаниm parametrima sem načina završetka porođaja, kao i da su u skladu sa rezultatima drugih studija i u nivou standarda perinatalnih ishoda koje se za višeplodne trudnoće opisuju u literaturi (6).

Jednoplodne trudnoće iz postupaka ART su praktično u svakom relevantnom parametru perinatalnog ishoda značajno superiorniji od istih ishoda u višeplodnim trudnoćama, ukazujući na činjenicu da je sam pojam višeplodne trudnoće, a ne način koncepcije, faktor rizika za lošiji perinatalni ishod, i još jednom ukazala na neophodnost aktivne primene mera za njihovo smanjivanje.

Jedan od ključnih metodoloških nedostataka sprovedenog istraživanja leži u činjenici da ona nije ispitivala sprovođenje aktivnih mera za smanjenje stope multiplih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje, i njihov uticaj na perinatalni ishod i zdravstveni sistem u celosti, ali ovo je više sistemski problem koji zahteva sveobuhvatnije angažovanje drtuštva i o njemu će u daljem toku biti više reči. Naime, doktrina lečenja steriliteta postupcima asistiranih reproduktivnih tehnologija kompleksna je i inertna disciplina, u kojoj aktivnu ulogu, iako je

vrlo često nisu svesni, igraju ne samo zdravstveni radnici, već i pacijenti i društvo u celini i promene na ovom polju bile bi preduslov za sprovođenje jednog takvog istražvanja koje bi svakako imalo daleko veću težinu.

Sama ideja započinjanja studije ipak je ležala u neophodnosti i sopstvenih rezultata, koji bi bio, po postulatima medicine zasnovane na dokazima, dodatan podstrek i motiv odgovarajućim instancama i akterima u ovoj kompleksnoj delatnostima. Tako bi se u bližoj budućnosti stvorile pretpostavke i uslovi za implementaciju SET-a na daleko većem nivou, i omogućile naknadnu evaluaciju primenjenih mera i njihovog uticaja na uspeh vantelesne oplodnje u pravom smislu te reči i zdravstveni sistem u celosti. Ovo je svakako zadatak neke naredne studije koja bi se sprovodila.

Drugi veliki metodološki nedostatak studije leži i u činjenici da samo vođenje trudnoća, kako jednoplodnih, a naročito višeplodnih, njihovo aktivno praćenje, notiranje relevantnih podataka i primena odgovarajućih mera ni izbliza nije standardizovano i uniformno u našem zdravstvenom sistemu. I ovde je sprovedeno ispitivanje moglo, u određenim situacijama, samo da zauzme ulogu neutralnog posmatrača.

Trudnoće iz postupaka ART po pravilu su bile daleko intenzivnije praćene, kako prenatalno, tako i postnatalno, bilo da su višeplodne ili jednoplodne, jer potпадaju pod jedinstven sistem nadzora, monitoringa i kontrole koje se na našoj klinici sprovode. Ovo je univerzalna karakteristika trudnoća iz postupaka ART ne samo u našoj sredini već svugde u svetu, pošto uprkos sve većoj učestalosti, one i dalje predstavljaju retkost i nose sa sobom brojne specifičnosti (113, 114).

Spontane višeplodne trudnoće, koje su analizirane datom studijom, ni izbliza nisu imale taj nivo nadzora i uvida u njihov tok, primenjene mere i relevantne kliničke događaje i karakteristike koje su ih pratile, kao ni standardizovanu primenu mera za njihov tretman. Neretko se sa njima susretalo tek prilikom samog porođaja kada su ove pacijentkinje prvi put primane na našu kliniku. U našoj zemlji, naime, ne postoje registri za praćenje višeplodnih trudnoća, a struktura zdravstvenog sistema, sa centralizovanim tercijarnim centrom koji pokriva gotovo dva miliona ljudi, dozvoljava mogućnost da se sa višeplodnom trudnoćom, iako po definiciji trudnoćom visokog rizika, zdravstveno osoblje naše klinike susretne prvi put na porođaju. Ovo svakako otvara mogućnosti za metodološke nepravilnosti, pre svega u smislu *ocene učestalosti pojedinih komplikacija u višeplodnim trudnoćama*, kao i *uticaja primenjenih mera u aktivnom tretmanu ovih trudnoća*.

Takođe bitan metodološki nedostatak sprovedenog istraživanja je *način identifikovanja i notiranja određenih komplikacija u toku trudnoće*, razlikovao se svakako po posmatranim grupama. ART trudnoće same po sebi imaju, kao što je, rečeno tendenciju prekomernog tretmana u dijagnostici i praćenju istih, kao i primeni određenih terapijskih modaliteta, uz veliku polipragmaziju, i konstatno insistiranje na detekciji svih mogućih komplikacija, a pod pritiskom kako pacijenata, tako i stručne i šire javnosti i percepcije samih kliničara koji se njima bave (114, 115). Ove trudnoće se doživljavaju posebno rizičnim, teškim, sa “većim ulogom” u opštoj percepciji i to svakako oblikuje praktično ophođenje prema njima.

Metodološki nedostatak, koji se spominje, predstavlja činjenicu da je u opisanim okolnostima, i pod gore opisanim pritiscima, stepen notiranja i detekcije bilo kakvih komplikacija trudnoća, broja hospitalizacija i drugih mera opterećenja sistema znatno veći za ART trudnoće i može da bude uzrok predrasuda i navođenja na neodgovarajuće zaključke.

Tako učestalost većine komplikacija u ART trudnoćama, koje jesu ili nisu zahtevale hospitalni tretman, moramo uzeti sa dozom rezerve, kao i možda potcenjenu učestalost istih komplikacija u non ART višeplodnim trudnoćama.

Kako je u odeljku o metodologiji predstavljeno, ključna alatka za analiziranje toka ovih trudnoća predstavljali su medicinski kartoni trudnica u koje se, prisustvo određenih akušerskih komplikacija u toku trudnoće, unosilo pre svega na osnovu anamnestičkih podataka pacijentkinja. U spontano začetoj trudnoći, pa čak i višeplodnoj, sama percepcija pacijenata ovih komplikacija i potreba za navođenjem istih prilikom prijemnog razgovora sa lekarom, pobuđuje sumnju da se ovde vrlo često određeni podaci previde, i izostave, što uglavnom nije slučaj sa ART trudnoćama. Sa druge strane, i pristup radu, detaljnost u uzimanju anamnestičkih podataka i drugih klinički signifikantnih parametara toka trudnoće ni iz bliza nije standardizovana od jednog do drugog lekara, što sve utiče na nekonzistentnost u ovom metodološki bitnom aspektu sprovedene studije.

Ipak, dominantni parametri perinatalnog ishoda, koji najviše i definišu posledice višeplodnih trudnoća, ogledanih pre svega kroz dostignutu gestacijsku starost i porođajnu telesnu masu, nisu značajno kompromitovani ovim metodološkim nedostatkom te se ni ključni rezultati studije, njihov značaj za svakodnevnu kliničku praksu, i zaključci koje na osnovu njih proizilaze i koji bi trebalo da oblikuju dalju praksu u svetu reproduktivne medicine i asistirane reprodukcije kod nas, mogu uzeti sa značajnom dozom pouzdanosti.

Dобра strana studije leži sa druge strane u činjenici da su svi porođaji obavljeni baš na jednoj klinici sa sličnom akušerskom metodologijom rada, kao i većina postupaka vantelesne oplođnje.

Večita kontraverza ART trudnoća leži najviše u pitanjima vezanim baš za perinatalni ishod, i kratkoročne i dugoročne posledice po zdravlje pre svega dece, ali i majki. Ovo pitanje je svakako višeslojno i daleko od uniformnog. Moglo bi se reći da se dodatnim parcelisanjem ovog pitanje otvaraju brojne dileme, koja svaka pojedinačno doprinosi mozaiku kompleksne analize problema.

Među najznačajnijim dilemama svakako leže one da li ART sam po sebi predstavlja faktor rizika u smislu negativnog perinatalnog ishoda, da li se ovo podjednako odnosi na jednoplodne i višeplodne trudnoće, da li sam modus fertilizacije (IVF ili ICSI), ciklusi sa svežim i zamrznutim gametima i embrionima, i brojne druge karakteristike asistirane reprodukcije doprinose eventualnim razlikama, i koliki je njihov pojedinačni i ukupni doprinos, ili su preegzistirajuće karakteristike roditelja, sam infertilitet, starost i druge maternalne i paternalne karakteristike faktori koji doprinose eventualnom negativnom perinatalnom ishodu.

6.1. Analiza dobijenih rezultata

Studija je finalno obuhvatila 492 porođene žene, 155 iz grupe jednoplodnih ART trudnoća, 139 sa vantelesno začetim blizancima, 24 sa vantelesno začetim trojkama, 3 sa spontano začetim trojkama i 171 sa spontano začetim blizanačkim trudnoćama.

Već sama analiza demografskih pokazatelja ukazala je na očekivanu manju prosečnu starost non ART trudnica koje su u proseku bile gotovo pet godina mlađe od svojih ART koleginica, koje su u preko polovine slučajeva pripadale starostnoj grupi do 30 godina (Tabela

3). Iako je opšte prihvaćena premla da starija životna dob nosi odgovarajuće rizike u smislu ishoda trudnoće i porođaja kako po majku, tako i po plod, kada se u jednačinu uvrsti i modus konceptcije vrlo često se stvari dodatno komplikuju. Infertilitet sam po sebi češće pogarda žene starije dobi, godine su pored samog infertiliteta često prvi krivac za sve studije gde je perinatalni ishod ART trudnoća gori (42, 88). Ipak određeni faktori kao što je manji broj monohorionskih blizanaca, bolja prekonceptcijaska priprema pacijentkinja, intenzivniji antenatalni monitoring, često su protektivni faktori koji mogu da kompenzuju same godine u određenoj meri.

Tako je dokazano da pacijenkinje starijeg životnog doba samo u slučaju preegzistirajuće patologije u smislu hipertenzije, poremećaja metabolizma glukoze i drugo, nose veći rizik od obstetričkih komplikacija, maternalnog morbiditeta i mortaliteta (116).

Starije životno doba majke se u određenim studijama, u odsustvu drugih komplikacija, pokazalo i kao protektivno u kvalitetnom preživljavanju prevremeno rođenih novorođenčadi, gde se glavni morbiditet smanjio za 5% a i mortalitet za 8% kako se godine majke povećavaju za interval od pet godina (117).

Ima studija koje nisu našle povećanu učestalost preeklampsije, prevremenog porođaja niske telesne mase i neonatalne asfiksije kod prvorotki starijih od 35 godina u poređenju sa mlađim ženama, a koje nose blizance (118). Međutim, određene studije zabeležile su visok procenat veoma niske porođajne telesne mase i preeklampsije baš kod te starosne grupe pacijentkinja (119).

Udeo gojaznosti, i prosečne vrednosti BMI su takođe pokazale varijacije među grupama, ali u ovom slučaju očekivano obrnuto proporcionalno broju plodova. Ni ovde

metodološka postavka nije bila besprekorna, jer su se, radi mogućnosti poređenja, a u odsustvu prekonceptičkih podataka o non ART trudnicama, uzimale vrednosti BMI na porođaju, gde višeplodne trudnoće same po sebi nose više tereta fetalnog porekla bez zadiranja u telesni sastav majke i posledične metaboličke i endokrinološke efekte. Udeo ekstremno gojaznih trudnica na našem uzorku nije bio izražen u meri u kojoj to srećemo u drugim studijama, dominatno porekla SAD-a i zapadnoevropskih zemalja nije prelazio 10%, što je svakako ohrabrujuće (120).

Maternalna gojaznost pokazana je u višeplodnim i jednoplodnim trudnoćama, nezavisno od modusa koncepcije, kao faktor rizika za izrazito prevremen porođaj, pre 28 gn, kao i za širok spektar poremećaja iz oblasti patologije trudnoće uključujući hipertenzivni sindrom, GDM, poremećaje koagulacije, respiratorne komplikacije, kao i fetalne koplikacije poput akceleracije rasta, kongenitalnih malformacija, ramene distocije i konačno mrtvorodenja (121).

Ipak, metaboličke konsekvene svakako su zavisile od broja plodova i vrednosti BMI, kako u našoj studiji, sa češćom pojmom GDM, a tako i u drugim studijama na datu temu. Majke koje nose blizance imaju veće šanse za hiperemēzis, više vrednosti BMI i posledične poremećaje metabolizma glukoze i razvoj GDM-a (122).

Pojedinačno, možda najznačajniji rezultat proističe iz analize dospiljute **gestacijske starosti i udela prevremenog porođaja**. Svi podaci iz literature ukazuju da je baš sindrom prevremeneog porođaja osnovni uzrok perinatalnog morbiditeta i mortaliteta (6), osnovni problem višeplodnih trudnoća kako ART, tako i non ART i definitivno “glavni krivac” suboptimalnog ili negativnog perinatalnog ishoda ART trudnoća. Prematuritet je takođe vodeći

uzrok ranog i kasnog neonatalnog morbiditeta i mortaliteta, pre svega razvojem respiratorne patologije novorođenčeta, neonatalnih infekcija i neuroloških sekvela i sledstvenog psihomotornog razvoja (124).

Kada bi se svi drugi potencijalni problemi i komplikacije koje blizanačke trudnoće nose, objedinili, bez obzira na modus koncepcije (blizanaštvo je i samo po sebi teratogen proces i dr.), ne bi ni malim delom doprineli u ukupnoj analizi problema negativnom perinatalnom ishodu višeplodnih trudnoća u poređenju sa prevremenošću (6).

Sindrom prevremenog porođaja predstavlja jedan od najkontraverznijih i najznačajnijih kliničkih entiteta savremene akušerske prakse i alfu i omegu problema višeplodnih trudnoća.

Učestalost prevremenog porođaja iznosi oko 5-9 % u razvijenim zemljama, a velika studija na ovu temu, sprovedena na našoj Klinici, ustanovila je, na desetogodišnjem uzorku, da stopa prevremenog porođaja u opštoj populaciji iznosi 4.82% (124).

Na ispitivanom uzorku prosečna gestacijska starost trojki iznosila je oko 33 gn, blizanaca blizu 36 gn, bez statistički značajne razlike ART i non ART blizanaca, dok su jednoplodne trudnoće u proseku bile terminske. Ipak udeo prevremenog porođaja za sve tri grupe premašuje opisanu situaciju u opštoj populaciji i iznosi čak 12,9% za ART jednoplodne, gotovo 100% za troplodne i približno 60% za ART blizance i oko 50 % za non ART blizance. Osim nešto više stope prevremenog porođaja za ART jednoplodne trudnoće ostali rezultati su u skladu sa zabeleženim epidemiološkim trendovima.

Globalna analiza učestalosti prevremenog porođaja je, uprkos razvoju medicine i perinatalne zaštite, bez značajnijih promena poslednjih decenija (uz trend porasta). Ova činjenica predstavlja jedan od primarnih interesovanja savremene perinatologije (125).

Opisana epidemiološka situaciju se globalno pripisuje sve većem broju multiplih trudnoća iz programa asistiranih reproduktivnih tehnologija (126), kao i značajnog porasta takozvanih medicinskih indikovanih prevremenih porođaja.

Podela prevremenih porođaja, iz ugla kliničke prakse, najčešće se bazira na osnovu dostignute gestacijske starosti, tako je ovaj parametar najznačajniji prediktor perinatalnog mortaliteta i morbiditeta (127, 128). Pored navedenog postoji i podela po tipu prevremenog porođaja, koja podrazumeva spontani prevremeni porođaj sa intaktnim fetalnim membranama, prevremeno prsnuće plodovih ovojaka (PPROM), i medicinski indikovani prevremeni porođaj (na osnovu indikacija od strane majke ili ploda) od izuzetne je značajnosti iz aspekta višeplodnih trudnoća, kao i mera koje su nam na raspolaganju.

U patofiziološkom smislu za višeplodne trudnoće poznati faktori, kao što je rastegljivost materice sa istezanjem glatke muskulature miometrijuma, veličina trbušne duplje i pritisak na vitalne organe sa sledstvenim cirkulatornim poremećajima, insuficijencija posteljice, te fetalna komponenta etiologije prevremenih porođaja, svakako imaju svoju veliku ulogu (6).

Ispitivanje etiologije prevremenog porođaja u opštoj jednoplodnoj populaciji ukazalo je da, prethodni prevremeni porođaj, dokazana insuficijencija cervikalnog kanala i infektivni uzročnici, igraju glavnu ulogu, ali ovi faktori su malo pod uticajem mera koje možemo da primenimo (124).

Medicinski indikovani prevremeni porođaji, su kod nas, kao i u svetu u značajnom porastu (124) i ovaj entitet predstavlja značajno polje interesovanja perinatologije pošto

aktivnim merama, koje primenjujemo u toku vođenja trudnoće, možemo značajno da utičemo na učestalost prevremenog porođaja.

Ipak patofiziologija i epidemiologija prevremenog porođaja u višeplodnim trudnoćama ukazuje da je od svih uzroka, za razliku od jednoplodnih trudnoća baš kategorija medicinski indikovanih prevremenih porođaja dominantna i zauzima preko 50% svih prevremenih porođaja (6). Ovo je dominantnije zabeleženo u ART višeplodnim trudnoćama, najverovatnije kao posledica intenzivnijeg antenatalnog nadzora, pošto studije ukazuju da češće antenatalne posete lekaru dovode do ranijeg završavanja trudnoće. Ipak, većina ovih porođaja je nakon 34 gestacijske nedelje i iako, u ovim situacijama, ART trudnoće pokazuju manju prosečnu gestacijsku starost, perinatalni mortalitet majki i plodova nisu ugroženi uz čak mogući protektivni efekat (6).

Naša studija je dobila značajni udeo PPROM-a, ali detaljnija analiza ukazuje da ovo, u najvećem broju pre svega blizanačkih ART trudnoća gde je statistički značajno dominirala ova dijagnoza, bilo u kasnijoj trudnoći, nakon 34 gestacijske nedelje uz možda i preterivanje u učestalosti dijagnoze pošto se čak i u slučaju notirana intaktnosti ovojaka prednjačećeg ploda usled čestih pregleda insistiralo da se oticanje tečnosti pripiše mogućem prsnuću ovojaka drugog ploda.

Pored apsolutne gestacijske starosti i ukupne učestalosti prevremenog porođaja koji su očekivani, opšte poznati i za našu populaciju višeplodnih trudnoća nisu ukazali na druge rezultate od standarda iz literature (29, 42). Poseban interes izaziva analiza ranog prevremenog porođaja (pre 32gn) i izrazito ranog prevremenog porođaja (pre 28 gn) kako je baš pripadanje ovim kategorijama devastirajuće za zdravlje ploda i njegovo kvalitetno preživljavanje. Ove

kategorije su se dešavale u oko 3% višeplodnih trudnoća (pre 28 gn) i oko 9% višeplodnih trudnoća (28-32 gn), tako da je većina prevremenih porođaja bila u “sigurnoj” zoni nakon 32gn. Baš u ovoj grupi je i primećena diskretno veća učestalost ART višeplodnih trudnoća, najčešće kao posledica medicinski indikovanog završavanja trudnoće, iz predostrožnosti i sa kvalitetnim ishodima po plod , dakle bez značajnijih kliničkih implikacija (Tabela 6).

Dodatnu zabunu u interpretiranje rezultata studije može uneti i činjenjica da kada se posmatraju perinatalni ishodi ART i non ART multiplih trudnoća u brojnim parametrima uočava se mala ali statistički značajna razlika (tabela 21) uz napomenu da non ART višeplodne trudnoće sadrže samo tri seta trojki dok ih u ART grupi ima 24. Kada se izolovano gledaju samo non ART i ART blizanci (Tabela 22) većina razlika se gubi ili svodi nam meru bez kliničke signifikantnosti. Jednoplodne trudnoće su očekivano superiornije u svim posmatranim parametrima, uz malo veću učestalost prevremenog (i to kasnog) porođaja u odnosu na opšu populaciju, ali se objašnjenje u smislu preventivnog završavanja trudnoće itekako odnosi i na ovaj rezultat.

Slične zaključke dobijamo i analizom **telesne mase** novorođenčadi koja jasno korelira i oslikava pravilnosti zabeležene sa gestacijskom starošću. TM blizanaca od oko 2400 g u proseku ne razlikuje se značajno kod ART i non ART plodova, za trojke je u potencijalno opasnoj zoni od oko 1800g, dok su jednoplodne trudnoće prosečno eutrofične i normalne telesne mase za opštu populaciju novorođenčadi (129)(Tabela 7).

Udeo blizanaca i trojki koji se nalaze u zoni male (<2500g) i izrazito male (<1500g) ne razlikuje se statistički značajno kada se porede ART i non ART trudnoće. Troplodne trudnoće sa druge strane pokazuju izrazito više plodova u ekstremno maloj porođajnoj težini

od 23,39% za ART troplodne trdnoće. Takođe manje zaključaka izvodimo iz apsolutnih vrednosti telesne mase koja je prilično korektna za sve posmatrane grupe, dok baš udeo plodova u ovim rizičnim vrednostima ukazuje na opasnost po zdravlje dece. On svakako korelira sa gestacijskom starostti.

Samo pripadanje ovim kategorijama određuje ovoj deci iz višeplodnih trudnoća izuzetno velik rizik po zdravlje (6). Sve studije koje su se bavile ovom temom definisale su da se stopa razvojnih komplikacija, cerebralne paralize, učestalosti respiratornog distres sindroma i drugih poremećaja zdravlja novorođenčeta, kao i potreba za daljim intenzivnim lečenjem, opterećenostšću zdravstvenog sistema, ali i dugoročnim posledicama po dalji razvoj ove dece i njihove kognitivne kapacitete višestruko i eksponencijalno povećava u navedenim kategorijama (53, 88, 129). Takođe broj plodova, a ne modus koncepcije se i u drugim studijama pokazao kao jedini faktor koji utiče na učestalost ove pojave.

Radi preciznije analize uticaja telesne mase, kao faktora perinatalnog ishoda, koristi se pojam diskonkordantnosti u telesnoj masi parova višeplodnih trudnoća, a po prethodno opisanoj metodologiji. Diskonkordantnost od ispod 10% smatra se apsolutno dobrom i prihvatljivom, dok su studije pokazale da sa porastom ove pojave u intervalima od po 5% kliničke implikacije postaju izraženije. Naročito loši perinatalni ishodi zabeleženi su kod diskonkordanatnosti od preko 20% i posebno preko 30% (130). U navedenoj studiji udeo dece sa DK ispod 10% iznosio je 38,4%, dok je ok 10 % dece imalo DK iznad 30%. Ove vrednosti su asocirane sa stopom neonatalne smrtnosti od 25% kongenitalnih anomalija od 37,5%, zastoja u rastu kod 31,8% AS<7 u 5. Minutu kod 33,3%, i periventrikularne leukomalacije kod 16,7% dece (131).

Nastanak same diskonkordantnosti ne leži samo u potencijalnom deljenju krvotoka kod monohorionskih trudnoća, već i u razvojnim potencijalima pojedinačnih plodova, ali pre svega u samoj placentaciji i kasnijem funkcionisanju fetoplacentne jedinice (6). Takođe poznato je da u uslovima multiple implantacije embriona vrlo često će kod bar jednog ako ne i svih plodova usled same teskobe mesto implantacije biti suboptimalno u smislu dalje kvalitetne placentacije (6).

Kod nas je u analizi DK ispod 10% zabeležena u gotovo polovine blizanaca što je odličan rezultat, a udeo DK preko 30 % svega 7,91% za ART i 6,47% za non ART blizance. Ipak oko 20% blizanaca iz obe grupe iskazalo je DK preko 20% uz nešto više vrednosti (mada ne statističke značajno u ART grupi), što svakako zahteva veći oprez i aktivno traženje ove pojave u praćenju višeplodnih trudnoća.

Od parametara koji ocenjuju kondiciju ploda zlatni standard su svakako vrednosti AS u prvom i petom minutu (132). Uočena je statistički značajna razlika između jednoplodnih i višeplodnih trudnoća kako u prvom teko i u petom minutu uz prosečne vrednosti za jednoplodne ART trudnoće od 8,33 i 9,22, kao za višeplodne ART od 7,27 i 8,56, kao i 7,66 i 8,67 za višeplodne non ART trundoće.

Metodološki nedostatak predstavlja i činjenica da prilikom vaginalnog porođaja, koji je češće zastupljen u non ART grupi, samo ocenjivanje izvodi ginekolog dok je prilikom carskog reza pedijatar lekar koji prima i ocenjuje dete. Nepisano i svakako nepotvrđeno zapažanje je da su ginekolozi često darežljiviji u ocenjivanju i ova razlika bi mogla diskretno da doprinese blagim razlikama u prosečnoj oceni. Analiza pripadanju grupi umerene ili teške asfiksije izražene kroz vrednostii AS od 0-3 i od 4-6, kao i dobre kondicije ploda (AS 7-10), pokazala je veliku učestalost lošeg stanja plodova u troplodnim trudnoćama, malu u

jednoplodnim i približno sličnu u ART i non ART blizanačkim trudnoćama. Vrednosti AS su se u svim posmatranim grupama značajno poboljšale do petog minuta tako da je tu oko 90% plodova iz seta multiplih beba, bez razlike po modusu koncepcije bilo u zoni dobre kondicije i vrednosti AS od 7-10. Jednoplodne su u navedenom periodu u 98% slučajeva imale odličnu kondiciju (Tabela 11).

Pored same porođajne kondicije, i moguće kasne dekompenzacije neonatusa, jako bitan pokazatelj stanja novorođenčeta predstavljaju i parametri potrebe za poluintenzivnom i intenzivnom negom i terapijom koju je zahtevao značajan broj višeplodnih trudnoća, dominantno iz grupe ART trudnoća (Grafikon 12). Ova mala, ali statistički značajna razlika može biti iz povećanog opreza i predostrožnijeg pristupa koju ART trudnoće i ART deca često izazivaju među zdravstvenim radnicima. Tako je gotovo 43% ART blizanaca zahtevalo NINT a 32,01% NPINT dok je svega 36,84% non ART blizanaca zahtevalo NINT, iako su im prosečni parametri kondicije na rođenju bili komparabilni.

Specifični pokazatelji ugroženosti ploda poput preteće hipoksije u porođaju, paradosksalno bile su najveće u grupi jednoplodnih ART trudnoća gde je gotovo 13% njih imalo ovu dijagnozu. Ipak poznato je da se ovo stanje najčešće notira u toku samog vaginalnog porođaja, uz kontinuirani CTG monitoring, tako da ne iznenadjuje činjenica da je ovde bilo najzastupljenije. Višeplodne trudnoće iz postupaka ART su po pravilu završavane elektivnim carskim rezom, bez porođajnog opterećenja plodova.

Sa druge strane, intrauterine zastoj u rastu uočen je kod gotovo 15% ART blizanaca, za 2% više nego u non ART blizanačkim trudnoćama (Tabela 13), ali bez statistički značajne razlike za razliku od jednoplodnih trudnoća gde je iznosilo svega 8,39%.

Kako je i patofiziologija oligohidramniona i IUGR slična tako se i distribucije ovih pojava pokazale slično ponašanje uz blago prednjačenje ART blizanačkih trudnoća u odnosu na non ART uz razliku od približno 5% u učestalosti. Jednoplodne trudnoće iz non ART grupe su takođe pokazale značajan ideo smanjenja količine plodove vode od 11,61%. Opisani metodološki nedostatak, uz različit intenzitet kontrola i ultrazvučnih pregleda svakako ima svoju ulogu u navedenoj pojavi i onemogućava donošenje konkretnijih zaključaka.

Povećanje količine plodove vode je sa druge strane bilo ubedljivo najčešće u grupi jendoplodnih ART trudnoća i paradoksalno nisko u grupi ART blizanaca od svega 2,52, kada se uzme u obzir relativno visoka incidenca GDM u navedenoj grupi. Ipak, dve stvari predstavljaju moguće objašnjenje navedenog zapažanja. Prvo je da se aktivnim skriningom na GDM izvođenjem OGTT, a u sklopu intenzivnijeg antenatalnog nadzora ART trudnoća, ova pojava često detektovala u početnom stadijumu te je primenom adekvatnih mera sprečen razvoj polihidramniona, dok sa druge strane i sama dijagnoza istog u stanju prisustva više plodova u materici predstavlja svojstven klinički izazov.

Svakako većina posmatranih parametara, pogotovo onih koji su pokazali statistički značajne razlike radi kompletnej analize u budućnosti, zahteva sprovođenje dobro dizajnirane, prospektivne i standardizovane studije.

Poremećaji posteljice, iako retko zabeleženi, pre svega u smislu prevremenog odlubljivanja ili prednjačenja iste, dominirali su u blizanačkim trudnoćama bez razlike u načinu koncepcije iako je ART za ovu pojavu dokazani faktor rizika (1136), dok su u većini ART jednoplodnih trudnoća dominirali poremećaji njenog odlubljivanja nakon spontanog porođaja i bili prisutni u gotovo svakoj desetoj trudnoći (Tabela 16).

Preteći abortus i preteći prevremeni porođaj nisu se statistički značajno razlikovali u ART i non ART blizanačkim trudnoćama, i javljali su se u gotovo svakoj petoj odnosno četvrtoj trudoći istim redom (Tabela 17), dok su paradoksalno zabeleženi u gotovo svakoj petoj jednoplodnoj ART trudnoći. Kako nisu ispitivani detaljnije uzroci ove pojave, možemo zaključiti da je u većini slučajeva bilo ne striktno kliničkih indikacija za navedene hospitalizacije, ali u skladu sa već opisanom praksom u vođenju ovih trudnoća. Ovo nije slučaj samo u našoj sredini. ART trudnoće i u drugim zemljama pokazuju daleko veću učestalost hospitalizacija, često nepotrebnih, dovodeći do značajnijeg opterećenja zdravstvenog sistema (123).

Perinatalni mortalitet predstavlja je još jednu bitnu analiziranu kategoriju. Obim uzorka nije bio dovoljan da bismo mogli izvlačiti konkretnije zaključke o ovako retkoj opasnoj pojavi, ali je notirana perinatalna smrtnost od 31,4/1000 rođenih ART višeplodnih plodova, 19,3/1000 rođenih ART jednoplodnih trudnoća i 17,1/1000 rođenih višeplodnih non ART plodova. U striktnoj definiciji mrtvorođenja gde opisana pojava podrazumeva smrt svih plodova u trudnoći, opisana pojava se desila samo u jednoj ART blizanačkoj i tri ART jednoplodne trudnoće. Sve u svemu, dobijeni rezultati su u skladu sa najnovijim standardima perinatalnog mortaliteta u razvijenom svetu (53), uz diskretno veću učestalost za ART jednoplodne trudnoće, ali, kao što je već rečeno, konstrukcija uzorka nije bila dovoljno velika za iznošenje ovakvih zaključaka.

Posebno značajna je već navedena analiza osnovnih komplikacija po majku u trudnoći iskazana kroz učestalost GDM-a, hipertenzivnog sindroma i anemije u trudnoći. Ova oboljenja učestvuju direktno ili indirektno u najvećeoj meri u ukupnom maternalnom mortalitetu i morbiditetu (121), te je i njihov značaj od velike važnosti. Takođe, ovo su sve

stanja koja podležu mogućem praćenju, ranoj detekciji i adekvatnom tretmanu uz drastično smanjivanje negativnih posledica (6).

Sve posmatrane pojave bile su daleko češće u višeplodnim trudnoćama i to primarno u ART višeplodnim trudnoćama. Tako su GDM, anemija i hipertenzivni sindrom pokazali statistički značajnu veću učestalost u ART blizanačkim u poređenju sa non ART blizanačkim trudnoćama, i daleko manje zastupljene u ART jendoplodnim trudnoćama.

Hipertenzivni poremećaj u opštoj populaciji komplikuje 5-10% , a po nekim autorima i do 22% svih trudnoća. U našem uzorku on je zahvatio 12,26% ART jednoplodnih, 25,90% ART blizanačkih 54,17% ART troplodnih i 19,30% non ART blizanačkih trudnoća. Pored infektivnih i hemoragičnih komplikacija hipertenzivni sindrom je poremećaj koji najviše doprinose ne samo maternalnom morbiditetu već i mortalitetu (133). Unutar ovog sindroma pojava preeklampsije izolovano ili superponirana na preegzistirajuću hipertenziju smatra se najopasnijim događajem, tako da je u analizi od posebnog interesa detaljno izdiferencirati različitu učestalost opisanih entiteta hipertenzivnog sindroma.

Gestacijska hipertenzija se definiše kao novonastala hipertenzija u toku trudnoće bez pojave proteinurije. U približno 5% slučajeva praćena je razvojem preeklamspije za koju noviji podaci ukazuju da se javlja u 3,9% svih trudnoća (6). U razvijenom svetu 16% maternalnog mortaliteta uzrokovano je hipertenzivnim sindromom (6).

Jasan patofiziološki mehanizam, razvoj ove pojave nije, do kraja razjašnjen, iako poremećaji implantacije i rane placentacije koji su i u ART trudnoćama i u višeplodnim trudnoćama zastupljeni, igraju najverovatnije ključnu ulogu. Stoga i većina autora nalazi povećanu učestalost ovog oboljenja, baš u navedenim trudnoćama (134).

Klasifikacija hipertenzivnih poremećaja u trudnoći podrazumeva:

1. Gestacijaska hipertenzija (ukoliko se ne razvije preeklampsija i hipertenzija se povuče do 12 nedelja nakon porođaja smatra se tranzitornom hipertenzijom).
2. Sindrom preeklampsije i eklampsije
3. Sindrom preeklampsije superponiran na hroničnu hipertenziju
4. Hronična hipertenzija

Preeklampsija se karakteriše novonastalom hipertenzijom (preko 140/90 mm Hg) i proteinurijom nakon 20. nedelje trudnoće kod normotenzivnih žena ili kao pogoršanje preegzistirajuće hipertenzije uz nastanak proteinurije. Patogenetski, endotelna disfunkcija izdvaja se kao vodeći uzrok i objašnjenje, sa posledičnom aktivacijom koagulacionih mehanizama, generalizovanim vazospazmom, mikroangiopatijom, a uz posledičnu hipoperfuziju raznih organskih sistema (135).

Poznati faktori rizika identifikovani u razvoju preeklampsije predstavljaju nuliparitet, starost majke preko 35. godine, pozitivna lična ili porodična anamneza u razvoju preeklamspije, višeplodne trudnoće, gojaznost, hronična oboljenja poput kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, renalnih bolesti, autoimunih i bolesti vezivnog tkiva, trombofilije i brojnih drugih stanja.

Poremećaji placentacije i implantacije koji se susreću u hiperstimulisnom endometrijumu ART postupaka, apostrofirani su kao prvi mehanizmi u kaskadi patogenetskih mehanizama koji će vremenom dovesti do razvoja ovog sindroma i mogućeg negativnog uticaja kako na zdravlje majke, tako i na intrauterine razvoj ploda, s obzirom na značajnu fetoplacentarnu hipoprofuziju koja je zabeležena sa posledičnom povećanom učestalosću

intrauterinog zastoja u rastu, intrauterine smrti ploda i brojnih aspekata patnje ploda i posledičnog otežanog razvoja novorođenčeta (6). Ovi fenomeni su kako je napomenuto prisutni i u placentalnoj "gužvi" koja se događa u višeplodnim trudnoćama.

Kao posledica toga dolazi do hipoperfuzije više organskih sistema i posledičnog oštećenja funkcije jetre i bubrega, perifernih edema, glavobolja, zamagljenog vida, trombocitopenije i brojnih drugih simptoma i znakova.

Analiza učestalosti različitih entiteta hipertenzivnog sindroma pokazala je da je uprkos pojedinačno najvećoj učestalosti istog u grupi ART višeplodnih trudnoća njegova distribucija bila značajno različita. Kao i kod ostalih komplikacija iz oblasti patologije trudnoće, opisan pojačan nadzor ovih trudnoća donekle objašnjava zašto baš ART trudnoće prednjače u ovim komplikacijama. Ipak, ovo ima i svoju dobru stranu, pošto je predpostavljeni povećani oprez, češće i ranije uspostavljanje dijagnoze i primene adekvatnog tretmana dovela do takve distribucije da se teška preeklampsija javljala najčešće u grupi non ART višeplodnih trudnoća i bila gotovo duplo veća nego u non ART trudnoćama. Tako je samo 6% slučajeva hipertenzivnog sindroma u ART višeplodnim trudnoćama pripadalo teškoj preeklampsiji, dok je kod non ART višeplodnih trudnoća ovo iznosilo gotovo svaki peti slučaj hipertenzivnog sindroma (18%).

Jednoplodne ART trudnoće imale su hipertenzivni sindrom u 12,26% slučajeva, ali je samo svaki deseti deo ovoga predstavljao tešku preeklampsiju (Grafikoni 20, 21 i 22).

Konačno način završavanja trudnoće, kao jedno od najkontraverznejih pitanja savremenog akušerstva, pokazao je izuzetno veliku stopu carskog reza u ART trudnoćama, uz 83,7% za blizanačke, 100% za troplodne, i 65,81% za jednoplodne. Višeplodne non ART

trudnoće su sa druge strane imale stopu carskog reza od 58,24% za blizance i 65,81% za trojke. Komparacija ovih rezultata sa drugim studijama nije apsolutno moguća, kao što ni njihova suštinska naučna analiza nije realna pošto je ovo svakako osobina akušerske prakse koja pokazuje značajne varijacije od zemlje do zemlje, u zavisnosti od brojnih zakonskih, običajnih i drugih postavki.

Takođe poznato je da ART trudnoće vrlo često i za akušere i za pacijente predstavljaju nepoznanicu, bude strah i češće se odlučuju na operativno završavanje iste iako je ono razlog značajnog morbiditeta, mortaliteta i opterećenja zdravstvenog sistema u poređenju sa vaginalnim porođajem (53).

Iako je dokazano da carski rez bez medicinske indikacije ne nosi benefit, često se on percipira kao bezbedniji i biva izabran od strane i pacijenata i akušera (136). U određenim evropskim zemljama on se za ART jednoplodnu decu kreće oko 26%, mada i ima sistema gde prelazi 90%.

Većina studija na datu temu našla je veću stopu operativnog završavanja trudnoće kako za jednoplodne, tako i za blizanačke trudnoće iz postupka VTO, u odnosu na spontano začete trudnoće. Troplodne trudnoće opštim koncenzusom predstavljaju indikaciju za operativno završavanje trudnoće, iako je u našoj studiji jedna spontano začeta troplodna trudnoća porođena vaginalno.

Udeo carskog reza pokazuje trend pada za ART trudnoće (137), i niži je u posmatranom periodu od rezultata u drugom centru u našoj zemlji gde je za jendoplodne ART trudnoće iznosio 80,75% (138). Udeo carskog reza se dakle u mnogim studijama navodi kao

komplikacija postupaka ART u smislu opterećenja zdravstvenog sistema i bespotrebnog izlaganja majke riziku (136).

Pored poznatih medicinskih razloga za operativno završavanje trudnoće kao što su starija životna dob majke, često nuliparitet, postojanje infertiliteta i mogućnosti prethodnih operativnih intervencija u maloj karlici, naročito miomektomije i druge ne striktno akušerske karakteristike poput psihološkog bremena koje par oseća, visokog nivoa anksioznosti, straha pacijenata i lekara za negativan ishod, kao i procene šanse da pacijent u tim godinama i sa pratećim infertilitetom ponovo zatrudni, navode nas na češću odluku o operativnom završavanju trudnoće.

Svakako zaključak je da sam modus koncepcije ne bi trebalo da predstavlja indikaciju za operativno završavanje trudnoće i da bi se ova odluka morala donositi u skladu sa jasno definisanim medicinskim indikacijama.

Sumarna analiza rezultata iskazana u tabelama 21-24. jasno demonstrira da su ART trudnice starije od non ART trudnica. Jednoplodne ART trudnoće uz prosečnu starost od 33,5 godine, prosečnu gestacijsku starost na porođaju od 38,26 gn, udeo prevremenih porođaja od 12,9%, prosečnu telesnu masu od 3258 g, AS u prvom minuti od 8,35 i u petom minuti od 9,2, stopu carskog reza od 65,81%, udeo GDM-a od 7,1%, anemije od 41,94% i preeklampsije od 4,52%, ima sve relevantne parametre superiornije od kako ART tako i non ART blizanačkih trudnoća.

ART blizanačke trudnoće pokazale su prosečnu starost majke od 32,9 godina, prosečnu gestacijsku starost na porođaju od 35,6 gn, udeo prevremenih porođaja od 58,27 %, prosečnu telesnu masu od 2374 g, AS u prvom minuti od 7,45 i u petom minuti od 8,65, stopu carskog

reza od 83,7%, udeo GDM-a od 15,11%, anemije od 78,42 % i preeklampsije od 12,23%, dok su non ART blizanačke trudnoće pokazale prosečnu starost majke od 28,8 godina, prosečnu gestacijsku starost na porođaju od 36,08 gn, udeo prevremenih porođaja od 49,71 %, prosečnu telesnu masu od 2433 g, AS u prvom minutu od 7,75 i u petom minutu od 8,75, stopu carskog reza od 58,33%, udeo GDM-a od 7,02 %, anemije od 67,84 % i preeklampsije od 11,11%, dok su non ART blizanačke trudnoće.

Jedina statistički značajna razlika ART i non ART blizanačkih trudnoća bili su pored godina i stopa carskog reza, učestalost polihidraniona, blaga razlika u učestalosti anemije i prevremenog prsnuća ovojaka. I u ovim parametrima nije postojala klinički značajna razlika, dok u svim drugim parametrima nije zabeležena ni statistička razlika na poprilično velikom uzorku, tako da se logično potvrđuje premlisa da ART i non ART blizanci imaju ekvivalentne perinatalne ishode koji su daleko gori od je ART jednoplodnih trudnoća, tako da broj plodova, a ne način koncepcije određuje rizike negativnog toka i ishoda trudnoća.

6.2. O ishodu dece iz postupaka VTO u drugim studijama.

Fauser i saradinici, objavili su 2014. veliku multicentričnu i multidisciplinarnu metaanalizu na temu zdravstvenih ishoda dece iz programa VTO i zaključili da deca iz programa VTO imaju manju porodajnu telesnu masu, viši procenat perifernog masnog tkiva, vrednosti krvnog pritiska i glikemije našte (114). Međutim, dalji rast, psihomotorni razvoj i kognitivne funkcije iste su kao i kod spontano začete dece (114). Ukupni rizik imprinting poremećaja je ispod 1%, i direktna povezanost negativnog ishoda po dete i asistirane reprodukcije ne može da se uspostavi (114). Karakteristike majki, koje su mahom starijeg

životnog doba, povećava šansu za dobijanje abnormalnih gameta i ovo je verovatno osnovni uzrok slabijeg perinatalnog ishoda u određenim studijama.

Dve velike metaanalize ukazale su da je šansa za kongenitalne malformacije kod ART dece 1,29 do 1,4 puta veća (139).

Ovo je potvrđeno i u metaanalizi novijeg datuma sprovedenoj na 46 studija (140). Ipak, u novijoj studiji, koja je standardizovala pacijente i po postojanju subfertiliteta, zabeležena razlika se kompletno izgubila uz OR od 1,01 ukazujući da je i sam infertilitet faktor rizika za negativan perinatalni ishod (141).

6.3. Zašto je perinatalni rast i razvoj dece u ART trudnoćama VTO kompromitovan

Ceelen i sar su izolovali faktore koji utiču (negativno) na rast i razvoj dece iz postupaka VTO koji su u manjoj ili većoj meri zastupljeni u karakteristikama ovih infertilnih pacijenata (142). Ovi etiološki faktori i patofiziološki mehanizmi dele se na intrinzičke faktore, odnosno karakteristike samog fetusa gde spadaju hromozomalni poremećaji, hronična fetalna infekcija, prisustvo kongenitalnih malformacija i genetskih varijacija, kao i ekstrinzične faktore koji mogu biti maternalni i uteroplacentarni.

Od maternalnih faktora zastupljeni su prekoncepcijski telesna masa i građa majke, godište majke i paritet, prekoncepcijski nutritivni status. Maternalni faktori u trudnoći koji definišu fetalni rast i razvoj su postojanje kardiovaskularnih bolesti uključujući i razvoj hipertenzivnog sindroma u trudnoći, diabetes mellitus, renalnih bolesti, smanjenu oksigenaciju (postojanje Sleep apnee, drugih respiratornih tegoba, izražene anemije),

neodgovarajuće ishrane u trudnoći, pušenja, upotrebu alkohola, lekova i drugih hemijskih agenasa (114).

Uterini i placentalni faktori, koji doprinose poremećaju rasta i razvoja, prenatalno su svakako insuficijencija posteljice, razni oblici abnormalne placentacije i pojava multiplih trudnoća.

Epigenetika, analiza epigenetskih mehanizama i poremećaji imprintinga gena predstavljaju danas osnovni “prozor” kroz koji se gledaju i analiziraju patofiziološki mehanizmi gotovo svih funkcija u organizmu. Novije studije jesu našle uticaj ART tehnika na epigenetske poremećaje (143). ART potencijalno dovodi do epigenetskih alteracija sledećim mehanizmima (114):

Direktan uticaj se ogleda u promeni epigenetske šeme usled trauma same tehnologije rada ART procedura gde se misli na protokole ovarijalne hiperstimulacije, zamrzavanje i odmrzavanja embriona i gameta, i naravno manipulaciju i maturaciju gameta u in vitro uslovima pod uticajem brojnih faktora kulture medijuma, mikroklimatskih faktora i drugo.

Indirektan uticaj ART procedura na epigenetske mehanizme ogleda se u “dozvoljavanju” da se određene genetske i epigenetske karakteristike para koje su u vezi sa infertilitetom u genetskom smislu propagiraju u dalje generacije iako ovo najverovatnije ne bi bio slučaj sa prirodnom koncepcijom, a po zakonitostima prirodne selekcije.

Sumarno potencijalni uticaj navedenog ART modifikovanja epigenetskih mehanizama može da se odrazi na razvoj embriona, fetalni rast i razvoj, zdravstveno stanje u detinjstvu i daljem toku života, ali i da dovede dalje transgeneracijske propagacije ovih fenotipskih osobina (114).

Patofiziološko objašnjenje eventualnog negativnog ishoda trudnoća iz postupka ART ipak, po većini autora, leži pre svega u preegzistirajućim medicinskim karakteristikama majke koja je predisponiraju za negativan ishod trudnoće, dok određeni autori veruju da manja stopa monozigotnih blizanaca nakon postupaka ART u poređenju sa spontanom koncepcijom predstavlja u stvari protektivni faktor koji dovodi do izjednačavanja navedenih rizika i prividno istog perinatalnog ishoda.

6.4. Komparabilni rezultati o perinatalnom ishodu ART i non ART blizanaca

U analizi potrebe za dodatnom antenatalnom zaštitom ART i non ART blizanaca Jauinaux zaključuje da je stopa pobačaja povećana kod žena sa tubarnim infertilitetom, da sindrom nestajućeg blizanca nakon osme gestacijske nedelje povećava rizik prevremenih porođaja i niske telesne mase (113). Takođe isti autor ukazuje na povećanu stopu monozigotnih blizanaca i sledstvenih perinatalnih komplikacija u ART višeplodnim trudnoćama. Iako je sama stopa ovog fenomena češća u ART trudnoćama (oko 0,4% za spontanu koncepciju, ali ovo predstavlja i do 20% svih spontano nastalih višeplodnih trudnoća i dva do tri puta češću pojavu u ART trudnoćama), ukupna učestalost monozigotnih blizanaca u ART višeplodim trudnoćama je daleko manja i iznosi svega od 1 % do čak 5 % u nekim studijama (113), za razliku od 0,4% u spontanim trudnoćama, pošto je dominatan patofiziološki mehanizam za nastajanje višeplodne trudnoće vraćanje više embriona. Vasa previa i placenta previa su takođe pokazali veću učestalost u ART višeplodnim trudnoćama. Po navedenoj studiji učestalost kongenitalnih malformacija nije zabeležena u ART višeplodnim trudnoćama, uz konačan zaključak da kod žena ispod 45 godina ne postoji

povećanje perinatalnih komplikacija niti potreba za dodatnom antenatalnom negom u poređenju sa spontanim blizancima, i da je povećan rizik negativnog ishoda trudnoće vezan jedino za grupu žena sa ozbiljnim metaboličkim i vaskularnim komorbiditetom pre trudnoće (113).

I druge studije, su kao i naša, zabeležile gotovo dupliranje rizika od anemije u blizanačkim trudnoćama, kako dilucione tako i sideropenijske i ovo je apostorifano kao ozbiljan faktor rizika za prevremeni porodaj, ali i za ozbiljnije komplikacije peripartalne hemoragije (113).

Postojanje više od jednog ploda nezavisno od modusa koncepcije takođe povećava rizike iz pihosocijalne sfere za roditelje, tako da majke ove dece pokazuju veće vrednosti u istraživanje im skala anksioznosti (113).

Rizik od pobačaja je još jedan od faktora koji dodatno mogu opterećivati ART, pogotovo ART blizanačke trudnoće. Rizik od pobačaja raste sa 9% u starosnoj dobi majke od 20-24 godine na 45% sa 40 godina i preko 75 % nakon 45 godine (144). Dodatno ga povećavaju godine oca, ozbiljni OHSS, gojaznost, prisustvo hidroslapinka, procedure IUI, TESE, procedure IVM i vraćanja odmrznutih embriona (113, 145). Pored rizika od pobačaja, fenomen nestajućeg blizanca o kome je u uvodnom delu bilo više reči, apostrofira se kao, čest, često potcenjen i nedovoljno primećen sindrom koji može dodatno da ugrozi perinatalne ishode kako jendoplodnih ART trudnoća (koje su startovale kao višeplodne ili čak i blizanačkih ART trudnoća koje su inicijalno bile troplodne ili čak četvoroplodne).

6.5. Sindrom nestajućeg blizanca (“Vanishing twin” fenomen – VT)

Fenomen nestajućeg blizanca se definiše kao kompletan nestanak celog gestacijskog meška jednog od fetusa u višeplodnoj trudnoći nakon dokazane srčane radnje ploda (146). Smatra se da njegova učestalost u višeplodnim trudnoćama ide i do 20-40% (147). Učestalost mu je manja nakon procedura IVF/ICSI s obzirom na preselektovanost embriona koji se vraćaju u matericu, a “gužva” embriona uz neodgovarajuću placentaciju nekog od njih apostrofira se kao patofizioloki mehanizam za njegov nastanak (148).

U poređenju sa ART trudnoćama koje na kraju prvog trimestra imaju isti broj plodova u materici ali bez prisustva ovog fenomena, trudnoće koje su imale ovaj fenomen nose veći rizik od prevremenog porođaja, intrauterinog zastoja u rastu i niske telesne mase na rođenju (113).

Takođe slabiji perinatalni ishodi koji ove pojave izazivaju kod preostalih jednoplodnih trudnoća su jedno od najverovatnijih objašnjenja zašto ART jednoplodne trudnoće imaju gore perinatalne ishode u poređenju sa non ART jendoplodnim trudnoćama, uz vrlo često previđanje ove pojave u konačnoj analizi.

Isti autor se uprkos svemu navedeno, kada je reč o pojavi kongenitalnih anomalija u ART blizanačkim trudnoćama, poziva na većinu studija širom sveta koje ne nalaze povećanu stopu anomalija ploda, tako da uz ostale faktore zaključuje da ART blizanačke trudnoće u poređenju sa non ART blizanačkim trudnoćama ne zahtevaju dodatnu antenatalnu zaštitu (Tabela 25).

Tabela 25. Kongenitalne anomalije za ART blizance po obrađenim studijama (113)

Publikacija		
Pinborg et al, 2004 Danska	3393 IVF/ICSI blizanaca i 5130 IVF/ICSI jednoplodnih	Bez razlike u stopi anomalija
Olson et al 2005, SAD	736 blizanaca vs 909 jednoplodnih (iui I ivf)	Bez razlike u stopi anomalija
Zhu et al, 2006 Danska	1690 ART blizanaca vs 1366 non AR blizanaca	Bez razlike u stopi anomalija
Ben Ami et al, 2011 Izrael	801 ART blizanaca i 883 kontrolnih blizanaca	Povećan rizik anencefalije kod ART blizanaca
Davies et al, 2012 Australija	1830 ART multiplih vs 4591 kontrolnih mmultiplih	Bez razlike u stopi anomalija

6.6. Studije koje su direktno poredile perinatalne ishode ART i non ART blizanaca

Studija Vasario i saradnika prospektivno je poredila 89 ART i 139 non ART blizanačkih trudnoća i dobila višu prosečnu starost IVF majki, slične vrednosti BMI, slične prosečne dostignute gestacijske starosti od 34,9 i 34,7 za IVF i non IVF grupu koje su bile značajno manje u odnosu na naše istraživanje. Takođe nisu dobili statistički značajnu razliku u delu ekstremnog prevremenog porođaja. Dve perinatalne smrti u ART i šest u non ART grupi

nisu se značajno razlikovale međusobno, kao i u poređenju sa našom studijom. IVF trudnoće su u 79% slučajeva završene carskim rezom za razliku od no IVF trudnoća i ova razlika kod njih nije bila statistički značajna. Stopa diskonkordantnih blizanaca, učestalost preeklamspije, GDM i drugih komplikacija u trudnoći takođe nisu pokazale statistički značajne razlike po posmatranim grupama (149).

Druga studija iz 2014 godine takođe je retrospektivno poredila 207 spontano začetih i 138 ART blizanačkih trudnoća (150). Ova studija je ipak dobila nepovoljnije perinatalne ishode ART u odnosu na non ART trudnoće. Iako je prosečna gestacijska starost u navedenoj studiji bila viša u ART grupi, udeo prevremenog porođaja, ablacije posteljice i GDM-a bio su značajno viši u ART grupi, kao i učestalost respiratornih komplikacija kod dece, prijema novorođenčadi na odeljenje intenzivne nege i ukupnog ostajanja u bolnici i majke i deteta. Iako male razlike, bile su statistički značajne, dok su vrednosti AS u petom minutu, učestalost anomalija, perinatalni mortalitet, učestalost carskog reza i drugi relevantni pokazatelji bili bez statistički značajnih razlika u posmatranim grupama.

Mohammed i saradnici su na 145 ART i 175 non ART blizanaca takođe dobili komparabilne obstetričke rezultate, uz jedino diskretno veću stopu carskog reza (78% naspram 68% u korist IVF grupe), sličnu učestalost malformacija, perinatalnog mortaliteta i drugih komplikacija perinatalnog ishoda, te zaključili da modus koncepcije u blizanačkim trudnoćama ne predstavlja dodatni faktor rizika (151).

Prospektivna studija Moini i saradnika poredila je čak 320 ART i 170 non ART blizanaca u istom periodu kao i naša studija i, za razliku od nas, dobili su da je perinatalni mortalitet dva do tri puta veći u ART grupi, kao i rizik ekstremno prevremenog porođaja koji

je bio čak pet puta veći, dok je dva puta veći rizik za ekstremno nisku porođajnu masu. Po drugim analiziranim parametrima nije bilo statistički značajne razlike i rezultati su u konačnom zaključku bili komparabilni, ali je ipak zaključak da ART blizanačke trudnoće nose lako povećan rizik za ove potencijalno devastirajuće posledice (152).

Kao što se iz priloženog vidi većina studija dobila je rezultate vrlo slične našim, kako po zaključku, tako i po apsolutnim vrednostima posmatranih pojava. Globalni zaključak poređenih istraživanja ipak podržava tezu da uprkos određenim manjim razlikama u perinatalnom ishodu ART i non ART blizanačkih trudnoća, koje češće idu u prilog spontanoj koncepciji, mada smo videli i drugačije rezultate, perinatalni ishodi ovih trudnoća su gotovo ekvivalentni, uz adekvatan tretman, i neuporedivo gori od jednoplodnih trudnoća iz postupka ART.

6.7. Kako uspešno smanjiti učestalost multiplih trudnoća nakon postupaka VTO

Smanjenje stope multiplih trudnoća je, na osnovu svega iznetog, osnovni zadatak koji стоји пред стручном јавношћу и који се мора спроводити много активније.

Још је наведена студија радне групе HFEA идентификовала ширу имплементацију SET-а, у адекватним условима као pouzdanu методу за достизање овог циља без угрожавања стопе трудноће. Бројне студије потврдиле су да се SET у добро организованом систему може применити, усрећно безбедно и поволјно по целокупни здравствени систем (30). Сматрамо да, и последње dileme (које mnoge sisteme odbijaju у имплементације SET) о njеговој ефикасности и последићном смањивању успеха вантељске оплодње, падају у воду након последње и

najobuhvatnije metaanalize na tu temu objavljene u sklopu Cochran izveštaja koji se smatraju samim vrhom medicine zasnovane na dokazima (153).

U dатој metaanalizi Pandian i sar. analizirali су efektivnost i bezbednost različitih politika za broj embriona koji se vraćaju u postupcima VTO. U studiju je uključeno 14 prospektivnih randomiziranih studija koje su poredile različite strategije embriotransfера, nakon procedura IVF i ICSI, kako u ciklusima sa svežim tako i u ciklusima sa zamrznutim embrionima, analizirajući embriotransfer od jednog do četiri embriona na nivou trećeg dana ili na nivou blastociste.

U metaanalizu uključeno je 2165 žena, od kojih je 2017 sa embriotransferom trećeg dana, a 148 sa transferom blastociste i poređene su stope uspeha u ciklusima sa DET, naspram pojedinačnih ili ponavljenih SET kako sa svežim tako i sa zamrznutim embrionima, u smislu računanja kumulativne stope uspeha. Rezultati metaanalyse ukazali su na to da se kumulativna stopa trudnoće nakon jednog ciklusa DET, ne razlikuje signifikantno u odnosu na kumulativnu stopu trudnoće nakon ponovljenog SET uz OR od 1,22. Ovo ukazuje da ukoliko bi žena imala šansu od 40% za živorodenje nakon jednog ciklusa DET, njena šansa za živorodenje nakon ponovljenog ciklusa SET iznosila bi između 30-42%. Nasuprot tome, šansa za ostvarivanje multiple trudnoće bila je statistički značajna u DET grupi uz neverovatnih OR od 30,54, ukazujući da na rizik od multiple trudnoće nakon DET u vrednosti od 15 % dolazi rizik od svega 0-2% nakon ponovljenog postupka SET (153).

Deset studija je takođe poredilo pojedinačan ciklus DET naspram pojedinačnog ciklusa SET, kako za transfer trećeg dana (8 studija), tako i transfer blastociste i očekivano dobilo veću stopu živorodenja u DET grupi uz OR od 2,07 i činjenicu da šansa za živorodenje od

40% nakon pojedinačnog ciklusa DET-a pada na 20-32% ukoliko se sprovede samo jedan ciklus SET-a, uz svakako drastično manju stopu multiplih trudnoća u SET grupi uz OR od 8,47 i već standardnu prepostavku da na stopu multiplih trudnoća u DET grupi od 15 % dolazi stopa multiplih trudnoća u SET grupi od svega 1-4%.

Ovi rezultati još jednom ukazuju na neophodnost redefinisanja kako pojma uspeha u ciklusima vantelense oplodnje, tako i samog pojma ciklusa. Kumulativna stopa trudnoće ili uspeha mora uzeti u obzir i noviju definiciju ciklusa koji podrazumeva vraćanje svih embriona dobijenih jednim ciklusom kontrolisane ovarijalne stimulacije u potencijalno više sukcesivnih etapa embriotransfера. Ne treba ni pominjati koliko je sistem krioprezervacije embriona presudan u usvajanju ovog koncepta.

Još jedan od ključnih rezultata i zaključaka navedene metanalize proističe iz evaluacije različitih modaliteta strategija multiplih embriotransfera, odnosno vraćanja dva, tri ili više embriona.

Naime, decenijama je uvrežena i forsirana doktirna, strategija i mišljenje da šansa za ostvarivanje trudnoće raste sa brojem embriona koji se transferiraju u jednom pojedinačnom ciklusu praktično linearno (154). Ovo je možda i bio slučaj u počecima ART-a gde nivo embrioloških uslova u laboratoriji, standardi medijuma, inkubatora i drugih specifičnosti koji danas definišu standarde i u mnogome određuju šansu za uspeh, nisu bili na današnjem nivou i ni iz bliza nisu davali tolike šanse za uspeh i preživljavanje jednom pojedinačnom embrionu (154). Ove početke ART-a svakako su obeležile i manje šanse za uspeh. Današnji uslovi sa eksponencijalnim razvojem embrioloških standarda, pre svega u smislu optimalnih uslova za razvoj embriona, ali i brojnih opcija za optimalnu embrioselekciju, kao ključnu prepostavku

uspešnog SET programa, daju mnogo veće šanse pojedinačnom embrionu za trudnoću, uz sveukupnu veću stopu uspeha ciklusa i smanjenja udela embrionalne i embriološke uloge u neuspelim implantacijama, bilo pojedinačnim bilo rekurentnim.

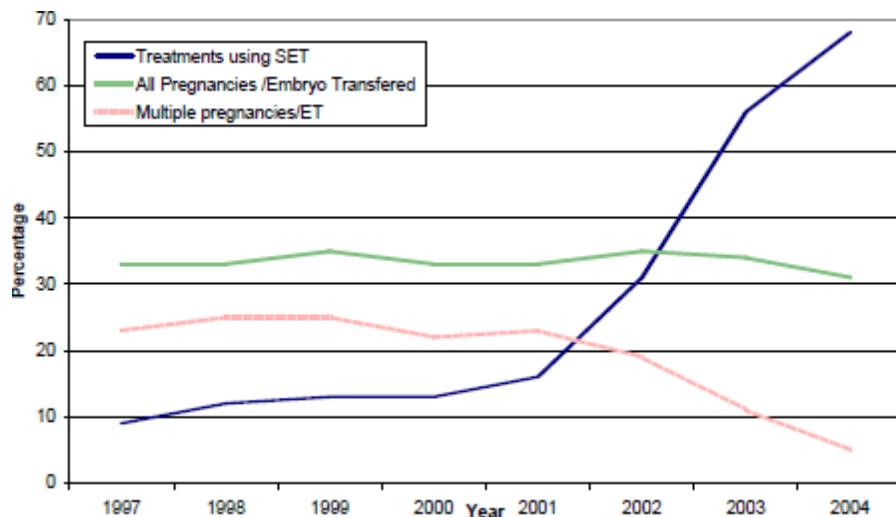
Prvi deo metaanalize ukazao je da je, u odsustvu ponavljanja SET, bilo u ciklusu sa svežim ili zamrznutim embrionima, DET ipak superiorniji kao sredstvo za ostvarivanje živorođenja. Suština daljih dilema, i svega navedenog u delu o napretku ebrioloških uslova, leži u odgovoru na pitanje da li se u današnjim uslovima dobija išta ukoliko se transferira više od dva embriona. Tri studije, uključene u navedenu metaanalizu, poredile su DET sa vraćanjem tri ili četiri embriona i dobili su da se stope živorođenja nisu statistički značajno razlikovale niti u jednoj posmatranoj grupi, ali je bila statistički značajno manja stopa multiplih trudnoća u DET grupi u odnosu na TET grupu, odnosno da je šansa za multiplu trudnoću bila gotovo tri puta manja (153).

Ova činjenica je još jedna potvrda dobro poznatih rezultata strategije multiplih embrio transfera koji su u određenim zdravstvenim sistemima doveli do zakonske zabrane TET, pogotovo kod dobro prognostičkih pacijenata, kako ne postoje dokazi da ovakva praksa može poboljšati ishod, dok stopu komplikacija drastično povećava. Tako nakon primene navedenih mera dolazi do praktičnog eliminisanja troplodnih trudoća, uz smanjivanje i stope blizanačkih trudnoća, a bez ugrožavanja stope živorođenja nakon pojedinačnih ciklusa.

Konačan zaključak navedene metaanalize je da je SET u jednom svežem ciklusu definitivno asociran sa manjom stopom trudnoće, ali se ova razlika gubi ukoliko se pojedinačni ciklus DET poredi sa kumulativnom stopom trudnoće bilo dva pojedinačna SET-a u svežem ciklusu ili ponovljenim SET u ciklusu sa zamrznitom embrionom, uz drastično manju stopu

multiplih trudnoće. Ipak autori u zaključku navode da se većina naučnih dokaza, na osnovu kojih se izvode navedeni zaključci, odnose na studije sa dominantno mlađim pacijentkinjama iz grupe pacijenata sa dobrom prognozom.

Slika 6. Udeo SET-a i posledična stopa multiplih trudnoća – Nygren (30)



Imajući sve to u vidu, a na osnovu izveštaja Nygrena (30) o švedskim iskustvima u implementaciji SET-a (Slika 6), koji je pionirska iskustva skandinavskih zemalja u sprovođenju SET jasno pretočio u praktične zaključke koji su osnov za definisanje strategija.

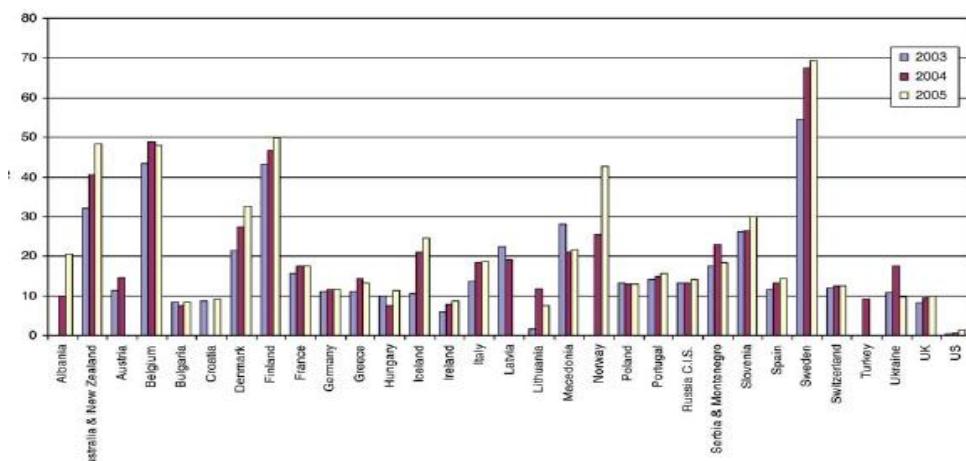
Tako je po njihovim iskustvima koja su se i u kasnijim iskustvima potvrdila u praksi (42) primena eSET-a od 30% u svim postupcima VTO u jednom zdravstvenom sistemu dovoljna za smanjivanje stope multiplih trudnoća na 20%. Primena eSET-a u obimu od 50% VTO ciklusa smanjuje ukupnu stopu multiplih trudnoća na 10%, dok primena SET-a u 70% ciklusa VTO dovodi do fantastične stope multiplih trudnoća od 5 % (30), i ovo se danas registruje u gotovo svim skandinavskim zemljama (12).

Ipak, navedena studija navodi i preduslove za adekvatnu implementaciju eSET-a. To su pre svega adekvatni embriološki uslovi, uz funkcionalne i uspešne postupke krioprezervacije, dobra selekcija pacijenata, ali u prvom redu i u praksi dokazano, najbitnijem parametru legislativnom i zakonskom uređenju postupaka VTO sa posebnim akcentom na modele finansiranja i dobro i sveobuhvatno javno finansiranje postupaka VTO, pogotovo u zemljama sa nižim primanjima. Ovo se, kao što će se videti i iz narednih primera iz svakodnevne prakse, pokazao kao najbitniji faktor u uspešnoj implementaciji eSET strategija (30).

6.8. Razlike u prihvatanju SET-a

Već je navedeno da postoje ogromne razlike u primeni SET po zemljama (12, 30). Maheshwari i saradnici u analizi ovog problema (155) podsećaju da je Švedska lider sa oko 70%, a SAD na začelju sa svega 2,8% (slika 7), te nakon analize sistema zaključuju da pristup javnom finansiranju od strane države ključna stavka u ovim razlikama, uz naravno pristup dobrim sistemima krioprezervacije i postojanje dobrih legislativnih mera.

Slika 7. Procentualna zastupljenost SETa po zemljama, Maheshwari (155)



Ista studija dodatno zaključuje da je i lični stav, i pacijenata i lekara, veoma bitan parametar za ovu odluku, na osnovu čega možemo zaključiti da se ne radi dovoljno na identifikovanju parova koji bi imali veliku šansu za uspeh, i sledstveno veliku šansu za multiple trudnoće, a koji bi baš najviše profitirali od SET-a. U svakom slučaju slažemo se da ova tema neopravdano zauzima veoma malo prostora u konsultacijom sa infertilnim parom i da je to svakako potreba dalje dobre prakse postupcima vantelesne oplodnje.

Ipak studija zaključuje da će se stanje na terenu teško promeniti ukoliko se ne dese velike promene u načinu na koji doživljavamo ART, na koji ga finansiramo i uređujemo (155).

6.9. Stavovi i optimalan izbor pacijenata

Iako su multiple trudnoće dokazano povezane sa značajno većim rizicima negativnog ishoda trudnoća, kako po majku, tako i po dete, dokazano je da značajan ideo pacijenata koji se suočavaju sa infertilitetom doživljava multiplu trudnoću kao idealan ishod (53). Ovo svakako proizilazi iz velike želje za potomstvom, ali i iz nedovoljno raspoloživih informacijama za pacijente o opasnostima multiplih trudnoća, kao i našem problematičnom određivanju šanse za uspeh i sledstvene prognoze za pacijenta koja bi mu u mnogome olakšala odluku.

Kada govorimo o faktorima za uspešnu implementaciju SET, selekcija pacijenata se smatra jednim od bitnijih faktora. Ona se u različitim sistemima, preporukama stručnih tela i zakonskim rešenjima različito definisala i uglavnom bazirala na godinama majke, testovima ovarijalne reserve, kao i broju eventualnih prethodnih pokušaja vantelesne oplodnje. Tako i

čuveni belgijski model podrazumeva obaveznu primenu SETa samo u prvim ciklusima žena mlađih od 35 godina. Dodatno brojne studije koje su testirale upotrebu eSET-a definisale su brojne maternalne i embriološke faktore kao dobro ili loše prognostičke (30). Svesni smo da je ovo često neprecizno i subjektivno iako sama struka i nauka pokušava da bude suprotno tome. Čak i nove, revidirane preporuke ASMR predlažu vraćanje samo 1-2 embriona kod pacijenata mlađih od 35 godina sa “dobrom prognozom”, ali to je daleko od primene SET-a.

Smatra se da će pokušaj objektivizacije prognostičkih faktora i ovoj oblasti, kao i u brojnim drugima, dati rezultate. Stoga se intenzivno radi na razvijanju dobrih prognostičkih, kompleksnih matematičkih modela koji bi zadovoljili postulate individualnog pristupa svakom infertilnom paru, personalizovane medicine i dali nam najobjektivniju procenu koji pacijent i pod kakvuim uslovima ima šansu za uspeh i eventualnu pojavu multiple trundoće ukoliko se ne odluči za SET. Trenutno su u upotrebi tek matematički modeli u svrhu predviđanja uspeha VTO (157), ali smatramo da bi se oni lako dali prevesti i u odabir pacijenata za SET.

SET je pored navedenog primenjiv sa istim relativnim uspehom u svim starosnim grupama (30), tako da je nedopustiva praksa koncentrisati se samo na smanjenje stope multiplih trudnoća kod mlađih pacijentkinja, kada žene preko 35 godina i onako čine ogromni ideo populacije IVF pacijenata, a kod njih je i po ranije navedenim studijama mogućnost pojave raznih maternalnih komplikacija u eventualnoj višeplodnoj trudnoći značajno veća. Tim pre, poseban oprez mora se uzeti i u sprovođenja multiplih embriotransfера kod ovih pacijentkinja.

6.10. Embriološki aspekti primene SETa

Većina analiziranih preporuka stručnih tela, prilikom određivanja smernica za SET, navodi pojam “favourable” embriona odnosno onakvog embriona koji bi dao najviše šanse za trudnoću. Ovo je svakako jedna od osnovnih preokupacija današnje embriologije kao primenjene nauke.

Tradicionalne metode subjektivne procene morfologije embriona, kao mere predikcije uspeha, i dalje imaju svoju ulogu ali se i u ovoj oblasti intenzivno i verovatno više nego sa druge strane vrata embriološke laboratorije radi na objektivizaciji stanja i definisanja jasnih, merljivih i reproducibilnih prediktora uspeha.

Ovde se svakako apostrofiraju standardizacije u oceni morfologije, eventualno kompjuterski asistirano ocenjivaje iste uz primenu matematičkih modela koje se testiraju sa znatnom uspešnošću u prvim istraživanjeima (158).

Embrioselekcija se, u datim uslovima, potreba za SET-om i najvećom mogućom šansom za uspeh, izdvojila kao jedna od ključnih aktivnosti u asistiranoj reprodukciji. Tako se pored standarnih morfoloških ocena, bilo da su subjektivne, kompjuterski asistirane ili standardizovane po preporukama ESRE tela, uveliko primenjuju i druge metode embrioselekcije od kojih se očekuje da u budućnosti postanu standard rada, kako u mnogim centrima već i jesu, povećaju šanse za uspeh i poštete pacijenta nepotrebnog izlaganja, razočaranju ili još gore, riziku od multiplih trudnoća.

Tu se pre svega misli na šиру upotrebu skrininga na aneuploidije (PGS), za šta postoje brojna tehnička rešenja, a koji dokazano dovodi do povećanja uspeha i stope trudnoća u SET

programima, a na osnovu najnovijih studija na tu temu (159). Sa druge strane, i analiza dinamike razvoja embriona, a ne samo njegove morfologije (“Time lapse analysis”) igra sve značajniju ulogu u embrioselekciji, postavlja se kao standar prakse i u mnogome olakšava praktičnu implementaciju SET-a (160).

Kako je napomenuto, analiza legislativnih mera, uloga monitoringa i kontrole asistirane reprodukcije od ključne su važnosti za bezbedno sprovođenje ove procedure, a smanjenje multiplih trudnoća ipak je bezbednostno pitanje. Takođe modeli finasiranja u svim izveštajima naglašeni su kao ključ implementacije SET i smanjenja stope multiplih trudnoća.

6.11. Monitoring, kontrola i modeli finansiranja

Kontinuirani nadzor i praćenje aktivnosti sastavni je deo svakog sistema koji teži da bude iole funkcionalan i održiv, a u oblasti medicinski asisitirane reprodukcije on je suštinska obaveza svakog aktera u ovom polju i osnov za normalno funkcionisanje.

Međunarodne institucije poput Internacionalnog komiteta za monitoring asistiranih reproduktivnih tehnologija (International Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies - ICMART), neprofitne organizacije pri Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), kao i Evropskog IVF konzorcijuma (EIM) pri Evropskom udruženju za humanu reprodukciju i embriologiju (ESHRE) – referentnoj instituciji za oblast humane reprodukcije u Evropi, više od deceniju postavljaju standarde i postulate regulisanja i praćenja aktivnosti iz ove oblasti širom sveta i definišu sve aspekte delovanja u ovom polju za sve aktere u društvu (12, 161).

Pored brojnih legislativnih mera u formi zakona, podzakonskih akata, i preporuka koje su bliže određivale oblast medicinski asistirane reprodukcije u pojedinim zemljama Evrope i sveta (legislativa se po zemljama znatno razlikuje), 2004. godine Evropski parlament i Savet Evrope, promovisao je brojne legislativne mere koje se tiču kvaliteta i bezbednosnih zahteva za donaciju, sakupljanje, testiranje, obradu, prezervaciju, skladištenje i distribuciju tkiva i ćelija (Direktiva za tkiva i ćelije 2004/23/EC), a čiju implementaciju zahtevaju sve ustanove koje se bave tretmanom infertilite i preimplantacionom genetskom dijagnostikom. Ove mere su kasnije dopunjene određenim aneksima, ali je zaključak ESHRE –a da one samo regulišu osnovne postupke bezbednog rada sa ljudskim tkivima u smislu prevencije prenosa transmisivnih bolesti i zamene ljudskih tkiva, te da visoko specijalizovana oblast MAR zahteva i brojne druge legislativne mere koje bliže određuju sve aspekte MAR, pre svega efikasnost i bezbednost. Ove mere (u formi zakona i preporuka) su kao što je navedeno već bile implementirane u većini zemalja u kojima se MAR praktikuje, uz potrebu za donošenjem, koliko je to moguće, univerzalnih preporuka (13).

Nivo legislativnih mera je u prošlosti bio šarenolik i razlikovao se od preporuka lokalnih referentnih strukovnih udruženja, do regionalnih i nacionalnih zakona i podzakonskih akata koji regulišu oblast BMPO, kao i pravilnika navedenih udruženja, ministarstva zdravlja ili namenski organizovanih vladinih agencija za regulisanje date oblasti (21).

Ipak, na osnovu gore navedene direktive, sve članice i njihovi akteri u sistemu tretmana infertilite dužni su da adaptiraju stroge mere i implementiraju sisteme i operativne procedure koje se tiču akreditacije, imenovanja, autorizacije, licenciranja, inspekcije i registracije MAR tretmana. Ove mere se svakako odnose na sve aktere u sistemu zdravstvene zaštite.

Na osnovu ove direktive uvedena je i obaveza monitoringa, izveštavanja i registracije za MAR ustanove u Evropskoj uniji. Monitoring i registracija svih aktivnosti ustanova za MAR bi trebalo da bude zakonska obaveza, uz podnošenje godišnjeg izveštaja Kompetentnom autoritetu (instituciji), koji bi trebalo da osnuje i održava Nacionalni registar MAR ustanova i aktivnosti i da odredi uslove akreditacije, autorizacije i licenciranja kadra i ustanova koje se bave ovom delatnošću (13).

Na osnovu preporuka i aktivnosti ICMART i njenih predstavnika zaključuje se da je osnova monitoringa praćenje bezbednosti i efikasnosti procedura iz oblasti MAR. Ovo je svakako daleko komplikasnija delatnost koja zahteva usklađivanje brojnih aspekata pogleda na MAR počevši od uvođenja univerzalne i jasno prihvачene terminologije pojmove iz oblasti BMPO, koja je i predložena i publikovana u referntnim okvirima (162).

Takođe su prepoznati i brojni izazovi u objektivnom i sistemskom praćenju pojava kako iz domena efikasnosti procedura, kao i iz domena bezbednosti istih i da bi što pre trebalo da se donesu univerzalne preporuke koje bi premostile ova kontraverzna pitanja (šta je uspeh VTO, i kako bi on trebalo da se izražava). Takođe MAR bezbednost se danas globalno prati samo u smislu stope multiplih trudnoća, kao najznačajnije komplikacije BMPO, i određenih akcidentalnih neželjenih dejstava, dok brojna druga pitanja, poput dugoročnog praćenja uticaja ovih procedura na zdravlje žena, koje im se podvrgavaju i rođene dece, još nemaju sistemski univerzalno prihvaćen model. Smatra se da će veliki doprinos u rešavanju ovog pitanja doneti European Safety Data Base koji planira da implementira ESHRE (13).

Trenutne stavove o monitoringu možda najbolje oslikavaju citati Prof. Nygren-a, jednog od najvećih autoriteta iz oblasti asistiranih reproduktivnih tehnologija: „Sve zemlje

moraju da prate efikasnost i bezbednost ART aktivnosti kako bi se držao prst na pulsu. Monitoring ART nije više opcija već moranje. Podaci su neophodni parovima, profesionalcima, široj javnosti, medijima, zakonodavcima, kao i radi alociranja sredstava. Kvalitetna politika javnog finansiranja ART procedura svakako zavisi od visoko kvalitetnog monitoringa“. On zaključuje i kako na osnovu dosadašnjih iskustava brojne BMPO klinike gube kontakt sa pacijentom nakon prvog tromesečja trudnoće što nameće zaključak i obavezu da se sistem monitoringa organizuje na način koji nadilazi same klinike za BMPO, a radi celovitosti sistemskog nadzora (163).

Iz svega iznetog, jasno je da su korisnici i učesnici monitoringa kako pacijenti, tako i profesionalci iz oblasti reproduktivne medicine, državne ustanove ne samo iz oblasti javnog zdravstva, kao i društvo u širem smislu reči.

Samo prikupljanje podataka o aktivnostima MAR može biti na nivou lokalnih centara, samih klinika, regionalnih i nacionalnih registara koji više ne mogu biti dobrovoljni, već zakonski obligatori i osnova su za dalje internacionalne programe sakupljanje i publikacija podataka putem epidemioloških studija do razvoja pravih i funkcionalnih internacionalnih registara koji bi trebalo da se oforme (13).

Parametri, koji se sakupljaju, odnose se kao što je rečeno na bezbednost i efikasnost procedura MAR koje se izvode i podrazumevaju brojne aspekte aktivnosti u oblasti MAR, kako na lokalnom nivou, tako i na nacionalnom nivou.

Svi navedeni pojedinačni parametri o vrsti i obimu procedura koje se izvode određenim etapama MAR procedura, raznim varijablama ishoda postupaka MAR, demografskim i drugim karakteristikama pacijenata, broju i obimu ustanova koje sprovode MAR i brojnim drugim

parametrima, predmet su brojnih univerzalnih formulara koju je za ovu svrhu dizajnirao i predložio ICMART kao referntna institucija iz ove oblasti i koji su služili kao osnova za formiranje obrazaca za monitoring MAR i u našoj zemlji. Ovi formulari predviđaju dakle aktivnosti kako individualnog monitoringa svakog ciklusa MAR, tako i sumarnih izveštaja i to na nivou samih MAR centara i nadležnih ustanova za monitoring (Nacionalnih registara).

ICMART je dao detaljna upustva za sve navedene postupke uz mogućnost asistencije njihovog tima svakoj zemlji ili sistemu u implementaciji ovih postupaka i osnivanju registara (164).

Sama metodologija sakupljanja podrazumeva dakle lokalno sakupljanje i slanje individualnih i periodičnih izveštaja na nivou klinika o MAR procedurama, kao i mnogo adekvatniji, ali zahtevniji model centralizovanog sakupljanja individualnih ciklusa. Ovaj model se optimalno sprovodi putem elektronske baze u centralnom nacionalnom registru koji može biti osnov i za određivanje i transfer sredstava finansiranja ovih procedura (najpoznatiji model ovakvog tipa je nemački model IVF registra(165)).

Još jednom se napominje da je koliko god kompleksan, adekvatan monitoring, koji bi trebalo da sprovodi multidisciplitan tim sa posebnim akcentom na stručnjake iz oblasti informaciono-komunikacionih tehnologija, preduslov uspešnog funkcionisanja zdravstvenog sistema za oblast BMPO.

6.12. Modeli finansiranja vantelesne oplodnje

Finansiranje postupaka MAR se tokom vremena pokazalo kao jedan od osnovnih parametara koji bliže određuje nivo i opseg aktivnosti u ovoj oblasti u pojedinim zemljama.

Možda je najsmislenije započeti ovo poglavlje zaklučkom radne grupe ESHRE-a iz komparativne analize sprovedene po zahtevu Evropske Komisije o regulativama i tehnologijama u oblasti MAR koje glasi: „Jasno je da je 30 godina nakon uvođenja IVF-a, broj tehnika dostupnih za tretman infertilitea porastao na tako spektakularan način da su implementacija, legislacija i finansiranje ovih tretmana sa toliko puno varijacija da ne postoje dve zemlje članice EU koje su slične“ (13).

Uopšteno govoreći postoje tri osnovna modela finansiranja postupaka MAR. To su finansiranje od strane države – sistema javnog zdravstvenog osiguranja (Reimbursement), finansiranje putem privatnog dobrovoljnog zdravstvenog osiguranja, kao i finansiranje od strane samih pacijenata. Svi modeli finansiranja imaju određene specifinosti i posledice koje njihova implementacija donosi (23).

Zdravstveni sistem i društvo u celini najviše interesuje politika finansiranja od strane države. Ova politika bi pre svega trebalo da da odgovor na pitanja ko i pod kojim uslovima može dobiti MAR treman, kakvu vrstu i koliko ciklusa MAR tretmana pacijent može dobiti finansirano od strane države, kao i nebrojena druga pitanja koja do detalja regulišu ovu oblast.

Kada se govori o politici finansiranja od strane države prvo i osnovno pitanje je pitanje kvalifikovanosti (Eligibility) osobe za ovaj tretman. Kriterijumi kvalifikovanosti najčešće podrazumevaju godine prvenstveno žene, ali i muškarca, broj dostupnih ciklusa MAR, bračni

status, postojanje dece, upotrebu određenih vrsta MAR tretmana (doniranje gameta), broj embriona koja se transferiraju, tip pružaoca usluge MAR (državna ili privatna zdravstvena ustanova) i brojna druga pitanja. Neka od ovih pitanja uslovljena su i definisana samom zakonskom regulativom MAR u dатој земљи без обзира на model finansiranja (poput doniranja gameta, surogatstva, i brojnih drugih pitanja), dok su druge osobnosti MAR tremana zakonski dozvoljene, ali se razlikuje da li ih, i u kojoj meri sistem javnog zdravstva finasira i čini dostupnim svim pacijentima (23).

Tako su, jedna od osnovnih pitanja u politici finansiranja od strane države, godine pacijentkinje uz eventualnu kliničku procenu stanja ovarijalne rezerve, prisustvo dece i broj tretmana koja je država spremna da finansira i pod kojim uslovima.

Određene zemlje EU imaju fiksne godišnje budžete za MAR tretman, dok duge to nemaju, i globalni zaključak je da u brojnim zemljama nije jasno kakvi argumenti su korišćeni za regulisanje i finansiranje MAR postupaka, ali pored medicinskih svakako su veliku ulogu imali i ekonomski, socijalni i društveno politički kriterijumi, kao i pitanje bezbednosti samih pacijenata (13).

Politika finansiranja trebalo bi da odgovori na ova pitanja na osnovu medicinskih, socioekonomskih, ustavno pravnih i drugih merila i da zadovolji prava i potrebe svih zainteresovanih strana u ovom procesu, odnosno prava pacijenata na pristupačnost tretmanu, prava struke, rada medicinskog osoblja i poštovanja medicinskih postulata, prava države i njenih institucija, ekonomske održivosti budžeta i finansija dostupnih zdravstvenom sistemu kako kratkoročno tako i dugoročno i celog društva kao celine. Mogli bismo reći da bi idealna

politika finansiranja od strane države trebalo da nađe balans između ovih strana i da u optimalnoj meri zadovolji potrebe svih aktera.

Pitanje gornjeg limita godina po različitim zemljama nije uniformno, i postoje zemlje koje precizno definišu gornju granicu zakonom (uglanom od 39-42 godine), zemlje koje ograničavaju finansiranje MAR tretmana godinama u okvirima „prirodnog reproduktivnog doba“, ali ga ne definišu precizno, kao i zemlje koje ne ograničavaju tretman samim godinama žene. Razlozi za ovakvu vrstu ograničenja leže pre svega u medicinski prirodnoj i očekivanoj limitiranoj šansi za uspeh u određenom reproduktivnom dobu tako da nakon četrdesete godine pada na ispod 20% šanse za živorodenje po embriotransferu, uz drastičan dalji pad uspešnosti u narednim godinama. Limit, dakle, nije vezan samo za mali uspeh potencijalnog tretmana i ekonomsku komponentu problema koja proizilazi iz toga (analizu trošak-dobit), već i u činjenici da bi određenu osobu trebalo da izlažemo svim rizicima jednog kompleksnog medicinskog tretmana uz vrlo male šanse za uspeh, što zadire i u domen osnova medicinske etike. Svakako da je, zemljama u kojima su ciklusi sa doniranim gametima svakodnevnička, ova dilema daleko lakša pošto je ova vrsta tretmana svakako delovotornije i uspešnije, ali i ona nosi nove izazive u određivanju starosne granice. Ovde priča o uspehu nije u prvom planu već briga za zdravstveno stanje žene koja bi u slučaju uspeha trebalo da prolazi kroz trudnoću i porođaj u periodu kada njen organizam možda više nije u stanju da to prebrodi uz prihvatljivu dozu bezbednosti, kao i priča o pravu nerođenog deteta. Poznati su slučajevi da su ciklusima iz programa doniranih gameta žene širom sveta rađale i sa 69 godina što svakako nameće brojna pitanja. Stoga su određene zemlje regulisale i gornju granicu za MAR tretman sa doniranim jajnim ćelijama na 50 godina za ženu (23).

Samo na primeru godina sagledava se kompleksnost analize svake pojedinačne stavke.

U komparativnoj analizi udruženja pacijenata sa problemom infertilite primećeno je da su ključne stavke i politika finansiranja MAR od strane države ukupan broj (u proseku od tri do šest) i vrsta MAR tretmana, limitiranost godinama života, prisustvom dece, transferom samo jednog embriona, komplikovanošću same procedure dobijanja odluke (direktno postojanjem zdravstvenog osiguranja ili putem posebnih administrativnih komisija). Takođe se uočava da politika finansiranja od jedne do druge zemlje varira i u stavkama kompleksnog MAR tretmana koje su i kako finansirane (laboratorijska procedura, lekovi, klinički i laboratorijski pregledi, konsultacije i dr.).

Broj finansiranih ciklusa je takođe jedan od kamena temeljaca dobre politike finansiranja od strane države, i ovde, pored medicinskih razloga i sledstvene šanse za trudnoću nakon razumnog broja ciklusa, ekonomski momenat i budžet sistema javnog zdravstva, ima ključnu ulogu. Ipak sve analize ukazuju na to da je obezbeđivanje dovoljnog broja ciklusa pre svega iz ugla bezbednosti krucijalno.

Naime, najznačajnija komplikacija MAR - multiple trudnoće sa svojim devastirajućim efektima na zdravlje majke, zdravlje novorođenčadi čiji mortalitet i ozbiljni morbiditet raste eksponencijalno sa brojem plodova, direktna je i preventabilna posledica loše organizacije MAR usluga.

Iz ovoga proističu i ključne negativne posledice loše politike finansiranja MAR od strane države. To su dakle neadekvatna borba sa problemom multiplih trudnoća, nesposobnost pacijenata da ostvare ljudsko pravo na neophodni tretman i socioekonomiske posledice (23).

Bezbednost i kvalitet MAR procedura osnovne su brige u tretmanu pacijenata i na osnovu izveštaja ESHRE-a, adekvatna legislativa i politika finansiranja od strane države, uz poštovanje pravila struke, ključni su u ostvarivanju ovog cilja (166).

Druga je velika posledica neadekvatne politike finansiranja MAR od strane države je nepristupačnost tretmana ljudima kojima je potreban. Procene su da optimalno na milion stanovnika potrebe za MAR iznose oko 1500 ciklusa godišnje. Analize ukazuju da je u zemljama gde MAR nije adekvatno finasiran broj procedura godišnje, čak vrlo značajno ispod navedenih standarda (U Belgiji se izvede približno 2500 ciklusa na milion stanovnika godišnje, a u nekim zemljama EU svega oko 500-800, što uz pretpostavku da se epidemiološka situacija infertiliteta ne razlikuje toliko po zemljama ukazuje na to da u zemljama sa lošijom politikom finansiranja MAR potrebe pacijenata, da se ostvare kao roditelji, nisu bile ispunjene od strane zdavstvenog sistema sa svim svojim posedicama po psihosocijalne sekvele na dalji život ovih ljudi (13, 23). Odredene ekonomске analize, pored navedenog, jasno izračunavaju kako će u društvima sa lošom politikom MAR finansiranja takođe nastupiti fiskalni deficit u narednom periodu kao posledica ove odluke (167).

Dokaz da će neadekvatna državna politika finansiranja MAR procedura dati negativne posledice, čak i u ekonomski razvijenijim sredinama daje danski model gde je, nakon uvođenja polovičnog finansiranja MAR postupaka u 2011. godini, izvedeno manje postupaka BMPO, uz procenu da je u navedenoj godini iz postupaka BMPO rođeno oko 700 dece manje (1,2% sve živorođene dece za datu godinu) (168).

Ovo su svakako cene koje nijedno, a pogotovo naše društvo, uz sve specifičnosti demografskih i socioekonomskih problema koje imamo, ne bi ni trebalo ni smelo da plati za

loše vođenu politiku finansiranja BMPO. Stoji konstatacija da je najskuplje imati neadekvatan sistem koliko god on kratkoročno izgledao ekonomski prihvatljiviji i da je, koliko god skupo izgledalo, povećanje nivoa i obima finasiranja procedura BMPO od strane države, kada se uzmu u obzir negativni demografski trendovi i borba za svako živo dete, kao i negativne posledice multiplih trudnoća nakon BMPO kojih imamo previše, opstajanje neadekvatnog sistema još skuplje (23).

U Izraelu javno finansiranje pokriva troškove svih postupaka VTO za prvo i drugo dete za pacijentkinje majke do 45 godina, te su oni tokom 2002. godine imali 1657 ART ciklusa na million stanovnika (114).

6.13. Pozitivni legislativne implementacije SET-a

Sve navedeno u dosadašnjem toku rada ukazuje da su baš ove kompleksne legislativne mere ključ u konačnoj implementaciji SET-a u jednom zdravstvenom sistemu, smanjenja broja multiplih trudnoća i blagotvornih posledica po društvo.

U vreme započinjanja aktuelne studije većina dokaza i radova publikovnih na ovu temu odnosila su se upravo na medicinske, ekonomске i druge analize uticaja problema višeploodnih trudnoća nakon postupaka VTO, predikcija mera za njihovo smanjivanje i predlaganja odgovarajućih strategijskih rešenja.

Danas, pet godina kasnije, stručna i naučna literatura sve više preovladava konkretnim primerima iz prakse koje dolaze iz zdravstvenih sistema širom sveta gde su date mere primenjene sa većim ili manjim uspehom. Ovo su krucijalni dokazi za iznete tvrdnje.

Još jednom podsećamo da, pored svih pojedinačnih aspekata pozitivnog perinatalnog ishoda pri primeni SET, sada imamo i dokaze na osnovu ogromnog uzorka da on konačno dovodi do ključnog zadatka, smanjenja perinatalne smrtnosti (169). Tako je ova ESHRE studija na preko 50 000 porođaja dokazala da DET nosi ukupni rizik od perinatalnog mortaliteta od 19,1/1000 porođaja dok kod seta to iznosi 13,2/1000 porođaja. Za sve porođaje nakon DET-a u odnosu na SET izračunato je da je perinatalni mortalitet 53 % veći. Ako bismo preveli ovo u realne brojke, zaključujemo da je samo na datom ispitivanom uzorku od 50258 porođaja oko 600 dece umrlo kao posledica neprimenjivanja SET-a (169).

Studija Velez i saradnika, objavljena juna 2014. analizirajući stanje u javnom IVF finansiranju, takođe zaključuje da implementacija programa javnog finansiranja ciklusa VTO koji favorizuje eSET strategiju, ne samo da drastično smanjuje incidencu multiplih trudnoća, već i smanjuje ukupne troškove po jednom živorodenom detetu (170)

Od brojnih modela uspešne implemntacije SET-a odgovarajućim legislativnim meraima koje su prvenstveno podrazumevale da se pacijentkinjama odobri veći broj besplatnih pokušaja VTO pod uslovima da u prvim ciklusima pristanu na SET, belgijski model je kao pionirski definitivno postavio temelje (171). U Belgiji je 2003, nakon prezentovanja podataka da smanjenje stope multiplih trudnoća za 50% može da isplati celokupne troškove državnog IVF programa, donesena zakonska osnova kojom se pacijentkinjama finansira šest ciklusa VTO pod uslovima da u prva dva ciklusa ukoliko su mlađe od 35 godina i imaju embrione vrhunskog kvaliteta idu na postupak SET-a, kao i da u narednim ciklusima ne smeju preći broj od dva embriona. Vraćanje tri embriona dozvoljeno je samo ženama od 35-39 godina, ukoliko nisu ostvarile trudnoću u prva dva DET pokušaja. Ove mere sa sistemom monitoring dovele su do

smanjenja stope multiplih trudnoća sa preko 27%, na blizu 10%, ostvarile pretpostavljeni cilj i pri tome nisu smanjile ukupnu stopu trudnoća po ciklusu.

Dodatan dokaz da samo brza i odlučna zakonska regulativa može dati momentalne rezultate proizilazi iz primera kanadskog modela (172). U Kvebeku je 2010. stupio na snagu zakon koji omogućava pacijentima da imaju finansirana tri ciklusa VTO od strane sistema javnog zdravstva ili čak šest u prirodnom ciklusu, ali pod uslovom da se vraća samo jedan embrion. Primena ovog sistema pokazala je da kumulativna stopa trudnoća, odnosno uspeh nije kompromitovan. Tako je stopa trudnoće pre navedenog perioda u eri multiplih embriotransfера iznosila 31,9% uz primenu SET-a od 17,3% i stopu multiplih trudnoća od 25,8%. Po implementaciji i SET strategije ukupna učestalost SET porasla je na neverovatnih 855 uz smanjivanje stope multiplih trudnoća na svega 1,6%, praktično u nivo spontane konceptcije. Istovremeno, stopa trudnoće po jednom ciklusu pala je na 23,3% ukoliko se izolovano gleda samo svež ciklus, ali kada se u njega doda i transfer preostalog zamrznutog embriona ona je dostigla vrednost od 29,7% i nije se razlikovala od stope trudnoća u prethodnom periodu.

Finalno, primer Slovenije, koji na nas ostavlja možda i najjači utisak i najbolje demonstrira realnu ulogu legislativnih mera u smanjenju stope multiplih trudnoća, pokazuje stanje nakon implementacije novog legislativnog okvira koji od 2008. godine refundira do šest ciklusa pacijentima ukoliko pristanu na SET, u prva dva ciklusa za žene ispod 36 godina. Utvrđeno je da je primenom ovih mera ukupna primena SET sa 47,7% pre 2008. porasla na 78,4% u narednom period uz zadrvžavanje iste stope porođaja po transferu od 49,8% pre uvođenja mera i čak 50,3% nakon uvođenja mera. Istovremeno stopa multiplih trudnoća pala je sa 24,4% na neverovatnih 6,7%. Ono što slovenački primer čini jedinstvenim u datoj

publikaciji je to što su autori naveli poređenje istih karakteristika kod slovenačkih i prekograničnih pacijenata, na koje se navedeni sistem finansiranja i uslova pod kojim se izvodi, nije odnosio . Kod prekograničnih pacijenata je uz zadržavanje visoke stope trudnoća od 54% implementacija SET dostigla svega 33,1% uz i dalje previsoku stopu multiplih trudnoća od 23,1% (173).

Ovo je ključni dokaz da u istim uslovima, istoj laboratoriji, sa istim pristupom pacijentima, načinom savetovanja i obrazlaganja potencijalnih posledica odluka o embriotransferu, ali sa različitim načinom finansiranja, odnosno odsustvom istog, eSET nema realnih šansi za uspeh, a pacijenti su i dalje osuđeni na visoku stopu multiplih trudnoća. Ovo je potvrda da je dobro finansiranje od strane države, uz veliki broj plaćenih ciklusa, ali uz obaveznu primenu SET, ključ za smanjenje stope multiplih trudnoća i to je svakako naša poruka i apel nadležnim instancama.

6.14. Preporuke koje proističu iz studije

Na osnovu dobijenih rezultata o problemu višeplodnih trudnoća, negativnim perinatalnim ishodima koje se u njima javljaju bez obzira na modus koncpecije, kao i analize stanja u oblasti asistirane reprodukcije kako kod nas tako i u svetu, a po utvrđenim ciljevima istraživanja sumarno se izdvajaju sledeće preporuke.

Mere za smanjenje ukupnog broja multiplih trudnoća bile bi:

Neophodnost implementacije u praksi dobrog sistema monitoring i kontrole postupaka vantelesne oplodnje i eventualno osnivanje registra ne samo za ove procedure već i za višeplodne trudnoće u celosti, poseban akcenat na bezbednost procesa vantelesne oplodnje.

Inicijativa prema odgovarajućim zakonodavnim instancama, Ministarstvu zdravlja i Republičkom fondu za zdravstveno osiguranje da, uvezši u obzir dobijene rezultate i pozitivna iskustva iz prakse određenih zdravstvenih sistema, odobre finansiranje više pokušaja vantelesne oplodnje (bar 3) uz inkorporiranje eSET-a kao obaveze u bar jednom, ako ne i prva dva ciklusa dobro prognostičkih pacijenata.

Usavršavanje laboratorijskih uslova i standard rada embrioloških laboratorija sa posebnim akcentom na postupke krioprezervacije i uvođenje novih metoda embrioselekcije radi dostizanja otpimalnih šansi za uspeh ciklusa vantelesne oplodnje primenom SET-a.

Redefinisanje pojma ciklusa vantelesne oplodnje na celokupan ciklus sa svežim i zamrznutim embrionima (gde bi oba postupka bila pokriveni zdravstvenim osiguranjem), kao

i redefinisanje pojma uspeha vantelesne oplodnje na samo jednoplodne trudnoće uz prepoznavanje višeplodnih trudnoća kao komplikacije metoda asistirane reprdukciјe.

Intenzivna edukacija svih aktera u postupcima vantelesne oplodnje o štetnim posledicama višeplodnih trudnoća po majku, plod i zdravstveni sistem u celosti.

Intenzivna edukacija i kvalitetnije savetovanje pacijenata o rizicima multiplih trudnoća pri inicijalnoj konsultaciji o postupcima vantelesne oplodnje i utvrđivanju plana za tretman.

U situacijama kada do višeplodne trudnoće ipak dođe (bilo spontanom koncepcijom ili postupcima vantelesne oplodnje), kao standardne mere vođenja trudnoće, pored postojećih predložene mere bile bi:

- jasna i rana identifikacija svih vijabilnih embriona sa posebnim akcentom na praćenje eventualnog razvoja fenomena nestajućeg blizanca daljem toku trudnoće i njegovom obaveznom notiranju u medicinsku istoriju pacijenta s obzirom na moguće negativne posledice po ishod trudnoće;

- rani ultrazvučni pregled u prvom trimestru radi tačnog datiranja trudnoće i određivanja horioniciteta uz obavezno određivanje intenzivnijeg antenatalnog nadzora u slučaju monohorionskih blizanaca;

- sprovođenje skrininga na anomalije u prvom trimestru po modifikovanim programima koji, kao varijable pored broja plodova, sadrže i modus koncepcije i fertilizacije, kao i obavezno uključivanje genetičara u konsultaciju i informisanje pacijenta o rizicima i mogućnostima detekcije hromozomskih poremećaja;

- informisanje pacijenta o mogućnostima i rizicima eventualne rane i kasne kariotipizacije plodova ukoliko za to postoje kliničke indikacije ili želja pacijenta;
- informisanje pacijenata o svim aspektima multiplih trudnoća i rizicima koje oni nose;
- insistiranje na adekvatnim životnim navikama i sprečavanju prekomernog dobijanja na težini, jer ovi faktori dodatno opeterećuju multiple trudnoće;
 - primena skrininga u pravcu prevremenog porođaja po postulatima savremene perinatološke prakse baziranih na anamnističkim podacima, akušerskom pregledu i redovnoj endosonografskoj cervikometriji i aktivnu primenu mera za prevenciju prevremenog porođaja samo po jasno definisanim i dokazanim indikacijama i procedurama;
 - upućivanje svake višeplodne trudnoće na bar jedan sonografski pregled u ustanovu specijalizovanu za fetalnu medicine;
 - sistemsko i aktivno sonografsko određivanje biometrije i kondicije ploda u razmaku od najviše četiri nedelje za dihorionske i dve nedelje za monohorionske blizanačke trudnoće nakon dvadesete gestacijske nedelje, a u pravcu skrininga na diskonkordantnost blizanaca i eventualnu pojavu interblizanačke transfuzije;
 - aktivna primena skrininga na gestacijski dijabetes izvođenjem OGTT-a u 16. i 28. gestacijskoj nedelji, kao i aktivnu primenu skrininga na pojavu hipertenzivnog sindroma u trudnoći, kako je njihova učestalost u navedenim trudnoćama značajno povećana, kao i ranu primenu terapijskih mera;

- završavanje trudnoće u odgovarajućoj gestacijskoj dobi koja za određeni tip blizanačkih trudnoća može predstavljati i prevremeni porođaj, a u cilju smanjenja rizika od dalje intrauterine ugroženosti plodova, po jasno definisanim kliničkim indikacijama;
- sprovođenje porođaja po opštim akušerskim indikacijama uz napomenu da modus koncepcije ne predstavlja faktor koji opredeljuje ovu odluku, kao i da vantelesna oplodnja ne predstavlja primarnu indikaciju za operativno završavanje trudnoće.

7. Zaključak

Višeplodne trudnoće nakon postupaka vantelesne oplodnje, kao i one spontano začete, predstavljaju ozbiljan problem koji nosi brojne rizike po zdravlje majke, dece i celokupnog zdravstvenog sistema. Sam način začeća, odnosno činjenica da li je višeplodna trudnoća nastala spontano ili nakon postupaka vantelesne oplodnje, ne predstavlja, po rezultatima sprovedene studije, dodatan faktor rizika za negativan ishod trudnoće kako po majku tako i po dete.

Jednoplodne trudnoće iz postupaka vantelesne oplodnje, sa druge strane, za sve navedene aktere predstavljaju daleko bolju opciju, jer su rizici po majku i dete neuporedivo manji nego u višeplodnim trudnoćama i sam postupak vantelesne oplodnje ne uskraćuje ovoj deci šansu za normalno i zdravo rođenje.

Učestalost višeplodnih trudnoća nakon postupaka vantelesne oplodnje u našoj sredini neprihvatljivo je velika i moraju se hitno i aktivno sprovesti mere za njihovo smanjivanje.

„Pozitivan test na trudnoću nije uspeh, ali zdrava beba jeste.

Dve zdrave bebe istovremeno su takođe uspeh, ali akušeri znaju da je

teško predvideti koja će se višeplodna trudnoća završiti dobro a koja ne

Problem ne leži u jednoj pojedinačnoj blizanačkoj trudnoći koja će se

završiti rođenjem dva zdrava deteta već u epidemijskoj razmeri komplikacija.“

Jan Gerris

Primena zakona o asistiranoj reprodukciji, i dostupnost lakšeg, kvalitetnijeg i obimnijeg finansiranja postupaka vantelesne oplodnje za parove uz poštovanje želja infertilnog para o načinu i mestu sprovodenja postupaka mora se preuzeti kao obaveza.

Povećanje broja ciklusa koji se finansiraju od strane države, obaveza krioprezervacije embriona u svim postupcima vantelesne oplodnje finansiranih od strane države, poboljšanje laboratorijskih uslova, uvođenje single embryo-transfera kao obavezognog načina rada kod selektovanih pacijentkinja u svim ciklusima vantelesne oplodnje, kao uslov za dobijanje plaćenog postupka vantelesne oplodnje, jeste ispravno rešenje u dobijanju jednog zdravog deteta rođenog u pravo vreme.

Mora se uspostaviti i implementirati adekvatan sistem nadzora i prijavljivanja svih postupaka lečenja infertiliteta koji je u skladu sa nacionalnim strategijama i telima, ali i referentnim evropskim autoritetima poput institucije ESHRE. Cilj postupaka vantelesne oplodnje nije i ne sme biti samo puko jurenje stopa uspeha, već se aspekti bezbednosti po zdravlje pacijenta moraju postaviti u prvi red.

Za postizanje ovog cilja neophodno je razviti svest o rizicima višeplodnih trudnoća i porođaja kontinuiranom edukacijom, koja se bazira na medicini zasnovanoj na dokazima, ne samo u stručnim krugovima, nego i među pacijentima.

Personalizovana medicina, uz individualizovani pristup svakom infertilnom paru u svim fazama lečenja infertiliteta, mora postati postulat svremene kliničke prakse.

Ovo se mora sprovoditi i ogledati u svakom kontaktu sa pacijentkinjom, uz njeno aktivno uključivanje u proces odlučivanja o svim aspektima tretmana koje je očekuju, ali tek nakon podrobnog i sveobuhvatnog upoznavanja sa relevantnim činjenicama od strane lekara.

Iskustva drugih zemalja, koje su razvile strategiju za rešavanje problema višeplodnih trudnoća, govore o tome da je jedan od najvažnijih preduslova podrška državnih struktura koje će se aktivno uključiti u rešavanje ovog problema.

Pojam multidisciplinarnosti i timskog rada, koji se često i olako koristi u brojnim situacijama, možda svoju najveću upotrebu ima baš u ovoj oblasti. Kako iskustva ukazuju, bez aktivnog angažovanja celokupnog društva ovaj cilj teško može biti dostižan.

Time bi se stvorili uslovi za implementaciju eSET-a kao jedinog dokazanog metoda za uspešno i predvidivo smanjivanja stope multiplih trudnoća, uz očuvanje uspeha same procedure vantelesne oplodnje, iako je i ovo pojam koji se mora redefinisati.

„Možete vratiti koliko god hoćete embriona, ali jedan po jedan.“

Karl Nygren

8. Literatura

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet. 1978;2(8085):366.
2. The History of IVF -The Milestones. Azurirano 16.05.2012. Preuzeto sa <http://www.ivf-worldwide.com/ivf-history.html> 14.05.2014.
3. Bavister BD. Early history of in vitro fertilization. Reproduction. 2002 Aug;124(2):181-96.
4. Cohen et al. The early days of IVF outside UK. Human Reproduction Update. 2005;5:439-59.
5. Watts G. IVF pioneer Robert Edwards wins Nobel prize. BMJ. 2010;5:341.
6. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rousee DJ, Spong CY, editors. Williams obstetrics. 23rd ed. New York: McGraw-Hill; 2010.
7. Milašinović Lj, i sar. Klinička Fiziologija trudnoće. Beograd: IP SKK Kosmos; 2005.
8. Fritz MA, Speroff L, editors. Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility. Eight Edition. Philadelpihia: Lippincot Williams and Wilkins; 2011.
9. Dyer SJ. International estimates on infertility prevalence and treatment seeking: potential need and demand for medical care. Hum Reprod. 2009 Sep;24(9):2379-80.
10. Institut za javno zdravlje Srbije. Centar za analizu, planiranje i organizaciju zdravstvene zaštite. Odabrani zdravstveni pokazatelji za 2009. godinu. Ažurirano 20.04.2011. Preuzeto 16.05.2014. Dostupno na web adresi: <http://www.batut.org.rs/download/izvestaji/Odabrani%20zdravstveni%20pokazatelji%202009.pdf>.
11. Kopitović V, Milatović S, Trninić-Pjević A, Bjelica A, Bujas I, Tabš N. Rezultati i iskustva nakon hiljadu ciklusa vantelesne oplodnje na Klinici za ginekologiju i akušerstvo u Novom Sadu. Medicinski pregled. 2011; 64(11-12):565-569.
12. Ferraretti AP, Goossens V, Kupka M, Bhattacharya S, de Mouzon J, Castilla JA, Erb K, Korsak V, Nyboe Andersen A; European IVF-Monitoring (EIM) Consortium for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2009: results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod. 2013 Sep;28(9):2318-31.
13. ESHRE working group. Comparative Analysis of Medically Assisted Reproduction in the EU: Regulation and Technologies (SANCO/2008/C6/051). 2009.
14. History of fertilitztreatment legislation HFEA. Ažurirano 18.03.2009. Preuzeto sa sajta <http://www.hfea.gov.uk/history-of-ivf.html> 19.05.2014.
15. ESHRE Taskforce on Ethics and Law 15. Cross border reproductive care, Hum Reprod 2008;23:2182-84.
16. Kocourkova J, Burcin B, Kucera T. Demographic relevancy of increased use of assisted reproduction in European countries. Reprod Health. 2014 May 26;11:37.
17. AIHW (Australian Institute of Health and Welfare), Assisted Reproduction Technology in Australia and New Zealand 2009. National Perinatal Statistical Unit and Fertility Society of Australia. Assisted Reproduction Technology series, number 15, November 2011. <http://www.aihw.gov.au/publicationdetail/?Id=1073742046>.

18. CDC, Centres for Disease Control and Prevention. Reproductive Health. Assisted Reproductive Technology. National Summary and Fertility Clinic Reports 2009. November 2011 at <http://www.cdc.gov/ART/> ART2009.
19. Andersen AN, Nygren KG; European IVF-monitoring (EIM) Consortium; European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 1997: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2001;16(2):384-91.
20. Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG; European IVF-monitoring (EIM) Consortium; European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2008 Apr;23(4):756-71.
21. Kopitović V, Milatović S. Modeli monitoringa, finansiranja i kontrole IVF ciklusa primenljivi za Republiku Srbiju. 8. Simpozijum sa medjunarodnim učešćem: Novosti u humanoj reprodukciji. Beograd, 2013.
22. Wenstrom KD, Syrop CH, Hammitt DG et al. Increased risk of monozygotic twining associated with assisted reproduction. *Fertil Steril* 1993; 60:510.
23. Knopman J, Krey LC, Lee J, Fino ME, Novetsky AP, Noyes N. Monozygotic twinning: an eight-year experience at a large IVF center. *Fertil Steril.* 2010 Jul;94(2):502-10.
24. Gardner RL. The timing of monozygotic twinning: a pro-life challenge to conventional scientific wisdom. *Reprod Biomed Online.* 2014 Mar;28(3):276-8.
25. Hack KE, Derkx JB, Elias SG et al. Increased perinatal mortality and morbidity in monochorionic versus dichorionic twin pregnancies: Clinical implications of a large Dutch cohort study. *BJOG* 2008; 115:58.
26. Carroll SGM et al. Is zygocitz or chorionicitz the main determinant of fetal outcome in twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193:757.
27. Martin JA, ET AL. Births; Final data for 2004. *Nat Vital Stat Report.* 2006; 55:1.
28. Office for National Statistics. Births: maternities with multiple births: rates per 1,000 maternities, age of mother, 1938e2004, all maternities. London: ONS; 2006.
29. Black M, Bhattacharya S. Epidemiology of multiple pregnancy and the effect of assisted conception. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Dec;15(6):306-12.
30. Braude P, et al. Report of the Expert Group on Multiple Births after IVF. One child at a time. 2006.
31. Simmons R, Doyle P, Maconochie N. Dramatic reduction in triplet and higher order births in England and Wales. *BJOG* 2004;111:856e8.
32. National Institute for Clinical Excellence. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. London: NICE; 2004
33. Gordts S, Campo R, Puttemans P, et al. Belgian legislation and the effect of elective single embryo transfer on IVF outcome. *Reprod Biomed Online* 2005;10:436e41..
34. Karlstrom PO, Bergh C. Reducing the number of embryos transferred in Sweden e impact on delivery and multiple birth rates. *Hum Reprod* 2007;22: 2202e7.
35. Eriksson AW, Fellman J. Demographic analysis of the variation in the rates of multiple maternities in Sweden since 1751. *Hum Biol* 2004;76:343e59.
36. Wood R. Trends in multiple births, 1938e1995. *Populn Trends* 1997;87:29e35.
37. Office for National Statistics. Birth Statistics 2008. London: Office for National Statistics; 2010. FM1 No. 37: 30e33.

38. Kiely JL, Kiely M. Epidemiological trends in multiple births in the United States, 1971e1998. *Twin Res* 2001;4:131e3.
39. Mayor S. UK authority sets limit on number of embryos transferred. *BMJ* 2004;328:65a.
40. National Institute for Health and Care Excellence. Clinical guideline 129. Multiple pregnancy e the management of twin and triplet pregnancies in the antenatal period; 2011.
41. Office for National Statistics. Births: 1970e2001, Mean ages of women at live births within marriage (according to social class of husband) and birth order. London: ONS; 2005.
42. Tiitinen A. Prevention of multiple pregnancies in infertility treatment. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2012 Dec;26(6):829-40.
43. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology, de Mouzon J, Lancaster P, Nygren KG, Sullivan E, Zegers-Hochschild F, et al. World collaborative report on Assisted Reproductive Technology, 2002. *Hum Reprod* 2009;24:2310e20.
44. Nylander PP. The frequency of twinning in a rural community in Western Nigeria. *Ann Hum Genet* 1969;33:41e4.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Contribution of assisted reproductive technology and ovulation-inducing drugs to triplet and higher-order multiple births e United States, 1980e1997. *Morb Mortal Weekly Rep* 2000;49: 535e8.
46. Dickey RP. The relative contribution of assisted reproductive technologies and ovulation induction to multiple births in the United States 5 years after the Society for Assisted Reproductive Technology/American Society for Reproductive Medicine recommendation to limit the number of embryos transferred. *Fertil Steril* 2007;88:1554e61.
47. Verstraelen H, Goetgeluk S, Derom C, et al. Preterm birth in twins after subfertility treatment: population based cohort study. *BMJ* 2005;331(7526): 1173.
48. Brandes M, Hamilton CJ, Bergevoet KA et al. Origin of multiple pregnancies in a subfertile population. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 1149–1154.
49. ESHRE Capri Workshop Group. (2000) Multiple gestation pregnancy. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod* 15: 1856–1864.
50. EURO-PERISTAT project in collaboration with SCPE, EUROCAT & EURONEOSTAT. European perinatal health report 2004 Preuzeto 11.05.2014 sa adresu, <http://www.europeristat.com/images/doc/EPHR/european-perinatal-health-report.pdf>.
51. Healy D; BESST (birth emphasizing a successful singleton at termBESST (birthemphasizing a successful singleton at term). Damaged babies from assisted reproductive technologies: focus on the BESST (birth emphasizing a successful singleton at term) outcome. *Fertil Steril*. 2004 Mar;81(3):512-3.
52. Mohsen IA, El Din RE. Minimal stimulation protocol using letrozole versus microdose flare up GnRH agonist protocol in women with poor varian response undergoing ICSI. *Gynecol Endocrinol*. 2013 Feb;29(2):105-8.
53. Murray SR, Norman JE, Multiple pregnancies following assisted reproductive technologies e A happy consequence or double trouble?, Seminars in Fetal & Neonatal Medicine (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2014.03.001>

54. Misty C, Barton J, O'Brien J, Istwan N, Sibai B. The effect of fetal number on the development of hypertensive conditions of pregnancy. *Obstet Gynecol* 2005;106:927e31.
55. Sibai B, Hauth J, Caritis S. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:938e42.
56. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking:a systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005;330:565e7.
57. Little C. One consequence of infertility treatment: multifetal pregnancy. *Am J Maternal/Child Nurs* 2010;35:150e5.
58. Fisk N. Multiple pregnancy. In: Edmonds DK, editor. *Dewhurst's textbook of obstetrics and gynaecology*. 7th ed. Oxford: Blackwell; 2007. p. 166.
59. Hoj L, da Silva D, Hedegaard K, Sandstrom A, Aaby P. Factors associated with maternal mortality in rural Guinea-Bissau. A longitudinal population-based study. *BJOG* 2002;109:792e9.
60. Waterstone M, Bewley S & Wolfe C. Incidence and predictors of severe obstetric morbidity; case-control study. *BMJ* 2001; 332: 1089–1093.
61. National Institute for Health and Care Excellence. Clinical guideline 129. Multiple pregnancy e the management of twin and triplet pregnancies in the antenatal period; 2011.
62. Schwartz D, Daoud Y, Zazula P, Goyert G, Bronsteen R, Wright D, et al. Gestational diabetes mellitus: metabolic and blood glucose parameters in singleton versus twin pregnancies. *Am J Obstet Gynaecol* 1999;181:912e4.
63. Rauh-Hain J, Rana S, Tamez H, et al. Risk for developing gestational diabetes in women with twin pregnancies. *J MaternaleFetal Neonat Med* 2009;22: 293e9.
64. Simpson E, Lawrenson R, Nightingale A, Farmer R. Venous thromboembolism in pregnancy and the puerperium: incidence and additional risk factors from a London perinatal database. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:56e60.
65. Collins M, Bleyl J. Seventy-one quadruplet pregnancies: management and outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:1384e92.
66. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Green-top Guideline No. 51. Management of monochorionic twin pregnancy; 2008.
67. Martin J, Hamilton B, Ventura S. Births: final data for 2009. *Natl Vital Stat Rep* 2011;60:1e3. Confidential Enquiry into Maternal and Child Health. *Perinatal Mortality 2007: United Kingdom*. London: CEMACH; 2009
68. Human Fertilisation and Embryology Authority. *Multiple pregnancies andbirth: considering the risks*. London: HFEA; 2006.
69. Doyle P. The outcome of multiple pregnancy. *Hum Reprod* 1996;11:110e7.
70. Boyle B, McConkey R, Garne E, et al. Trends in the prevalence, risk and pregnancy outcome of multiple births with congenital anomaly: a registrybased study in 14 European countries 1984e2007. *Br J Obstet Gynaecol* 2013;120:707e16.
71. Shirley Harrison et al. (2007) The best possible start to life. A consultation document on multiple births after IVF. Human Fertilisation et Emarrayology Authority (HFEA).
72. Veleva Z, Karinen P, Tomás C et al. Elective single embryo transfer with cryopreservation improves the outcome and diminishes the costs of IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2009; 24: 1632–1639.

73. Callahan TL, Hall JE, Ettner SL et al. The economic impact of multiple-gestation pregnancies and the contribution of assisted-reproduction techniques to their incidence. *N Engl J Med* 1994; 331: 244–249.
74. Koivurova S, Hartikainen AL, Karinen L et al. The course of pregnancy and delivery and the use of maternal healthcare services after standard IVF in Northern Finland 1990–1995. *Hum Reprod* 2002; 17: 2897–2903.
75. Petterson B, Nelson K, Watson L, Stanely F. Twins, triplets, and cerebral palsy in births in Western Australia in the 1980s. *BMJ* 1993;307:1239e43.
76. American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee Opinion number 553. Multifetal pregnancy reduction; 2013.
77. Evans M, Berkowitz R, Wapner R, et al. Improvement in outcomes of multifetal pregnancy reduction with increased experience. *Am J Obstet Gynaecol* 2001;184:97e103.
78. Kuhn-Beck F, Moutel G, Weingetner A, et al. Fetal reduction of triplet pregnancy: one or two? *Prenat Diagn* 2012;32:122e6.
79. Ellison MA, Hall JE. Social stigma and compounded losses: quality-of-life issues for multiple-birth families. *Fertil Steril* 2003;80:405e14.
80. Alin Akerman B. Long term health and psychosocial outcomes. In Blickstein I & Keith LG (eds.). *Iatrogenic multiple pregnancy*. London: Parthenon Publishing Group Limited, 2001, pp. 199–209.
81. Fisher J & Stocky A. Maternal perinatal mental health and multiple births: implications for practice. *Twin Res* 2003; 6: 506– 513.
82. Neifert M & Thorpe J. Twins: family adjustment, parenting, and infant feeding in the fourth trimester. *Clin Obstet Gynecol* 1990; 33: 102–113.
83. Gerris JM. Single embryo transfer and IVF/ICSI outcome: a balanced appraisal. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 105–121.
84. Connolly MP, Hoorens S, Chambers GM, & ESHRE Reproduction and Society Task Force. The costs and consequences of assisted reproductive technology: an economic perspective. *Hum Reprod Update* 2010; 16: 603–613.
85. Mistry H, Dowie R, Young TA, Gardiner HM. TelePaed Project Team. Costs of NHS maternity care for women with multiple pregnancy compared with highrisk and low-risk singleton pregnancy. *BJOG* 2007;114:1104e12.
86. De Neubourg D, Bogaerts K, Wyns C, Albert A, Camus M, Candeur M, et al. The history of Belgian assisted reproduction technology cycle registration and control: a case study in reducing the incidence of multiple pregnancy. *Hum Reprod.* 2013 Oct;28(10):2709-19.
87. Giorgetti C, Vanden Meerschaut F, De Roo C, Saunier O, Quarello E, et al. Multivariate analysis identifies the estradiol level at ovulation triggering as an independent predictor of the first trimester pregnancy-associated plasma protein-A level in IVF/ICSI pregnancies. *Hum Reprod.* 2013 Oct;28(10):2636-42.
88. Bergh C, Wennerholm UB. Obstetric outcome and long-term follow up of children conceived through assisted reproduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012 Dec;26(6):841-52.

89. McDonald S, Murphy K, Beyene J, Ohlsson A. Perinatal outcomes of in vitro fertilization twins: a systematic review and meta-analyses. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:141e52.
90. Pinborg A, Wennerholm UB, Romundstad LB, Loft A, Aittomaki K, Söderström-Anttila V, Nygren KG, Hazekamp J, Bergh C. Why do singletons conceived after assisted reproduction technology have adverse perinatal outcome? Systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013 Mar-Apr;19(2):87-104.
91. Helmerhorst F, Perquin D, Donker D, Keirse M. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ* 2004;328:261e5.
92. Suzuki S, Miyake H. Perinatal outcomes of elderly primiparous dichorionic twin pregnancies conceived by in vitro fertilization compared with those conceived spontaneously. *Archs Gynecol Obstet* 2010;281:87e90.
93. Leslie G, Gibson F, McMahon C, Cohen J, Saunders D, Tennant C. Children conceived using ICSI do not have an increased risk of delayed mental development at 5 years of age. *Hum Reprod* 2003;18:2067e72.
94. Zuppa A, Scorrano A, Cota F, D'Andrea V, Fracchiolla A, Romagnoli C. Neonatal outcomes in triplet pregnancies: assisted reproduction versus spontaneous conception. *J Perinat Med* 2007;35:339e43.
95. Pinborg A. IVF/ICSI twin pregnancies: risks and prevention. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 575–593.
96. Ombelet W, Cadron I, Gerris J, De Sutter P, Bosmans E, Martens G, Ruyssinck G, Defoort P, Molenberghs G, Gyselaers W. Obstetric and perinatal outcome of 1655 ICSI and 3974 IVF singleton and 1102 ICSI and 2901 IVF twin births: a comparative analysis.
97. Bertarelli Group (2003) Infertility therapy-associated multiple pregnancies (births): an ongoing epidemic. *Reprod Biomed Online* 7,515–542
98. Gerris J, De Sutter P, De Neubourg D, Van Royen E, Van der Elst J, Mangelschots K, Vercruyssen M, Kok P, Elseviers M, Annemans L et al. (2004) A real-life prospective health economic study of elective single embryo transfer versus two-embryo transfer in first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod* 2004; 19: 917–23.
99. Dean NL, Philips SJ, Bucket WM, Biljan MM and Lin Tan S (2000) Impact of reducing the number of embryos transferred from three to two in women under the age of 35 who produced three or more high-quality embryos. *Fertil Steril* 74,820–823.
100. Milki AA, Fisch JD and Behr B (1999) Two-blastocyst transfer has similar pregnancy rates and a decreased multiple gestation rate compared with three-blastocyst transfer. *Fertil Steril* 72,225–228.
101. Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Van de Meerssche M and Valkenburg M (1999) Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: a prospective randomized clinical trial. *Hum Reprod* 14,2581–2587.

102. Martikainen H, Tiitinen A, Toma's C, Tapanainen J, Orava M, Tuomivaara L, Vilska S, Hyde'n-Granskog C and Hovatta O. Finnish (2001) One versus two embryo transfers after IVF and ICSI: randomized study. *Hum Reprod* 16,1900–1903.
103. Thurin A, Hausken J, Hillensjö T, Jablonowska B, Pinborg A, Strandell A and Bergh C (2004) Elective single embryo transfer in IVF, a randomized study. *Hum Reprod* 19 (Suppl 1),i60.
104. Gardner DK, Surrey E, Minjarez D, Leitz A, Stevens J and Schoolcraft W (2004). Single blastocyst transfer: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 81,551–555.
105. Montfoort1 et al. (2006). In unselected patients, elective single embryo transfer prevents all multiples, but results in significantly lower pregnancy rates compared with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 21,338-343.
106. ESHRE Capri Workshop (2007) Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in 2006: Evidence and Evolution. *Hum Reprod Update* 13, 515-526.
107. Norbert Gleicher and David Barad (2006). The relative myth of elective single embryo transfer. *Hum Reprod* 21, 1337-1344
108. Healy D (2004) Damaged babies from assisted reproductive technologies: focus on the BESST (birth emphasizing a successful singleton at term) outcome. *Fertil Steril* 81,512–513.
109. Vilska S, Tiitinen A, Hyde'n-Granskog C and Hovatta O (1999) Elective transfer of one embryo results in an acceptable pregnancy rate and eliminates the risk of multiple birth. *Hum Reprod* 14,2392–2395
110. Gordts, S., Campo, R., Puttemans, P., Brosens, I., Valkenburg, M., Norre, J., Renier, M., Coeman, D. and Gordts, S. (2005) Belgian legislation and the effect of elective single embryo transfer on IVF outcome. *Reproductive Biomedicine Online* 10 , pp. 436-441
111. Karlstrom PO, Bergh C. Reducing the number of embryos transferred in Sweden-impact on delivery and multiple birth rates. *Hum Reprod* (2007) 22:2202–2207.
112. Kopitović V. Milatović S. Multiple trudnoće nakon ART-a – kako ih smanjiti? 4. Simpozijum sa medjunarodnim učešćem: Novosti u humanoj reprodukciji. Beograd, novembar 2009; 26-31.
113. Jauniaux E, Ben-Ami I, Maymon R. Do assisted-reproduction twin pregnancies require additional antenatal care? *Reprod Biomed Online*. 2013 Feb;26(2):107-19.
114. Fauser BC, Devroey P, Diedrich K, Balaban B, Bonduelle M, Delemarre-van de Waal HA, Estella C, Ezcurra D, Geraedts JP, Howles CM, Lerner-Geva L, Serna J, Wells D; Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group 2011. Health outcomes of children born after IVF/ICSI: a review of current expert opinion and literature. *Reprod Biomed Online*. 2014 Feb;28(2):162-82.

115. Christiansen T, Erb K, Rizvanovic A, Ziebe S, Mikkelsen Englund AL, Hald F, Boivin J, Schmidt L. Costs of medically assisted reproduction treatment at specialized fertility clinics in the Danish public health care system: results from a 5-year follow-up cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014 Jan;93(1):64-72.
116. Johnson, J.A., Tough, S., 2012. Delayed child-bearing. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 34, 80–93.
117. Kanungo, J., James, A., McMillan, D., Lodha, A., Faucher, D., Lee, S.K., 2011. Canadian Neonatal Network. Advanced maternal age and the outcomes of preterm neonates: a social paradox? *Obstet. Gynecol.* 118, 872–877.
118. Mullins, E., Kumar, S., 2012. Older mothers do not confer greater perinatal risk to dichorionic–diamniotic twins. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 91, 152–154.
119. Prapas, N., Kalogiannidis, I., Prapas, I., Xiromeritis, P., Karagiannidis, A., Makedos, G., 2006. Twin gestation in older women: antepartum, intrapartum complications, and perinatal outcomes. *Arch. Gynecol. Obstet.* 273, 293–297.
120. Cnattingius S, Villamor E, Johansson S, Edstedt Bonamy AK, Persson M, Wikström AK, Granath F. Maternal obesity and risk of preterm delivery. *JAMA.* 2013 Jun 12;309(22):2362-70.
121. Dickey, R.P., Xiong, X., Gee, R.E., Pridjian, G., 2012. Effect of maternal height and weight on risk of preterm birth in singleton and twin births resulting from in vitro fertilization: a retrospective cohort study using the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcome Reporting System. *Fertil. Steril.* 97, 349–354.
122. Bener, A., Saleh, N.M., Al-Hamaq, A., 2011. Prevalence of gestational diabetes and associated maternal and neonatal complications in a fast-developing community: global comparisons. *Int. J. Womens Health* 3, 367–373.
123. Government Statistical Service for the Department of Health. NHS Maternity Statistics, England, 2002–2003., Marlow N, Wolke D, Bracewell MA, Samara M. Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. *N Engl J Med* 2005; 352: 9–19.
124. Novakov Mikic A, Bogavac M, Milatovic S, Ilincic M, Kopitovic V, Radeka G. Incidence and structure of preterm deliveries at the department of obstetrics and gynecology, CCV (2000.- 2009). *HealthMED.* 2011;5(5):1224-31.
125. Veen S, Ens-Dokkum MH, Schreuder AM, Verlooove- Vanhorick SP, Brand R, Ruys JH. Impairments, disabilities, and handicaps of very preterm and very-low-birthweight infants at five years of age. The Collaborative Project on Preterm and Small for Gestational Age Infants (POPS) in The Netherlands. *Lancet* 1991; 338: 33–36.
126. Heljic S, Maksic H, Dizdarevic J, Kalkan I. Severe intraventricular hemorrhage (SIVH) in preterm babies treated with antenatal steroids and surfactant replacement. *HealthMed* 2010; 4(2): 422-426.
127. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008 Jan 5;371(9606):75-84.
128. Gardosi J, Kady SM, Francis A. Fetal growth, maturity and preterm birth. In *Preterm Birth,* ritchleyHO, BennetP, ThorntonS (eds). RCOG Press: London, 2004; 66–67.
129. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen

- thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012 Aug;98(2):368-77.
130. Yalçın HR, Zorlu CG, Lembet A, Ozden S, Gökm̄en O. The significance of birth weight difference in discordant twins: a level to standardize? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998 Jan;77(1):28-31
 131. Yalçın HR, Zorlu CG, Lembet A, Ozden S, Gökm̄en O. The significance of birth weight difference in discordant twins: a level to standardize? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998 Jan;77(1):28-31
 132. Manandhar BL, Giri K, Rana A. Fetal biophysical profile score and perinatal outcome. *J Nepal Health Res Counc.* 2013 Sep;11(25):269-72.
 133. Plaat F, Arrandale L. Hypoxia in pregnancy. *Fetal and Maternal Medicine Review* 2012; 23:2 71–96.
 134. Gul A, Cebeci A, Aslan H, Polat I, Ozdemir A, Ceylan Y. Perinatal outcomes in severe preeclampsia-eclampsia with and without HELLP syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 2005;59(2):113-8.
 135. Roberts JM. Pre-eclampsia: what we know and what we do not know. *Semin Perinatol* 2000;24:24-8.
 136. Talaulikar VS, Arulkumaran S. Maternal, perinatal and long-term outcomes after assisted reproductive techniques (ART): implications for clinical practice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013 Sep;170(1):13-9.
 137. Tabs D, Vejnović T, Kopitović V, Tabs N. [Labour after intracytoplasmic sperm injection]. *Med Pregl.* 2008 Jan-Feb;61(1-2):60-4.
 138. Stojnic J, Radunovic N, Jeremic K, Kotlica BK, Mitrovic M, Tulic I. Perinatal outcome of singleton pregnancies following in vitro fertilization. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2013;40(2):277-83.
 139. Hansen, M., Bower, C., Milne, E., de Klerk, N., Kurinczuk, J.J., 2005. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects—a systematic review. *Hum. Reprod.* 20, 328–338.
 140. Wen, J., Jiang, J., Ding, C., Dai, J., Liu, Y., Xia, Y., Liu, J., Hu, Z., 2012. Birth defects in children conceived by in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil. Steril.* 97, 1331–1337.
 141. Rimm, A.A., Katayama, A.C., Katayama, K.P., 2011. A meta-analysis of the impact of IVF and ICSI on major malformations after adjusting for the effect of subfertility. *J. Assist. Reprod. Genet.* 28, 699–705.
 142. Ceelen, M., van Weissenbruch, M.M., Vermeiden, J.P., van Leeuwen, F.E., Delemarre-van de Waal, H.A., 2008b. Growth and development of children born after in-vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 90, 1662–1673.
 143. Berger, S.L., Kouzarides, T., Shiekhattar, R., Shilatifard, A., 2009. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev.* 23, 781–783.
 144. Maconochie, N., Doyle, P., Prior, S., Simmons, R., 2007. Risk factors for first trimester miscarriage – results from a UK-population based case-control study. *BJOG* 114, 170–186.
 145. Brandes, M., Verzijden, J.C., Hamilton, C.J., de Weys, N.P., de Bruin, J.P., Bots, R.S., Nelen, W.L., Kremer, J.A., 2011. Is the fertility treatment itself a risk factor for early pregnancy loss? *Reprod. Biomed. Online* 22, 192–199.

146. Jauniaux, E., Elkhazen, N., Leroy, F., Wilkin, P., Rodesch, F., Hustin, J., 1988. Clinical and morphologic aspects of the vanishing twin phenomenon. *Obstet. Gynecol.* 72, 577–581.
147. Dickey, R.P., Taylor, S.N., Lu, P.Y., Sartor, B.M., Storment, J.M., Rye, P.H., Pelletier, W.D., Zender, J.L., Matulich, E.M., 2002. Spontaneous reduction of multiple pregnancy: incidence and effect on outcome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 186, 77–83.
148. Jauniaux, E., Van Oppenraaij, R.H., Burton, G.J., 2010. Obstetric outcome after early placental complications. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 22, 452–457.
149. Vasario E, Borgarello V, Bossotti C, Libanori E, Biolcati M, Arduino S, Spinelli R, Delle Piane L, Revelli A, Todros T. IVF twins have similar obstetric and neonatal outcome as spontaneously conceived twins: a prospective follow-up study. *Reprod Biomed Online.* 2010 Sep;21(3):422-8.
150. Caserta D, Bordi G, Stegagno M, Filippini F, Podagrosi M, Roselli D, Moscarini M. Maternal and perinatal outcomes in spontaneous versus assisted conception twin pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014 Mar;174:64-9.
151. Mohammed AB et al. Obstetric and neonatal outcomes of IVF versus spontaneously conceived dichorionic twins. *Middle East Fertility Society Journal* 2012; 17:231-5.
152. Moini A, Shiva M, Arabipoor A, Hosseini R, Chehrazi M, Sadeghi M. Obstetric and neonatal outcomes of twin pregnancies conceived by assisted reproductive technology compared with twin pregnancies conceived spontaneously: a prospective follow-up study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012 Nov;165(1):29-32.
153. Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jul 29;
154. Azem F, Yaron Y, Amit A, Yovel I, Barak Y, Peyser MR, David MP, Lessing JB. Transfer of six or more embryos improves success rates in patients with repeated in vitro fertilization failures. *Fertil Steril.* 1995 May;63(5):1043-6.
155. Maheshwari A, Griffiths S, Bhattacharya S. Global variations in the uptake of single embryo transfer. *Hum Reprod Update.* 2011 Jan-Feb;17(1):107-20.
156. te Velde ER, Nieboer D, Lintsen AM, Braat DD, Eijkemans MJ, Habbema JD,
157. Vergouwe Y. Comparison of two models predicting IVF success; the effect of time trends on model performance. *Hum Reprod.* 2014 Jan;29(1):57-64.
158. Laura van Loendersloot, et al., Selection of embryos for transfer in IVF: ranking embryos based on their implantation potential using morphological scoring, *Reproductive BioMedicine Online* (2014), doi: 10.1016/j.rbmo.2014.04.016
159. Forman EJ, Hong KH, Fransasiak JM, Scott RT Jr. Obstetrical and neonatal outcomes from the BEST Trial: single embryo transfer with aneuploidy screening improves outcomes after in vitro fertilization without compromising delivery rates. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Feb;210(2):157.
160. Capalbo A, Rienzi L, Cimadomo D, Maggiulli R, Elliott T, Wright G, Nagy ZP, Ubaldi FM. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Hum Reprod.* 2014 Jun;29(6):1173-81.
161. Sullivan EA, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, de Mouzon J, Nygren KG, Adamson GD. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive

- Technologies (ICMART) world report: assisted reproductive technology 2004. *Hum Reprod.* 2013 May;28(5):1375-90.
162. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S; International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril.* 2009 Nov;92(5):1520-4.
163. Nygren KG. [On the Necessity of Monitoring ART](#). Middle East Fertility Society Journal. 2004 9(1)
164. ICMART tool box. 19.05.2014. Preuzeto sa sajta <http://www.icmartivf.org/toolbox/toolbox-main.html>
165. Simoes E, Bauer S, Schmahl FW. [Registries as a method to promote quality improvement--an investigation based on the example of assisted reproduction]. *Gesundheitswesen.* 2003 Aug-Sep;65(8-9):516-25.
166. [Lessons Learned from the World IVF Register](#) Karl-Gosta Nygren, MD, PhD
167. Connolly MP, Postma MJ, Crespi S, Andersen AN, Ziebe S. The long-term fiscal impact of funding cuts to Danish public fertility clinics. *Reprod Biomed Online.* 2011 Dec;23(7):830-7.
168. Higher levels of public reimbursement positively influence national birth rates and reduce unmet needs in subfertile populations. ESHRE Press release. Poslednji put ažurirano 02.07.2012. Preuzeto sa sajta 05.06.2014. <http://www.eshre.eu/Press-Room/Press-releases/Press-releases-ESHRE-2012/ART-reimbursement.aspx>
169. Single embryo transfer reduces the risk of perinatal mortality in IVF ESHRE Press release. Poslednji put ažurirano 04.07.2012. Preuzeto sa sajta 05.06.2014. [eshre.eu/Prewwwss-Room/Press-releases/Press-releases-ESHRE-2012/SET-and-perinatal-mortality.aspx](http://www.eshre.eu/Prewwwss-Room/Press-releases/Press-releases-ESHRE-2012/SET-and-perinatal-mortality.aspx)
170. Vélez MP, Connolly MP, Kadoch IJ, Phillips S, Bissonnette F. Universal coverage of IVF pays off. *Hum Reprod.* 2014 Jun;29(6):1313-9.
171. De Neubourg D, Bogaerts K, Wyns C, Albert A, Camus M, Candeur M, Degueldre M, Delbaere A, Delvigne A, De Sutter P, Dhont M, Dubois M, Englert Y, Gillain N, Gordts S, Hautecoeur W, Lesaffre E, Lejeune B, Leroy F, Ombelet W, Perrier D'Hauterive S, Vandekerckhove F, Van der Elst J, D'Hooghe T. The history of Belgian assisted reproduction technology cycle registration and control: a case study in reducing the incidence of multiple pregnancy. *Hum Reprod.* 2013 Oct;28(10):2709-19.
172. Vélez MP, Kadoch IJ, Phillips SJ, Bissonnette F. Rapid policy change to single-embryo transfer while maintaining pregnancy rates per initiated cycle. *Reprod Biomed Online.* 2013 May;26(5):506-11.
173. Knez J, Kovačić B, Vlaisavljević V. Comparison of embryo transfer strategies and assisted reproduction outcome in Slovenian and cross-border patients. *Reprod Biomed Online.* 2013 Sep;27(3):310-5.