



**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**DOKTORSKE AKADEMSKE STUDIJE**

**Morbiditet, telesni i rani psihomotorni razvoj prevremeno  
rođene dece začete vantelesnom oplodnjom**

**Doktorska disertacija**

Mentor:  
prof.dr Georgios Konstantinidis

Kandidat:  
Vesna Pavlović

Novi Sad, 2017.

Zahvaljujem se mentoru, prof. dr Georgiosu Konstantinidisu, na nesebičnoj stručnoj pomoći i savetima, za trud, energiju i vreme uloženo u vođenje, pripremu i izradu ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se dragoj prof. dr Aleksandri Stojadinović, na izuzetno velikoj i neprocenjivoj pomoći i podršci pruženoj pri izradi doktorske teze.

Zahvaljujem se mojoj porodici na strpljenju i podršci.

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**НАЗИВ ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

|   |  |
|---|--|
| Redni broj:<br>RBR                              |  |
| Identifikacioni broj:<br>IBR                    |  |
| Tip dokumentacije:<br>TD                        | Monografska dokumentacija  |
| Tip zapisa:<br>TZ                               | Tekstualni štampani materijal  |
| Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):<br>VR          | Doktorska disertacija  |
| Ime i prezime autora:<br>AU                     | Vesna Pavlović   |
| Mentor (titula, ime, prezime,<br>zvanje):<br>MN | prof. dr Georgios Konstantinidis, redovni<br>profesor  |
| Naslov rada:<br>NR                              | Morbiditet, telesni i rani psihomotorni razvoj<br>prevremeno rođene dece začete vantelesnom<br>oplodnjom |
| Jezik publikacije:<br>JP                        | srpski (latinica)  |
| Jezik izvoda:<br>JI                             | srp. / eng.  |
| Zemlja publikovanja:<br>ZP                      | Srbija   |
| Uže geografsko područje:<br>UGP                 | Vojvodina  |
| Godina:<br>GO                                   | 2017.  |
| Izdavač:<br>IZ                                  | autorski reprint   |
| Mesto i adresa:<br>MA                           | 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3  |

|  |   |
|--|---|
| Fizički opis rada:<br>FO                 | 7 poglavlja / 125 strane / 207 literaturnih citata / 9 grafikona / 1 shema / 9 tabela   |
| Naučna oblast:<br>NO                     | Medicina  |
| Naučna disciplina:<br>ND                 | Pedijatrija, neonatologija, perinatologija  |
| Predmetna odrednica, ključne reči:<br>PO | prevremeno rođeno novorođenče; bolesti prevremeno rođene novorođenčadi; vantelesna oplodnja; faktori rizika; morbiditet; psihomotorne performace; razvoj deteta; studije praćenja   |
| UDK                                      | 616-036-053.32:618.177-089.888.11   |
| Čuva se:<br>ČU                           | u biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu   |
| Važna napomena:<br>VN                    |   |
| Izvod:<br>IZ                             | <p><b>Uvod:</b> Infertilitet se definiše kao bezuspešna koncepcija nakon jedne godine seksualnih odnosa bez upotrebe kontracepcije u fertilnoj fazi menstrualnog ciklusa. Metode asistirane reprodukcije predstavljaju efektivan način lečenja infertiliteta. Ispitivanje i identifikacija kratkoročnih i dugoročnih efekata arteficialnih reproduktivnih tehnologija je veoma izazovan zadatak. Prvenstveni razlog tome je velika heterogenost u načinu sakupljanja, obrade, klasifikacije i tumačenja, sada već, obilja informacija koje su prikupljene u različitim istraživanjima. Individualni pristup lečenju neplodnosti, brz napredak i stalne promene u metodologiji arteficialnih reproduktivnih tehnologija, uz ranije navedene poteškoće u vezi sa prikupljanjem i analizom podataka, značajno otežavaju precizno sagledavanje svih mogućih rizika i posledica arteficialnog začeća. Uprkos brojnim istraživanjima, naučnim publikacijama i akumuliranim dokazima, ostale su mnoge dileme u vezi odgovora na pitanja - da li su arteficialno začete trudnoće u većoj meri praćene rizicima za neadekvatan razvoj ploda, lošijim perinatalnim ishodom i kakve su</p> |

dugoročne posledice po decu, kao i da li su ovi rizici podjednako zastupljeni u jednoplodnim i višeplođnim trudnoćama.

**Cilj rada:** Ciljevi rada su bili da se utvrdi struktura morbiditeta kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom (iz jednoplođnih i višeplođnih trudnoća) u prve dve godine života, te da se identifikuju perinatalni faktori koji su povezani sa pojavom akutnih i hroničnih komplikacija i oboljenja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom. Takođe, cilj rada je bio da se utvrde karakteristike psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom na kraju dvanestog, osamnaestog i dvadesetčetvrtog meseca života, kao i da se identifikuju specifični faktori rizika za nepovoljan telesni, neurološki i psihološki ishod lečenja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom.

**Materijal i metode:** U studiju su uključena prevremeno rođena deca koja su bila hospitalizovana u Službi za neonatologiju i intenzivnu i poluintenzivnu negu i terapiju, i koja su nakon toga, tokom prve dve godine života redovno praćena u neonatološkoj ambulanti Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu. Retrospektivnim delom studije su obuhvaćena deca koja su lećena u Službi i praćena u neonatološkoj ambulanti, a koja su rođena počev od 01. 01. 2011. do 31.12.2012. godine i praćena do navršena puna 24 meseca života. Podaci o pacijentima koji su uključeni u retrospektivni deo istraživanja prikupljeni su pregledom medicinske dokumentacije. U prospektivni deo studije su uključena deca koja su lećena u Službi i koja su praćena u neonatološkoj ambulanti, a koja su rođena između 01.01. 2013.godine i 31.12.2014. godine i potom praćena do navršenih 24 meseca života. Iz navedene kohorte, formirane se dve grupe: Ispitivana grupa (Grupa 1) je obuhavala svu prevremeno rođenu decu začetu vantelesnom oplodnjom koja su bila hospitalizovana i praćena na Institutu u

navedenom periodu. Kontrolna grupa (Grupa 2) obuhvatila je prevremeno rođenu decu začetu prirodnim putem. Deca iz kontrolne grupe izabrana su iz kohorte tako da njihov broj bude jednak broju dece iz ispitivane grupe. Ispitanici iz ove grupe su ujednačeni ("mečovani") sa decom iz ispitivane grupe prema gestacijskoj starosti i datumu rođenja. Gestacijska starost ispitanika iz kontrolne grupe se ne razlikuje za više od  $\pm 4$  dana u odnosu na decu iz ispitivane grupe. Datum rođenja ispitanika koji su uključeni u kontrolnu grupu se ne razlikuje za više od  $\pm 3$  meseca u odnosu na decu iz ispitivane grupe.

U momentu uključivanja u studiju uzimani su sledeći anamezni podaci:

Podaci u vezi sa majkom, trudnoći i porođaju: starost majke u momentu koncepcije, broj prethodnih pokušaja asistirane koncepcije, stručna sprema, mesto stanovanja, hronične bolesti dijagnostikovane pre trudnoće, akutne i hronične bolesti dijagnostikovane tokom trudnoće (hipertenzija, pre-eklampsija, eklampsija, oštećenje jetre), prevremena ruptura plodovih ovojaka, primena lekova tokom trudnoće, jednoplodna ili višeplodna trudnoća.

Podaci o poremećajima posteljice i ovojaka: ablacija, placenta previja, horioamnionitis.

Podaci u vezi sa detetom: intrauterina infekcija, intrauterina restrikcija rasta, način porođaja, Apgar skor. Antropometrijski parametri (telesna masa, telesna dužina, obim glave) na rođenju i tokom perioda ambulantnog praćenja deteta.

Dužina inicijalne hospitalizacije deteta. Dužina invazivne i/ili neinvazivne respiratorne potpore i oksigenoterapije. Dijagnoze na otpustu iz bolnice: prisustvo teških posledica prematuriteta, što podrazumeva: intrakranijalnu hemoragiju 3. i 4. stepena (definisane u međunarodnoj klasifikaciji bolesti – deseta revizija (MKB10) pod šifrom P52.2), cističnu periventrikularnu leukomalaciju, retinopatiju prematuriteta, bronhopulmonalnu displaziju, nekrotizirajući enterokolitis, sepsu i/ili meningitis (mikrobiološki ili klinički dijagnostikovano). Prisustvo urođenih

anomalija ili genetskih sindroma i bolesti (definisanih u MKB10 pod šiframa Q00 do Q99), kao i prisustvo urođenih bolesti metabolizma (definisanih u MKB10 pod šiframa E00 do E90).

U retrospektivnom delu studije, pregledani su specijalistički izveštaji iz neonatološke ambulante pri posetama deteta u uzrastu deteta od 12, 18 i 24 meseca, i beleženi su sledeći podaci: sve prethodno postavljene dijagnoze koje su navedene na specijalističkim izveštajima iz neonatološke ambulante, antropometrijski prametri u momentu pregleda (telesna dužina, telesna masa i obim glave), neurološki nalaz (tonus, trofika, kožni i tetivni refleksi, prisustvo lateralizacije u neurološkom nalazu), nalaz oftalmologa (uredan nalaz/pataloški nalaz), procena fine i grube motorike, govora, kognitivne funkcije i socijalnog kontakta i zbirna procena psihomotornog razvoja. U prospektivnom delu studije, pri kontrolnim pregledima u neonatološkoj ambulanti, u uzrastu deteta od 12, 18 i 24 meseca, određivano je i beleženo sledeće: ranije postavljene dijagnoze koje su navedene u medicinskoj dokumentaciji, antropometrijski prametri u momentu pregleda (telesna dužina, telesna masa i obim glave), neurološki nalaz (tonus, trofika, kožni i tetivni refleksi, prisustvo lateralizacije u neurološkom nalazu), nalaz oftalmologa (uredan nalaz/pataloški nalaz), procena fine i grube motorike, govora, kognitivne funkcije i socijalnog kontakta i zbirna procena psihomotornog razvoja.

**Rezultati:** Prosečna vednost TM ispitanika iz Grupe 1, u uzrastu od 12 meseci, bila je statistički značajno manja u odnosu na ispitanike iz Grupe 2 (Studentov t test). Prosečne vednosti TD ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 12 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Prosečne vednosti OGL ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 12 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Udeo ispitanika sa patološkim oftalmološkim nalazom

nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Fišerov test tačne verovatnoće). Udeo ispitanika sa patološkim neurološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test). Prosečne vrednosti globalnog koeficijenta razvoja (RQ), kao i prosečne vrednosti skora za pojedine elemente za procenu razvoja (motorika, koordinacija, govor i društvenost) po Brunet -Lézine skali, nisu se statistički značajno razlikovale između grupa (Studentov t test). U Grupi 1 bilo je 92 (59,740%) deteta čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90, dok je u Grupi 2 bilo 61 (39,610%) dete čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90. Ova razlika u broju dece sa RQ koji je ispod proseka za kalendarski uzrast je statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p=0,0004$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja ( $RQ<90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,495$ ; 95% CI 1,181 – 1,892). U Grupi 1, bilo je 87 (56,494%) dece koja su postigla ispodprosečne korigovane vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja (korigovani  $RQ<90$ ). U Grupi 2 bilo je 69 (44,805%) dece koja su postigla ispodprosečne korigovane vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja (korigovani  $RQ<90$ ). Ova razlika je statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,040$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja (korigovani  $RQ<90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,261$ ; 95%CI 1,008 – 1,577). U kategoriji dece, koja su i pored korekcije u odnosu na GS imala ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja, u Grupi 1 čak 81/87 (93,310%) dece je imalo vrednost korigovanog  $RQ \geq 85$ , a u Grupi 2 ovu vrednost korigovanog RQ imalo je 60/69 (86,956%) dece.

Prosečne vednosti TM ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 18 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Prosečne vednosti TD ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 18 meseci, nisu se statistički



značajno razlikovale (Studentov t test). Prosečne vednosti OGL ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 18 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Udeo ispitanika sa patološkim oftalmološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test). Udeo ispitanika sa patološkim neurološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test). Prosečne vrednosti RQ, kao i prosečne vrednosti skora za pojedine elemente za procenu razvoja (motorika, koordinacija, govor i društvenost) po Brunet -Lézine skali su se statistički značajno razlikovale između grupa u uzrastu od 18 meseci (Studentov t test). U Grupi 1 bilo je 57 (37,013%) dece čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90, dok je u Grupi 2 bilo 31 (20,130%) dete čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90. Udeo dece sa RQ koji je ispod proseka za kalendarski uzrast je statistički značajno različit između grupa (Hi kvadrat test,  $p = 0,010$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja (nekorigovani  $RQ < 90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,288$ ; 95%CI 1,181 – 2,730). Statistički značajna razlika postojala je i kada je upoređen broj dece sa vrednostima korigovanog RQ ispod 90 u Grupi 1 i Grupi 2 (36 naspram 19 po redosledu navođenja; Hi kvadrat test,  $p = 0,011$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja (korigovani  $RQ < 90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,895$ ; 95%CI 1,139 – 3,152).

Prosečne vednosti TM ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 24 meseca, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Prosečne vednosti TD ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 24 meseca, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Prosečne vednosti OGL ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 24 meseca, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test). Udeo ispitanika sa patološkim oftalmološkim nalazom

nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test). Udeo ispitanika sa patološkim neurološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test). Prosečne vrednosti RQ, kao i prosečne vrednosti skora za pojedine elemente za procenu razvoja (motorika, koordinacija, govor i društvenost) po Brunet -Lézine skali, nisu se statistički značajno razlikovale između grupa, u uzrastu od 24 meseca (Studentov t test). U Grupi 1 bilo je 21 dete (13,636%) čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90, dok je u Grupi 2 bilo 17 (11,049%) dece čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90. Razlika u broju dece sa RQ koji je ispod proseka za kalendarski uzrast nije statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p= 0,488$ ). Statistički značajna razlika nije postojala ni kada je upoređen broj dece sa vrednostima korigovanog RQ ispod 90 u Grupi 1 i Grupi 2 (12 naspram 9 po redosledu navođenja; Hi kvadrat test,  $p = 0,497$ ).

Logističkom regresionom analizom pokazano je da su veštačko začeće, višeploidnost trudnoće i IUGR nezavisni faktori rizika za manju TM u kalendarskom uzrastu od 12 meseci. Logističkom regresionom analizom dobijena je statistički značajna korelacija između vrednosti RQ u uzrastu od 18 meseci i sledećih nezavisnih varijabli: arteficialno začeta trudnoća i višeploidna trudnoća. Ispitanici iz Grupe 1 i Grupe 2 nisu se statistički značajno razlikovali ni po jednom od posmatranih pokazatelja telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca.

Struktura morbiditeta kod dece, tokom dvogodišnjeg perioda praćenja, nije se značajno razlikovala između grupa. Jedina razlika između grupa, konstatovana je u uzrastu od 12 i 18 meseci, bila je u učestalosti akutnih respiratornih infekcija, čija je pojava, pak, bila direktno povezana sa višeploidnim trudnoćama, odnosno brojem sibliinga u domaćinstvu.

**Zaključak:** Prosečna starost majki dece koja su začeta IVF-om je veća od prosečne starosti majki dece koja su spontano začeta. Struktura

|  |  |
|--|--|
|  | <p>morbiditeta majki dece koja su začeta IVF-om i majki dece koja su začeta spontanom koncepcijom je ista, ali je stopa morbiditeta veća kod majki dece koja su začeta IVF-om. Višeploidne trudnoće su veoma zastupljene kod začeca IVF-om. Trudnoće začete IVF-om se dominantno i skoro ekskluzivno okončavaju carskim rezom. Prevremena ruptura ovojaka ploda je česta komplikacija trudnoća koje su začete IVF-om. Stopa morbiditeta prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom nije veća u odnosu na prevremeno rođenu decu začetu prirodnim putem. U strukturi morbiditeta kod dece koja su začeta vantelesnom oplodnjom, zastupljena su ista oboljenja i komplikacije kao kod prevremeno rođene dece začete prirodnim putem. Incidencija pojedinih oboljenja je ista, sa izuzetkom bronhopulmonalne displazije koja se javlja češće kod dece začete vantelesnom oplodnjom i retinopatije prematuriteta koja se javlja češće kod dece začete prirodnim putem. Porođajna telesna masa, intrauterina restrikcija rasta, starost majke, stručna sprema majke, prethodna hronična oboljenja majke, bolesti majke dijagnostikovane tokom trudnoće, jednoploidna i višeploidna trudnoća, način porođaja i PROM su potencijalni faktori rizika za lošiji postnatalni ishod kod dece iz arteficijalno začelih trudnoća. U uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođena deca začeta tehnikama in vitro fertilizacije, sem po dostignutoj telesnoj masi, ne razlikuju se značajno po drugim telesnim karakteristikama, od prevremeno rođene dece koja su začeta prirodnim putem. Faktori rizika za manju telesnu masu kod prevremeno rođene dece, u uzrastu od 12 meseci su: arteficijalno začeca, višeploidne trudnoće i intrauterina restrikcija rasta. U uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođena deca začeta in vitro fertilizacijom, imaju blago lošije (ali ne i značajno niže) postignuće na testovima za procenu psihomotornog razvoja, odnosno imaju viši rizik da postignu ispodprosečne vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja. U uzrastu od 18 meseci, nema razlike u pokazateljima</p> |
|--|--|

|  |   |
|--|---|
|  | <p>telesnog razvoja između prevremeno rođene dece koja su arteficijalno začeta i dece koja su rođena iz spontano začelih trudnoća. U uzrastu od 18 meseci, prevremeno rođena deca iz arteficijalno začelih trudnoća imaju niže postignuće na testovima za procenu psihomotornog razvoja u odnosu na prevremeno rođenu decu iz spontano začelih trudnoća. Faktori rizika koji su povezani sa lošijim postignućem na testu za procenu psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece su arteficijalno začele trudnoće i višeploidnost trudnoće. U uzrastu od 24 meseca nema razlike u telesnim parametrima između prevremeno rođene dece koja su arteficijalno začeta i prevremeno rođene dece koja su začeta prirodnim putem. U uzrastu od 24 meseca nema razlike u postignuću na testu za procenu psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece su arteficijalno začele trudnoće i višeploidnost trudnoće. U uzrastu od 24 meseca, prevremeno rođena deca, i iz arteficijalno, i iz spontano začelih trudnoća, na testu za procenu psihomotornog razvoja postižu rezultate koji su u skladu sa njihovim kalendarskim uzrastom.</p> |
| Datum prihvatanja teme od strane Senata:<br>DP   | 08.09.2016.   |
| Datum odbrane:<br>DO   |   |
| Članovi komisije:<br>(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)<br>KO | predsednik:<br>član:<br>član:   |

University of Novi Sad  
Faculty  
Key word documentation

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| Accession number:<br>ANO       |  |
| Identification number:<br>INO  |  |
| Document type:<br>DT           | Monograph documentation  |
| Type of record:<br>TR          | Textual printed material   |
| Contents code:<br>CC           | Ph.D Thesis  |
| Author:<br>AU                  | Vesna Pavlović   |
| Mentor:<br>MN                  | Georgios Konstantinidis, MD, PhD, professor  |
| Title:<br>TI                   | Morbidity, physical and early psychomotor development of prematurely born children conceived by assisted reproductive technologies |
| Language of text:<br>LT        | Serbian (Roman)  |
| Language of abstract:<br>LA    | eng. / srp.  |
| Country of publication:<br>CP  | Serbia   |
| Locality of publication:<br>LP | Vojvodina  |
| Publication year:<br>PY        | 2017.  |
| Publisher:<br>PU               | authors reprint  |
| Publication place:<br>PP       | Medical Faculty, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3   |

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| Physical description:<br>PD | 7 chapters / 125 pages / 207 citations / 9 graphs,<br>1 scheme / 9 tables   |
| Scientific field<br>SF      | Medicine  |
| Scientific discipline<br>SD | Pediatrics, neonatology, perinatology   |
| Subject, Key words<br>SKW   | Infant, Premature; Infant, Premature, Diseases;<br>Fertilization in Vitro; Risk Factors; Morbidity;<br>Psychomotor Performance; Child Development;<br>Follow-up Studies   |
| UC                          | 616-036-053.32:618.177-089.888.11   |
| Holding data:<br>HD         | Library of Medical Faculty Novi Sad, Hajduk<br>Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia   |
| Note:<br>N                  |   |
| Abstract:<br>AB             | <b>Introduction:</b> Infertility is defined as an unsuccessful conception after one year of sexual intercourse without the use of contraception in the fertilizing phase of the menstrual cycle. Assisted reproduction methods represent an effective way of treating infertility. Examination and identification of short-term and long-term effects of artificial reproductive technologies is a very challenging task. The primary reason for this is the great heterogeneity in the way of collecting, processing, classifying and interpreting, now, the abundance of information that has been gathered in various studies. Individual approach to the treatment of infertility, rapid progress and constant changes in the methodology of the artificial reproductive technologies, in addition to the aforementioned difficulties associated with the collection and analysis of data, significantly hamper accurate assessment of all possible risks and consequences arteficianog conception. Despite numerous studies, scientific publications and the accumulated evidence, many doubts about the question whether artificially conceived pregnancies are accompanied by the higher risks |

for inadequate fetal development, poor perinatal and long-term outcomes still remained.

**The Aim:** The objectives of this work were to determine the structure of morbidity in prematurely born children conceived by artificial reproductive technologies (from single and multiple pregnancies) in the first two years of life, and to identify perinatal factors that are associated with the occurrence of acute and chronic complications and diseases in prematurely born children from this pregnancies. In addition, the aim of the study was to determine the characteristics of psychomotor development in prematurely born children conceived by artificial reproductive technologies at the end of the twelfth, eighteenth and twenty-fourth month of life, as well as to identify specific risk factors for the unfavorable physical, neurological and psychological outcome of those children.

**Materials and Methods:** The study included premature born newborns who were hospitalized in the Department for neonatology and intensive and semi-intensive care unit, and are thereafter, during the first two years of life. The retrospective part of the study included children who were hospitalized at the Institute, and who were born from January 1st 2011. to December 31st 2012. and were followed up to 2 years of life. Data on patients included in the retrospective part of the survey were collected through a review of medical records. The prospective part of the study included children who were treated and followed up at the Institute, and who were born between January 1st 2013 and December 31st 2014. and then followed up to 2 years of life. From this cohort two groups were formed: The tested group (Group 1) included all preterm infants who were conceived by ART. The control group (Group 2) included naturally conceived prematurely born children. The children in the control group were selected from the cohort so that their number was equal to the number of children in the study group. The gestational age of the examinees from the control group does not

differ for more than  $\pm 4$  days from the children from the study group. The date of birth of subjects included in the control group does not differ for more than  $\pm 3$  months from the children in the study group.

At the moment of inclusion in the study, the following individual data were taken:

Maternal data, pregnancy and childbirth: the age of the mother at the moment of conception, the number of previous attempts at assisted conception, professional care, place of residence, chronic diseases diagnosed before pregnancy, acute and chronic diseases diagnosed during pregnancy (hypertension, pre-eclampsia, eclampsia, liver damage), premature rupture of the fetuses, the use of medication during pregnancy, single or multiple pregnancy.

Data on placental disorders and abnormalities: ablation, placenta overdose, horioamnionitis.

Child-related data: intrauterine infection, intrauterine growth restriction, delivery method, Apgar score. Anthropometric parameters (body weight, body length, head circumference) at birth and during the period of outpatient monitoring of the child. Length of initial hospitalization of the child. Length of invasive and / or non-invasive respiratory support and oxygen therapy. Diagnosis on discharge from the hospital: the presence of severe consequences of prematurity, which implies intracranial hemorrhage of 3rd and 4th degree (defined in International Classification of Disease - Tenth Revision (MKB10) under code P52.2), cystic periventricular leukomalacia, retinopathy of prematurity, bronchopulmonary dysplasia, necrotizing enterocolitis, sepsis and / or meningitis (microbiologically or clinically diagnosed). Presence of congenital anomalies or genetic syndromes and diseases (defined in MKB10 under codes Q00 to Q99), as well as the presence of congenital metabolic diseases (defined in MKB10 under codes E00 to E90).

In the retrospective part of the study, specialist reports from a neonatological clinic were examined for child visits at the age of 12, 18 and 24 months, and the following data were



recorded: all pre-diagnosis reported on specialist reports from a neonatological clinic, anthropometric arms at the moment examination (body length, body weight and head circumference), neurological findings (tone, trophic, skin and tendon reflexes, presence of lateralization in neurological findings), ophthalmologist findings (neat / patial findings), assessment of fine and coarse motoring, speech, cognitive functions and social contact and a collective assessment of psychomotor development. In the prospective part of the study, during control examinations in a neonatological clinic, at the age of 12, 18 and 24 months, the following were determined and recorded: previously set out in the current medical documentation, anthropometric pramets at the moment of examination (body length, body weight and the volume of the head), neurological findings (tone, trophic, skin and tendon reflexes, presence of lateralization in neurological findings), ophthalmologist findings, assessment of fine and grose motor functions, speech, cognitive functions, social contact and psychomotor development.

**Results:** The average BW of subjects in Group 1 at the age of 12 months, was statistically significantly lower in relation to respondents from Group 2 (Student's T test). The average lenght of subjects from both groups at the age of 12 months did not statistically differ (Student's T test). The average head circumference between children from both groups, at the age of 12 months, did not statistically differ (Student's T test). The proportion of subjects with pathological ophthalmological findings did not statistically significantly differ between Group 1 and Group 2 (Fischer's exact probability test). The proportion of subjects with pathological neurological findings did not statistically significantly differ between Group 1 and Group 2 (Hi square test). The average values of the global development coefficient (RQ), as well as the average score values for individual elements of development evaluation test - Brunet-Lézine scale (motor function,

coordination, speech and sociability) did not differ significantly between groups (Student t test). In Group 1 there were 92 (59.740%) of children whose uncorrected RQ was under 90, while in Group 2 there were 61 (39.610%) children whose uncorrected RQ was below 90. This difference in the number of children with RQ below the average for calendar age is statistically significant (Hi square test,  $p = 0.0004$ ). The relative risk of under-achievement in the psychomotor evaluation test (RQ <90) for children from Group 1 was higher than in children from Group 2 (RR = 1.495; 95% CI 1.181 - 1.922). In Group 1, there were 87 (56.494%) children who achieved sub-optimal corrected score values for the assessment of psychomotor development (corrected RQ <90). In Group 2, there were 69 (44.805%) children who achieved sub-optimal corrected score values for the assessment of psychomotor development (corrected RQ <90). This difference is statistically significant (Hi square test,  $p = 0.040$ ). The relative risk for the suboptimal achievement in the psychomotor evaluation test (corrected RQ <90) for children from Group 1 was higher than in Group 2 (RR = 1.261; 95% CI 1.008 - 1.577). In Group 1, as many as 81/87 (93.310%) of children had a corrected RQ value of  $\geq 85$ , while in Group 2 this value of the corrected RQ there were 60/69 (86.956%) children.

At the age of 18 months, the average BW of subjects from both groups did not differ significantly (Student's T test). The average length of subjects from both groups, at the age of 18 months, did not statistically differ (Student's T test). The average head circumference of children from both groups, at the age of 18 months, did not statistically differ (Student's T test). The proportion of subjects with pathological ophthalmological findings did not statistically significantly differ between Group 1 and Group 2 (Hi square test). The proportion of subjects with pathological neurological findings did not statistically differ between Group 1 and Group 2 (Hi square test).

The average RQ values, as well as the average scores for individual elements of psychomotor development (motor function, coordination, speech and sociability) according to the Brunet-Lézine scale, have been statistically significantly different between groups, at the age of 18 months (Student's T test). In Group 1 there were 57 (37.013%) children whose uncorrected RQ was below 90, while in Group 2 there were 31 (20,130%) children whose uncorrected RQ was below 90. The share of children with RQ below the average value for the calendar age is statistically significantly different between groups (Hi square test,  $p = 0.010$ ). The relative risk for the suboptimal achievement in the Psychomotor Development Assessment (uncorrected RQ <90) for Group 1 children was higher than in Group 2 (RR = 1.288; 95% CI 1.181 - 2.730). A statistically significant difference between Group 1 and Group 2 existed when the number of children with corrected RQ below 90 was compared (36 naspram 19 respectively, Hi quardate test,  $p = 0.011$ ). The relative risk for the suboptimal achievement on the Psychomotor Evaluation Test (corrected RQ <90) for the children from Group 1 was higher when compared to children in Group 2 (RR = 1.895; 95% CI 1.139 – 3.152).

At the age of 24 months the average BW, body length and head circumference of subjects in both groups were not significantly different (Student's T test). The proportion of subjects with pathological ophthalmological findings did not statistically significantly differ between Group 1 and Group 2 (Hi square test). The proportion of subjects with pathological neurological findings did not statistically significantly differ between Group 1 and Group 2 (Hi square test). The average RQ values, as well as the average score values for individual elements for development evaluation (motor function, coordination, speech and sociability) according Brunet-Lézine scale, did not significantly differ between groups at the age of 24 months (Student's T test). In Group 1, there

were 21 children (13.636%) whose uncorrected RQ was under 90, while in Group 2 there were 17 (11.049%) of children whose uncorrected RQ was below 90. The difference in the number of children with RQ below the average for the calendar age was not statistically significant (Hi square test,  $p = 0.488$ ). A statistically significant difference did not exist even when the number of children with values of the corrected RQ below 90 in Group 1 and Group 2 (12 naspram 9 respectively, Hi quardate test,  $p = 0.497$ ) was compared.

Logistic regression analysis has shown that artificial conception, multiple pregnancy and IUGR are independent risk factors for lesser BW in a calendar age of 12 months. By logistic regression analysis, a statistically significant correlation between RQ values at 18 months of age and the following independent variables was obtained: artificially started pregnancy and multiple pregnancy. Group 1 and Group 2 patients did not significantly differ by any of the indicators of physical and psychomotor development at the age of 24 months.

The structure of morbidity in children, during the two-year follow-up period, did not differ significantly between groups. The only difference between the groups was found in the rates of acute respiratory infections at the age of 12 and 18 months (rate of infections was higher in Group 1), whose occurrence, however, was directly related to multiple pregnancies, or the number of sibling in the household.

**Conclusion:** The average age of mothers of children concieved by the IVF is higher than the average age of mothers of children who were concieved spontaneously. The structure of the morbidity of mothers of children who were artificialy concieved and mothers of children born after spontaneous conception is the same, but the morbidity rate is higher in the mothers of children who were concieved by IVF. Pregnancies concieved by IVF almost exclusively ended by cesarean section. Premature rupture of the membranes is a common complication of IVF pregnancies. The

rate of morbidity of prematurely born children conceived by ART is not higher than that of prematurely born children conceived naturally. The structure of morbidity in children from ART pregnancies was the same as in naturally conceived prematurely born children. The incidence of specific illnesses is the same, with the exception of bronchopulmonary dysplasia that occurs more frequently in children born from ART pregnancies, and retinopathy of prematurity that occurs more frequently in spontaneously conceived children. Maternal birth weight, intrauterine growth restriction, mother's age, maternal care, previous mother's chronic illness, mother's disease diagnosed during pregnancy, single and multiple pregnancies and PROM are potential risk factors for worse postnatal outcome in children from artificially initiated pregnancies. Risk factors for lower body weight in premature babies, at the age of 12 months, are: artificial conception, multiple pregnancy and intrauterine growth restriction. At the age of 12 months, prematurely born children from IVF pregnancies, have slightly worse (but not significantly lower) psychomotor achievements. At the age of 18 months, there is no difference in the indicators of physical development between prematurely born children who are artificially conceived and children born from spontaneous pregnancies. At the age of 18 months, prematurely born children from ART pregnancies have lower achievement on tests for assessing psychomotor development compared to prematurely born children from spontaneously initiated pregnancies. Risk factors associated with a poor performance on the psychomotor development assessment tests, in preterm infants, are an artificial conception of pregnancy and a multifertile pregnancy. At the age of 24 months, there is no difference in the physical parameters between prematurely born children from ART and naturally conceived pregnancies. At the age of 24 months, there is no difference in the achievement on the test for the assessment of psychomotor development between children from ART and spontaneous

|                              |  |
|------------------------------|--|
|                              | pregnancies. At the age of 24 months, on the psychomotor development assessment, prematurely born children achieve the results consistent with their calendar age. |
| Accepted on Senate on:<br>AS | September, 8th 2016.   |
| Defended:<br>DE              |  |
| Thesis Defend Board:<br>DB   | president:<br>member:<br>member:   |

SPISAK SKRAĆENICA KOJE SU KORIŠĆENE U TEKSTU POREĐANE PREMA  
ABECEDNOM REDU

|        |  |
|--------|--|
| ART    | arteficijalne reproduktivne tehnologije  |
| AS     | Apgar skor   |
| BPD    | bronhopulmonalna displazija  |
| CI     | <i>eng. confidence interval</i> , interval poverenja                           |
| cm     | santimetar   |
| DAP    | <i>lat. Ductus arteriosus persistens</i> , otvoreni arterijski kanal           |
| DCO    | dečja cerebralna oduzetost   |
| DM     | diabetes mellitus  |
| DNK    | dezoksiribonukleinska kiselina   |
| ELBW   | <i>eng. extremely low birth weight</i> , ekstremno mala porođajna telesna masa |
| ET     | embriotransfer   |
| g      | gram   |
| GIFT   | <i>eng. gamete intrafallopian transfer</i>                                     |
| GMFCS  | <i>eng. Gross Motor Classification System</i>                                  |
| GN     | gestacijska nedelja  |
| GS     | gestacijska starost  |
| HTA    | arterijska hipertenzija  |
| ICSI   | <i>eng. intracytoplasmic sperm injection</i>                                   |
| IQ     | koeficijent inteligencije  |
| IUGR   | <i>eng. intrauterine growth restriction</i> , intrauterini zastoj u rastu      |
| IVF    | <i>in vitro</i> fertilizacija, vantelesna oplodnja                             |
| kg     | kilogram   |
| KGS    | korigovana gestacijska starost   |
| LBW    | <i>eng. low birth weight</i> , mala porođajna telesna masa                     |
| MKB 10 | Međunarodna klasifikacija bolesti, 10. revizija                                |
| MODS   | sindrom multiorganske disfunkcije  |
| MRI    | magnetna rezonancija   |
| NEC    | <i>eng. necrotizing enterocolitis</i> , nekrotizirajući enterokolitis          |

|      |   |
|------|---|
| No   | broj  |
| OGL  | obim glave  |
| PGD  | preimplantaciona genska dijagnostika                                  |
| PTM  | porodajna telesna masa  |
| RDS  | respiratorni distres sindrom  |
| ROP  | <i>eng. retinopathy of prematurity</i> , retinopatija prematuriteta   |
| RQ   | razvojni koeficijent  |
| RR   | <i>eng. relative risk</i> , relativni rizik                           |
| RSV  | Respiratorni sincicijalni virus                                       |
| SAD  | Sjedinjene Američke Države  |
| SD   | standardna devijacija   |
| SGA  | <i>eng. small for gestational age</i> , mali za gestacijsku starost   |
| TD   | telesna dužina  |
| VLBW | <i>eng. very low birth weight</i> , veoma mala porođajna telesna masa |
| vs   | <i>lat. versus</i> , prema, naspram                                   |
| ZIFT | <i>eng. zygote intrafallopian transfer</i>                            |



## SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| <b>1. UVOD</b> .....   | 3  |
| <b>1.1. Prevremeno rođenje</b> .....   | 5  |
| <b>1.1.1. Definicija i klasifikacija</b> .....   | 5  |
| <b>1.1.2. Epidemiologija</b> .....   | 6  |
| <b>1.1.3. Faktori rizika za prevremeni porođaj</b> .....   | 8  |
| <b>1.2. Specifičnosti prevremeno rođene dece: morbiditet, telesni i psihomotorni razvoj prevremeno rođene dece</b> ..... | 8  |
| <b>1.2.1. Bolesti respiratornog sistema kod prevremeno rođene dece</b> .....   | 10 |
| <b>1.2.2. Bolesti kardiovaskularnog sistema kod prevremeno rođene dece</b> .....   | 13 |
| <b>1.2.3. Bolesti gastrointestinalnog sistema kod prevremeno rođene dece</b> .....                                       | 15 |
| <b>1.2.4. Neurološka i razvojna oštećenja kod prevremeno rođene dece</b> .....   | 17 |
| <b>1.2.5. Često vraćanje u bolnicu</b> .....   | 26 |
| <b>1.3. Arteficialne reproduktivne tehnologije</b> .....   | 26 |
| <b>1.4. Istorijat razvoja arteficialnih reproduktivnih tehnologija</b> .....   | 29 |
| <b>1.5. Zakonska regulativa u vezi asistirane reprodukcije u Republici Srbiji</b> .....                                  | 34 |
| <b>1.6. Intrauterini razvoj ploda, tok i ishod trudnoće nakon arteficialnog začeća</b> .....                             | 35 |
| <b>1.6.1. Arteficialne reproduktivne tehnologije i intrauterini rast i razvoj</b> .....                                  | 35 |
| <b>1.7. Arteficialne reproduktivne tehnike i genetika</b> .....  | 38 |
| <b>1.7.1. Arteficialne reproduktivne tehnike i urođene mane</b> .....  | 41 |
| <b>1.8. Arteficialne reproduktivne tehnike i prevremeno rođenje</b> .....  | 42 |
| <b>1.9. Arteficialne reproduktivne tehnike i maligniteti u dečjem uzrastu</b> .....                                      | 43 |
| <b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....   | 45 |
| <b>3. HIPOTEZE</b> .....   | 46 |
| <b>4. MATERIJAL I METODE</b> .....   | 48 |
| <b>5. REZULTATI</b> .....  | 52 |
| <b>5.1. Karakteristike novorođenčadi u ispitivanim grupama</b> .....   | 53 |
| <b>5.2. Karakteristike trudnica, trudnoća i porođaja</b> .....   | 56 |
| <b>5.3. Morbiditet dece u ispitivanim grupama</b> .....  | 62 |
| <b>5.4. Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 12 meseci</b> .....                                    | 65 |
| <b>5.5. Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 18 meseci</b> .....                                    | 67 |
| <b>5.6. Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca</b> .....                                    | 69 |

|   |            |
|---|------------|
| <b>5.7. Logistička regresiona analiza.....</b>  | <b>71</b>  |
| <b>5.8. Faktori rizika za lošiji telesni i psihomotorni razvoj u uzrastu od 12 meseci.....</b>  | <b>72</b>  |
| <b>5.8.1. Artefijalno žaćće naspram TM u uzrastu od 12 meseci.....</b>                          | <b>72</b>  |
| <b>5.8.2. Višepodna trudnoća naspram TM u uzrastu od 12 meseci.....</b>                         | <b>73</b>  |
| <b>5.8.3. Višepodna trudnoća i artefijalno žaćće naspram TM u uzrastu od 12 meseci.....</b>     | <b>73</b>  |
| <b>5.8.4. IUGR naspram TM u uzrastu od 12 meseci.....</b>                                       | <b>74</b>  |
| <b>5.9. Faktori rizika za lošiji telesni i psihomotorni razvoj u uzrastu od 18 meseci.....</b>  | <b>74</b>  |
| <b>5.9.1. Artefijalno žaćće naspram RQ u uzrastu od 18 meseci.....</b>                          | <b>74</b>  |
| <b>5.9.2. Višepodna trudnoća naspram RQ u uzrastu od 18 meseci.....</b>                         | <b>75</b>  |
| <b>5.9.3. Višepodna trudnoća i artefijalno žaćće naspram RQ u uzrastu od 18 meseci.....</b>     | <b>76</b>  |
| <b>5.10. Faktori rizika za lošiji telesni i psihomotorni razvoj u uzrastu od 24 meseca.....</b> | <b>76</b>  |
| <b>5.11. Struktura morbiditeta u uzrastu od 12, 18 i 24 meseca.....</b>                         | <b>76</b>  |
| <b>6. DISKUSIJA.....</b>  | <b>80</b>  |
| <b>7. ZAKLJUČAK.....</b>  | <b>97</b>  |
| <b>8. LITERATURA.....</b>   | <b>100</b> |

# 1. UVOD

Infertilitet se definiše kao bezuspešna koncepcija nakon jedne godine seksualnih odnosa bez upotrebe kontracepcije u fertilnoj fazi menstrualnog ciklusa<sup>1,2</sup>.

Ovo je problem sa kojim se, na globalnom nivou, suočava oko 9% parova<sup>3</sup>. Procenjena prevalencija infertiliteta u svetu kreće se od 3,5% do 16,7% u razvijenim zemljama, odnosno 6,9% do 9,3% u slabije razvijenim regijama sveta<sup>1</sup>. U našoj sredini, udeo parova reproduktivnog doba sa problemom infertiliteta i neophodnošću medicinskog tretmana iznosi oko 16 – 18%<sup>4</sup>.

Metode asistirane reprodukcije predstavljaju efektivan način lečenja infertiliteta. U pokušaju da se ovaj zdravstveni i društveni problem reši, mnoge zemlje, uključujući i našu, započele su sa finansiranjem programa asistirane reprodukcije. Poslednjih godina sve je više dece koja su začeta na ovaj način. Udeo živorođene novorođenčadi začete nekom od tehnika asistirane reprodukcije u Sjedinjenim Američkim Državama iznosi oko 1%, u Velikoj Britaniji i Italiji oko 2%, dok u ostalim evropskim zemljama dostiže i udeo od oko 6%<sup>5,6,7</sup>.

Stavovi oko toga da li asistirana reprodukcija ima negativnih reperkusija na zdravlje dece začete na ovaj način su još uvek podeljeni.

S jedne strane, stoje rezultati različitih studija, u kojima se zaključuje da deca začeta tehnikama asistirane reprodukcije imaju statistički značajno veći rizik za prevremeno rođenje i intrauterinu restrikciju rasta, te višu stopu mortaliteta<sup>8,9,10,11,12</sup>.

Učestalost prevremenog rođenja je veća kod artefijelno začete dece i nezavisna je od činjenice da li se radi o jednoplodnim ili višeplođnim trudnoćama<sup>8,9</sup>.

Epigenetski fenomeni, poput genomskog "imprinting-a" češće se sreću kod artefijelno začete dece<sup>10</sup>. Meta analiza, koja je obuhvatila 56 različitih studija pokazala je da je učestalost urođenih mana i deformiteta statistički značajno veća kod dece koja su začeta nekom od tehnika asistirane reprodukcije<sup>11</sup>. Velika meta analiza koja je obuhvatila relevantne studije sa dugoročnim praćenjem ove dece, pokazala je da u ovoj populaciji, pored rizika za poremećaje broja i strukture hromozoma, postoji i značajno viši rizik za pojavu karcinoma u adultnom dobu<sup>12</sup>. Smatra se da je većina neželjenih posledica povezanih sa različitim metodama asistirane reprodukcije, prouzrokovana prevremenim rođenjem, višeplođnom trudnoćom ili intrauterusnom restrikcijom rasta, te starosnom dobi majki dece koja su začeta na ovaj način<sup>13</sup>. Takođe, kao mogući uzrok nepovoljnijeg perinatalnog ishoda dece začete tehnikama asistirane reprodukcije, neki autori navode subfertilitet majki, efekte hormonske stimulacije ili odabir tehnike asistirane reprodukcije<sup>14,15,16,17</sup>.

S druge strane, stoje istraživanja koja su pokazala da ne postoji značajna razlika u mortalitetu i strukturi morbiditeta između dece začete metodama asistirane reprodukcije i dece začete prirodnim putem<sup>18,19,20</sup>.

Jedna od retkih studija koja se bavila problematikom razvojnih poremećaja, nije dokazala postojanje značajnih razlika u pokazateljima psihomotornog razvoja dece koja su začeta tehnikama asistirane reprodukcije u odnosu na prirodno začetu decu u uzrastu od dve godine<sup>19</sup>.

Slično, veliko međunarodno istraživanje koje se bavilo procenom kognitivnih i motornih funkcija, nije pokazalo statistički značajnu razliku između artefijelno i prirodno začete dece u sferi kognitivnog i motornog razvoja<sup>20</sup>.

Psihomotorni razvoj ove dece ispitivan je u nekoliko studija. Jedna od prvih kontrolisanih studija mentalnog razvoja dece začete jednom od tehnika asistirane reprodukcije objavljena je još 1998. godine, a rezultati studije su pokazali da u uzrastu od navršenih godinu dana života, ova deca imaju znatno viši rizik za zaostajanje u razvoju u poređenju sa kontrolnom grupom<sup>21</sup>. Rezultati ovih studija, podstakli su nekoliko grupa istraživača na dalje ispitivanje psihomotornog razvoja kod populacije dece začete vantelesnom oplodnjom, kako bi se utvrdilo da li postoji rizik za smetnje u razvoju kod dece začete metodama artefijalne oplodnje i koliki je taj rizik. Kasnije studije pokazale su da većina artefijelno začete dece ipak ima normalan mentalni razvoj<sup>22,23</sup>. S druge strane, istraživanje sprovedeno u Švedskoj, koje je obuhvatilo decu i odrasle osobe začete tehnikama asistirane reprodukcije od 1982. do 2007. godine, ukazalo je na malu, ali statistički značajnu razliku, u smislu veće učestalosti autizma, mentalne retardacije i drugih mentalnih poremećaja u grupi dece i odraslih koji su začeti tehnikama asistirane reprodukcije<sup>24</sup>.

## **1.1. Prevremeno rođenje**

### **1.1.1. Definicija i klasifikacija**

Trudnoća fiziološki traje 10 lunarnih meseci, odnosno 40 gestacijskih nedelja. Prevremeno rođenje, prema preporuci Svetske zdravstvene organizacije, se definiše kao rođenje pre navršene 37. gestacijske nedelje (259 dana).

Uzroci i struktura mortaliteta i morbiditeta, kao i ishod lečenja prevremeno rođene novorođenčadi u najvećoj meri zavise od “zrelosti deteta” koju najčešće procenjujemo preko gestacijske starosti (GS) i porođajne telesne mase (PTM).

U odnosu na GS prevremeno rođenu novorođenčad možemo klasifikovati kao:

- ekstremno nezrelu prevremeno rođenu novorođenčad (GS  $\leq$  27 + 6/7 nedelja)
- veoma nezrelu prevremeno rođenu novorođenčad (GS 28- 31+6/7 nedelja)
- umereno nezrelu novorođenčad (GS 32-36+6/7 nedelja)

U odnosu na porođajnu telesnu masu, prevremeno rođenu novorođenčad možemo da klasifikujemo na sledeće kategorije:

- Prevremeno rođena novorođenčad male telesne mase (eng. *Low birth weight -LBW*); PTM <2,500 g
- Prevremeno rođena novorođenčad veoma male telesne mase (eng. *Very low birth weight – VLBW*); PTM <1,500 g
- Prevremeno rođena novorođenčad ekstremno male telesne mase (eng. *Extremely low birth weight – ELBW*); PTM <1,000 g

GS i PTM najčešće jesu u direktnoj vezi, ali to ne mora uvek biti slučaj, tako da se ova dva sistema klasifikacije ne mogu koristiti jedan umesto drugog, već su komplementarni i koriste se jedan uz drugi. Prevremeno rođena deca veće GS, usled intrauterinog zastoja u rastu mogu imati manju telesnu masu od očekivane (npr. umereno nezrelo prevremeno rođeno novorođenče sa veoma malom telesnom masom).

### **1.1.2. Epidemiologija**

U Sjedinjenim Američkim Državama, u periodu između 1990. i 2006. godine, stopa prevremenog rođenja porasla je sa 1,92% na 2,04%. Stopa rađanja novorođenčadi niske i veoma niske telesne težine, takođe je dostigla vrhunac u 2006. godini i iznosila je 8,26% za novorođenčad niske PTM i 1,49% za novorođenčad veoma niske PTM, što je povećanje za 19%, odnosno 17%, u

odnosu na stope iz 1990. godine. Razlozi za porast prevremenog porođaja i nisku telesnu masu na rođenju uključivali su različite faktore, poput povećanja broja akušerskih intervencija, veće starosti majki i većeg broja sprovedenih tretmana neplodnosti. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije 2015. godine u svetu je rođeno oko 15 miliona prevremeno rođene novorođenčadi, što čini oko 5% do 18% svih porođaja u svetu tokom godinu dana. U Sjedinjenim Američkim Državama, udeo prevremenih porođaja u ukupnom broju porođaja je u daljem porastu u odnosu na prethodnu dekadu i iznosi čak 9,62%, s tim da je u odnosu na nekoliko prethodnih godina primetan trend smanjenja stope prevremenih porođaja (podatak za 2013. godinu, publikovan 2015. godine)<sup>25,26</sup>.

Prevremeno rođenje je jedan od najznačajnijih uzroka neonatalnog morbiditeta i mortaliteta. Na globalnom nivou, procenjuje se da su prematuritet i posledice prematuriteta, uzrok čak do 70% smrtnih ishoda u neonatalnom uzrastu i 36% smrti u odojčadskom uzrastu i da su osnovni razlog 25-50% trajnih neuroloških oštećenja kod dece<sup>27</sup>.

Od šezdesetih godina prošlog veka, preživljavanje prevremeno rođene novorođenčadi je u kontinuiranom porastu prvenstveno zahvaljujući napretku tehnologije (inkubatori, mehanička respiratorna potpora) i stalnom unapređenju ginekoloških i neonatoloških terapijskih protokola i kliničke prakse, a poseban zamah je dobijen uvođenjem plućnog surfaktanta u terapiju respiratornog distres sindroma 1992. godine. Prema podacima Vermont Oxford Mreže (eng. *Vermont Oxford Network*) još u periodu od 1994. do 1996. godine, preživljavanje prevremeno rođene novorođenčadi sa telesnom masom ispod 1000g znato je poboljšano i dostiglo je stopu od 74,9%, a potreba za primenom mera kardiopulmonalne reanimacije u porođajnoj sali, svedena je na 53,8% slučajeva<sup>28</sup>. U 2015. godini, u Sjedinjenim Američkim Državama, smrtnost usled prematuriteta i komplikacija povezanih sa prematuritetom svedena je na 0,81 miliona slučajeva (sa 1,51 miliona slučajeva 1990. godine)<sup>29</sup>. Takođe, poboljšano je preživljavanje i ekstremno nezrele novorođenčadi i spuštena je granica vijabiliteta na oko 23-24

gestacijske nedelje. Danas se, stopa preživljavanja dece rođene sa 23 gestacijske nedelje kreće oko 15%, sa 24 nedelje 55%, a kod dece rođene u 25. nedelji gestacije iznosi oko 80%<sup>30</sup>.

### **1.1.3. Faktori rizika za prevremeni porođaj**

Uzrok prevremenog porođaja je često nepoznat.

Faktori rizika za prevremeno rođenje su monogobrojni i mogu se podeliti na materalne, fetoplacentalne i medicinske. Neki od materalnih faktora, koji su povezani sa prevremenim rođenjem su hronične bolesti majke kao što su dijabetes melitus, hipertenzija, endokrinološke bolesti, gojaznost ili pothranjenost, infekcije, pušenje duvana, pa i psihološki stres. Pozitivna anamneza o prethodnom prevremenom porođaju ili spontanom/arteficijalnom pobačaju, jedna je od naj snažnijih prediktora i faktora rizika za prevremeni porođaj<sup>31</sup>.

Fetoplacentalni faktori rizika, između ostalog, obuhvataju različite poremećaje insercije placente, ablaciju placente, intrauterinu restrikciju rasta, intrauterine infekcije ploda, malformacije i metaboličke poremećaje ploda i sl.

Medicinski razlozi za prevremenu terminaciju trudnoće najčešće podrazumevaju hitna stanja, koja nose veliki rizik po život i zdravlje trudnice i ploda (preeklampsija, eklampsija, poremećaji srčanog ritma ploda i sl.)<sup>33</sup>.

## **1.2. Specifičnosti prevremeno rođene dece: morbiditet, telesni i psihomotorni razvoj prevremeno rođene dece**

Prevremeno rođena deca, generalno govoreći, imaju povećan rizik za pojavu akutnih i hroničnih oboljenja i oštećenja različitih organa i organskih sistema. Rizik za pojavu ovih oboljenja, kao i komplikacija je obrnuto srazmeran



GS. Najčešće postavljene dijagnoze kod prevremeno rođene dece, bez obzira da li se radi o blizancima ili deci iz jednoplodnih trudnoća, jesu hiperbilirubinemija (83.3%) i respiratorni distres sindrom (78.3%), a slede ih infekcije i intrakranijalna hemoragija sa učešćem od 25%, odnosno 21%<sup>32,34,35,36</sup>.

Sa prematuritetom najčešće se povezuju respiratorna oboljenja, poput respiratornog distres sindroma i hronične plućne bolesti – bronhopulmonalne displazije. Neurološki problemi uključuju apneju prematuriteta, intrakranijalno krvarenje, zaostajanje u psihomotornom razvoju, dečju cerebralnu paralizu i sl. Značajano mesto u strukturi morbiditeta prevremeno rođene novorođenčadi zauzimaju retinopatija prematuriteta (ROP) i oštećenje sluha. Najčešća kardiovaskularna komplikacija povezana sa prematuritetom je arterijska hipotenzija, a od urođenih srčanih mana - otvoreni arterijski kanal (DAP – lat. *Ductus arteriosus perisistens*), a dugoročno posmatrano i povišen rizik od kardiovaskularnih oboljenja u adultnoj dobi<sup>37,38</sup>. Od gastrointestinalnih oboljenja, za prematuritet je najspecifičniji nekrotizirajući enterokolitis, mada se veoma često sreću i intolerancija hrane/otežana ishrana i ingvinalne hernije. Od hematoloških oboljenja, prevremeno rođenje prati anemija prematuriteta, ali se kod značajnog broja dece sreću i trombocitopenija. Poremećaji metabolizma glukoze (hiperglikemija/hipoglikemija) i metabolizma elektrolita su, takođe, zastupljeni kod velikog broja prevremeno rođene dece. Poseban problem, koji znatno utiče na ishod lečenja, predstavlja podložnost prevremeno rođene novorođenčadi akutnim infekcijama koje su obično veoma teškog i komplikovanog kliničkog toka (sepsa, meningitis, pneumonija, infekcije urinarnog trakta).

Prevremeno rođenje i mala porođajna telesna masa nisu samo zdravstveni i medicinski problem koji se tiču samo deteta i njegove porodice, već predstavljaju i značajan društveni i socio-ekonomski problem, jer se procenjuje da godišnji troškovi za lečenje i negu komplikacija i hroničnih sekvela prematuriteta, na globalnom nivou, premašuju iznos od 26 milijardi dolara<sup>36</sup>.

### 1.2.1. Bolesti respiratornog sistema kod prevremeno rođene dece

#### *Respiratorni distres sindrom*

Respiratorni distres sindrom (RDS), hijalinomembranska bolest, ili hiposurfaktoza pluća klinički je entitet koji se javlja pretežno kod prevremeno rođene novorođenčadi zbog nedostatka plućnog surfaktanta. Osim prevremnog rođenja, koje je najvažniji faktor rizika za nastanak RDS-a, ostali faktori rizika su perinatalna asfiksija, dijabetes majke, pol (češća je pojava u muške prevremeno rođene dece), blizanačka trudnoća, porođaj carskim rezom<sup>39</sup>. Bolest je posledica smanjene količine alveolarnog surfaktanta, koja je manja što je manja gestacijska starost. Surfaktant je supstanca koja smanjuje površinski napon alveola i pomaže da se one održe otvorene na kraju ekspirijuma, povećavajući tako funkcionalni rezidualni kapacitet pluća. Pomaže i smanjenju površinskog napona u plućima, te tako štiti pluća od potpunog kolapsa i pojave atelektaza tokom ekspirijuma<sup>40</sup>. Za sintezu surfaktanta potreban je normalan pH krvi, normalna telesna temperatura i perfuzija pluća. Asfiksija, hipoksemija i pulmonalna ishemija, naročito udružena sa hipovolemijom i hipotenzijom mogu smanjiti sintezu surfaktanta.

U prvih nekoliko sati života razvija se tipična klinička slika s tahipnejom, cijanozom i uvlačenjem međurebarnih prostora. Auskultacijom pluća čujno je samo površno i vrlo oslabljeno disanje, često bez propratnih auskultacionih fenomena, ili se čuju retke sitne kreptacije na vrhu inspirijuma. Dijagnoza sindroma respiratornog distresa se može postaviti obično u prvim minutima ili satima nakon porođaja i to na osnovu podatka o prevremenom rođenju deteta, kliničkih znakova otežanog disanja i abnormalnosti rendgenografije pluća<sup>42,43</sup>. Terapija podrazumeva prenatalno davanje kortikosteroida trudnici (ako je izvodljivo), mehaničku i neinvazivnu respiratornu potporu, suplementarnu terapiju preparatom plućnog surfaktanta i opštu suportativnu terapiju<sup>41</sup>.

## ***Bronhopulmonalna displazija***

Bronhopulmonalna displazija (BPD) je jedna od najtežih posledica prevremenog rođenja. Definiše se kao potreba za primenom dodatnog kiseonika u udahnutom vazduhu do 28. dana postnatalnog života, a težina bolesti se utvrđuje 36. nedelje korigovane gestacijske starosti. Primena kiseonika i nakon 36. nedelje korigovane gestacijske starosti, kod dece sa bronhopulmonalnom displazijom je udružena sa značajanim respiratornim komorbiditetom tokom prve dve godine života i kasnije tokom detinjstva i adultnog doba.

Prema literaturnim podacima, incidencija BPD varira u zavisnosti od stope prematuriteta, definicije i terapije koja se u određenom medicinskom centru primenjuje<sup>44,45</sup>. Podaci o incidenciji se razlikuju u zavisnosti od primenjene definicije, da li je BPD definisana kao zavisnost od kiseonika 28. dana - prema originalnoj definiciji, 36. nedelje KGS - prema kliničkoj ili fiziološkoj definiciji. Pojedini podaci o incidenciji uzimaju u obzir samo preživeli novorođenčad. Prosečna incidencija BPD za novorođenčad PTM<1500g u razvijenim zemljama se kreće između 4% i 53%<sup>44,48</sup>. Fanaroff je objavio da se incidencija BPD u 28. danu u SAD kreće od 11% do 41%, u 36. nedelji od 10% do 50%<sup>45</sup>.

Najveći rizik za razvoj bronhopulmonalne displazije imaju prevremeno rođena novorođenčad sa PTM < 1500g i gestacijske starosti manje od 32 gestacijske nedelje. Ova grupa prevremeno rođene novorođenčadi se rađa sa nezrelim plućima, u kanalikularnoj i sakularnoj fazi razvoja, i na samom početku života imaju akutni respiratorni problem uzrokovan respiratornim distress sindromom. Da bi preživela, ova deca su najčešće podvrgnuta intenzivnim i invazivnim metodama lečenja, koja istovremeno uvećavaju rizik od nastanka BPD. Tokom protekle dve decenije uvedeno je više mera u cilju prevencije i terapije respiratornog distress sindroma, kao što su antenatalna primena kortikosteroida, primena surfaktanta, primena protektivnih vidova respiratorne potpore. Navedene mere su dovele do povećanog preživljavanja prevremeno rođene novorođenčadi i

promene karakteristika BPD sa epidemiološkog, patofiziološkog, patološkog i kliničkog gledišta. Današnja, takozvana - nova BPD, je razvojna, multifaktorijalna bolest. Bronhopulmonalna displazija je posledica dejstva višestrukih štetnih noksi. To je proces u kom prenatalno pokrenuta inflamacija predstavlja okidač, a oštećenje pluća se nastavlja nakon rođenja dodatnim izlaganjem nezrelih pluća mnogobrojnim inzultima. Nakon rođenja, plućna vaskularna mreža, alveole, limfni sudovi i druge komponentne plućnog tkiva razvijaju se u izmenjenim uslovima. U plućima se pod uticajem različitih faktora – medijatora inflamacije, dešavaju procesi kontinuiranog oštećenja i konkomitentne reparacije, što uz uticaj specifične genetske ekspresije, čini poseban fenotip bronhopulmonalne displazije koji je specifičan za svako novorođenče<sup>46</sup>. Identifikovani su brojni prenatalni faktori koji deluju na razvoj pluća fetusa, kao i postnatalni faktori rizika koji doprinose nastanku BPD.

BPD je bolest sa kratkoročnim i dugoročnim posledicama. Oboleli često imaju udružene kardiorespiratorne, kognitivne i neurološke poremećaje<sup>47</sup>. Bronhopulmonalna displazija je udružena sa poremećajem rasta i razvoja, sluha i vida, neurološkog razvoja. Prema podacima Neonatalne istraživačke mreže, oboleli od težih formi BPD češće imaju dugotrajan respiratorni i neurološki morbiditet, češće imaju dečju cerebralnu oduzetost. Tokom prve dve godine života često perzistiraju respiratorni simptomi, česte su rehospitalizacije u toku virusnih infekcija, od kojih su najznačajnije infekcije uzrokovane respiratornim sincicijalnim virusom (RSV), neka deca zahtevaju primenu oksigenoterapije u kućnim uslovima. Literaturni podaci pokazuju da 30% do 50% obolelih od BPD tokom prve godine života zahteva rehospitalizaciju. Prevencija virusnih infekcija tokom ranog detinjstva (redovna vakcinacija, primena profilakse RSV infekcija i vakcinacija protiv gripa) i izbegavanje pasivnog pušenja kod dece smanjuju incidencu akutnih respiratornih pogoršanja koja zahtevaju hospitalizaciju<sup>47</sup>. Nakon druge godine hospitalizacije su ređe, ali oboleli često imaju respiratorne simptome u vidu vizinga, kašlja, češće zahtevaju primenu respiratorne terapiju do

6. godine, dok trećina obolelih do 12. godine ima bronhijalnu hiperreaktivnost i dijagnozu astme. Tokom daljeg odrastanja i adolescencije uočeno je da postoji trend kliničkog poboljšanja, sa manjim ispoljavanjem simptoma. I pored klinički latentne bolesti pluća kod školske dece i mladih adultnih osoba koje su imale BPD, uočeno je da postoji snižena plućna funkcija koja postepeno progredira od osme do osamnaeste godine.

### **1.2.2. Bolesti kardiovaskularnog sistema kod prevremeno rođene dece**

Jedan od najčešćih akutnih kardiovaskularnih problema prevremeno rođene novorođenčadi je hipotenzija, odnosno cirkulatorna insuficijencija. Miokard i krvni sudovi prevremeno rođene dece su drugačije građe i karakteristika u odnosu na ročnu novorođenčad. Miokard prevremeno rođene dece ima manje kontraktilnih elemenata. Ekspresija receptora na membrani miokardiocita je nedovoljno ispitana, tako da se postavlja pitanje kakav je i koliki je efekat lekova na performanse miokarda. Precizno praćenje i merenje hemodinamskih pokazatelja otežano je mnogim tehničkim ograničenjima, što otežava interpretaciju nalaza i onemogućava postavljanje etiološke dijagnoze cirkulatorne insuficijencije<sup>50,51,52</sup>.

S obzirom na sklonost ka infekcijama, pogotovo generalizovanim infekcijama, i činjenicu da prevremeno rođena deca svoje prve dane života često provode na odeljenjima neonatalne intenzivne nege i da su podrgnuta invazivnim metodama lečenja i monitoringa, ova deca su u većem riziku za razvoj bakterijskog endokarditisa u odnosu na ročnu novorođenčad. Posebnost bakterijskog endokarditisa prevremeno rođene novorođenčadi hospitalizovane na odeljenjima intenzivne nege je ta da je često izazvan netipičnim mikroorganizmima (obično gram negativne bakterije – intrahospitalna infekcija) i

da se vegetacije javljaju na netipičnim mestima (desno srce, zbog prisutnih centralnih venskih katetera)<sup>52</sup>.

Najčešće srčane mane kod prevremeno rođene novorođenčadi su perzistentni arterijski duktus i intrakardijalne komunikacije (atrijalni i ventrikularni septalni defekt). Lečenje prevremeno rođene novorođenčadi sa urođenim srčanim manama povezan je sa lošijom kratkoročnom i dugoročnom prognozom. Prisustvo, čak i jednostavnih srčanih mana, poput otvorenog arterijskog duktusa ili ventrikularnog septalnog defekta, koje same po sebi ne bi dovele do velikih posledica, kod prevremeno rođene novorođenčadi sa respiratornim distresom u značajnoj meri otežavaju lečenje i precipitiraju razvoju hroničnih sekvela – poput bronhopulmonalne displazije.

### ***Otvoreni arterijski duktus***

Otvoreni arterijski duktus se češće sreće kod dece niže gestacijske starosti i to kod 20% dece gestacijske starosti > 32 nedelje i kod čak 60% dece gestacijske starosti < 28 nedelja. Kod dece ekstremno male telesne mase (<1000g) arterijski duktus ostaje otvoren čak u 80% slučajeva<sup>53,54</sup>. Iako se često smatra relativno bezazlenom srčanom manom, otvoreni arterijski duktus kod prevremeno rođene novorođenčadi može da doprinese pojavi teških sekvela poput intrakranijalnog krvarenja, nekrotizirajućeg enterokolitisa, plućne hemoragije i bubrežne insuficijencije.

Izostanak spontanog zatvaranja se smatra anomalijom koju nazivamo perzistentni arterijski duktus (lat. *Ductus arteriosus persistens* – DAP). Naročito je čest kod prevremeno rođene novorođenčadi i sreće se kod 20-80% prematurusa, zavisno od gestacijske starosti. Dijametar, dužina i oblik DAP-a su varijabilni; najčešće je konusnog oblika, sa užim pulmonalnim krajem. Osnovna hemodinamska karakteristika DAP-a jeste postojanje levo-desnog šanta. Arterijska krv iz aorte se tokom čitavog srčanog ciklusa (i u sistoli i u diastoli)

odliva u plućnu arteriju i plućnu cirkulaciju, a potom vraća u levu komoru, zbog čega se javlja opterećenje plućne cirkulacije volumenom i dilatacija leve polovine srca. Volumen šanta zavisi od dijametra DAP-a i plućne vaskularne rezistencije. Plućna hipertenzija je moguća komplikacija, ali se retko razvija, zato što veličina komunikacije obično nije velika. U neonatalnom periodu je moguće medikamentno zatvaranje DAP-a antagonistima prostaglandina (indometacin, ibuprofen, paracetamol) i ono se preporučuje kod prevremeno rođene novorođenčadi. Najbolji efekti se postižu unutar četiri nedelje od rođenja. Uspeh lečenja DAP-a je odličan i prognoza je dobra. Kod prevremeno rođene dece, nelečen, hemodinamski značajan DAP može pogoršati kliničku sliku pratećih oboljenja i može biti precipitirajući faktor za razvoj intrakranijalne hemoragije, plućne hemoragije, nekrotizirajućeg enterokolitisa i bubrežne insuficijencije i time ugroziti i njihovo preživljavanje.

### **1.2.3. Bolesti gastrointestinalnog sistema kod prevremeno rođene dece**

#### ***Nekrotizirajući enterokolitis***

Nekrotizirajući enterokolitis (NEC – eng. *necrotizing enterocolitis*) se definiše kao akutno gastrointestinalno oboljenje nepoznate etiologije i neutvrđene tačne patogeneze, u kojem postoji difuzna ili lokalna nekroza mukoze i submukoze debelog i/ili tankog creva<sup>56,57</sup>. Proces se može širiti longitudinalno tako da zahvati dugi segment creva, ili može da progredira transmuralno dovodeći do perforacije. Javlja se prvenstveno kod prevremeno rođene novorođenčadi kod kojih je započet enteralni unos, mada, u retkim slučajevima, može nastati i kod ročne novorođenčadi. NEC se javlja kod približno 20% prevremeno rođene novorođenčadi, a incidencija oboljenja postepeno i kontinuirano raste svake godine, a obzirom na sve veći broj i bolje preživljavanje prevremeno rođene novorođenčadi, posebno onih sa veoma malom telesnom masom i niskom gestacijskom starošću<sup>56,57,58</sup>. Kod prevremeno rođene dece ekstremno male

porođajne telesne mase koja su lečena u jedinici intenzivne nege u našem regionu (Vojvodina) NEC se javlja kod oko 25% preživelih<sup>59</sup>.

Etiologija je još uvek nerazjašnjena, ali je opšte prihvaćeno mišljenje da je multifaktorijalna i da su strukturna nezrelost gastrointestinalnog trakta i nerazvijenost odbrambenih mehanizama creva, glavni predisponirajući faktori za razvoj NEC- a kod prevremeno rođene dece. Incidenca NEC-a iznosi oko 1-7% živorođene dece, sa udelom prevremeno rođene dece od 90%.

Klinička slika predstavlja kombinaciju simptoma i znakova sepse i parcijalne intestinalne opstrukcije. Letargija, bledilo, temperaturna nestabilnost i odbijanje hrane su obično prvi simptomi bolesti. Abdominalna distenzija, povraćanje sa primesama žuči i opšti znaci sepse čine tipičnu kliničku sliku. Abdominalna distenzija je generalizovana i povremeno postoji lokalizovani otok/induracija i crvenilo abdominalnog zida (mikroperforacija creva). Vene prednjeg trbušnog zida su izrazito dilatirane. Povraćanje je intermitentno i nije profuzno. Krv u stolici se pojavljuje u 25-50% bolesnika. Dijagnoza je suspektna kada se u novorođenčeta sa navedenim faktorima rizika razvija opisana klinička slika.

Terapija NEC-a danas podrazumeva kombinaciju konzervativnog i hirurškog tretmana, u zavisnosti od težine i stepena bolesti koji se određuje na osnovu opšte prihvaćene klasifikacije po Bell-u. Terapija težih stadijuma bolesti je kompleksna, dugotrajna i skupa, a pacijenti vrlo često imaju i teške hronične sekvele. Posledice razvoja NEC-a su mnogobrojne i uglavnom teške: oštećenje zida creva različitog stepena i malapsorpcija, generalizovane infekcije, sindrom multiorganske disfunkcije (MODS), itd. Kasne strikture kolona, posle izlečenja akutne bolesti, takođe nisu retkost (20% do 40% posle konzervativnog tretmana, ali ima ih i posle hirurške resekcije), a formiraju se obično 2-3 meseca posle početka bolesti. Smrtnost je visoka. Razlike između objavljenih serija su velike, ali se može reći da se stopa preživljavanja kreće između 60-70%.



Nekrotizirajući enterokolitis je vodeći uzrok smrti i trajnih oštećenja kod prevremeno rođene novorođenčadi, a u pojedinim studijama izdvojen je i kao značajan faktor rizika za narušeni psihomotorni razvoj deteta<sup>60</sup>.

#### **1.2.4. Neurološka i razvojna oštećenja kod prevremeno rođene dece**

Oko polovine dece koja su rođena između 24. i 28. gestacijske nedelje i oko trećine dece rođene između 29. i 32. gestacijske nedelje, ima neku vrstu invaliditeta. Prevremeno rođena deca češće imaju kognitivna i neuromotorna oštećenja, a rizik se povećava sa nižom GS. Zbog navedenog, prevremeno rođena deca zahtevaju intenzivnije praćenje razvoja, pogotovo u ranom uzrastu.

##### ***Dečja cerebralna paraliza***

Naziv dečja cerebralna oduzetost (DCO) ili cerebralna paraliza objedinjuje skup kliničkih sindroma koje karakteriše motorna disfunkcija, poremećaji posture i motornih veština, koji ne pokazuju tendenciju progresije. Učestalost cerebralne paralize je 3,6 na 1000 živorođene dece i od pedesetih godina prošlog veka se nije promenila uprkos napretku perinatalne i neonatalne zdravstvene zaštite. Klinička slika i pojava neuroloških oštećenja može se menjati tokom godina. Dijagnoza se ne postavlja na osnovu samo jednog, nego više kliničkih nalaza koji uključuju: kašnjenje u motornom razvoju, postojanje neuroloških znakova, primitivnih refleksa i poremećaja držanja<sup>61</sup>.

Težina i forma oboljenja mogu se proceniti i klasifikovati na osnovu nekoliko prihvaćenih sistema. Neurološka klasifikacija DCO odnosi se na prisutna neurološka oštećenja i topografsku distribuciju tih oštećenja. U okviru ovog sistema klasifikacije, DCO se deli na<sup>61,62</sup>:

- Spastični sindrom koji se manifestuje hemiplegijom (unilateralno oštećenje, ruka je više oštećena od noge), bilateralnom spastičnom

hemiplegijom ili hemiparezom (obuhvata sva četiri ekstremiteta sa većim oštećenjem na rukama, retka klinička forma), diplegijom (pareza oba donja ekstremiteta sa diskretno narušenom ili potpuno očuvanom funkcijom gornjih ekstremiteta) i kvadriplegijom (pareza sva četiri ekstremiteta sa oštećenom funkcijom donjih ekstremiteta više nego na rukama).

- Diskinetički sindrom (ekstrapiramidalni sindromi) koji se manifestuje nevoljnim pokretima koji interferiraju sa aktivnim i ometaju funkciju sva četiri ekstremiteta, obično sa većim oštećenjem na donjim ekstremitetima nego na gornjim. Ovi nevoljni pokreti mogu se manifestovati kao horea (brze, neredovne, neočekivane kontrakcije jednog mišića ili malih mišićnih grupa lica, bulbarnih mišića ili distalnih delova ekstremiteta), atetoza (spori, crvoliki, iskrivljeni pokreti, najviše uključuju distalne mišiće sa disinergijom suprotnih mišićnih grupa) ili distonija (ritmične, obično neprekidne promene tonusa sa pokretnim distorzijama trupa i najvećim delom proksimalnih mišića ekstremiteta), a mogu se videti i balizmi (široki, nagli ili grčeviti pokreti distalnih delova tela).
- Ataksični sindrom koji se manifestuje neuravnoteženim i nekoordinisanim voljnim pokretima trupa i muskulature ekstremiteta a donji ekstremiteti su obično više zahvaćeni od gornjih. Mešani sindrom se odlikuje spasticitetom i diskinezijom, npr: spastično-diskinetična kvadripareza, spastično-distonična hemiplegija itd.

Još jedan sistem klasifikacije, kojim se može proceniti stepen oštećenja je i GMFCS (eng. - *Gross Motor Function Classification System*). Ovaj sistem klasifikacije ima pet nivoa i zasniva se na proceni mogućnosti i opsega samostalnih pokreta, sa posebnim akcentom na mogućnost sedenja, hodanja i procenu mogućnosti samostalne mobilnosti uz korišćenje kolica. Osnovna zamisao ovog sistema klasifikacije je procena mogućnosti (odnosno stepena ograničenja) glavnih motornih funkcija u svakodnevnim životnim situacijama<sup>62</sup>.

Deca opterećena opstetričkom anamnezom imaju veći rizik za razvoj cerebralne paralize, posebno deca sa intrauterinim zastojem rasta i prevremeno rođena novorođenčad. Decu sa normalnim funkcionalnim razvojem, koja imaju blaži poremećaj u vidu hipertonusa ili hiperrefleksije treba pratiti. Rani znakovi uključuju poremećaje ponašanja, kašnjenje psihomotornog razvoja, te poremećaje govora i vida. U mnogim slučajevima spastičnost se primećuje tek nakon 6 meseci, dok se diskinezija javlja nakon 18 meseci života, a tek nakon toga se razvija ataksija. Dijagnozu dečje cerebralne paralize, danas je vrlo teško postaviti bez dugoročnog praćenja dece. Praćenje zahteva redovne preglede, minimalno do druge godine života. Postojanje tri ili više patoloških znakova u uzrastu od 8 meseci izrazito je prediktivno za cerebralnu oduzetost. U praksi, ova dijagnoza se često postavlja sa 4 meseca života što je prerano i nesigurno<sup>63,64</sup>.

Većina slučajeva cerebralne paralize ranije se pripisivala perinatalnoj asfiksiji, dok su danas osnovni razlog prematuritet i antepartalni događaji. Australijska studija, jedna od studija sa najvećim uzorkom od 213 dece sa cerebralnom paralizom, identifikovala je neke moguće uzroke cerebralne oduzetosti. Zanimljivo da je kod samo 4% dece uzrok akutna perinatalna hipoksija, a najznačajniji uzroci su: prematuritet u 78% slučajeva, intrauterini zastoj rasta kod 34% dece, intrauterina infekcija sa učešćem od 28%, krvarenje tokom trudnoće u 27% slučajeva, bolesti posteljice u 21% i blizanačka trudnoća u 20% slučajeva<sup>64</sup>.

U jednom istraživanju sa našeg poneblja navodi se da je više od polovine dece sa DCO prevremeno rođeno (54,4%)<sup>60</sup>. U istom istraživanju uočena je statistički značajna razlika u distribuciji kliničkih tipova DCO u odnosu na gestacijsku starost - kod dece sa spastičnim bilateralnim tipom DCO više su bila zastupljena prevremeno rođena deca. Utvrđena je statistički značajna razlika i u funkcionalnoj klasifikaciji na osnovu GMFCS u odnosu na gestacijsku starost - deca koja su manje gestacijske starosti imala su viši stepen prema GMFCS-u. Najveći procenat dece (70,0%) koja imaju dva ili više pridruženih oboljenja uočen

je kod izrazito prevremeno rođene dece i ovaj broj opada što je termin bliži normalnom terminu porođaja. Epilepsija je bila češća kod dece sa većom gestacijskom starošću i ova razlika u distribuciji bila je statistički značajna.

Prema procenama, oko 45% dece sa DCO ima intelektualnu ometenost definisanu kroz prisustvo značajno ispodprosečnog intelektualnog funkcionisanja uz istovremeno prisutan deficit ili oštećenje adaptivnog funkcionisanja procenjenog na individualno primenjenom testu inteligencije<sup>66</sup>. Snižen nivo intelektualnog funkcionisanja (IQ < 70) je zabeležen kod 23% do 44% dece sa DCO, a podaci iz pojedinih nacionalnih registara ukazuju da je zastupljenost nižeg stepena intelektualnog funkcionisanja (IQ < 50) između 28% i 41%<sup>67</sup>.

### ***Funkcija vida***

Mozak prevremeno rođene bebe je izložen vidnim stimulusima dosta ranije no što je bilo prirodno namenjeno. Oštećenja vida kao posledica oštećenja centralnog nervnog sistema su češća kod prematurusa. Pored smanjenja vidne oštrine usled oštećenja na nivou centralnog nervnog sistema mogu se javiti i drugi oftalmološki problemi poput strabizma i nistagmusa, poremećaja fiksacije, defekata vidnog polja i poremećaja bulbomotorike.

Najspecifični oftalmološki poremećaj kod prevremeno rođene dece je svakako retinopatija prematuriteta (eng. – *Retinopathy of prematurity* - ROP).

### ***Retinopatija prematuriteta***

Retinopatija prematuriteta (ROP) je vazoproliferativno oboljenje retine koje se javlja isključivo kod prevremeno rođene dece i koje može biti uzrok teškog oštećenja vida i slepila<sup>68</sup>. Incidencija i težina oboljenja obrnuto su proporcijalne gestacijskoj starosti deteta. ROP je oboljenje koje zahvata nezrele

krvne sudove retine, te je verovatnoća nastanka ovog oboljenja u direktnoj vezi sa stepenom vaskularnog razvoja, tako da početak i brzina progresije retinopatije skoro isključivo zavise od stadijuma razvoja, a ne i od neonatalnog komorbiditeta<sup>69,70</sup>. Kada se retina u potpunosti vaskularizuje rizik nastanka ROP više ne postoji. Sa druge strane, ukoliko periferna vaskularizacija nije završena – što je slučaj kod prevremeno rođene novorođenčadi, u uslovima ishemije, doći će do patološke neovaskularizacije, a novoformirani krvni sudovi će izazvati trakciju i ablaciju mrežnjače<sup>71</sup>.

Učestalost slepila, kao posledice retinopatije prematuriteta, je relativno mala, ali se razlikuje između zemalja<sup>72</sup>. U razvijenim zemljama oko 60% dece male porođajne telesne mase razvije neki stepen ROP-a, a ukoliko je porođajna telesna masa manja od 1000g procenat raste na 72%. Slepilo kao posledica se javlja u 8 do 10% slučajeva ROP-a<sup>72</sup>. U razvijenim zemljama prevalenca retinopatijom indukovane nesposobnosti je oko 5-8% u dečijem uzrastu. Blage akutne forme bolesti spontano prolaze bez sekvela po pitanju vida. Teške forme često progrediraju ka ožiljnoj retinopatiji i oštećenju funkcije vida. Oštećenje vida se uglavnom javlja kod novorođenčadi porođajne telesne mase manje od 1000g i gotovo isključivo kod novorođenčadi porođajne mase manje od 1500g. Preživljavanje sve nezrelje novorođenčadi se povećava, ali proporcija oštećenja u ovoj populaciji ostaje konstantna ili čak raste<sup>69</sup>. U srednje razvijenim zemljama poboljšanje neonatalne nege povećalo je preživljavanje prevremeno rođenih beba. Međutim zbog neadekvatne opšte i posebno oftalmološke nege, teške forme retinopatije se javljaju kod novorođenčadi šireg opsega telesne mase i gestacijske starosti na rođenju i uzrokuju i do 39% oštećenja vida u dečijem uzrastu. Pod rizikom su i novorođenčad teža od 1500g, čak i 2000g na rođenju, kod kojih rizik ne postoji u zemljama sa optimalnom intenzivnom negom<sup>69</sup>.

Tretman ROP-a u velikoj meri utiče na ishod. Konzervativni tretman podrazumeva aplikaciju bevacizumaba (monoklonsko antitelo protiv endotelnog vaskularnog faktora rasta). Hirurški tretman obuhvata terapiju laserom ili

krioterapiju. U literaturi se navodi da postoji niža incidenca veoma visoke miopije ( $\geq 8.00$  dioptrija) kada se ROP tretira sa intravitrealnim bevacizumabom, u poređenju sa konvencionalnim laserima<sup>73</sup>. Laser terapija je pri tome povezana sa boljim efektima po vid u odnosu na krioterapiju, mada se ne smeju zaboraviti ni moguće komplikacije laserskog tretmana. Nakon tretmana prognoza je bolja, a verovatnoća progresije i nastanka ablacije retine je manja<sup>69</sup>. Kada su u pitanju posledice ROP, važno je imati na umu da je to doživotno oboljenje. Bez obzira na to da li je rađen bilo kakav tretman ili ne, retina prevremeno rođenog deteta u odrasloj dobi se razlikuje u odnosu na retinu odraslog čoveka koji je rođen u terminu<sup>72</sup>. Pored toga, ROP povećava rizik nastanka miopije, astigmatizma, anizotropije, strabizma, nistagmusa, ablacije mrežnjače, katarakte i glaukoma u detinjstvu i kasnijem životnom uzrastu<sup>72</sup>.

### ***Funkcija sluha***

Oštećenje sluha predstavlja najčešći urođeni senzorni deficit koji je moguće detektovati odmah po rođenju deteta. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije, incidencija kongenitalnih oštećenja sluha iznosi 1–3%. Međutim, često se navodi i podatak da je kod novorođenčadi koja su lečena u jedinicama neonatalne intenzivne nege, učestalost oštećenja sluha znatno veća i da se javlja u 2 - 4 % slučajeva<sup>74,75,76,77</sup>. Zajednički komitet za dečji sluh (eng. - *Joint Comitee on Infant Hearing*) izdvojio je deset najčešćih faktora rizika koji mogu dovesti do urođenih ili rano stečenih oštećenja sluha, a to su: boravak u jedinicama intenzivne neonatalne nege više od 5 dana, mala telesna masa na rođenju (<1500g), nizak Apgar skor, hiperbilirubinemija, primena mehaničke ventilacije više od 5 dana, intrauterine infekcije, bakterijski meningitis novorođenčadi, kraniofacijalne malformacije, primena ototoksičnih lekova i pozitivna porodična anamneza.

Većina istraživanja koja su se bavila ispitivanjem funkcije sluha kod prevremeno rođene dece, bavila su se pitanjem sazrevanja auditivnih puteva, sagledavajući ih preko rezultata evociranih potencijala moždanog stabla. U ovim istraživanjima, došlo se do zaključka, da prevremeno rođena deca imaju usporenu maturaciju auditivnih puteva u poređenju sa decom rođenom u terminu, ali i da kod određenog broja dece može doći do poboljšanja praga sluha do granice urednog. Zbog navedenog, prilikom interpretacije nalaza, uvek treba imati na umu i korigovani uzrast deteta, kao i činjenicu da ovu decu treba pratiti bar do treće godine života, kako ne bi došlo do preuranjenog postavljanja dijagoze auditivne disfunkcije.

### ***Razvojna oštećenja***

Prema navodima iz literature učestalost različitih oblika ometenosti u razvoju, koji su registrovani tokom prvih godina života kod prevremeno rođene dece, kreće se između 8–13% i značajno je veći nego u populaciji dece rođene u terminu. U novije vreme, posebno se ističe značaj grupe blažih smetnji i poremećaja koje je moguće registrovati tek kasnije tokom detinjstva, a koje se odnose na senzorne, motoričke, govorno-jezičke ili kombinovane smetnje. Upravo ovo je glavni razlog zbog čega je neophodno kontinuirano praćenje sve prevremeno rođene dece, tokom čitavog ranog razvojnog perioda.

Kada govorimo o praćenju razvoja prevremeno rođene dece istraživanja nesumnjivo ukazuju da treba uzeti u obzir korekciju uzrasta. Korekcija se odnosi na uvažavanje razlike između detetovog prevremenog rođenja i nedelja preostalih do terminskog rođenja. U literaturi postoje izvesna neslaganja oko toga da li je potrebno uvažiti punu korekciju uzrasta i kada jeste, do kog uzrasta se ona uvažava. To pitanje postaje veoma značajno kada je reč o proceni odstupanja od uzrasnih normativa kognitivnog, motoričkog, vizuelnog ili auditivnog razvoja ove dece. Den Ouden i saradnici, objavili su obuhvatnu studiju u kojoj su pratili

normative razvoja prevremeno rođene dece bez smetnji u razvoju, tokom prve dve godine života<sup>78</sup>. U uzrastu od godinu dana svi ispitivani elementi psihomotornog razvoja prevremeno rođene dece bili su u skladu sa njihovim korigovanim uzrastom, izuzev normativa razvoja grube motorike, koji su deca dostizala nekoliko nedelja ranije. Bez uvažene korekcije, normativi terminski rođene dece dostizani su značajno kasnije, a kod neke prevremeno rođene dece ukazivali su na razvojno kašnjenje do čak šest meseci. U uzrastu od dve godine, prevremeno rođena deca sustigla su normative svog hronološkog uzrasta ili bila čak naprednija u odnosu na vršnjake rođene u terminu. Autori su zaključili da je za većinu funkcija u ranom uzrastu, neophodno uvažavati korekciju uzrasta tokom prve godine razvoja, ali i da je potrebno biti oprezan prilikom dužeg praćenja, kada se očekuje približavanje hronološkom uzrastu, kako ne bi došlo do nepotrebnog kašnjenja u indentifikaciji smetnji i poremećaja.

Inovacije i tehnološki napredak u neonatalnoj intenzivnoj nezi uspele su da unaprede kognitivne i motoričke ishode razvoja prevremeno rođene dece. Ipak, poslednjih godina postoji sve više dokaza da nepovoljno senzorno okruženje (bolne medicinske procedure, preterana buka koju proizvode aparati u NICU) vodi ka drugim vrstama smetnji i poremećaja u ovoj populaciji dece<sup>79</sup>. Pojedini istraživači ispitivali su karakteristike senzorne modulacije kod prevremeno rođene dece i ustanovili da postoje razlike u senzornom procesuiranju u odnosu na terminski rođenu decu. Ovakve razlike predstavljaju pre svega posledicu nezrelosti funkcije čula i centralnog nervnog sistema, što dovodi do problema u senzornoj integraciji ili modulaciji. Pojedina istraživanja, koja su se bavila ovom problematikom, ističu i poremećaje auditivnog procesuiranja kod prevremeno rođene dece kao posledicu nezrelog funkcionisanja, ukazujući posebno na značaj gestacione starosti kao glavnog faktora sazrevanja kortikalnog odgovora<sup>80,81</sup>. Snižena ili preterano povišena osetljivost prema taktilnim i auditivnim dražima, koju u bihevioralnom smislu iskazuju prevremeno rođena deca, posledica su invazivnih medicinskih procedura u jedinicama intenzivne neonatalne nege tokom



prvih nedelja života<sup>79,83</sup>. Svetska zdravstvena organizacija navodi da poremećaj u senzornoj modulaciji negativno utiče na razvojne karakteristike deteta, koje mogu ozbiljno ograničavati kvalitet njegovog funkcionisanja u svakodnevnom životu, zbog čega ih je neophodno na vreme prepoznati i tretirati.

U novije vreme sprovode se različite studije, u kojima se pokušava ustanoviti patoanatomski supstrat koji predstavlja osnovu za lošije neurološke, psihomotorne i socijalne ishode kod prevremeno rođene dece. Nekoliko istraživanja ukazalo je na povezanost izmenjene sheme razvoja bele mase mozga i prethodno navedenih problema. Ove abnormalnosti bele moždane mase posebno su česte i vidljive kod veoma nezrele prevremeno rođene novorođenčadi, na konvencionalnom MRI-u se detektuju kao alteracija u difuziji signala ili gubitak zapremine moždane mase sa uvećanjem komora<sup>84</sup>. Regionalne varijacije u difuziji signala, verovatno su posledica razlike u maturaciji/mijelinaciji. Ekstremno i veoma nezrela prevremeno rođena novorođenčad, u korigovanom postnatalnom uzrastu koji odgovara terminskom novorođenčetu, pokazuju široko rasprostranjene regionalne razlike u parametrima difuzije signala, u odnosu na terminsku novorođenčad<sup>85</sup>. Ove razlike u strukturi bele mase, povezane su sa narušenim motorim i kognitivnim razvojem u uzrastu od dve godine i lošijim socijalnim veštinama u uzrastu od pet godina<sup>86,87</sup>.

### ***Emocionalni razvoj, ponašanje i psihomotorni problemi***

Literaturni podaci ukazuju na mogućnost izmenjenog emotivnog i socijalnog razvoja i sazrevanja kod dece koja su prevremeno rođena.

U jednoj meta analizi koja je obuhvatila 15 istraživanja u zaključku je iznešena trvrdnja da prevremeno rođena deca predškolskog uzrasta imaju lošije socijalne sposobnosti i interreakciju, lošiju samoregulaciju na polju emocija i obrazaca ponašanja, te snižen stepen pažnje<sup>88</sup>. Poremećaj hiperaktivnosti i deficit pažnje (ADHD) pronađen je kod 8,9% dece koja su prevremeno rođena<sup>88</sup>.

U istraživanju *Rogers*-ove i saradnika, pokazano je da deca rođena pre 30. gestacijske nedelje ili PTM<1250g, imaju izmenjenu shemu arhitektonike orbitofrontalnog korteksa desne moždane hemisfere i da je to mogući razlog specifičnog deficita “socijalno – emotivnih performansi” koji se može detektovati kod ove dece u uzrastu do pete godine života<sup>87</sup>. U jednom drugom istraživanju koje je obuhvatilo prevremeno rođenu decu koja su rođena pre navršene 29. gestacijske nedelje, pokazano je ova deca, u odnosu na kontrolnu grupu terminske dece, u uzrastu od 42 meseca, pokazuju viši nivo frustracije i straha i da imaju drugačiju shemu ekspresije emocija<sup>89</sup>.

### **1.2.5. Često vraćanje u bolnicu**

Deca rođena sa ekstremno niskom PTM (500-999 grama) nakon otpusta iz bolnice češće se rehospitalizuju i češće imaju dodatne zdravstvene probleme godinama nakon rođenja. Između ostalog, pogoršanje hroničnih respiratornih oboljenja i akutne respiratorne bolesti (infekcije) su najčešći razlog ponovnog dolaska u bolnicu.

## **1.3. Arteficialne reproduktivne tehnologije**

Arteficialne reproduktivne tehnologije (ART) uključuju sve metode za tretman neplodnosti koje podrazumevaju manipulaciju jajnim ćelijama majke ili spermatozoidima oca<sup>90</sup>.

Tehnike ART podrazumevaju uzimanje jajnih ćelija iz ovarijalnog tkiva žene, njihovo spajanje sa spermatozoidima u laboratorijskim uslovima, i potom, vraćanje gameta/embriona u matericu žene ili doniranje drugoj pacijentkinji. ART ne uključuju tretmane koji se bave isključivo tretiranjem spermatozoida (intrauterina ili veštačka inseminacija- IUI) ili cikluse u okviru kojih pacijentkinja

koristi terapiju u cilju stimulacije ovulacije, prilikom čega se ne vrši punkcija jajnih ćelija i ovi postupci pripadaju širem pojmu biomedicinski potpomognute oplodnje<sup>90,91,92,93</sup>.

Arteficijalne reproduktivne tehnologije se mogu klasifikovati na sledeći način:

IVF (*in vitro fertilizacija*, vantelesna oplodnja) podrazumeva uzimnje jajnih ćelija, njihovo oplođenje u laboratoriji i potom prenos nastalog embriona u matericu pacijentkinje kroz cervikalni kanal. U okviru nekih postupaka IVF, oplodnja uključuje i specijalizovanu tehniku poznatu kao intracitoplazmatsko ubrizgavanje spermatozoida (ICSI – engl. *intracytoplasmic sperm injection*) kada se jedan spermatozoid ubrizgava direktno u jajnu ćeliju. Na našem pondeblju, ovo je daleko najčešće upotrebljavana tehnika arteficijalne reprodukcije.

GIFT (engl. *gamete intrafallopian transfer*) odnosno transfer gameta u jajovod pacijentkinje je metoda koja podrazumeva korišćenje laparoscopa kojim se vrši transfer neoplođene jajne ćelije i spermatozoida u jajovod žene kroz incizije na prednjem trbušnom zidu.

ZIFT (engl. *zygote intrafallopian transfer*) podrazumeva oplođenje jajne ćelije u laboratoriji, i potom, unošenje zigota laparoskopom u jajovod pacijentkinje kroz incizije na prednjem trbušnom zidu.

Pored toga, ART se mogu klasifikovati u odnosu na to da li se procedura obavlja vlastitim jajnim ćelijama pacijentkinje ili se radi o donorskim jajnim ćelijama, kao i u odnosu na to da li su oplođene jajne ćelije “sveže” ili prethodno krioprezervirane.

Vodeće indikacije za IVF su oštećenje jajovoda, nepoznat uzrok steriliteta, endometrioza, muški faktor steriliteta, zatim, neuspeh indukcije ovulacije nakon 3 pokušaja, neuspeh intrauterine inseminacije nakon 3 ciklusa i sl.

Uz maksimalno pojednostavljivanje, proces IVF kao najčešće korišćeni metod asistirane reprodukcije, može se opisati na sledeći način:

Prva faza procesa je stimulacija folikulogeneze i ovulacije. U cilju dobijanja što većeg (ali ne i prevelikog) broja jajnih ćelija vrši se hormonska stimulacija žene. Različite sheme za stimulaciju folikulogeneze su veoma slične, a sve varijacije zavise od iskustva tima koji priprema pacijentkinju, starosti pacijentkinje i ostalih faktora koji su relevantni za uspeh procedure. Ukratko, shema se bira prema pacijentu i posavljenim ciljevima.

Drugi korak je izolacija jajnih ćelija. Danas se jajne ćelije najčešće uzimaju aspiracionom metodom, transvaginalnim putem pod kontrolom ultrazvuka. Nekada je to bilo laparoskopskim putem, a transabdominalni (punkcioni, aspiracioni put) se danas ređe koristi, samo u specifičnim slučajevima. Za ženu je ova faza najkritičnija. Rizici vezani za intervenciju punkcije folikula i aspiraciju jajnih ćelija su: mogućnost reakcije na lekove i/ili anesteziju, rizici vezani za prolazak punkcijske igle kroz vaginu u jajnik, a koji uključuju infekciju, krvarenje, oštećenje tkiva-svoda vagine, mokraćne bešike, krvnih sudova, uretre, materice i jajnika i formiranje priraslica zbog unutrašnjih ožiljaka. U izuzetno teškim slučajevima može se pojaviti neuobičajeno krvarenje ili oštećenje tkiva koje se može korigovati isključivo hirurškom intervencijom.

Treći korak podrazumeva proces vantelesne oplodnje. Treću fazu, ujedno i najkritičniju za uspeh procedure, kontroliše embriolog/biolog. U ovoj fazi se dešava oplodjenje u laboratorijskim uslovima. Postoji nekoliko različitih varijanti oplodjenja. Klasični IVF je kada se oplodjenje dogodi spontano, ali u kontrolisanim uslovima. ICSI varijanta je kada embriolog kontroliše i ovu fazu oplodjenja, tj. kada mikromanipulatorima i mikrošpicem ubrizgava odabrani spermatozoid u jajnu ćeliju. Kada je u jajnu ćeliju ubrizgan spermatozoid, provera fertilizacije se vrši nakon 14-16h, a 24h kasnije se proverava da li je došlo do adekvatne deobe.

Procenat uspešnosti asistirane reprodukcije dobrim delom zavisi od kvaliteta opreme i rada embriološke laboratorije. Generalno govoreći, uspešnost oplodjenja veća je kod klasične IVF procedure, nego kod ICSI metode.

Četvrta faza obuhvata ubacivanje embriona u matericu, odnosno embriotransfer (ET). Ovo je poslednja faza procesa. Embrion se ubacuje u matericu putem specijalnog katetera i uvek se ubacuje više embriona (ukoliko ih ima) da bi se povećala verovatnoća implantacije embriona. Kvalitetna stimulacija u fazi folikulogeneze je omogućila dobijanje velikog broja jajnih ćelija, pa samim tim i embriona, što olakšava rad u ovoj fazi procesa. Obično se ubacuje 2-4 embriona, a višak se zamrzava ako za to postoje uslovi. U ređim slučajevima se dešava da dođe do implantacije velikog broja embriona što smanjuje mogućnost za uspešno privođenje trudnoće kraju. U takvim situacijama se radi embrioredukcija, odnosno smanjivanje broja nidiranih embriona na 1 - 2 ili maksimalno tri.

#### **1.4. Istorijat razvoja arteficialnih reproduktivnih tehnologija**

Može se reći da pitanje uzroka, kao i pokušaji rešavanja problema neplodnosti preokupiraju ljude od kako postoji civilizacija. Svaka era u razvoju ljudskog društva i nauke, donosila je pojedina saznanja, nudila manje ili više tačne odgovore kao i rešenja ovog problema. Najranije informacije u vezi bračnog infertiliteta nalaze se još u Egipatskim spisima. Egipatski lekari prvi su spoznali činjenicu da uzrok neplodnosti može ležati i u ženi i u muškarcu, a tradicionalni lekovi za lečenje steriliteta koji su smišljeni u to vreme, uz samo neznatne modifikacije, korišćeni su i stotinama godina kasnije<sup>94,95</sup>.

Moderna istorija arteficialnih reproduktivnih tehnologija započinje ranim pokušajima transfera embriona olgednih životinja, a jedan od najstarijih takvih

pokušaja je izveo profesor Walter Heap na Univerzitetu u Kembridžu još 1890. godine<sup>94</sup>. Posle njega, 1934. godine, Gregory Pincus izolovao je jajnu ćeliju i spermatozoide zeca i implanirao ih u matericu surogat-ženke i na taj način dobio viabilan embrion<sup>94</sup>.

Počeci arteficialnih reproduktivnih tehnologija kod ljudi vezuju se za prve pokušaje *in vitro* fertilizacije početkom sedamdesetih godina prošlog veka. Prvi pokušaj *in vitro* fertilizacije kod ljudi načinjen je 1973. godine u Melburnu (Carl Wood i John Leeton), ali je okončan bez uspeha. Međutim, samo pet godina kasnije, 25.jula 1978. godine u 11:47h, rođenjem *Louise Brown* - prve "bebe iz epruete", dolazi do dugo priželjkivanog, ogromnog pomaka u dugoj istoriji lečenja infertiliteta. U narednih 6 meseci, rođena su još dva novorođenčeta začeta vantelesnom oplodnjom (devojčica *Cortney Cross* i dečak *Allister McDonald*). Od tog momenta, vantelesna oplodnja, odnosno - *in vitro* fertilizacija postaje široko prihvaćena tehnika lečenja neplodnosti<sup>94,95</sup>.

Prva beba začeta IVF-om u Australiji rođena je 1979.godine, a 1981. godine rođeno je i prvo novorođenče iz IVF trudnoće u Sjedinjenim Američkim Državama.

Prvi blizanci začeti IVF-om, rođeni su 1982.godine u Velikoj Britaniji.

Na našim prostorima, vantelesna oplodnja dobija zamajac krajem osamdesetih i početkom devedesetih godina prošlog veka. Prvo živorođeno novorođenče na teritoriji AP Vojvodine, rođeno je 1991. godine, a proces vantelesne oplodnje i tok trudnoće, pratio jetim pod rukovodstvom prof.dr Milenka Bujasa – jednog od pionira vantelesne oplodnje u bivšoj SFRJ.

Sažeto rečeno, više međusobno povezanih i međuzavisnih događaja uticalo je na početak i potonji uspeh tehnika vantelesne oplodnje – a ti, najznačajniji momenti su:

- Napredak u embriološkoj laboratoriji – Chang, Whitingham (1959–1978)

- Uvođenje laparoskopije za aspiraciju oocita – Palmer, Fragenheim (1963 – 1975)
- Primena stimulacije ovulacije – klomifen, gonadotropini, HCG – Lunenfeld, Gemzell (1965 – 1970)
- Uvođenje RIA metoda za analizu hormona – estradiol, LH timing ovulacije (1971)
- Uvođenje ultrazvučne dijagnostike za praćenje rasta folikula – Donald, Kratochwill (1965 – 1981)

Povećanje uspešnosti tehnika vantelesne oplodnje, sa 5% – 10% na čak 30%–50%, duguje se sledećim važnim dostignućima:

- Uvođenje metode aspiracije oocita uz pomoć transvaginalnog ultrazvuka – Lenz, Wikland (1981 – 1990)
- Zamrzavanje embriona – Leyland, Zielmaker, Trounson (1984)
- Donacija oocita – Lutjan (1984)
- Zamrzavanje oocita – Chen, Gook, Trounson (1986)
- Preimplantaciona genska dijagnostika (PGD) – Handyside (1990)
- ICSI – Palermo (1992)

Poslednjih dvadesetak godina obeleženo je mnogim uspesima, stalnim usavršavanjem i dinamičnim napredkom arteficialnih reproduktivnih tehnologija, kako u naučno-medicinskom, tako i u pogledu razvoja procedura dobre kliničke prakse, etičkih i zakonskih normi.

Na samom početku novog milenijuma, 2000.godine, *Kutluk Oktay i Guvenc Karlikaya* prijavili su prvu uspešnu transplantaciju humanog ovarijalnog tkiva nakon smrzavanja<sup>96,93</sup>. Takođe, opisan je i u upotrebu uveden potpuno novi medijum za kultivaciju embriona koji nije sadržavao proteine<sup>97</sup>.

Tokom 2001.godine, *Ri-Cheng Chian* i saradnici prijavili su rođenje deteta koje je razvijeno iz krioprezerviranog embriona nastalog iz *in vitro* maturiranog

oocita dobijenog iz ne-stimulisanog ciklusa kod žene sa sindromom policističnih jajnika<sup>98</sup>.

Iste godine, grupa australijskih naučnika je uspela da razvije tehniku oplodnje jajne ćelije bez upotrebe spermatozoida. Ovaj korak otvorio je mogućnost aseksualne (jednopolne) reprodukcije. Naučni tim jedne privatne američke kompanije, u svrhu istraživanja matičnih ćelija, klonirao je prvi ljudski embrion (do stadijuma od 6 ćelija)<sup>99</sup>.

Godine 2003, u literaturi je opisana prva uspešna IVF trudnoća nakon stimulacije jajnika upotrebom agonista rekombinantnog stimulirajućeg hormona folikula (rFSH) dugog delovanja<sup>100</sup>.

Tokom 2004.godine *Jacques Donnez* je izvestio naučnu javnost o prvom uspešno iznešenoj trudnoći nakon ortotropne transplantacije krioprezerviranog tkiva jajnika<sup>101</sup>. Objavljeni su i prvi članci o prirodnom ovulacijskom ciklusu u IVF u kombinaciji sa *in vitro* maturacijom, kao potencijalnom pristupu u lečenju neplodnosti<sup>98</sup>. *David Gardner* i njegov tim, sproveli su prvi pokušaj prenosa jednog blastocista u cilju poboljšanja ishoda trudnoće i smanjenja rizika od višestruke trudnoće<sup>102</sup>.

Iz ovog perioda datiraju i prve, u naučnoj literaturi prijavljene, uspešno okončane trudnoće nakon uvođenja tehnika PGD<sup>103,104,105,106</sup>. Po prvi put su primenjene tehnike komparativne genomske hibridizacije i ispitivanja polarnog tela, u svrhe preimplantacione genetske dijagnostike hromozomskih aneuploidija<sup>107</sup>.

2006. godine, *Mohamed Bedaiwy* opisao je prvu uspešnu krioprezervaciju intaktnog jajnika sa krvožilnom peteljkom<sup>108</sup>.

Godine 2007. rođeno je prvo dete koje je začeto korišćenjem jajne ćelije koja je podvrguta *in vitro* maturaciji, potom zamrznuta i nakon odmrzavanja oplodena. Pasquale Patrizio predstavio je novu tehniku zamrzavanja jajnika



(''multi-gradient freezing''), koja omogućava očuvanje normalne arhitekture jajnika<sup>109</sup>.

Tokom 2008. godine, iznešena je prva trudnoća kod žene koja je nosilac mutiranog BRCA2 gena. Iste godine, Son Weon-Young i njegov tim, uočili su da interval između ubrizgavanja HCG i odabira oocita od 38h u značajnoj mjeri poboljšava in vivo i in vitro maturaciju jajnih ćelija<sup>110</sup>. U Indiji, Rajo Devi Lohan i Omkari Panwar postale su najstarije majke na svetu koje su rodile u dobi od 70 godina.

U 2009. godini rođene su osmorke (6 dečaka i 2 devojčice) *Nadie Suleman*, 33-godišnje iračko-američke žene iz Kalifornije (SAD). Njen ginekolog, *Michael Kamrava* prebacio je ukupno dvanaest zamrznutih zametaka koji su preostali iz prethodnih stimuliranih ciklusa IVF-a. Ovakvu praksu osudio je medicinski odbor Kalifornije i proglasio je kao "životno ugrožavajućom" zbog čega je Kamravi oduzeta licenca za rad.

Cetrorelix acetat (LHRH antagonist) odobren je od strane FDA (eng. - Food and Drug Agency) za kliničku upotrebu u IVF programima.

Godine 2010, *Midland Fertility Services* u Velikoj Britaniji, potvrdio je prvu uspešnu trudnoću iz vitrifikovanih blastocista. Iste godine, jedna žena iz Indije, postala je najstarija majka na svetu koja je dobila trojke - u 66. godini života.

Tokom 2011. godine, uveden je novi sistem (EmbryoScope®) kontinuiranog praćenja ranog razvoja embriona. U decembru 2011, *Clare i Charlotte Marks* bili su prvi blizanci na svetu koji su rođeni upotrebom ovakvog sistema monitoringa.

## **1.5. Zakonska regulativa u vezi asistirane reprodukcije u Republici Srbiji**

U Republici Srbiji, ovo pitanje je regulisano Zakonom o biomedicinski potpomognutoj oplodnji, čija je poslednja verzija stupila na snagu u maju 2017. godine. Novi zakon je proširio definiciju postupaka biomedicinski potpomognutog oplodjenja koji se prehodno važećim zakonom sprovodio u skladu sa savremenim standardima biomedicinske nauke samo u slučaju neplodnosti, dok je novim zakonom proširen i na slučajeve postojanja medicinskih indikacija za očuvanje plodnosti. Novina uvedena novim zakonom je da i privatna praksa učestvuje u pružanju zdravstvene usluge ove vrste ukoliko ispunjava uslove propisane zakonom. Novim zakonom je na jasan način uređen nadzor nad sprovođenjem ovog zakona koji je ostao u nadležnosti Uprave za biomedicinu, s tim da je preciziran inspekcijski nadzor nad radom zdravstvenih ustanova koje obavljaju delatnost biomedicinski potpomognutog oplodjenja. Utvrđena je i potreba da se određeni stručni termini drugačije i preciznije definišu, a u cilju potpune harmonizacije domaćeg prava u ovoj oblasti sa pravom Evropske Unije.

Prema zakonu, pravo na postupak biomedicinski potpomognute oplodnje imaju punoletna i poslovno sposobna žena i muškarac kojima je potrebna pomoć postupcima biomedicinski potpomognute oplodnje u lečenju neplodnosti, a koji vode zajednički život u skladu sa zakonom kojim se uređuju porodični odnosi - supružnici, odnosno vanbračni partneri i koji su sposobni da vrše roditeljsku dužnost i u takvom su psihosocijalnom stanju na osnovu koga se opravdano može očekivati da će biti sposobni da obavljaju roditeljske dužnosti, u skladu sa zakonom, u interesu deteta. Izuzetno, pravo na postupke biomedicinski potpomognute oplodnje ima i punoletna i poslovno sposobna žena koja živi sama i koja je sposobna da vrši roditeljsku dužnost i u takvom je psihosocijalnom stanju na osnovu koga se opravdano može očekivati da će biti sposobna da obavlja roditeljske dužnosti, u skladu sa zakonom, u interesu deteta. Pored lica iz st. 1. i 2. ovog člana kojima je potrebna pomoć postupcima biomedicinski potpomognute

oplodnje u lečenju neplodnosti, pravo na postupak biomedicinski potpomognute oplodnje u homolognoj oplodnji ima i poslovno sposobna žena, odnosno muškarac koji su upotrebu svojih reproduktivnih ćelija odložili zbog postojanja mogućnosti smanjenja ili gubitka reproduktivne funkcije, a koji ispunjavaju uslove propisane u stavu 1. ovog člana<sup>113</sup>.

## **1.6. Intrauterini razvoj ploda, tok i ishod trudnoće nakon artefijalnog začeća**

Ispitivanje i identifikacija kratkoročnih i dugoročnih efekata artefijalnih reproduktivnih tehnologija je veoma izazovan zadatak. Prvenstveni razlog tome je velika heterogenost u načinu sakupljanja, obrade, klasifikacije i tumačenja, sada već, obilja informacija koje su prikupljene u različitim istraživanjima. Individualni pristup lečenju neplodnosti, brz napredak i stalne promene u metodologiji artefijalnih reproduktivnih tehnologija, uz ranije navedene poteškoće u vezi sa prikupljanjem i analizom podataka, značajno otežavaju precizno sagledavanje svih mogućih rizika i posledica artefijalnog začeća. Uprkos brojnim istraživanjima, naučnim publikacijama i akumuliranim dokazima, ostale su mnoge dileme u vezi odgovora na pitanja - da li su artefijalno začete trudnoće u većoj meri praćene rizicima za neadekvatan razvoj ploda, lošijim perinatalnim ishodom i kakve su dugoročne posledice po decu, kao i da li su ovi rizici podjednako zastupljeni u jedноплодним i višeplodnim trudnoćama.

### **1.6.1. Artefijalne reproduktivne tehnologije i intrauterini rast i razvoj**

Intrauterini razvoj ploda posledica je složene interreakcije između individualnog genetskog potencijala ploda i velikog broja faktora koji uključuju zdravstveni, nutritivni i endokrinološki status majke. U poslednje dve dekade

sproveden je veći broj studija koje su pokazale da deca rođena iz trudnoća nakon asistiranog začeća, imaju veći rizik za IUGR, malu telesnu masu na rođenju (SGA – engl. *small for gestational age*), prevremeno rođenje i različite urođene mane, što sve sugerise na mogućnost narušenog ili neoptimalnog intrauterinog razvoja.

Većina navedenih problema, najčešće je objašnjavana činjenicom da su trudnoće začete nekom od tehnika asistirane reprodukcije, dominantno, višepodne trudnoće dodatno opterećene morbiditetom i godinama majki – i da stoga nose više rizika za (ne)optimalan razvoj ploda. Međutim, ovakva tvrdnja je samo delimično tačna.

*Ceelen et al.* su identifikovali etiološke faktore i opisali neke patofiziološke mehanizme koji negativno utiču na rast i razvoj ploda iz arteficialno začetih trudnoća<sup>114</sup>.

Etiološki faktori i patofiziološki mehanizmi, koji utiču na rast i razvoj ploda, dele se na intrinzične i ekstrinzične faktore. Intrinzični faktori odnose se na karakteristike samog fetusa i tu spadaju različiti hromozomski poremećaji, hronična fetalna infekcija, prisustvo kongenitalnih malformacija i genetskih varijacija.

Ekstrinzični faktori mogu biti maternalni i uteroplacentarni. Od maternalnih faktora zastupljeni su prekonceptijska telesna masa i građa majke, starost majke, paritet i prekonceptijski nutritivni status. Maternalni faktori u trudnoći koji definišu fetalni rast i razvoj su postojanje kardiovaskularnih bolesti uključujući i razvoj hipertenzivnog sindroma u trudnoći, šećerne bolesti, renalnih bolesti, smanjenu oksigenaciju, neodgovarajuću ishranu u trudnoći, pušenje, upotrebu alkohola, lekova i drugih hemijskih agenasa<sup>115</sup>. Uterini i placentalni faktori koji doprinose poremećaju rasta i razvoja ploda su insuficijencija posteljice, poremećaji placentacije i pojava multiplih trudnoća.

Pored navedenih rizika, dodatni faktori koji prate postupke arteficialnog začeća i mogu da komplikuju ove trudnoće i naravno, utiču na rast i razvoj ploda, su uznapredovala reproduktivna dob majke, nuliparitet, različiti faktori infertiliteta - koji predstavljaju faktor rizika za komplikovani tok i lošiji ishod trudnoće, različita oboljenja majke, primena različitih dijagnostičkih i terapijskih intervencija - pre svega lekova, ali i operativnih procedura u lečenju infertiliteta i brojnih drugih faktora. Jednu od studija koja je ispitivala uticaj etiologije infertiliteta i različitih tehnika ART na rast i razvoj sproveli su Cooper i saradnici<sup>116</sup>. Rezultati ove retrospektivne studije koja je sprovedena 2011. godine i koja je obuhvatila 1246 fertilnih i 461 infertilnu ženu, pokazali su da deca (koja su začeta tehnikama ART-a) infertilnih majki češće imaju manju telesnu masu na rođenju i da su češće mala za datum, u odnosu na decu subfertilnih majki. Autori ove studije su izneli zaključak da patologija infertiliteta ima veći uticaj na fetalni rast i razvoj, nego sama terapija (i procedure koje se sprovode u lečenju) infertiliteta. Slična zapažanja izneli su Stern i saradnici, koji su proučavali podatke iz medicinske dokumentacije majki koje su začele trudnoću nekom od tehnika ART-a i majki koje su spontano zatrudnele. Tok trudnoće i perinatalni ishodi nisu se razlikovali između ispitivanih grupa, a kao najznačajni faktor rizika za nepovoljan (komplikovan) tok trudnoće ili pojavu nepovoljnih perinatalnih ishoda izdvojene bolesti majke, bez obzira na način začeća<sup>117</sup>.

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 rizike) i komorbidna stanja koja ih prate.

## 1.7. Arteficiojalne reproduktivne tehnike i genetika

Analiza epigenetskih mehanizama i imprintinga gena, danas predstavljaju sve dominantniju vizuru kroz koji se posmatraju i analiziraju patofiziološki mehanizmi gotovo svih funkcija u organizmu. Novije, uglavnom epidemiološke studije ili studije na animalnim modelima, ukazuju na postojanje povezanosti između ART tehnika i epigenetskih poremećaja<sup>115,118</sup>. ART može da izazove različite epigenetske alteracije višestrukim mehanizmima<sup>115</sup>. Direktna uticaja ART procedura se ogleda u promeni epigenetske sheme usled trauma koje su posledica upotrebljene tehnike ART-a, gde se prevashodno misli na protokole ovarijalne hiperstimulacije, zamrzavanje i odmrzavanje embriona i gameta, i naravno, manipulaciju i maturaciju gameta u *in vitro* uslovima pod uticajem brojnih faktora kulture medijuma, mikroklimatskih faktora i drugo. Indirektna uticaja ovih procedura na epigenetske mehanizme ogleda se i u činjenici da one omogućavaju da se određene genetske i epigenetske karakteristike para, koje su u vezi sa infertilitetom, prenesu na potomovstvo, iako ovo naravno, svakako ne bi bilo moguće u slučaju spontane koncepcije.

Dominantni molekularni mehanizmi koji leže u osnovi genskog imprintinga u slučaju arteficiojalno potpomognutih trudnoća, do sada nisu potpuno identifikovani i ispitani. U nekoliko studija uočena je drugačija shema metilacije DNK kod dece začete IVF-om i dece začete prirodnim putem<sup>119,120,121,122</sup>. Nasuprot tome, postoje i druge sprovedene studije koje nisu potvrdile ove nalaze<sup>123,124</sup>. Jedan eksperiment na animalnom modelu, dokazao je da je ekspresija većine placentarnih proteinskih transportera odgovornih za metabolizam nutrimenata značajno snižena nakon arteficiojalnog začeća. Takođe, u istoj studiji, uočeno je da je stepen metilacije pojedinih gena koji regulišu razvoj same placente smanjen, a da je istovremeno, metilacija fetalnih gena bila na istom nivou kao i u kontrolnoj grupi spontano začelih miševa<sup>118</sup>. Ipak, neka epidemiološka ispitivanja ukazuju i na mogućnost uticaja ART tehnika direktno

na genetski materijal embriona/fetusa, pa se tako sa asistiranim začećem najčešće dovode u vezu Beckwith –Wiedemann sindrom i Angelman sindrom, a nešto ređe Prader-Willi sindrom i Sillver – Rusell sindrom, a koji su upravo posledica imprintinga<sup>25,125</sup>.

U većini objavljenih istraživanja navodi se da tehnike asistirane reprodukcije povećavaju rizik za IUGR i rođenje dece male telesne mase što se najviše odnosi na IVF i ICSI. Ovo podatak je od izuzetnog značaja jer u naučnoj literaturi postoje mnogi dokazi o lošijem zdravstvenom statusu ove dece, ne samo u ranom detinjstvu, već i u adultnom dobu<sup>126</sup>. Međutim, u nekoliko studija pokazano je da deca iz trudnoća koje su začete krioprezerviranim embrionima, takav rizik nemaju, ali da zato imaju veći rizik da se rode kao velika za gestacijsku starost (>2SD od prosečne PTM za datu GS) ili sa makrozomijom (PTM>4500g)<sup>127,128,129</sup>. Deca začeta nakon krioprezervacije embriona imala su 1,29 puta veći rizik da budu velika za datum ili da imaju makrozomiju od dece začete spontano, a imala su i značajno viši rizik (1,45 puta) u odnosu na decu začetu tehnikama asistirane reprodukcije u kojima nisu korišćeni krioprezervirani embioni. Ovakav nalaz potvrđen je rezultatima još jedne studije, u kojoj su ispitivana deca istih majki, od kojih je jedno dete začeto tehnikom asistirane reprodukcije bez krioprezervacije, a drugo dete tehnikama uz korišćenje krioprezerviranog embriona. U ovom ispitivanju, deca rođena iz veštački začelih trudnoća uz korišćenje prethodno zamrznutih embriona, imala su čak 3,45 puta veći rizik da se rode sa velikom telesnom masom za datum ili makrozomijom u odnosu na svoju braću/sestre. Ovaj podatak jasno ukazuje da termičke manipulacije (tehnike zamrzavanja i odmrzavanja), najverovatnije mehanizmom epigenetske modifikacije, skoro sigurno utiču na potencijal rasta u ranoj embrionalnoj fazi razvoja.

Kao generalni zaključak, može se se reći da potencijalni uticaj imprintinga i modifikovanja epigenetskih mehanizama u slučaju asistiranog začeća, 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<sup>115</sup>.

Jedna vrsta prednosti arteficialnog začeca je potencijalna mogućnost genetskog odabira, obzirom da danas postoji mogućnost preimplantacione genetske dijagnostike (PGD), odnosno genetskog ispitivanja embriona. Parovi sa visokim rizikom za potomstvo sa naslednim bolestima imaju mogućnost dijagnoze genetske bolesti pre transfera embriona. Cilj tehnika preimplantacione genetske dijagnostike je da se izbegnu delikatne situacije kao što je ciljani ili spontani prekid ART začete trudnoće zbog prisutne nasledne (genske ili hromozomske) bolesti. Tehnike PGD se vrše u najranijoj fazi razvoja embriona, pre implantacije. Tehnike PGD obuhvataju kvantitativnu amplifikaciju genetskog materijala dobijenu iz samo jedne ćelije embriona i naknadnu hibridizaciju za dijagnostiku aneuploidija. Važnost mogućnosti PGD ilustruje podatak da su aneuploidije inače prisutne kod 35% spontanih pobačaja, a kod žena u poslednjoj dekadi fertilnog perioda (što je čest slučaj kod žena koje se podvrgavaju ART-u) incidencija aneuploidija je i duplo veća. PGD za monogenske bolesti podrazumeva kvantitativnu amplifikaciju genetskog materijala i naknadnu analizu genetske sekvence. Obzirom da ova mogućnost nema samo medicinske, već i mnoge etičke i moralne konsekvence i da potencijalno može biti i zloupotrebljena, indikacije za PGD regulisane su, ne samo pravilima medicinske struke, već i zakonskim aktima. Prema trenutno važećem zakonu o biomedicinski potpomognutoj oplodnji Republike Srbije, preimplantaciona genetska dijagnoza dozvoljena je isključivo u slučaju opasnosti od prenošenja nasledne bolesti, dijagnostike hromozomske i genetske bolesti ili ako je to potrebno zbog ponavljano neuspešnog postupka biomedicinski potpomognute oplodnje. Dozvolu za ovaj dijagnostički postupak daje Uprava za biomedicinu, na osnovu mišljenja multidisciplinarnog konzilijarnog veća za pitanja dijagnostike, osnovanog u skladu sa zakonom kojim se uređuje prevencija i dijagnostika genetičkih bolesti, genetički uslovljenih anomalija i retkih bolesti. Zabranjeno je sprovođenje preimplantacione genetske



dijagnostike u cilju odabira gameta, odnosno embriona određenog pola, kao i veštačku modifikaciju, odnosno promenu genetske osnove reproduktivnih ćelija ili embriona radi promene genetske osnove deteta<sup>113</sup>.

### **1.7.1. Arteficialne reproduktivne tehnike i urođene mane**

U nekoliko istraživanja i meta-analiza, navodi se podatak da deca rođena iz veštački začetih trudnoća imaju značajno viši rizik za različite urođene malformacije i da je taj rizik za oko 30-40% viši u odnosu na spontano začetu decu<sup>130,131,132,133</sup>. U nedavno objavljenoj studiji, načinjena je analiza rezultata 46 ranije sprovedenih istraživanja, koja su sumarno obuhvatila 124.468 dece rođene iz arteficialno započete trudnoće, i dobijeni podaci su potvrdili ovu tvrdnju, a izračunati relativni rizik za kongenitalne malformacije, za decu rođenu iz arteficialno začetih trudnoća iznosio je 1,37 (95%CI 1,26-1,48)<sup>134</sup>. Kada je upoređen rizik od urođenih mana, između dece začete IVF-om i dece začete ICSI-om, među grupama nije bilo statistički značajne razlike.

Rezultati prospektivne kohortne studije sprovedene u Izraelu potvrdili su da je rizik od urođenih malformacija kod dece začete IVF-om viši u odnosu na decu začetu prirodnim putem<sup>135,136</sup>. Ispitivanje je obuhvatilo 9.042 deteta začeta IVF-om (od 1997. do 2004.), a ova dece su upoređena sa 213.737 spontano začete dece. Rizik za pojavu kongenitalnih anomalija bio je veći kod dece začete IVF-om u odnosu na decu koja su začeta prirodnim putem, ovaj rizik bio je 1,73 puta viši u prvoj grupi dece. Rizik je ostao značajno viši (1,50 puta) i kada su deca stratifikovana u odnosu na godine majke, nivo stručne spreme, pol, gestacijsku starost i kalendarsku godinu u kojoj je sproveden tretman infertiliteta.

U Sjedinjenim Američkim Državama, sprovedeno je veliko epidemiološko istraživanje, kojim su obuhvaćeni podaci iz 64861 zdrastvenog kartona dece iz veštački začetih trudnoća i koji su upoređeni sa čak 4553215 kartona spontano

začete dece<sup>137</sup>. Rezultati istraživanja su pokazali da je rizik za nehromozomske kongenitalne malformacije viši (RR 1,28; 95%CI 1,15-1,42) kod dece začete veštačkim putem. Dodatno, ova studija je ukazala da su neke malformacije, poput traheozofagealnih fistula, atrezije jednjaka, intestinalne atrezije/stenoze, atrezije rektuma i deformiteta donjih ekstremiteta, posebno česte kod dece iz arteficiojnelno začelih trudnoća. Isti rezultati dobijeni su i kad su upoređeni samo podaci iz medicinske dokumentacije dece iz jednoplodnih trudnoća.

Jedno istraživanje bavilo se posebno pitanjem rizika od pojave urođenih srčanih mana kod dece začete ART-om, a rezultati su pokazali da ova dece imaju veći rizik za tetralogiju Fallot u odnosu na spontano začetu decu, i podjednak rizik od ostalih srčanih mana<sup>138</sup>. Učestalost tetralogije bila je duplo viša kod dece iz ART trudnoća (6,6% vs 3,5%).

Kada se uporede rizici koje sa sobom nose pojedine tehnike ART-a, istraživanja pokazuju da se značajne urođene mane (srčane mane, urogenitalne deformacije i muskuloskeletalni defekti) skoro duplo češće sreću kod dece začete korišćenjem tehnike ICSI, što je dosta značajan podatak jer danas, u svetu, ICSI čini 70% tretmana infertiliteta<sup>139</sup>.

## **1.8. Arteficiojnalne reproduktivne tehnike i prevremeno rođenje**

U većini sprovedenih istraživanja dokazano je da je učestalost prevremenog rođenja veća kod arteficiojnelno začete dece i da je ova pojava nezavisna od činjenice da li se radi o jednoplodnim ili višeploidnim trudnoćama.

U meta analizi koji su načinili *Mekdonald* i saradnici zaključuje se da je rizik za prevremeno rođenje kod jednoplodnih trudnoća začelih metodama asistirane reprodukcije 1,52 do 2,27 puta veći u odnosu na prirodno začete jednoploidne trudnoće, dok je rizik da se rodi dete sa malom telesnom masom 2,65 puta veći u arteficiojnelno začelih jednoploidnim trudnoćama<sup>8</sup>. Takođe, u godinu

dana kasnije objavljenom članku, ista grupa autora, zaključuje slično i kada se radi o višeplođnim trudnoćama, navodeći da je rizik za prevremeno rođenje (posebno pre 33. gestacijske nedelje) i malu porođajnu telesnu masu statistički značajno veći i kod arteficiojalno začete dece iz višeplođnih trudnoća<sup>9</sup>. U preglednom članku *Fauser*-a i saradnika, navode se podaci iz jedne skoro objavljene meta-analize, koja je sumarno obuhvatila 28000 dece koja su rođena iz arteficiojalno začelih jednoplodnih trudnoća, iznet je podatak da je rizik prevremenog rođenja sa GS < 32 nedelje 1,68 puta veći kod dece začete veštačkom oplodnjom, u odnosu na spontano začetu decu<sup>12</sup>.

Rezultati su bili slični i kad je upoređena verovatnoća rađanja dece sa malom i veoma malom telesnom masom na rođenju. Relativni rizik od rođenja deteta sa malom telesnom masom bio je 1,65 u odnosu na spontano začetu decu. Isto tako, relativni rizik za rođenje deteta sa veoma malom telesnom masom bio je viši kod arteficiojalno začete dece i iznosio je 1,93. Rizik za rođenje deteta sa malom telesnom masom za gestacijski uzrast bio je viši za oko 40% u odnosu na spontano začetu decu.

## **1.9. Arteficiojalne reproduktivne tehnike i maligniteti u dečjem uzrastu**

Još jedno značajno pitanje koje je aktuelno u stručnoj javnosti, tiče se povezanosti arteficiojalnog začeca i pojave malignih oboljenja u dečjem uzrastu. U do sada objavljenim istraživanjima, iznose se nekonzistentne tvrdnje, koje ipak, insinuiraju da postoji blago povećan rizik za pojedina maligna oboljenja kod dece koja su arteficiojalno začeta, ali da je ukupan rizik za pojavu maligniteta u dečjem uzrastu jednak ili tek blago veći od rizika kod spontano začete dece. Takav rezultat dala je i studija sprovedena u Velikoj Britaniji, u koju je uključeno čak 106.103 deteta koja su rođena iz veštački začelih trudnoća<sup>140</sup>. U ovoj studiji, relativni rizik za pojavu maligniteta u detinjstvu, za decu iz arteficiojalno začelih

trudnoća, iznosio je 0,98 (95%CI 0,81-1,19), dakle bio je jednak riziku u opštoj populaciji. Međutim, ista grupa ispitivača, nakon stratifikacije uzorka u odnosu na gestacijsku starost, pol, porođajnu telesnu masu, godine roditelja, primenjenu metodu asistiranog začeća i razlog infertiliteta, dobila je rezultat koji je ukazivao na povećan rizik od razvoja hepatoblastoma (kod arteficijalno začete dece sa porođajnom telesnom masom ispod 2500g) i rabdomiosarkoma kod dece čiji su roditelji bili stariji od 40 godina. Sličan rezultat potvrđen je i nalazima velike, nedavno objavljene studije koja je sprovedena u grupi nordijskih zemalja (Švedska, Danska, Finska i Norveška) i koja je obuhvatila 91796 dece<sup>143</sup>. Izračunati odnos rizika za pojavu maligniteta u detinjstvu, za grupu dece koja su rođena iz arteficijalno začete trudnoće iznosio je 1,08, ali je za dve vrste maligniteta – tumore centralnog nervnog sistema i epitelne neoplazme, bio signifikantno viši i iznosio je 1,44, odnosno 2,03. Još jedno istraživanje iz Norveške, kojim je obuhvaćeno više od 25000 arteficijalno začete dece i 1.600.000 spontano začete dece, pokazalo je da deca začeta ART-om imaju viši rizik oboljevanja od leukemije i Hodgkinovog limfoma<sup>141</sup>. Nasuprot tome, u istraživanju koje je sprovedeno u Holandiji, na uzorku od 9479 dece rođene iz arteficijalno začelih trudnoća, pokazano je da ova deca nemaju povišen rizik za pojavu maligniteta<sup>142</sup>

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrditi strukturu morbiditeta kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom (iz jednoplodnih i višeploidnih trudnoća) u prve dve godine života.
2. Identifikovati perinatalne faktore koji su povezani sa pojavom akutnih i hroničnih komplikacija i oboljenja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom.
3. Utvrditi karakteristike telesnog i ranog psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom na kraju dvanaestog, osamnaestog i dvadesetčetvrtog meseca života.
4. Utvrditi specifične faktore rizika za nepovoljan telesni, neurološki i psihološki ishod lečenja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom.

### **3. HIPOTEZE**

1. Morbiditet prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom viši je u odnosu na prevremeno rođenu decu začetu prirodnim putem, a u strukturi morbiditeta više su zastupljene kongenitalne anomalije, genetska oboljenja i hronična oboljenja koja su posledica prematuriteta.
2. Višeploidna trudnoća, starost majke preko 38 godina, hipertenzija majke, pre-eklampsija, eklampsija, oštećenje jetre, dijabetes melitus, intrauterusne infekcije povezani su sa većom verovatnoćom akutnih i hroničnih komplikacija i oboljenja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom.
3. Prematuritet, mala telesna masa za gestacijsku starost, primena mehaničke ventilacije i oksigenoterapije, intrakranijalna hemoragija, neadekvatan unos i metabolizam nutrijenata i mikroelemenata povezani su sa većom verovatnoćom akutnih i hroničnih komplikacija i oboljenja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom.
4. Pokazatelji telesnog i ranog psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom na kraju dvanestog, osamnaestog i dvadesetčetvrtog meseca života se ne razlikuju značajno u odnosu na decu začetu prirodnim putem.
5. Ekstremni prematuritet, intrakranijalna hemoragija, urođene mane i bolesti metabolizma, starost majke preko 38 godina su faktori koji su povezani sa

nepovoljnim telesnim neurološkim i psihološkim ishodom kod  
prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom.

## 4. MATERIJAL I METODE

U studiju su uključena prevremeno rođena deca koja su bila hospitalizovana u Službi za neonatologiju i intenzivnu i poluintenzivnu negu i terapiju, i koja su nakon toga, tokom prve dve godine života redovno praćena u neonatološkoj ambulanti Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu.

Retrospektivnim delom studije su obuhvaćena deca koja su lećena u Službi i praćena u neonatološkoj ambulanti, a koja su rođena počev od 01. 01. 2011.do 31.12.2012.godinei praćen do navršena puna 24 meseca života. Podaci o pacijentima koji su uključeni u retrospektivni deo istraživanja prikupljani su pregledom medicinske dokumentacije.U prospektivni deo studije su uključena deca koja su lećena u Službi i koja su praćena u neonatološkoj ambulanti, a koja su rođena između 01.01. 2013.godine i 31.12.2014. godine i potom praćena do navršenih 24 meseca života.

Iz navedene kohorte, formirane se dve grupe:

Ispitivana grupa (Grupa 1) je obuhavala svu prevremeno rođenu decu zaćetu vantelesnom oplodnjom koja su bila hospitalizovana i praćena na Institutu u navedenom periodu.

Kontrolna grupa (Grupa 2) obuhvatila je prevremeno rođenu decu zaćetu prirodnim putem. Deca iz kontrolne grupe izabrana su iz kohorte tako da njihov broj bude jednak broju dece iz ispitivane grupe. Ispitanici iz ove grupe su ujednaćeni ("mećovani") sa decom iz ispitivane grupe prema gestacijskoj starosti i datumu rođjenja. Gestacijska starost ispitanika iz kontrolne grupe se ne razlikuje za više od  $\pm 4$  dana u odnosu na decu iz ispitivane grupe. Datum rođjenja ispitanika



koji su uključeni u kontrolnu grupu se ne razlikuje za više od  $\pm 3$  meseca u odnosu na decu iz ispitivane grupe.

Kriterijumi za uključivanje u studiju:

Za ispitivanu grupu: asistirana koncepcija, prevremeno rođenje (gestacijska starost ispod punih 37 nedelja), hospitalizacija na odeljenju intenzivne nege i terapije ili odeljenju neonatologije po rođenju, redovno sprovedene kontrole u neonatološkoj ambulanti, kompletna medicinska dokumentacija.

Za kontrolnu grupu: spontana koncepcija, prevremeno rođenje (gestacijska starost ispod punih 37 nedelja), hospitalizacija na odeljenju intenzivne nege i terapije ili odeljenju neonatologije po rođenju, redovno sprovedene kontrole u neonatološkoj ambulanti, kompletna medicinska dokumentacija, odgovarajuća gestacijska starost i datum rođenja u odnosu na par iz ispitivane grupe.

Kriterijumi za isključenje iz studije:

Za obe grupe: nepotpuna medicinska dokumentacija, nepotpuno ili neredovno sprovedeno praćenje u neonatološkoj ambulanti Instituta, odbijanje roditelja/staratelja za uključivanje u studiju (nepotpisan informisani pristanak roditelja/staratelja).

Za kontrolnu grupu: pored prethodno navedenih kriterijuma, još i neodgovarajuća gestacijska starost i datum rođenja u odnosu na decu iz ispitivane grupe.

Uključivanje dece u istraživanje vršeno je nakon prethodno pribavljene pismene saglasnosti roditelja, odnosno zakonskog staratelja, za svakog pacijenta. Svoju saglasnost za učešće deteta u studiji, roditelj-staratelj potvrdio je potpisivanjem teksta pristanka informisanog pacijenta.

U momentu uključivanja u studiju uzimani su sledeći anamezni podaci:

Podaci u vezi sa majkom, trudnoćom i porođaju: starost majke u momentu koncepcije, broj prethodnih pokušaja asistirane koncepcije, stručna sprema, mesto stanovanja, hronične bolesti dijagnostikovane pre trudnoće, akutne i hronične bolesti dijagnostikovane tokom trudnoće (hipertenzija, pre-eklampsija, eklampsija, oštećenje jetre), prevremena ruptura plodovih ovojaka, primena lekova tokom trudnoće, jednoplodna ili višeplodna trudnoća.

Podaci o poremećajima posteljice i ovojaka: ablacija, placenta previja, horioamnionitis.

Podaci u vezi sa detetom: intrauterina infekcija, intrauterina restrikcija rasta, način porođaja, Apgar skor. Antropometrijski parametri (telesna masa, telesna dužina, obim glave) na rođenju i tokom perioda ambulantnog praćenja deteta. Dužina inicijalne hospitalizacije deteta. Dužina invazivne i/ili neinvazivne respiratorne potpore i oksigenoterapije. Dijagnoze na otpustu iz bolnice: prisustvo teških posledica prematuriteta, što podrazumeva: intrakranijalnu hemoragiju 3. i 4. stepena (definisano u međunarodnoj klasifikaciji bolesti – deseta revizija (MKB10) pod šifrom P52.2), cističnu periventrikularnu leukomalaciju, retinopatiju prematuriteta, bronhopulmonalnu displaziju, nekrotizirajući enterokolitis, sepsu i/ili meningitis (mikrobiološki ili klinički dijagnostikovano). Prisustvo urođenih anomalija ili genetskih sindroma i bolesti (definisanih u MKB10 pod šiframa Q00 do Q99), kao i prisustvo urođenih bolesti metabolizma (definisanih u MKB10 pod šiframa E00 do E90).

U retrospektivnom delu studije, pregledani su specijalistički izveštaji iz neonatološke ambulante pri posetama deteta u uzrastu deteta od 12, 18 i 24 meseca, i beleženi su sledeći podaci: sve prethodno postavljene dijagnoze koje su navedene na specijalističkim izveštajima iz neonatološke ambulante, antropometrijski parametri u momentu pregleda (telesna dužina, telesna masa i obim glave), neurološki nalaz (tonus, trofika, kožni i tetivni refleksi, prisustvo lateralizacije u neurološkom nalazu), nalaz oftalmologa (uređan nalaz/pataloški

nalaz), procena fine i grube motorike, govora, kognitivne funkcije i socijalnog kontakta i zbirna procena psihomotornog razvoja.

U prospektivnom delu studije, pri kontrolnim pregledima u neonatološkoj ambulanti, u uzrastu deteta od 12, 18 i 24 meseca, određivano je i beleženo sledeće:ranije postavljene dijagnoze koje su navedene u dosadašnjoj medicinskoj dokumentaciji, antropometrijski parametri u momentu pregleda (telesna dužina, telesna masa i obim glave), neurološki nalaz (tonus, trofika, kožni i tetivni refleksi, prisustvo lateralizacije u neurološkom nalazu), nalaz oftalmologa (uredan nalaz/pataloški nalaz), procena fine i grube motorike, govora, kognitivne funkcije i socijalnog kontakta i zbirna procena psihomotornog razvoja.

Pacijenti nisu izlagani dodatnim dijagnostičkim procedurama zbog uključivanja u ispitivanje.

Statistička analiza prikupljenih podataka je izvedena korišćenjem odgovarajućih statističkih metoda i testova.

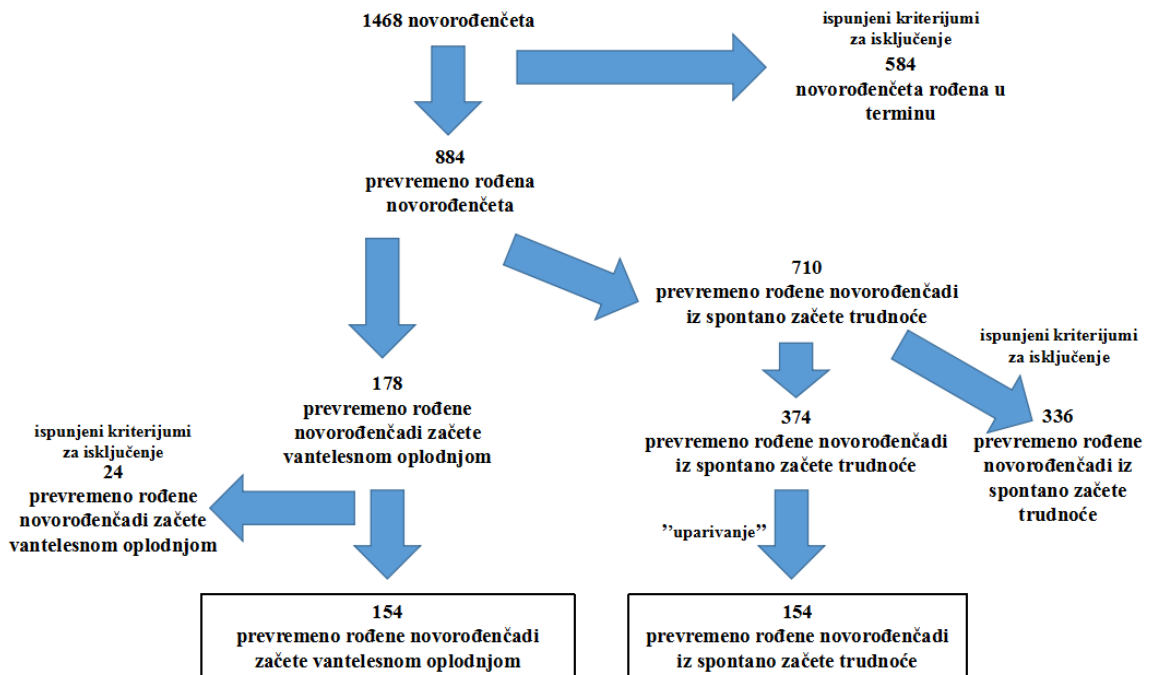
Deskriptivni podaci su prikazani kao apsolutni brojevi, frekvence, procenti, prosečne vrednosti  $\pm$  dve standardne devijacije, minimalne i maksimalne, najčešće (mod) ili središnje (medijana) vrednosti. Podaci su predstavljeni u tabelama ili grafički.

Inferencijalna statistika je podrazumevala parametarske i neparametarske statističke testove. Za ispitivanje statističke razlike između grupa, korišćeni su: Studentov T test za numeričke varijable, za ispitivanje nominalnih varijabli Hi kvadrat test ili Fišerov test tačne verovatnoće (u skladu sa pravilima za primenu ovih testova), a za ordinalne varijable Man Vitni U test. Za ispitivanje međusobne povezanosti varijabli upotrebljena je linearna regresija (za numeričke varijable) ili Spirmanova korelacija ranga (za ordinalne varijable).

Statistički značajnom je smatrana vrednost  $p < 0,05$ .

## 5. REZULTATI

Tokom vremenskog perioda koji je obuhvaćen studijom, u Službi za neonatologiju i intenzivnu negu i terapiju, hospitalizovano je ukupno 1468 novorođenčadi, od toga 884 (60,217%) su bila prevremeno rođena. Među prevremeno rođenom novorođenčadi 178 (20,136%) su bila novorođenčad iz IVF začetih trudnoća. Kriterijume za isključenje iz studije ispunilo je 24 prevremeno rođena novorođenčeta iz IVF začetih trudnoća, tako da je u studiju uključeno ukupno 154 prevremeno rođena novorođenčeta iz IVF začetih trudnoća. Detaljan algoritam odabira ispitanika koji su uključeni u studiju dat je na Shemi 1.



**Shema 1.** Algoritam odabira ispitanika za uključivanje u studiju.

Ispitivanu grupu (Grupa 1) činilo je 154 prevremeno rođena novorođenčeta koja su začeta metodama asistiranje reprodukcije i 87 majki. Od navedenog broja novorođenčadi, 33 novorođenčeta su deca iz jednoplodnih trudnoća, a 121 iz višeplođnih trudnoća (39 dece iz trigeminalne trudnoće i 82 deteta iz blizanačkih trudnoća). Sva deca u ovoj grupi su začeta tehnikom IVF-a.

Kontrolna grupa (Grupa 2), prema ranije opisanoj metodologiji, sačinjena je od jednakog broja prevremeno rođene novorođenčadi približno iste gestacijske starosti iz spontano začelih trudnoća. Ovu grupu činilo je 154 prevremeno rođena novorođenčeta i 138 majki. U ovoj grupi, 122 dece je rođeno iz jednoplodnih trudnoća, a 32 deteta iz blizanačke trudnoće (ukupno 16 blizanačkih trudnoća).

### 5.1. Karakteristike novorođenčadi u ispitivanim grupama

Osnovne karakteristike novorođenčadi iz Grupe 1 i Grupe 2 date su u Tabeli 1.

|                    | Grupa 1 (No 154) | Grupa 2 (No 154) | p            |
|--------------------|------------------|------------------|--------------|
| GS ± SD (nedelje)  | 31.829±2.105     | 31.167±2.138     | 0,152        |
| pol (ženski/muški) | 68/86            | 68/86            | /            |
| PTM ± SD (g)       | 1537.516±401.594 | 1924,6 ±777,843  | <b>0,049</b> |
| TD ± SD (cm)       | 41.255±3.415     | 41.25±3.536      | 0,992        |
| OGL ± SD (cm)      | 29.137±1.686     | 29.547±2.309     | 0,130        |
| AS u 1. min. ± SD  | 5.712±1.750      | 5.1667±2.133     | <b>0,034</b> |
| AS u 5. min. ± SD  | 7.307±1.210      | 7.012±0.938      | 0,054        |
| IUGR (%)           | 24/154 (15,584)  | 10/154 (6,493)   | <b>0,011</b> |

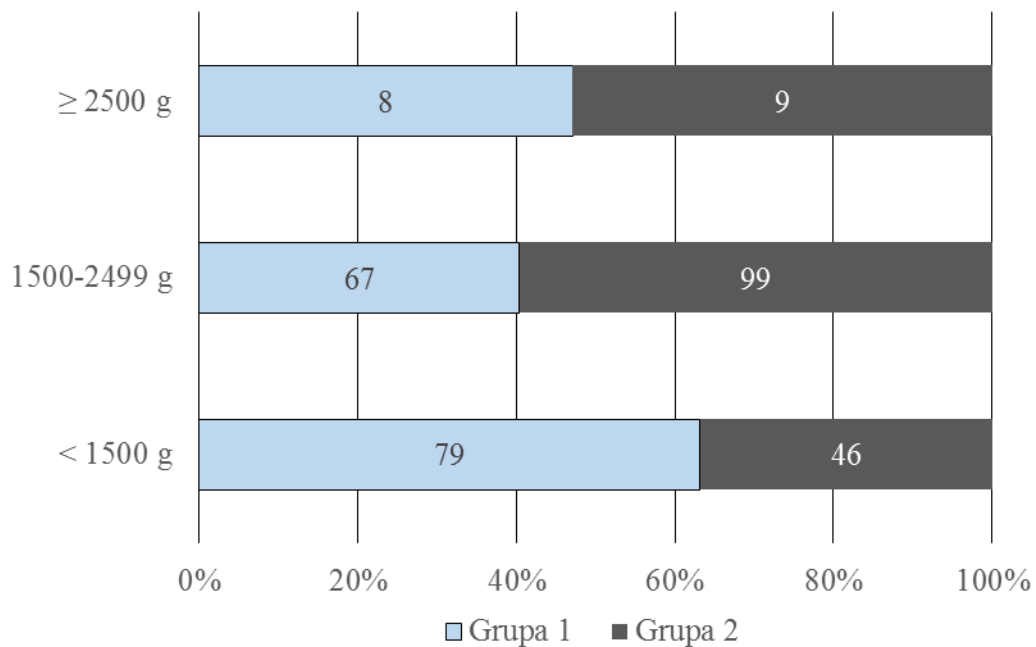
Legenda: GS – gestacijska starost, PTM – porođajna telesna masa, TD – porođajna telesna dužina, OGL – obim glave, AS – Apgar skor, IUGR – intrauterina restrikcija rasta (engl. *intrauterine growth restriction*), SD – standardna devijacija, p – nivo statističke značajnosti

**Tabela 1.** Osnovne karakteristike novorođenčadi u grupama

Novorođenčad iz Grupe 1 i Grupe 2 nisu se statistički značajno razlikovala po GS i polu (Studentov T test).

Uočena je statistički značajna razlika u porođajnoj telesnoj masi između novorođenčadi iz Grupe 1 i Grupe 2; novorođenčad iz Grupe 1 imala su manju prosečnu telesnu masu na rođenju (Studentov T test). Prosečna razlika u PTM između dece iz Grupe 1 i Grupe 2 iznosila je -59,427g.

Udeo novorođenčadi porođajne telesne mase ispod 1500g (novorođenčad veoma male telesne mase), porođajne telesne mase od 1500g do 2499g (novorođenčad male telesne mase) i porođajne telesne mase  $\geq 2500$ g, u obe grupe, prikazan je na Grafikonu 1.



**Grafikon 1.** Udeo i apsolutne frekvencije novorođenčadi veoma male, male i normalne porođajne telesne mase u obe grupe ispitanika.

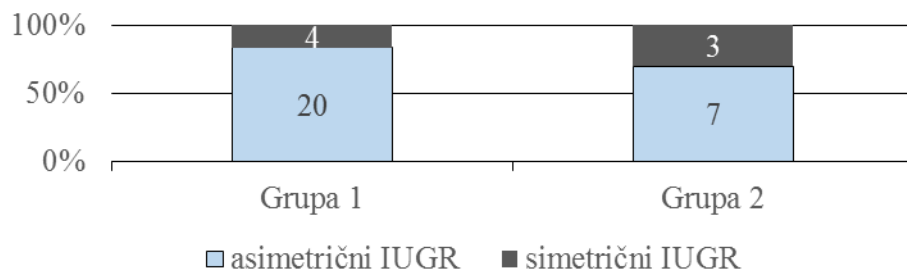
U Grupi 1 bilo je statistički značajno više novorođenčadi veoma male telesne mase u odnosu na Grupu 2 (Hi kvadrat test,  $p = 0,0001$ ). U Grupi 2 bilo je statistički značajno više dece male porođajne telesne mase (Hi kvadrat test,  $p = 0,0002$ ). Broj novorođenčadi sa  $PTM \geq 2500g$ , bio je podjednak u obe grupe (Hi kvadrat test,  $p = 0,702$ ).

Telesna dužina i obim glave na rođenju, nisu se statistički značajno razlikovali između novorođenčadi iz Grupe 1 i Grupe 2 (Studentov T test).

Novorođenčad iz Grupe 1 imala su statistički značajno više vrednosti Apgar skora u prvom minutu u odnosu na novorođenčad iz Grupe 2 (Studentov T test). Vrednost Apgar skora u 5. minutu nije se statistički značajno razlikovala između grupa (Studentov T test).

Broj novorođenčadi sa intrauterusnom restrikcijom rasta statistički je značajno veći u Grupi 1 u odnosu na Grupu 2 (Hi kvadrat test). Novorođenčad iz Grupe 1 imala su statistički značajno viši rizik za IUGR (OR 2,6585; 95% CI: 1,2249 – 5,7698).

Na Grafikonu 2 prikazana je učestalost i apsolutne frekvencije asimetričnog i simetričnog IUGR u obe grupe ispitanika.



Legenda: IUGR – intrauterina restrikcija rasta

**Grafikon 2.** Učestalost i apsolutne frekvencije asimetričnog i simetričnog IUGR u obe grupe ispitanika

Nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti simetričnog i asimetričnog IUGR između dve grupe ispitanika (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,394$ ).

## 5.2. Karakteristike trudnica, trudnoća i porođaja

Posmatrane karakteristike trudnica, trudnoća i porođaja su prikazani u Tabeli 2.

|  |               | Grupa 1 (No 87)  | Grupa 2 (No 138) | p              |
|--|---------------|------------------|------------------|----------------|
| prosečna starost majke $\pm$ SD (godine) |               | 36,84 $\pm$ 3,41 | 32,12 $\pm$ 4,67 | <b>0,042</b>   |
| prethodne trudnoće                       |               | 49/87 (56,32%)   | 74/138 (48,05%)  | 0,692          |
| stručna sprema                           | osnovna       | 2/87 (2,29%)     | 29/138 (19,08%)  | < <b>0,001</b> |
|  | srednja       | 35/87 (40,23%)   | 82/138 (53,95%)  | <b>0,005</b>   |
|  | viša / visoka | 50/87 (57,47%)   | 41/138 (26,97%)  | < <b>0,001</b> |
| hronične bolesti pre trudnoće            |               | 28/87 (32,18%)   | 22/138 (14,47%)  | <b>0,006</b>   |
| bolesti dijagnostikovane tokom trudnoće  |               | 75/87 (86,21%)   | 46/138 (33,33%)  | < <b>0,001</b> |
| jednoplodne trudnoće                     |               | 33/87 (37,93%)   | 122/138 (98,68%) | < <b>0,001</b> |
| višepodne trudnoće                       | ukupno        | 54/87 (62,07%)   | 16/138 (1,32%)   | < <b>0,001</b> |
|  | blizanačke    | 41/87 (47,13%)   | 16/138 (11,59%)  | < <b>0,001</b> |
|  | trigeminalne  | 13/87 (14,94%)   | 0/138 (0,00%)    | < <b>0,001</b> |
| način porođaja                           | vaginalni     | 5/87 (5,75%)     | 53/138 (34,41%)  | < <b>0,001</b> |
|  | carski rez    | 82/87(94,25%)    | 85/138 (61,59%)  | < <b>0,001</b> |
| PROM                                     |               | 33/87 (37,93%)   | 34/138 (22,37%)  | <b>0,034</b>   |

Legenda: PROM (engl. *premature rupture of membranes*) - preвременa ruptura ovojaka ploda, p – nivo statističke značajnosti

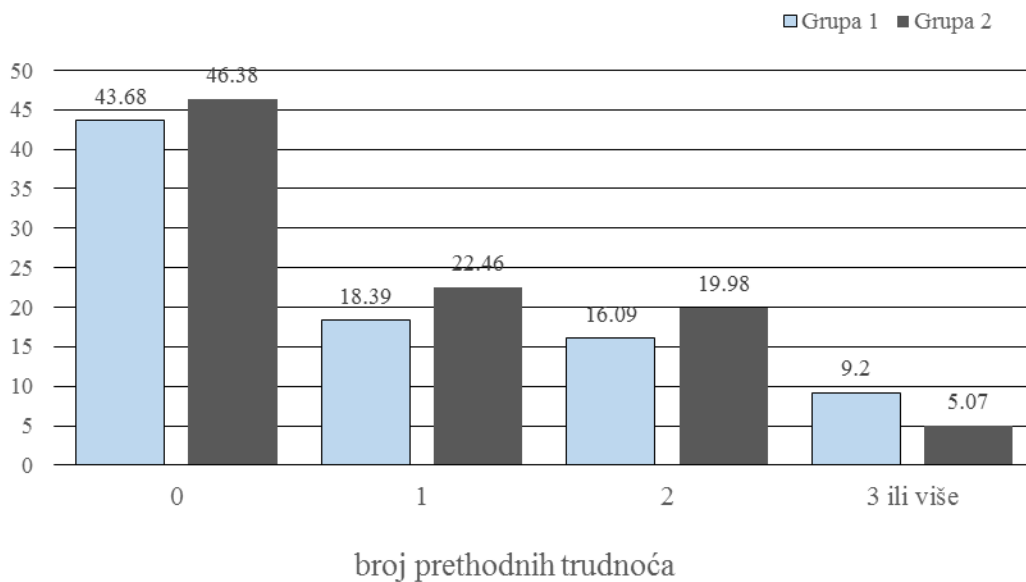
**Tabela 2.** Osnovne karakteristike trudnica, trudnoća i porođaja



Prosečna starost majki dece iz Grupe 1 bila je veća od prosečne starosti majki dece iz Grupe 2. Ova razlika je bila statistički značajna (Studentov T test).

Broj prethodnih trudnoća (uključujući i prethodne pokušaje IVF) majki dece iz Grupe 1 nije se statistički značajno razlikovao u odnosu na broj prethodnih trudnoća kod majki dece iz Grupe 2 (Hi kvadrat test).

Na Grafikonu 3 prikazana je uporedna analiza frekvencija prethodnih graviditeta kod majki dece iz Grupe 1 i Grupe 2.



**Grafikon 3.** Uporedna analiza broja prethodnih trudnoća/pokušaja IVF kod majki dece iz Grupe 1 i Grupe 2.

U Grupi 1, za 43,63% majki ovo je bila prva trudnoća/pokušaj IVF, dok je preostalih 56,37% majki imalo jedan ili više prethodnih pokušaja IVF. U Grupi 2, za 46,38% majki je ovo bila prva trudnoća, a preostalih 53,62% je imalo bar jednu prethodnu trudnoću. Broj žena kojima je ovo prva trudnoća nije se značajno razlikovao između grupa (Hi kvadrat test). Broj žena koje su imale jednu, dve ili  $\geq$

3 prethodnih trudnoća, nije se značajno razlikovao među grupama (Hi kvadrat test:  $p = 0,874$ ;  $p = 0,599$  i  $p = 0,227$  po redosledu navođenja).

Struktura obrazovanja (stručna sprema) majki iz Grupe 1 razlikovala se od strukture obrazovanja majki iz Grupe 2. U Grupi 1 beleži se statistički značajno viši udeo žena sa višom/visokom stručnom spremom (Hi kvadrat test). U Grupi 2 je statistički značajno viši udeo žena sa srednjom i osnovnom stručnom spremom (Hi kvadrat test, Fišerov test tačne verovatnoće - prema redosledu navođenja).

Kod majki dece iz Grupe 1 registrovana je statistički značajno veća učestalost hroničnih bolesti dijagnostikovanih pre trudnoće u odnosu na majke dece iz Grupe 2 (Hi kvadrat test). Uporedni prikaz strukture i učestalosti pojedinih hroničnih bolesti koje su registrovane pre trudnoće, kod majki dece iz obe grupe dat je u Tabeli 3.

| hronične bolesti pre trudnoće | Grupa 1 (No 87) |        | Grupa 2 (No 138) |        | p*           |
|-------------------------------|-----------------|--------|------------------|--------|--------------|
|                               | No              | %      | No               | %      |              |
| astma                         | 6               | 6,896  | 6                | 4,348  | 0,544        |
| hipo/hipertireoza             | 9               | 10,344 | 2                | 1,449  | <b>0,004</b> |
| šećerna bolest                | 2               | 2,298  | 2                | 1,449  | 0,641        |
| očne bolesti                  | 2               | 2,298  | 2                | 1,449  | 0,641        |
| trombofilija                  | 9               | 10,344 | 4                | 2,899  | <b>0,036</b> |
| srčane bolesti                | 0               | 0      | 1                | 0,725  | 1,0          |
| sistemske bolesti             | 1               | 1,149  | 3                | 2,174  | 1,0          |
| epilepsija                    | 0               | 0      | 2                | 1,449  | 1,0          |
| bez oboljenja                 | 59              | 67,816 | 116              | 84,058 | <b>0,005</b> |

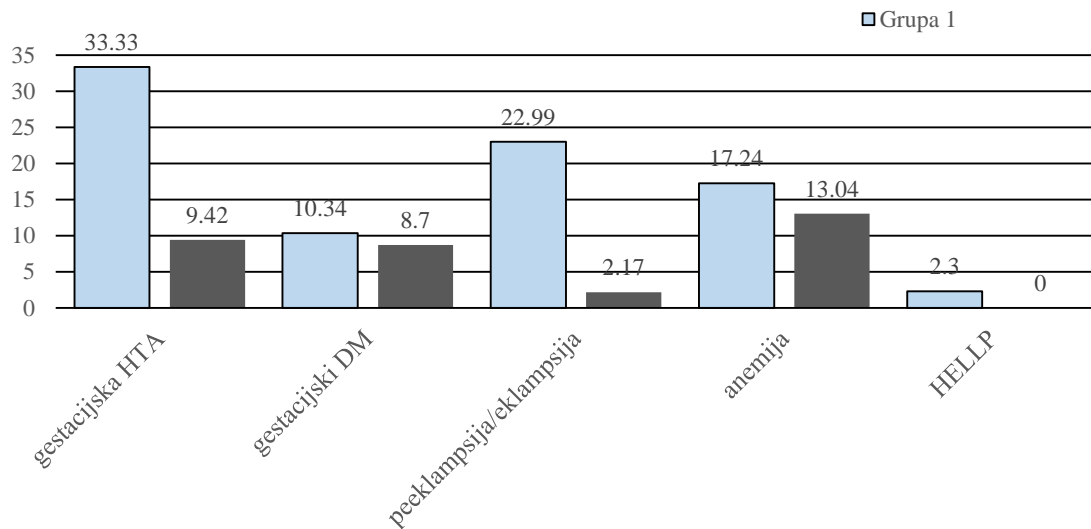
Legenda: p – nivo statističke značajnosti, \* - sve p vrednosti izračunate Fišerovim testom tačne verovatnoće

**Tabela 3.** Struktura i učestalost pojedinih hroničnih bolesti koje su registrovane pre trudnoće kod majki dece iz obe grupe

Broj majki bez ranije uspostavljene dijagnoze hronične bolesti (prethodno zdrave žene), u Grupi 1 bio je statistički značajno manji u odnosu na Grupu 2 (Hi kvadrat test).

Majke dece iz Grupe 1 su statistički značajno češće imale oboljenje štitaste žlezde ili trombofiliju u odnosu na majke dece iz Grupe 2. Učestalost drugih hroničnih oboljenja dijagnostikovanih pre trudnoće nije se statistički značajno razlikovao između majki dece iz Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test).

Pojava novodijagnostikovanog oboljenja tokom trudnoće bila je statistički češća kod majki dece iz Grupe 1 (Hi kvadrat test). Uporedni prikaz strukture i učestalosti novodijagnostikovanih bolesti tokom trudnoće kod majki dece iz obe grupe dat je na Grafikonu 4.

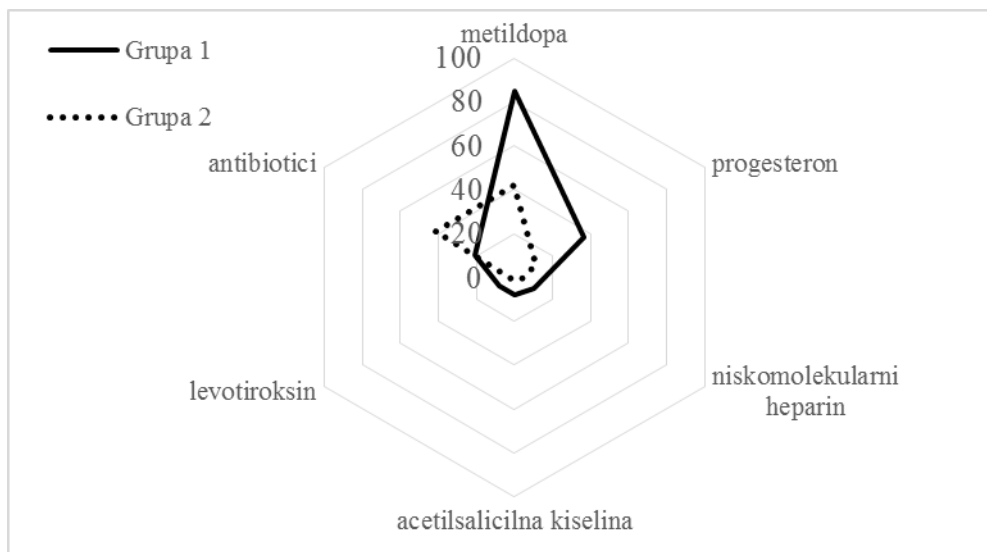


dijagnoze postavljene tokom trudnoće

Legenda: HTA – arterijska hipertenzija, DM – diabetes mellitus, HELLP – HELLP sindrom (engl. *Hemolysis, elevated liver enzyme levels, low platelet levels syndrome*)

**Grafikon 4.** Struktura i učestalost bolesti dijagnostikovanih tokom trudnoće

Tokom trudnoće, majke dece iz obe grupe, najčešće su dobijale metildopu, progesteron i antibiotike. Od ostalih lekova, primenjivani su diazepam, levotiroksin, insulin, niskomolekularni fraksiptarin i acetyl salicilna kiselina. Učestalost pojedinih lekova koje su dobijale majke dece iz obe grupe dat je na Grafikonu 5.

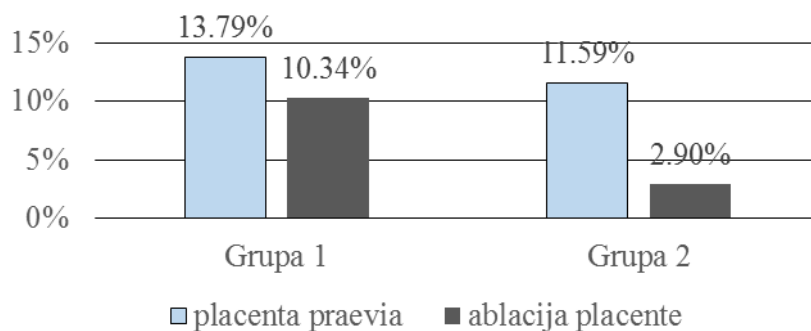


**Grafikon 5.** Distribucija relativnih frekvencija (%) najčešće korišćenih lekova tokom trudnoće kod majki dece iz obe grupe ispitanika

Majke ispitanika iz Grupe 1 su, u odnosu na majke ispitanika iz Grupe 2, statistički značajno češće dobijale metildopu (Hi kvadrat test,  $p < 0,001$ ), progesteron (Hi kvadrat test,  $p < 0,001$ ), niskomolekularni heparin (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,025$ ), acetilsalicilnu kiselinu (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,007$ ) i levotiroksin (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,014$ ). Antibiotička terapija je statistički značajno češće indikovana kod majki ispitanika iz Grupe 2 (Hi kvadrat test,  $p < 0,001$ ). Diazepam je dobijalo 7,320% majki iz Grupe 1 i 4,874% majki iz Grupe 2 i ova razlika nije statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,420$ ). Insulin je dobijalo 2,299% majki iz Grupe 1 i 1,449% majki iz grupe 2, ova razlika nije statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,639$ ).

Udeo blizanačkih trudnoća u Grupi 1 bio je 47,13%, dok je u Grupi 2 iznosio 11,59%. Udeo trigeminalnih trudnoća u Grupi 1 bio je 14,94%, dok u Grupi 2 nije bilo trigeminusa (0,00%). Višeploidne trudnoće su bile statistički značajno češće zastupljene u Grupi 1 (Hi kvadrat test).

Placenta praevia komplikovala je 12 trudnoća kod majki iz Grupe 1 i ukupno 16 trudnoća majki iz Grupe 2; ova razlika nije bila statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,627$ ). Ablacija placente komplikovala je ukupno 9 trudnoća kod majki iz Grupe 1 i ukupno 4 trudnoće kod majki iz Grupe 2, ova razlika je bila statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,036$ ). Distribucija frekvencija (u %, računata na broj trudnoća) placenta praeviae i ablacije placente, u obe grupe, data je na Grafikonu 6.



**Grafikon 6.** Distribucija učestalosti placenta praeviae i ablacije placente u obe grupe

U obe grupe, dominantni način porođaja je bio porođaj carskim rezom. U Grupi 1, carskim rezom je okončano 94,25% trudnoća, a u Grupi 2 - 61,59%. Kod majki dece iz Grupe 1 carski rez je izrazito zastupljen i statistički je značajno češći način porođaja (Hi kvadrat test).

Preвременa ruptura ovojaka ploda je statistički značajno češća komplikacija trudnoća u Grupi 1 u odnosu na Grupi 2 (rezultati prikazani u Tabeli 2; Hi kvadrat test).

### 5.3. Morbiditet dece u ispitivanim grupama

Prosečna dužina hospitalizacije, prosečna dužina primene respiratorne potpore i oksigenoterapije, kao i struktura morbiditeta (dijagnoze pri otpustu sa Klinike) dece iz obe grupe date su u Tabeli 4. Beležene su samo dijagnoze navedene u metodologiji rada.

|   | Grupa 1 (No 154) | Grupa 2 (No 154) | P               |
|---|------------------|------------------|-----------------|
| dužina hospitalizacije ± SD (dani)                                    | 33,294 ± 15,998  | 38,351 ± 14,759  | <b>0,012</b>    |
| MV (dani)   | 2,0719 ± 2,779   | 6,447 ± 4,872    | <b>&lt;0,01</b> |
| nCPAP (dani)  | 4,0719 ± 2,117   | 5,512 ± 3,202    | 0,052           |
| oksigenoterapija (dani)   | 14,046 ± 11,714  | 13,138 ± 4,391   | 0,472           |
| ICH (III i IV stepen)   | 13/154           | 15/154           | 0,692           |
| PVL   | 6/154            | 5/154            | 0,759           |
| ROP   | 24/154           | 38/154           | <b>0,047</b>    |
| BPD   | 24/154           | 9/154            | <b>0,006</b>    |
| NEC   | 16/154           | 12/154           | 0,428           |
| sepsa/meningitis  | 30/154           | 28/154           | 0,771           |
| urođene anomalije i genetski sindromi<br>(šifre MKB 10 od Q00 do Q99) | 22/154           | 28/154           | 0,354           |
| bolesti metabolizma<br>(šifre MKB 10 od E00 do E90)                   | 0/154            | 0/154            | /               |

Legenda: MV – mehanička respiratorna potpora, nCPAP – neinvazivna respiratorna potpora (engl. *nasal continuous positive airway pressure*), ICH – intrakranijalna hemoragija, PVL – periventrikularna leukomalacija, ROP – retinopatija prematuriteta, BPD – bronhopulmonalna displazija, NEC – nekrotizirajući enterokolitis, MKB 10 – Međunarodna klasifikacija bolesti 10. revizija, SD – standardna devijacija

**Tabela 4.** Prosečna dužina hospitalizacije, prosečna dužina primene respiratorne potpore i oksigenoterapije i struktura morbiditeta pri otpustu iz bolnice

Prosečno trajanje hospitalizacije bilo je statistički značajno kraće kod dece iz Grupe 1 u odnosu na decu iz Grupe 2 (Studentov t test,  $p = 0,012$ ) (tabela 4).

Prosečno trajanje mehaničke respiratorne potpore je bilo kraće kod dece iz Grupe 1, ova razlika je statistički značajna (Studentov t test,  $p < 0,01$ ) (tabela 4).

Dužina primene neinvazivne respiratorne potpore i oksigenoterapije, u proseku, je bila diskretno kraća kod dece iz Grupe 1 u odnosu na decu iz Grupe 2, ali se ova azlika nije pokazala statistički značajnom (Studentov t test).

Incidencija ROP-a bila je statistički značajno niža kod dece iz Grupe 1 (Hi kvadrat test). Deca iz Grupe 1 imala su manji relativni rizik za razvoj ROP-a ( $RR = 0.6316$ ;  $CI 0,399 - 1.00$ ) u odnosu na decu iz Grupe 2.

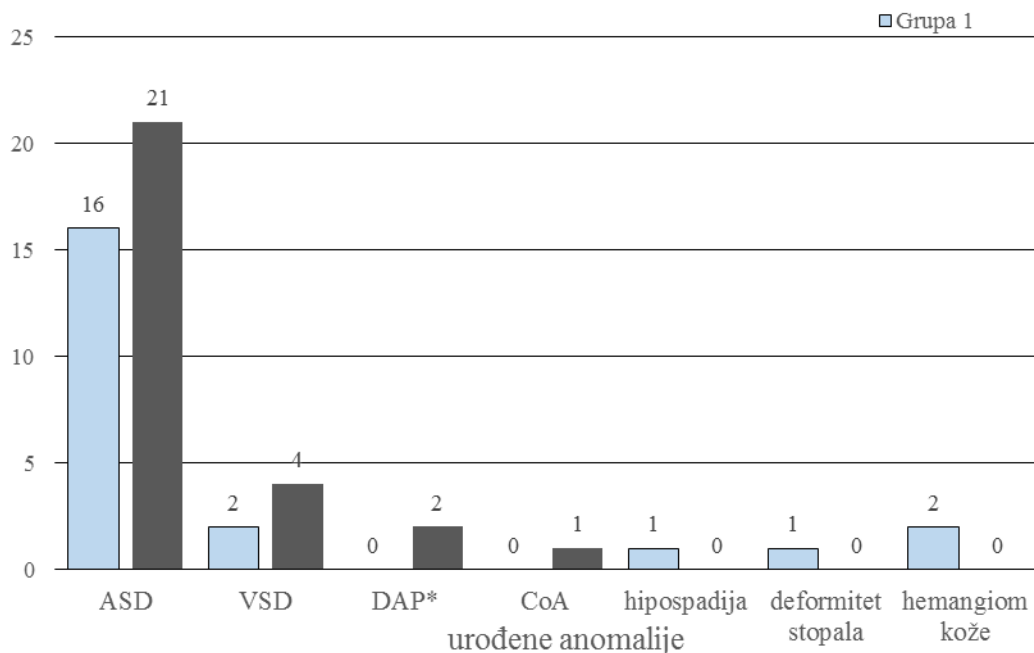
Incidencija bronhopulmonalne displazije bila je statistički značajno viša kod dece iz Grupe 1, dok je incidencija retinopatije prematuriteta bila značajno više kod dece iz Grupe 2 (Hi kvadrat test). Deca iz Grupe 1 imala su veći relativni rizik za razvoj BPD ( $RR = 2,823$ ;  $CI 1,355 - 5.879$ ) u odnosu na decu iz Grupe 2.

Incidencija intrakranijalne hemoragije visokog stepena, periventrikularne leukomalacije, nekrotizirajućeg enterokolitisa, sepse/meningitisa bila je podjednaka u obe grupe (Hi kvadrat test).

U obe grupe, nije bilo ispitanika kod kojih su dijagnostikovane bolesti metabolizma.

Ukupna učestalost urođenih anomalija i genetskih sindroma (definisanih pod šiframa 10. revizije Međunarodne klasifikacije bolesti počev od Q00 do Q99) nije se značajno razlikovala između grupa (Hi kvadrat test).

Struktura urođenih anomalija i distribucija njihovih apsolutnih frekvencija po grupama, data je na Grafikonu 7.



Legenda: ASD – atrijalni septalni defekt, VSD – ventrikularni septalni defekt, DAP\* – perzistentni arterijski duktus u uzrastu nakon 6. meseca života, CoA – koarktacija aorte

**Grafikon 7.** Struktura urođenih anomalija i distribucija apsolutnih frekvencija urođenih anomalija po grupama ispitanika

U najvećem broju slučajeva, u obe grupe, registrovane su jednostavne srčane mane. U Grupi 1 - atrijalni septalni defekt registrovan je kod 16 dece, a u Grupi 2 kod 21 deteta, ova razlika nije statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,381$ ). Ventrikularni septalni defekt (mali i srednje veliki) registrovan je kod dvoje dece u Grupi 1 i četvero dece u Grupi 2 i ova razlika nije statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,684$ ). Ostale pobrojane urođene anomalije javljale su se sporadično.



#### 5.4. Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 12 meseci

Posmatrani pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 12 meseci kod dece iz obe grupe prikazani su u Tabeli 5.

|                     | Grupa 1 (No 154)             |           | Grupa 2 (No 154)             |           | p            |
|---------------------|------------------------------|-----------|------------------------------|-----------|--------------|
| TM ± SD (g)         | 8868 ± 143,597               |           | 9325 ± 210,357               |           | <b>0,014</b> |
| TD ± SD (cm)        | 77,600 ± 1,517               |           | 79,100 ± 1,025               |           | 0,109        |
| OGL ± SD (cm)       | 45,810 ± 1,037               |           | 45,900 ± 0,742               |           | 0,866        |
| nalaz               | uredan                       | patološki | uredan                       | patološki |              |
| neurološki status   | 122                          | 32        | 125                          | 29        | 0,667        |
| pregled oftalmologa | 152                          | 2         | 149                          | 5         | 0,448        |
| Brunet -Lézine      | prosečna vrednost skora ± SD |           | prosečna vrednost skora ± SD |           |              |
| motorika            | 84,362 ± 18,317              |           | 85,216 ± 6,275               |           | 0,408        |
| koordinacija        | 84,553 ± 17,556              |           | 85,973 ± 7,232               |           | 0,478        |
| govor               | 84,149 ± 18,017              |           | 84,432 ± 12,965              |           | 0,373        |
| socijalni kontakt   | 90,043 ± 14,356              |           | 86,567 ± 6,984               |           | 0,052        |
| RQ                  | 85,559 ± 12,383              |           | 85,904 ± 5,655               |           | 0,770        |

Legenda: TM – telesna masa, TD – telesna dužina, OGL – obim glave, RQ – globalni koeficijent razvoja, SD – standardna devijacija

**Tabela 5.** Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 12 meseci

Prosečna vrednost TM ispitanika iz Grupe 1, u uzrastu od 12 meseci, bila je statistički značajno manja u odnosu na ispitanike iz Grupe 2 (Studentov t test).

Prosečne vrednosti TD ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 12 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Prosečne vrednosti OGL ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 12 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Udeo ispitanika sa patološkim oftalmološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Fišerov test tačne verovatnoće).

Udeo ispitanika sa patološkim neurološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test).

Prosečne vrednosti globalnog koeficijenta razvoja (RQ), kao i prosečne vrednosti skora za pojedine elemente za procenu razvoja (motorika, koordinacija, govor i društvenost) po Brunet -Lézine skali, nisu se statistički značajno razlikovale između grupa (Studentov t test).

U Grupi 1 bilo je 92 (59,740%) deteta čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90, dok je u Grupi 2 bilo 61 (39,610%) dete čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90. Ova razlika u broju dece sa RQ koji je ispod proseka za kalendarski uzrast je statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p=0,0004$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja ( $RQ<90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,495$ ; 95%CI 1,181 – 1,892).

U Grupi 1, bilo je 87 (56,494%) dece koja su postigla podprosečne vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja korigovane u odnosu na postkonceptijsku starost (korigovani  $RQ<90$ ). U Grupi 2 bilo je 69 (44,805%) dece koja su postigla podprosečne vrednosti skorana testu za procenu psihomotornog razvoja korigovanog u odnosu na postkonceptijsku starost (korigovani  $RQ<90$ ). Ova razlika je statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,040$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja (korigovani  $RQ<90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,261$ ; 95%CI 1,008 – 1,577). U kategoriji dece, koja su i pored korekcije u odnosu na GS imala ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja, u Grupi 1 čak 81/87 (93,310%) dece je imalo vrednost korigovanog  $RQ \geq 85$ , a u Grupi 2 ovu vrednost korigovanog RQ imalo je 60/69 (86,956%) dece.

## 5.5. Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 18 meseci

Posmatrani pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 18 meseci kod dece iz obe grupe prikazani su u Tabeli 6.

|                     | Grupa 1 (No 154)             |           | Grupa 2 (No 154)             |           | p     |
|---------------------|------------------------------|-----------|------------------------------|-----------|-------|
| TM ± SD (g)         | 11604 ± 816,290              |           | 11330 ± 566,348              |           | 0,557 |
| TD ± SD (cm)        | 83,100 ± 3,397               |           | 84,900 ± 0,894               |           | 0,065 |
| OGL ± SD (cm)       | 47,300 ± 0,975               |           | 47,400 ± 0,418               |           | 0,841 |
| nalaz               | uredan                       | patološki | uredan                       | patološki |       |
| neurološki status   | 130                          | 24        | 133                          | 21        | 0,628 |
| pregled oftalmologa | 148                          | 6         | 146                          | 8         | 0,584 |
| Brunet -Lézine      | prosečna vrednost skora ± SD |           | prosečna vrednost skora ± SD |           |       |
| motorika            | 85,426 ± 24,440              |           | 92,154 ± 12,566              |           | <0,01 |
| koordinacija        | 87,489 ± 26,496              |           | 92,277 ± 9,861               |           | 0,010 |
| govor               | 88,723 ± 13,194              |           | 90,523 ± 12,916              |           | 0,024 |
| socijalni kontakt   | 90,777 ± 29,980              |           | 92,169 ± 14,076              |           | <0,01 |
| RQ                  | 87, 489± 17,877              |           | 92,388 ± 10,392              |           | <0,01 |

Legenda: TM – telesna masa, TD – telesna dužina, OGL – obim glave, RQ – globalni koeficijent razvoja, SD – standardna devijacija

**Tabela 6.** Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 18 meseci

Prosečne vrednosti TM ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 18 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Prosečne vrednosti TD ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 18 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

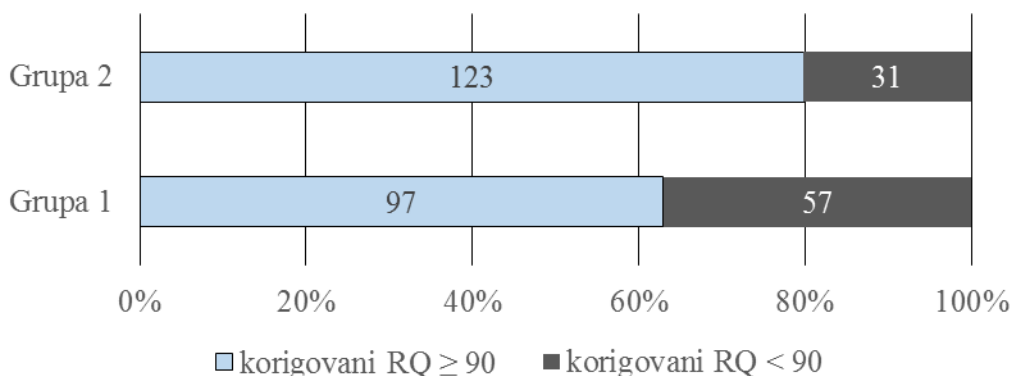
Prosečne vrednosti OGL ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 18 meseci, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Udeo ispitanika sa patološkim oftalmološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test).

Udeo ispitanika sa patološkim neurološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test).

Prosečne vrednosti RQ, kao i prosečne vrednosti skora za pojedine elemente za procenu razvoja (motorika, koordinacija, govor i društvenost) po Brunet -Lézine skali, su se statistički značajno razlikovale između grupa, u uzrastu od 18 meseci (Studentov t test).

Distribucija broja dece sa normalnim ( $\geq 90$ ) i ispodprosečnim ( $<90$ ) vrednostima korigovanog RQ po grupama, data je na Grafikonu 8.



**Grafikon 8.** Distribucija broja dece sa normalnim ( $\geq 90$ ) i podprosečnim ( $<90$ ) vrednostima korigovanog RQ po grupama

U Grupi 1 bilo je 57 (37,013%) dece čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90, dok je u Grupi 2 bilo 31 (20,130%) dete čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90. Udeo dece sa RQ koji je ispod proseka za kalendarski uzrast je statistički značajno različit između grupa (Hi kvadrat test,  $p = 0,010$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja (nekorigovani RQ $<90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 (RR = 1,288; 95%CI 1,181 – 2,730).

Statistički značajna razlika postojala je i kada je upoređen broj dece sa vrednostima korigovanog RQ ispod 90 u Grupi 1 i Grupi 2 (36 naspram 19 po redosledu navođenja; Hi kvadrat test,  $p = 0,011$ ). Relativni rizik za ispodprosečno postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja (korigovani  $RQ < 90$ ), za decu iz Grupe 1 bio je viši, u odnosu na decu iz Grupe 2 ( $RR = 1,895$ ; 95%CI 1,139 – 3,152).

Jedno dete iz Grupe 1 imalo je teško narušen psihomotorni razvoj (korigovani  $RQ = 56$ ), ovo dete je na prvj kontrolji imalo korigovani  $RQ = 86$ .

## 5.6. Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca

Posmatrani pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca kod dece iz obe grupe prikazani su u Tabeli 7.

|                     | Grupa 1 (No 154)                 |           | Grupa 2 (No 154)                 |           | p     |
|---------------------|----------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|-------|
| TM $\pm$ SD (g)     | 12654 $\pm$ 257,612              |           | 12702 $\pm$ 212,375              |           | 0,619 |
| TD $\pm$ SD (cm)    | 85,200 $\pm$ 1,204               |           | 85,100 $\pm$ 1,318               |           | 0,534 |
| OGL $\pm$ SD (cm)   | 48,150 $\pm$ 1,003               |           | 48,050 $\pm$ 0,845               |           | 0,714 |
| nalaz               | uredan                           | patološki | uredan                           | patološki |       |
| neurološki status   | 143                              | 11        | 146                              | 8         | 0,477 |
| pregled oftalmologa | 144                              | 10        | 140                              | 14        | 0,395 |
| Brunet -Lézine      | prosečna vrednost skora $\pm$ SD |           | prosečna vrednost skora $\pm$ SD |           |       |
| motorika            | 95,514 $\pm$ 11,238              |           | 95,069 $\pm$ 3,664               |           | 0,768 |
| koordinacija        | 92,929 $\pm$ 12,861              |           | 92,069 $\pm$ 2,902               |           | 0,599 |
| govor               | 92,057 $\pm$ 9,111               |           | 91,310 $\pm$ 4,252               |           | 0,580 |
| socijalni kontakt   | 92,629 $\pm$ 9,622               |           | 92,124 $\pm$ 5,071               |           | 0,673 |
| RQ                  | 92,481 $\pm$ 8,838               |           | 93,265 $\pm$ 2,729               |           | 0,407 |

Legenda: TM – telesna masa, TD – telesna dužina, OGL – obim glave, RQ – globalni koeficijent razvoja, SD – standardna devijacija

**Tabela 7.** Pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca

Prosečne vrednosti TM ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 24 meseca, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Prosečne vrednosti TD ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 24 meseca, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Prosečne vrednosti OGL ispitanika iz obe grupe, u uzrastu od 24 meseca, nisu se statistički značajno razlikovale (Studentov t test).

Udeo ispitanika sa patološkim oftalmološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test).

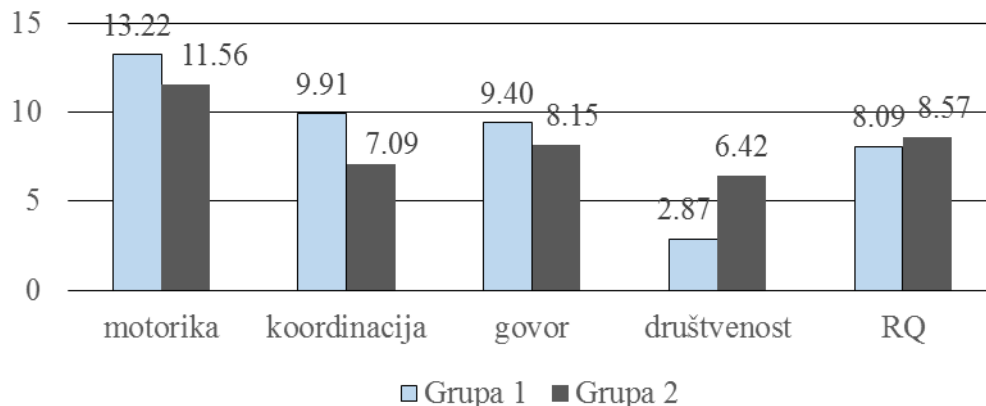
Udeo ispitanika sa patološkim neurološkim nalazom nije se statistički značajno razlikovao između Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test).

Prosečne vrednosti RQ, kao i prosečne vrednosti skora za pojedine elemente za procenu razvoja (motorika, koordinacija, govor i društvenost) po Brunet -Lézine skali, nisu se statistički značajno razlikovale između grupa, u uzrastu od 24 meseca (Studentov t test). U Grupi 1 bilo je 21 dete (13,636%) čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90, dok je u Grupi 2 bilo 17 (11,049%) dece čiji je nekorigovani RQ bio ispod 90. Razlika u broju dece sa RQ koji je ispod proseka za kalendarski uzrast nije statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,488$ ). Statistički značajna razlika nije postojala ni kada je upoređen broj dece sa vrednostima korigovanog RQ ispod 90 u Grupi 1 i Grupi 2 (12 naspram 9 po redosledu navođenja; Hi kvadrat test,  $p = 0,497$ ).

Samo jedno dete, na kraju perioda praćenja, je bilo teško narušenog psihomotornog razvoja (korigovani RQ = 32) i ono je bilo dete iz Grupe 1.

Na kraju perioda praćenja (24. mesec života), deca iz obe grupe, su u proseku postizala bolji rezultat na testu za procenu psihomotornog razvoja.

Prosečne vrednosti razlike u postignutim skorovima (globalno i po elementima) na prvoj i poslednjoj kontroli, izražene kao procenat skora u uzrastu od 12 meseci (prva kontrola), data je na Grafikonu 9.



**Grafikon 9.** Prosečna razlika postignutih vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja (Brunet –Lézine) na prvoj i poslednjoj kontroli, izražena kao procenat vrednosti skora u uzrastu od 12 meseci

## 5.7. Logistička regresiona analiza

Na osnovu deskriptivnih podataka i načinjenih statističkih testova, identifikovane su one ispitivane varijable koje su se statistički značajno razlikovale između ispitivanih grupa i koje su, uz atreficijalno začćeće, dodatni potencijalni faktori rizika. Ti faktori su: PTM, AS u 1. minutu, IUGR, starost majke, stručna sprema majke, prethodna hronična oboljenja majke, bolesti majke dijagnostikovane tokom trudnoće, jedноплодна i višepлодна trudnoća, način porođaja i PROM, kao i dužina hospitalizacije, dužina mehаničke respiratorne potpore, postavljena dijagnoza retinopatije prematuriteta i bronhopulmonalne displazije na otpustu iz bolnice. Navedene varijable su uključene u regresioni logistički model kao nezavsne varijable.

Kao pokazatelji telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 12, 18 i 24 meseca, uzeti su TM, TD, OGL, neurološki status, nalaz oftalmologa i vrednost skora za procenu psihomotornog razvoja(Brunet -Lézine skala). U logističkom regresionom modelu ove varijable su ispitivane kao zavisne varijable, ako su se statistički značajno razlikovale između grupa.

## **5.8. Faktori rizika za lošiji telesni i psihomotorni razvoj u uzrastu od 12 meseci**

U uzrastu od 12 meseci, jedini od ispitivanih pokazatelja telesnog i psihomotornog razvoja (zavisne varijable), koji se statistički značajno razlikovao između ispitanika iz Grupe 1 i Grupe 2 bila je TM. Deca iz Grupe 1 imala su manju TM od dece iz Grupe 2. Među ispitivanim potencijalnim faktorima rizika, logističkom regresionom analizom pokazano je da su veštačko začće, višeploidnost trudnoće i IUGR nezavisni faktori rizika za manju TM u kalendarskom uzrastu od 12 meseci.

### **5.8.1. Arteficiojalno začće naspram TM u uzrastu od 12 meseci**

Za konstrukciju modela logističke regresije, upoređena je telesna masa svakog ispitanika iz Grupe 1 sa telesnom masom njegovog “para” iz kontrolne grupe. Ukupno 93 ispitanika iz Grupe 1 (trudnoća začeta arteficiojalno – nezavisna varijabla) je imalo manju telesnu masu (zavisna varijabla) u uzrastu od 12 meseci u odnosu na svog “para” iz kontrolne grupe. Logistička regresija pokazala je da je veštačko začće nezavisan faktor rizika za manju telesnu masu deteta u uzrastu od 12 meseci u odnosu na dete iste GS i kalendarskog uzrasta ( $p=0,0003$ ; OR 2,3244; 95% CI 1,472 – 3,670). Verovatnoća da će u uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođeno dete iz arteficiojalno začete trudnoće imati manju telesnu masu u odnosu na prevremeno rođeno dete iste GS i kalendarskog uzrasta iz spontanno začete trudnoće, iznosi 60,39% (95%CI 52,471 –67,804).



### 5.8.2. Višeplodna trudnoća naspram TM u uzrastu od 12 meseci

U čitavoj populaciji ispitanika (obe grupe; 308 dece), njih 153 su deca iz višeplođnih trudnoća, a 155 iz jednoplođnih trudnoća. Manju telesnu masu u odnosu na svog "para" imalo je 88 dece iz višeplođnih trudnoća i 46 dece iz jednoplođnih trudnoća. Logistička regresija pokazala je da je i višeplođna trudnoća nezavisan faktor rizika za manju telesnu masu deteta u uzrastu od 12 meseci, u odnosu na dete iste GS i kalendarskog uzrasta ( $p=0,0190$ ; OR 0,5713; 95% CI 0,3569 – 0,9147). Verovatnoća da će u uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođeno dete iz višeplođne trudnoće imati manju telesnu masu u odnosu na prevremeno rođeno dete iste GS i kalendarskog uzrasta iznosi 57,52% (95%CI 49,560 – 65,100).

### 5.8.3. Višeplođna trudnoća i arteficiojalno žaćeće naspram TM u uzrastu od 12 meseci

Interraeakcija ove dve nezavisne varijable (arteficiojalno žaćeće – varijabla 1 i višeplođna trudnoća – varijabla 2) u odnosu na zavisnu varijablu - manja TM deteta u uzrastu od 12 meseci, ispitano je logistioekom regresijom. Rezultat (prikazan u Tabeli 8) ukazuje da interreakcija između nezavisnih varijabli nije statistiočki značajna.

| Varijabla     | koeficiojent | standardna greška | p             | O.R.   | 95% CI          |
|---------------|--------------|-------------------|---------------|--------|-----------------|
| 1             | 1,0703       | 0,2425            | 0,0000        | 2,9164 | 1,8132 – 4,6908 |
| 2             | 0,4410       | 0,2410            | 0,0672        | 1,5542 | 0,9692 2,4924   |
| interreakcija | -0,2269      | 0,3363            | <b>0,4999</b> | 0,7970 | 0,4123 1,5407   |

Legenda: 1- arteficiojalno žaćeće, 2 – višeplođna trudnoća, p – nivo statistiočke značajnosti,

OR(eng. *Odds ratio*) – odnos verovatnoće, 95%CI – 95% interval poverenja

**Tabela 8.** Logistiočki regresioni modelsa dve nezavisne varijable (arteficiojalno žaćeće i višeplođna trudnoća)

#### **5.8.4. IUGR naspram TM u uzrastu od 12 meseci**

U čitavoj populaciji ispitanika (obe grupe; 308 dece), ukupno 34 dece je imalo IUGR. Manju telesnu masu u odnosu na svog ‘para’ imalo je 28 dece sa IUGR i 126 dece bez IUGR.

Logistička regresija pokazala je da je IUGR nezavisan faktor rizika za manju telesnu masu deteta u uzrastu od 12 meseci, u odnosu na dete iste GS i kalendarskog uzrasta. ( $p < 0,001$ ; OR 5,4815; 95% CI 2,1994 – 13,6610). Verovatnoća da će u uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođeno dete iz artefijalno začete trudnoće imati manju telesnu masu u odnosu na prevremeno rođeno dete iste GS i kalendarskog uzrasta iznosi 82,35% (95%CI 65,90– 91,85).

#### **5.9. Faktori rizika za lošiji telesni i psihomotorni razvoj u uzrastu od 18 meseci**

Među posmatranim pokazateljima telesnog i psihomotornog razvoja, u uzrastu od 18 meseci statistički su se značajno razlikovale samo prosečne vrednosti globalnog i pojedinačnih koeficijenata psihomotornog razvoja ispitanika iz Grupe 1 i Grupe 2. Deca iz Grupe 1 imala su statistički niže vrednosti RQ, u globalu i po pojedinim domenima razvoja, od dece iz Grupe 2.

Logističkom regresionom analizom dobijena je statistički značajna korelacija između vrednosti RQ u uzrastu od 18 meseci i sledećih nezavisnih varijabli: artefijalno začeta trudnoća i višeplodna trudnoća.

##### **5.9.1. Artefijalno začete naspram RQ u uzrastu od 18 meseci**

Za konstrukciju modela logističke regresije, upoređena je vrednost RQ svakog ispitanika iz Grupe 1 sa vrednošću RQ njegovog ‘para’ iz kontrolne grupe. Ukupno 63 ispitanika iz Grupe 1 (trudnoća začeta artefijalno – nezavisna varijabla = 1) je imalo manji RQ (zavisna varijabla = 1) u uzrastu od 18 meseci u odnosu na svog ‘para’ iz kontrolne grupe.

Logistička regresija pokazala je da je veštačko začeće nezavisan faktor rizika za nižu vrednost RQ u uzrastu od 18 meseci. ( $p=0,0014$ ; OR 2,0864; 95% CI 1,3247– 3,2862). Verovatnoća da će u uzrastu od 18 meseci, prevremeno rođeno dete iz artefijalno začete trudnoće imati niži RQ u odnosu na prevremeno rođeno dete iste GS i kalendarskog uzrasta iz spontano začete trudnoće, iznosi 59,09% (95%CI 51,16– 66,57).

Između Grupe 1 i Grupe 2, upoređen je i broj dece sa nekorigovanim  $RQ < 90$ . U Grupi 1 bilo je 57 dece sa nekorigovanim  $RQ < 90$ , a u Grupi 2 je bilo 31 dete sa nekorigovanim  $RQ < 90$ . Logistička regresija pokazala je da je veštačko začeće nezavisan faktor rizika za ispodprosečnu vrednost nekorigovanog RQ u uzrastu od 18 meseci. ( $p=0,0029$ ; OR 2,1679; 95% CI 1,2928– 3,6354). Verovatnoća da će u uzrastu od 18 meseci, prevremeno rođeno dete iz artefijalno začete trudnoće imati nekorigovani  $RQ < 90$  iznosi 35,33% (95%CI 28,11 – 43,30).

### **5.9.2. Višplodna trudnoća naspram RQ u uzrastu od 18 meseci**

U čitavoj populaciji ispitanika (obe grupe; 308 dece), bilo je 153 deteta iz višplodnih trudnoća i 155 dece iz jednoplodnih trudnoća. Manju vrednost RQ u odnosu na svog "para" imalo je 56 dece iz višplodnih trudnoća i 29 dece iz jednoplodnih trudnoća. Logistička regresija pokazala je da je i višplodna trudnoća nezavisan faktor rizika za manju vrednost RQ u uzrastu od 18 meseci, u odnosu na dete iste GS i kalendarskog uzrasta ( $p=0,0004$ ; OR 2,508; 95% CI 1,4902 – 4,222). Verovatnoća da će u uzrastu od 18 meseci, prevremeno rođeno dete iz višplodne trudnoće imati manju vrednost RQ u odnosu na prevremeno rođeno dete iste GS i kalendarskog uzrasta iznosi 36,60 % (95%CI 29,35 – 44,51).

### 5.9.3. Višeplodna trudnoća i arteficialno žaćeće naspram RQ u uzrastu od 18 meseci

Logistički regresioni model sa dve nezavisne varijable (arteficialno žaćeće i višeplodna trudnoća) pokazao je da ne postoji statistički značajna interreakcija između ove dve nezavisne varijable u odnosu na lošije postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja tj. niži RQ ( $p = 0,6014$ ; OR 0,8318; 95% CI 0,4168 – 1,6601).

### 5.10. Faktori rizika za lošiji telesni i psihomotorni razvoj u uzrastu od 24 meseca

Ispitanici iz Grupe 1 i Grupe 2 nisu se statistički značajno razlikovali ni pojednom od posmatranih pokazatelja telesnog i psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca zbog čega regresioni logistički model nije primenjen.

### 5.11. Struktura morbiditeta u uzrastu od 12, 18 i 24 meseca

Struktura morbiditeta ispitanika iz obe grupe, pri kontrolama u uzrastu od 12, 18 i 24 meseca data je u Tabeli 9.

| dijagnoza                     | Grupa 1 (No 154) |      |      | Grupa 2 (No 154) |      |      |
|-------------------------------|------------------|------|------|------------------|------|------|
|                               | 12 m             | 18 m | 24 m | 12 m             | 18 m | 24 m |
| Dystonia alia                 | 31               | 18   | 3    | 28               | 14   | 4    |
| Usporen psihomotorni razvoj   | 1                | 1    | 1    | 1                | 1    | 1    |
| Hydrocephalus                 | 2                | 2    | 2    | 1                | 1    | 1    |
| Strabismus                    | 0                | 4    | 6    | 0                | 2    | 5    |
| Amblyopia                     | 0                | 6    | 6    | 0                | 6    | 9    |
| Anaemia                       | 28               | 6    | 2    | 32               | 4    | 3    |
| Akutne respiratorne infekcije | 68               | 38   | 17   | 47               | 27   | 8    |

**Tabela 9.** Struktura morbiditeta (sa apsolutnim frekvencijama) ispitanika iz obe grupe, pri kontrolama u uzrastu od 12, 18 i 24 meseca

U uzrastu od 12 meseci, dijagnoza akutne respiratorne infekcije je bila najčešće postavljena dijagnoza kod dece iz obe grupe. Akutne respiratorne infekcije bile su češće kod dece iz Grupe 1. Uočena je statistički značajna razlika u učestalosti ove dijagnoze između ispitivanih grupa (Hi kvadrat test,  $p= 0,013$ ). Regresiona logistička analiza ukazala je na statistički značajnu, pozitivnu, korelaciju između nezavisne varijable - višepodna trudnoća i zavisne variable - dijagnoze akutne respiratorne infekcije.

U uzrastu od 12 meseci, druga po učestalosti je bila dijagnoza – *Anaemia*, u Grupi 1 ovu dijagnozu imalo je 18,182% dece, a u Grupi 2 – 20,779% dece. U ovom uzrastu, nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti anemije između dece iz Grupe 1 i Grupe 2 (Hi kvadrat test,  $p= 0,565$ ).

U istom uzrastu, treća po učestalosti, bila je dijagnoza – *Dystonia alia* i postavljena je kod 20,130% dece iz Grupe 1 i kod 18,182% dece iz grupe 2. U uzrastu od 12 meseci, nije uočena statistički značajna razlika u učestalosti ove dijagnoze između ispitivanih grupa (Hi kvadrat test,  $p= 0,664$ ).

Usporen psihomotorni razvoj i hidrocefalus javile su se sporadično, sa podjednakom učestalosti u obe grupe (Fišerov test tačne verovatnoće;  $p= 0,687$  i  $p= 0,564$ , po redosledu navođenja). Stabizam i ambliopija nisu registrovane u ovom uzrastu.

U uzrastu od 18 meseci, dijagnoza akutne respiratorne infekcije je, takakođe, bila najčešće postavljena dijagnoza kod dece iz obe grupe. Akutne respiratorne infekcije bile su češće kod dece iz Grupe 1 nego iz Grupe 2 (24,675% naspram 17,532%), ali ova razlika nije bila statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p= 0,283$ ).

Druga po učestalosti bila je dijagnoza *Dystonia alia* u obe grupe ispitanika. Broj dece sa ovom dijagnozom bio je veći u Grupi 1 (11,688%) nego u

Grupi 2 (90,090%), međutim, ova razlika u učestalosti distonije između ispitivanih grupa nije bila statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,455$ ).

U uzrastu od 18 meseci, dijagnoza anemije postavljena je kod 3,900 % dece iz Grupe 1 i kod 2,597% dece iz Grupe 2. Ova razlika u učestalosti nije bila statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,543$ ).

U uzrastu od 18 meseci, dijagnoza ambliopije postavljena je kod 3,896% dece iz Grupe 1 i kod istog broja dece iz Grupe 2. Dijagnoza strabizma postavljena kod 2,597% dece iz Grupe 1 i kod 1,298% dece iz Grupe 2 i ova razlika u učestalosti nije bila statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,449$ ).

I u ovom uzrastu, usporen psihomotorni razvoj i hidrocefalus su registrovani sporadično, sa podjednakom učestalosti u obe grupe (Fišerov test tačne verovatnoće;  $p = 0,687$  i  $p = 0,564$ , po redosledu navođenja). U svim slučajevima usporenog psihomotornog razvoja i hidrocefalusa, radilo se o pacijentima kod kojih je ova dijagnoza postavljena u uzrastu od godinu dana.

U uzrastu od 24 meseca, dijagnoza akutne respiratorne infekcije je, takođe, bila najčešće postavljena dijagnoza kod dece iz obe grupe. Akutne respiratorne infekcije bile su češće kod dece iz Grupe 1 nego iz Grupe 2 (11,039% naspram 5,195%) i ova razlika nije bila statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,054$ ).

Druga po učestalosti bila je dijagnoza ambliopije, u obe grupe ispitanika. Broj dece sa ovom dijagnozom bio je manji u Grupi 1 (3,896%) nego u Grupi 2 (5,844%), međutim, ova razlika u učestalosti ambliopije između ispitivanih grupa nije bila statistički značajna (Hi kvadrat test,  $p = 0,427$ ).

U strukturi morbiditeta u uzrastu od 24 meseca, strabizam je bio zastupljen sa 3,896% u Grupi 1 i 3,247% u Grupi 2. Ova razlika nije statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,759$ ).

U uzrastu od 24 meseca, dijagnoza anemije postavljena je kod 1,299 % dece iz Grupe 1 i kod 2,597% dece iz Grupe 2. Ova razlika u učestalosti nije bila statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,653$ ).

Distonija je bila prisutna kod svega 1,948% dece iz Grupe 1 i kod 2,597% dece iz Grupe 2. Ova razlika nije statistički značajna (Fišerov test tačne verovatnoće,  $p = 0,724$ )

U uzrastu od 24 meseca, usporen psihomotorni razvoj i hidrocefalus su registrovani kao pojedinačni slučajevi, sa podjednakom učestalosti u obe grupe (Fišerov test tačne verovatnoće;  $p = 0,687$  i  $p = 0,564$ , po redosledu navođenja). U svim slučajevima usporenog psihomotornog razvoja i hidrocefalusa, radilo se o pacijentima kod kojih je ova dijagnoza postavljena u uzrastu od godinu dana.

## 6. DISKUSIJA

Sprovedeno istraživanje obuhvatilo je dve grupe od 154 prevremeno rođena deteta (ukupno 308 ispitanika), od kojih su polovina, prevremeno rođena deca začeta tehnikama asistiranje reprodukcije. Među decom začetom uz pomoć ART-a, velika većina, odnosno 153 deteta su bila začeta IVF-om uz korišćenje svežih embriona, dok je samo jedno dete začeto tehnikom IVF-a uz korišćenje krioprezerviranog embriona (u ovom slučaju majka je imala 15 prethodnih, bezuspešnih pokušaja IVF-a).

Kada su ispitivane izabrane karakteristike trudnica, odnosno majki dece koja su uključena u studiju, rezultati su pokazali da se ove žene statistički značajno razlikuju po svim posmatranim karakteristikama, sem po broju prethodnih (uspešnih i neuspešnih) trudnoća.

Očekivano, prosečna starost majki dece koja su začeta IVF-om, bila je statistički značajno veća od prosečne starosti majki koje su imale spontano začete trudnoće. Majke iz ispitivane grupe imale su u proseku više od 36 godina, a iza sebe, najčešće jedan ili dva neuspela pokušaja IVF-a. Majke dece iz kontrolne grupe, imale su u proseku, nešto preko 32 godine, i jednu trudnoću završenu živorođenjem, ili ukupno dve trudnoće (od kojih je jedna okončana ili artefijalnim ili spontanom pobačajem). Prosečna starost majki dece iz artefijalno začetih trudnoća je u skladu sa podacima iz svetske literature. Naime, u jednom istraživanju iz 2010.godine, navedeno je da je prosek uzrasta majki koje se podvrgavaju tretmanima asistiranje reprodukcije 36 godina<sup>144</sup>. U istom istraživanju, navedeno je da je uspeh ciklusa bio najbolji kod majki uzrasta 30-34 godine i iznosio je 26,8%, dok je kod žena starosti 44 godine i više iznosio samo



1%. Podaci iz domaćih izvora, takođe su u skladu sa dobijenim rezultatima, prema navodima iz doktorske disertacije odbranjene na Medicinskom fakultetu u Beogradu 2015. godine, populacija žena koje su ostvarile trudnoću pomoću ART obuhvata 44,3% žena u dobi od 35 do 39 godina i 36,5% žena mlađih od 35 godina, sa prosekom od  $35,70 \pm 4,28$  godina<sup>145</sup>.

Po nekim autorima, godine majke predstavljaju najznačajni, pojedinačni faktor koji utiče na uspeh ART tretmana<sup>146,147</sup>. Viši prosek godina majki koje se podvrgavaju ART procedurama u skladu je sa globalnim trendom da se trudnoća i rađanje sve više pomeraju ka starijim uzrasnim kategorijama. Meta analiza (koja je obuhvatila 297 istraživanja) i još nekoliko originalnih studija, koje su ispitivale razloge zbog kojih žene odlažu materinstvo identifikovali su veći broj faktora: dostupnost kontracepcije, posvećenost edukaciji i poslovnoj karijeri, osećaj ekonomske nesigurnosti, nemogućnost pronalaženja partnera za dugoročnu i stabilnu vezu, ali i neadekvatnu subjektivna procena uticaja godina na fertilitet i idealizaciju u vezi mogućnosti uspešnog tretmana infertiliteta<sup>148,149,150</sup>. Uticaj godina žene na fertilitet, do sada je dobro dokumentovan. Ispitivanja u populacijama u kojima nema kontrole rađanja (društva u kojima se ne sprovodi kontracepcija), pokazala su da sposobnost začeća značajno opada već nakon 25. godine života i to prevashodno, ne zbog smanjenja broja, već zbog promena kvaliteta oocita (npr. češće pojave aneuploidije)<sup>148,151,152</sup>. Ovaj kvalitativni poremećaj jajnih ćelija, posebno postaje zastupljen kod žena starosti 35 i više godina<sup>151,152</sup>. Logično je da se pretpostavi, da kvalitativne i kvantitativne promene genetskog materijala jajne ćelije utiču, ne samo na uspeh spontanog i biomedicinski potpomognutog začeća, već i na genetski potencijal embriona/fetusa i da na taj način mogu izmeniti normalnu shemu intrauterinog razvića ploda, ali i postnatalnog rasta i razvoja deteta. Imajući u vidu sve navedeno, obzirom da su u ovom istraživanju, ispitivane grupe dece bile ujednačene po pitanju prevremenog rođenja, možemo izneti pretpostavku da su godine majke, bar delimično, imale uticaj na razvoj ploda i potencijalni uticaj na

rast i razvoj dece začete IVF-om u prve dve godine života. U uzorku iz ovog istraživanja, godine majke identifikovane su kao nezavisni faktor rizika (uz IUGR, prevremeno rođenje i višeploidnost) za manju telesnu masu deteta u uzrastu od 12 meseci.

Stručna sprema majki dece začete ART-om, bila je u proseku viša ili visoka, dok su majke iz kontrolne grupe najčešće imale srednje obrazovanje. Ova razlika je, takođe, očekivana. Kako smo prethodno naveli, jedan od čestih razloga za odlaganje začeca je posvećenost edukaciji. Istovremeno, prema podacima iz ranijih istraživanja, znamo da je najčešći razlog infertiliteta kod žena direktna posledica odloženog začeca<sup>144,146</sup>. Zbog ovoga je i očekivano da žene koje se podvrgavaju lečenju steriliteta, u velikom broju slučajeva, budu žene koje su u ranim fazama svog fertilnog perioda imale druge lične prioritete usmerene ka edukaciji i poslovnoj karijeri. Uticaj nivoa obrazovanja majke na nutritivni status i rast i razvoj dece ispitivan je u većem broju studija čiji rezultati uglavnom ukazuju na lošije napredovanje i nepovoljniji nutritivni status dece majki nižeg nivoa obrazovanja<sup>153,154,155</sup>. U ovoj studiji, deca koja su začeta prirodnim putem (deca majkinižeg stepena obrazovanja) imala su statistički značajno veću TM u uzrastu od 12 meseci, tako da je nivo obrazovanja majki ispitivan kao mogući nezavisni faktor rizika za manju telesnu masu u uzrastu od 12 meseci, ali takva statistička zavisnost nije dobijena. Izostanak ove povezanosti, opravdavamo činjenicom da nivo formalnog obrazovanja ne mora nužno da označava i nivo opšte zdravstvene informisanosti majki, pogotovo imajući u vidu odlike modernog vremena gde je dostupnost informacija o svakom pitanju, pa i po pitanjima iz oblasti zdravstvene kulture, široko dostupna. Razliku u odnosu na rezultate objavljenih svetskih istraživanja, objašnjavamo dodatno i činjenicom da je velika većina istraživanja koja se bave ovom problematikom, ipak, sprovedena u zemljama u razvoju ili nerazvijenim zemljama, u kojima su socijalne i društvene razlike naglašene u mnogo većoj meri nego što je to slučaj u našoj zemlji, tako da je, u tim uslovima,

mogućnost obrazovanja zapravo parametar socijalnog i ekonomskog statusa, koji mogu imati mnogo snažniji uticaj na nutritivi status deteta.

Majke dece začete ART-om, češće su imale hronične i bolesti dijagnostikovane tokom trudnoće. Struktura oboljenja dijagnostikovanih pre trudnoće, kod majki dece iz obe grupe bili su slični, a razlika je postojala samo u učestalosti oboljenja štitaste žlezde i trombofilije, koji su statistički češće dijagnostikovane kod majki dece iz arteficialno začelih trudnoća. Što se tiče bolesti koje su dijagnostikovane tokom trudnoće, struktura oboljenja je takođe bila slična, ali su majke dece koja su začeta ART-om, češće imale gestacijsku hipertenziju i preeklampsiju/eklampsiju, dok su majke koje su spontano ostvarile trudnoću češće imale bakterijsku infekciju. Struktura upotrebe pojedinih medikamenata tokom trudnoće, odražava prethodno opisanu strukturu morbiditeta majki. U grupi sa ART začelim trudnoćama, majke su češće uzimale hormonsku terapiju, antihipertenzive, te antikoagulacionu i antiagregacionu terapiju, dok su majke dece iz kontrolne grupe statistički značajno češće dobijale antibiotsku terapiju. Poremećaji placentacije i ablacija placentae, bili su češći u grupi ART začelih trudnoća. Objavljena su mnoga istraživanja koja ukazuju da su oboljenja majki povezana sa slabijim intrauterinim rastom ploda i lošijim postnatalnim telesnim i psihomotornim razvojem<sup>156,157,158,159,160</sup>. U ovom istraživanju, mada su se majke dece koja su začeta ART-om značajno razlikovale od majki dece koja su spontano začeta po strukturi morbiditeta, ekspoziciji lekovima i učestalosti poremećaja placentae, logistička regresiona analiza nije izdvojila ni jednu od navedenih varijabli kao nezavistan faktor rizika za posmatrane rane i kasne pokazatelje neonatalnog ishoda kod prevremeno rođene dece začete ART-om.

U populaciji obuhvaćenoj ovim istraživanjem, broj jednoplodnih trudnoća, u grupi dece začete ART-om, bio je značajno manji od broja jednoplodnih trudnoća u kontrolnoj grupi. Udeo višeplodnih trudnoća, u grupi ART trudnoća je izuzetno visok i iznosi 62,07%. Veći udeo višeplodnih trudnoća kod majki koje su trudnoće započele uz pomoć IVF-a jeste očekivan, ali je u koliziji za savremenim

stremljenjima u opstetrijskoj praksi koje preporučuju da i veštački započete trudnoće, što je češće moguće, budu jenoploplodne, jer se na taj način povećava mogućnost uspešnog okončanja trudnoće. Uspešan završetak trudnoće, definiše se kao rođenje jednog zdravog deteta, u terminu i sa normalnom telesnom masom. U istraživanju grupe kineskih autora, za period između 2006. i 2014. godine, navodi se da je udeo jednoplodnih trudnoća u ukupnom broju trudnoća začetih IVF-om čak 62,3%, dok je udeo višeploplodnih trudnoća sveden na preostalih 37,7%<sup>161</sup>. Ovo je potpuno inverzan odnos u odnosu na podatke iz naše studije. Iz naših podataka nije moguće zaključiti da li je ovakav odnos prisutan u "opštoj populaciji" trudnoća začetih IVF-om u Srbiji – što svakako ne bi bio dobar trend, ili je samo zastupljen kod onih trudnoća koje se nisu uspešno završile (obzirom da je naš uzorak obuhvatio je samo prevremeno rođenu decu koja su zahtevala neki vid lečenja u bolnici, što se već po definiciji ne smatra uspehom IVF-a). U svakom slučaju, kontekstu našeg istraživanja, višeploplodnost trudnoće identifikovana je kao nezavistan faktor rizika za manju telesnu masu u uzrastu od 12 meseci i lošije postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja u uzrastu od 18 meseci kod dece koja su rođena pre termina. Dodatno, na našem uzorku, višeploplodnost trudnoće pokazala se kao faktor koji ima ovakve efekte, nezavisno da li se radi o trudnoćama začetim IVF-om ili spontanim putem. Ovakvi rezultati su uglavnom u saglasnosti sa većinom do sada objavljenih istraživanja koja su se bavila ovom tematikom i koja prijavljuju višestruku redukciju (4-16 puta) u učestalosti različitih materalnih i neonatalnih komplikacija kod jednoplodnih trudnoća u odnosu na višeploplodne trudnoće začete IVF-om<sup>162,163</sup>.

Način porođaja, u obe grupe, dominantno je bio carski rez, ali je u grupi majki dece začetih IVF-om, bio skoro ekskluzivni statistički značajno češći način okončanja trudnoće. Ovi rezultati su saglasni sa opservacijama iz drugih istraživanja. Prema rezultatima istraživanja *Qin* i saradnika, verovatnoća okončanja trudnoće carskim rezom je statistički značajno veća kod trudnoća sa asistiranim začećem (RR = 1,79; 95% CI 1,49–2,16)<sup>164</sup>. Najočitiiji razlog za

ovakav trend je veća učestalost višeplođnih (blizanačkih) trudnoća u slučajevima asistiranog začeća<sup>165</sup>. Prema zaključcima pojedinih istraživanja, razlozi za ovo mogu da leže i u činjenici da se radi o trudnicama u uznapredovalom reproduktivnom dobu, ali i u strahu od nepovoljnog ishoda po plod<sup>166,167</sup>. Zanimljivo je napomenuti da carski rez nema samo medicinske konsekvence, već ima i značajan psihološki efekat na majke. Istraživanje sprovedeno u Švedskoj pokazalo da je jedan od značajnih razloga nezadovoljstva ishodom porođaja, kod majki dece koja su začeta metodama ART-a, ali i kod majki spontano začete dece - upravo okončanje trudnoće carskim rezom<sup>171</sup>. Zbog navedenog, iako u našem istraživanju, porođaj carskim rezom nije identifikovan kao značajan faktor rizika za posmatrane pokazatelje fizičkog i psihomotornog razvoja prevremeno rođene dece, na ovom mestu želimo da podsetimo na značaj opravdanosti i jasnih indikacija za okončanje trudnoće carskim rezom, pogotovo kod kasne pretermanske novorođenčadi, kod koje su elektivne indikacije (carski rez ‘na zahtev’ trudnice) relativno čest slučaj u praksi, pogotovo kod arteficialno začelih trudnoća<sup>168,169,170</sup>.

Prevremena ruptura ovojaka ploda, bila je statistički značajno češća u trudnoćama začetim IVF-om. Ovaj podatak je u skladu sa rezultatima većine objavljenih studija. Jedna studija sprovedena u našoj državi, koje je obuhvatila majke i decu koja su začeta različitim tehnikama ART-a i u kojoj je prosečna GS dece bila oko 36 gestacijskih nedelja, pokazala je da generalno, u odnosu na spontano začetu decu, PROM nije češći kod dece začete nekom od tehnika ART-a, međutim kada je ispitivana grupa dece koja su začeta ART-om stratifikovana osnovu primenjene tehnologije ART-a, pokazalo se da su trudnoće začete IVF/ICSI metodama češće komplikovane PROM-om u odnosu na spontano začete trudnoće<sup>168</sup>. Navedeni nalazi objašnjavaju i saglasni su sa rezultatima ovog istraživanja u kojem smo uočili veću učestalost PROM-a u trudnoćama koje su arteficialno začete, obzirom da su sva deca u našem uzorku bila začeta tehnikama IVF-a.

U odnosu na antropometrijske parametre na rođenju i prisustvo IUGR-a, rezultati studije su pokazali da se prevremeno rođena novorođenčad začeta IVF-om, statistički značajno razlikuju od prevremeno rođene novorođenčadi koja su spontano začeta, samo po PTM i učestalosti IUGR. Takođe, u grupi dece koja su začeta IVF-om, bilo je statistički značajno više dece veoma male telesne mase i dece sa IUGR-om. Prosečna razlika u PTM između dece začete IVF-om i spontano začete dece iznosila je  $-59,472 \pm 426,340\text{g}$ . Dominanta forma IUGR, bila je forma asimetričnog intrauterinog zastoja u rastu. S druge strane, u kontrolnoj grupi, bilo je više nego duplo manje slučajeva IUGR-a, a među njima je, opet, dominantno bila zastupljena asimetrična forma. Većina do sada sprovedenih istraživanja potvrđuju ovakve rezultate. *Mc Donald* sa saradnicima, našla je artefijalno začeće povećava rizik za rođenje deteta telesne mase ispod 1500g za 2,65 puta, dok rizik za IUGR povećava za 1,45 puta<sup>173</sup>. Iako se ovakav ishod najčešće objašnjava višeploidnošću ART trudnoća, *Jackon* i saradnici su uočili sličan trend nakon sprovedene meta analize ukupno 15 studija u kojima su upoređivana samo deca iz jednoplodnih trudnoća, akoje su sumarno obuhvatile 12283 dece začete IVF-om i 1,9 miliona spontano začete dece, a njihovi nalazi ukazivali su da je IVF faktor rizika koji povećava verovatnoću za malu PTM (OR 1,8; 95% CI 1,4 - 2.2), veoma malu PTM (OR 2,7; 95% CI 2,3 - 3.1) i rođenje deteta sa PTM malom za GS (OR 1,6; 95% CI 1,3- 2,0)<sup>174</sup>. I u našem istraživanju, kada su upoređeni PTM i učestalost IUGR samo između 33 ‘para’ novorođenčadi iz jednolodnih trudnoća i 16 ‘parova’ blizanaca, uočeno je da su i ovakvim upoređivanjem, novorođenčad iz IVF trudnoća, imala statistički značajno manju PTM i veću učestalost IUGR. Još jedno istraživanje sprovedeno u Brizbejnu u Australiji, čiji su rezultati objavljeni pre nekoliko meseci, dokazalo je povezanost ART-a i tendencije da deca začeta na ovaj način imaju nižu PTM u odnosu na spontano začetu decu<sup>175</sup>. Nasuprot svemu navedenom, objavljena su i istraživanja u kojima ovakva veza ne samo da nije potvrđena, već je ART izdvojen

kako faktor koji smanjuje verovatnoću rađanja deteta sa veoma malom telesnom masom (OR 0,75; 95% CI 0,58–0,95)<sup>176</sup>.

Naš uzorak je dominantno obuhvatio decu začetu IVF-om pri čemu su upotrebljavani sveži embrioni, a samo jedno dete je začeto korišćenjem prethodno krioprezerviranog embriona, tako da potencijalni uticaj temperature i same tehnologije i vrste arteficijalne reprodukcije, na našem uzorku nije bilo moguće ispitati. Jedini ispitanik, iz ove studije, koji je rođen nakon IVF-a sa krioprezerviranim embrionom, imao je normalnu PTM i druge antropometrijske parametre na rođenju u odnosu na GS. Ovo pitanje bi trebalo razraditi i dodatno rasvetliti, s obzirom da u postojećoj literaturi, postoje indicije da pojedine tehnike ART-a na različite načine moduliraju procese rasta i razvoja embriona i fetusa.

U uzorku naših ispitanika, vrednost AS u prvom minutu života, bila je statistički značajno veća od vrednosti ovog skora u kontrolnoj grupi prevremeno rođene dece. U istraživanjima koja su nam bila dostupna, najčešće se prijavljuju niže vrednosti AS u prvom i petom minutu života kod dece začete ART-om<sup>177,178,179</sup>. Ovu razliku u našim nalazima, možemo objasniti činjenicom, da se trudnoće začete ART-om, brižljivije i češće prate, pa je samim tim i bolje razrađena strategija u slučaju prevremenog rođenja, a verovatnoća i momenat prevremenog porođaja se mogu bolje anticipirati. S druge strane, prevremeni porođaji kod spontano začelih trudnoća obično su bili izazvani neočekivanim dešavanjima u vezi zdravstvenog stanja majke ili ploda, dešavaju se iznenada i “neplanski”, što u značajnoj meri može uticati na sam tok porođaja, neposredni predporođajni tretman trudnice i ploda, pa samim tim i na “kondiciju” deteta neposredno nakon rođenja. Najčešći razlog prevremenog porođaja u kontrolnoj grupi bile su prevremene kontrakcije, bez druge značajne prethodne medicinske istorije, a carski rez je češće bio indikovao *sub partu*. Vrednost AS u 5.minutu nije se značajno razlikovala između grupa, ali su novorođenčad koja su spontano začeta imala veći porast AS, što može da ukaže na mogućnost da su spontano

začeta deca ipak, nakon inicijalne stabilizacije, imala promptniju reakciju i bolji kapacitet adaptacije na ekstrauterine uslove života.

Kao pokazatelje neonatalnog morbiditeta, u ovoj studiji, posmatrali smo ukupnu dužinu hospitalizacije, broj dana na mehaničkoj respiratornoj potpori, broj dana na neinvazivnoj respiratornoj potpori, trajanje oksigenoterapije i značajne dijagnoze pri otpustu iz bolnice (intrakranijalna hemoragija visokog stepena, periventrikularna leukomalacija, retinopatija prematuriteta, bronhopulmonalna displazija, nekrotizirajući enterokolitis, sepsa/meningitis, te urođene anomalije, genetski sindromi i bolesti metabolizma). Od posmatranih parametara, u ovoj studiji, kao statistički značajno različiti između grupa su se pokazali: dužina hospitalizacije, trajanje mehaničke respiratorne potpore, te učestalost BPD i ROP. Deca iz IVF-om začelih trudnoća imala su kraće vreme provedeno na mehaničkoj respiratornoj potpori i ranije su otpuššana kući (kraća hospitalizacija), a od oboljenja – češće su imali postavljenu dijagnozu BPD. Deca iz kontrolne grupe su češće imala dijagnozu ROP-a. S obzirom da se u stručnoj javnosti uveliko polemise o povezanosti ART procedura i urođenih malformacija, kao značajan podatak, ističemo da, u našem uzorku prevremeno rođene dece, nije postojala razlika u incidenciji urođenih mana, genetskih sindroma i bolesti metabolizma između dece začete prirodnim putem i dece začete IVF-om. Ovakav rezultat je najverovatnije posledica dobro organizovanog i sveobuhvatnog praćenja ART-om začelih trudnoća (redovni pregledi, ekspertni ultrazuk i dr.)

Navedene opservacije iz ove studije, uglavnom su u saglasnosti sa rezultatima većeg broja istraživanja koje su se bavile istraživanjem neposrednih i kratkoročnih ishoda kod prevremeno rođene dece koja su začeta tehnikama ART-a<sup>180,181,182,183</sup>. Neslaganje postoji u rezultatima koji se odnose na učestalost BPD i ROP-a. U studiji koju su proveli *Corcha* i saradnici rezultati ukazuju da asistirano začeće (IVF) predstavlja protektivni faktor u odnosu na bronhopulmonalnu displaziju, što je u koliziji sa nalazima iz našeg istraživanja<sup>180</sup>. Takođe, za razliku od naše studije, studija *Corcha-e* i saradnika, pokazala je i da ne postoji značajna



razlika u učestalosti ROP-a između prevremeno rođene dece začete IVF-om i spontano začete prevremeno rođene dece. Nasuprot tome, druga studija, ustanovila je povećanu incidenciju i BPD i ROP-a kod dece koja su začeta IVF-om<sup>181</sup>.

Od posmatranih pokazatelja fizičkog i psihomotornog razvoja, u uzrastu od 12 meseci, deca iz ART trudnoća su se statistički značajno razlikovala od spontano začete decesamo po prosečnoj TM. Logističkom regresijom analizom, kao nezavisni faktori rizika za manju telesnu masu u uzrastu od 12 meseci kod prevremeno rođene dece začete IVF-om, izdvojili su se: veštačko začeće, višeploidnost trudnoće i IUGR.

Povezanost artefijalnog začeća i manje/male telesne mase u kasnijim uzrastima, nezavisno od višeploidnosti trudnoće i prevremenog rođenja, dokazana je u pojedinim istraživanjima. Tako na primer, povezanost artefijalnog začeća i povišenog rizika zamanju telesnu masu u uzrastu od 12 meseci dokazali su Koivurova i saradnici<sup>184</sup>. Prema njihovim rezultatima, rizik za malu težinu (ali i visinu), definisanu kao vrednost ovih parametara ispod 10. percentila, kod artefijalno začete dece u uzrastu od jedne godine bio je 1,6 puta viši (OR 1,6; 95%CI 1,1–2,2), dok je u uzrastu od dve godine rizik za manju TM kod artefijalno začete dece bio 1,5 puta viši u poređenju sa spontano začetom decom. U našem uzorku, deca iz ispitivanih grupa su prevremeno rođena, ali su međusobno izjednačena po GS, tako da razliku u telesnoj masi u uzrastu od 12 meseci ne možemo objasniti prematuritetom ili razlikom u korigovanom uzrastu. Smatra se da prevremeno rođena deca imaju linearni trend rasta, koji odražava stanje kod fetusa, i da se takav trend čak i nastavlja kada ova deca dostignu i prerastu gestacijski uzrast terminskog novorođenčeta (37-40 GN), što im omogućava da posle izvesnog vremena dostignu ("uhvate") telesnu masu, visinu i druge pokazatelje telesnog razvoja terminske dece istog kalendarskog uzrasta<sup>185,186,187,188,189,190</sup>. Obzirom da su, u ovom istraživanju, deca iz artefijalno začelih trudnoća, u startu imala manju telesnu masu od spontano začete dece iz

kontrolne grupe, moguće je da ova razlika u uzrastu od 12 meseci zapravo samo odražava tu činjenicu, pogotovo ako imamo u vidu i da su deca iz arteficiojno začetih trudnoća imala isti ili čak blago veći tempo rasta i prirast u TM u odnosu na decu iz spontano začetih trudnoća tokom prvih 12 meseci života. Naravno, u ovu raspravu, treba da se unese i faktor višeplođnih trudnoća, obzirom da je dobro poznata činjenica da blizanci imaju manju PTM i češće IUGR u odnosu na decu iz jednoplođnih trudnoća<sup>191</sup>.

U uzrastu od 12 meseci, vrednost skora na testu za procenu psihomotornog razvoja, nije se razlikovala između grupa. Međutim, ispitanici iz obe grupe imali su nižu i istovremeno, za kalendarski uzrast, ispodprosečnu vrednost ovoga skora. Ovakav rezultat objašnjavamo prematuritetom ove dece. Dobro je poznato da prevremeno rođena deca, prilikom procene psihomotornog razvoja, bez obzira na korišćene testove, postižu značajno niže rezultate, ako se ne uzme u obzir korigovani uzrast deteta.

Ipak, i kada su upoređene (u skladu sa GS) korigovane vrednosti skora, dobijen je rezultat koji ukazuje da u ovom uzrastu deca iz arteficiojno začetih trudnoća, statistički značajno češće postižu ispodprosečne vrednosti korigovanog skora (korigovani RQ < 90), od dece začete spontano (RR 1,261; 95%CI 1,008-1,577). Dobra strana nalaza je da su korigovane vrednosti skora za procenu psihomotornog razvoja kod velike većine dece (oko 90%) iz obe grupe, ipak bile  $\geq 85$ . Imajući u vidu navedeno, možemo zaključiti da su prevremeno rođena deca iz IVF-om začetih trudnoća uglavnom adekvatno prate očekivani tempo razvoja, ali da u uzrastu od 12 meseci imaju povećan rizik za diskretnim zaostajanjem u psihomotornom razvoju u odnosu na spontano začetu prevremeno rođenu decu.

Do sada objavljene studije, uglavnom su izučavale psihomotorni razvoj dece rođene u terminu iz ART trudnoća i upoređivale ga sa ishodom kod spontano začete terminske dece. Jedna od takvih je i studija koju su načinili

*Hashimoto* i saradnici<sup>192</sup>. Ovi autori su ispitivali uticaj ART-a na psihomotorni razvoj dece rođene u terminu tokom prve godine života (odnosno u prvom, trećem, šestom, devetom i dvanaestom mesecu života). Istraživanjem nije uočena statistički značajna razlika između postignuća na testu za procenu psihomotornog razvoja kod dece rođene iz ART trudnoća u odnosu na spontano začetu decu u uzrastu od 12 meseci. Čak, šta više, deca iz ART trudnoća, tokom perioda praćenja, pri kontrolama u prvom, trećem, šestom i devetom mesecu života, postizala su više skorove na primenjenim testovima. Činjenica da su globalni razvojni količnik i rezultati postignuti po segmentima (manipulacija, receptivni jezik i društveni odnosi), barem tokom ranog detinjstva, bili značajno bolji u grupi dece začete ART-om, autore ovog istraživanja navela je na zaključak da deca začeta ART-om imaju veći intelektualni potencijal od spontano začete dece, u slučajevima bez višeplođnih trudnoća, prematuriteta ili niske telesne mase. Takođe, još jedna studija, druge grupe istraživača iz Japana, pokazala je da ART, sam po sebi, nije nepovoljan prognostički faktor budućeg psihomotornog razvoja dece, već da se potencijalno nepovoljan uticaj ART-a na psihomotorni razvoj dece, najviše odražava preko činjenice da su ART trudnoće češće višeplođne i da se iz ovakvih trudnoća mnogo češće rađaju prevremeno rođena novorođenčad i novorođenčad niske telesne mase što su, sami po sebi, nezavisni faktori rizika za lošiji psihomotorni razvoj<sup>194</sup>. Po nalazima još dve studije iz grupe skandinavskih zemalja, ovakava tendencija boljeg postignuća na testovima za procenu psihomotornog razvoja, kod dece iz jednoplođnih trudnoća začetih ART-om, se produžava i na kasniji uzrast<sup>195,196</sup>.

Istraživanje kojese bavilo potencijalim uticajem tehnike ICSI na različite perinatalne ishode, au odnosu na klasičan IVF i spontano začeće, pokazalo je da nije bilo značajne razlike u incidencijama velikih kongenitalnih malformacija ili značajnih zdravstvenih problema u prvoj godini života, ni kada su upoređivana deca začeta tehnikom ICSI sa decom začetom klasičnim IVF-om i spontano začetom decom, ni kada su sumarno upoređivali decu začetu ICSI i klasičnim

IVF-om u odnosu na spontano začetu decu<sup>193</sup>. Međutim, rezultati ovog istraživanja ukazali su da je postojala razlika u prosečnoj vrednosti skora za procenu psihomotornog razvoja (po Bayley MDI skali) koja je bila znatno niža kod dece koja su začeta pomoću tehnika ICSI, u odnosu na decu koja su začeta klasičnim IVF ili prirodnim putem (95,9 [SD ±10,7], 101,8 [SD ±8,5] i 102,5 [SD ±7,6], po redosledu navođenja). Ukupno petnaestoro (17%) od 89 dece začeto ICSI tehnikom imalo je umereno ili značajno narušen psihomotorni razvoj (MDI <85) u uzrastu od 12 meseci, u poređenju sa 2% od 84 dece koja su začeta IVF-om i svega 1% od 80 dece začete prirodnim putem. Iako je većina dece koja su začeta tehnikama ICSI-a bila zdrava zdrava i normalno se razvijala, ova studija je pokazala da postoji povećani rizik od blagih kašnjenja u psihomotornom razvoju tokom prve godine života, u poređenju sa decom koja su začeta klasičnim IVF ili prirodnim putem.

Imajući na umu sve navedeno, lošije postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja kod dece iz arteficialno začetih trudnoća koje je registrovano u našem istraživanju, možemo objasniti većom učestalošću višeplođnih trudnoća i primenjene tehnike arteficialnog začeća. Ovu relaciju ne možemo sa sigurnošću dokazati, pošto, u nama dostupnoj medicinskoj dokumentaciji (otpusno pismo za novorođenče), nije navođena tehnika, odnosno nije eksplicitno navedeno da li je trudnoća začeta klasičnim IVF-om ili pomoću ICSI. Obzirom da je u našem regionu najzastupljenija tehnika ICSI, pretpostavljamo da je ovom tehnikom začet i najveći broj arteficialno začete dece u našem uzorku – a što je, kako je prethodno navedeno, faktor rizika povezan sa narušenim psihomotornim razvojem.

U uzrastu od 18 meseci, ispitanici iz dve grupe su se značajno razlikovali po nekorigovanim vrednostima skora testa za procenu psihomotornog razvoja, i u globalu i po komponentama. Deca začeta IVF-om imala su niže nekorigovane vrednosti skora. Ovakav odnos održan je i kada su upoređene korigovane vrednosti skora. Ipak, u uzrastu od 18 meseci, prosečna vrednost skora je bila viša

u odnosu na inicijalno registrovanu vrednost i skoro polovina dece iz kategorije podprosečnih korigovanih vrednosti skora, iz obe gupe, sada je ušla u kategoriju prosečnih vrednosti. U periodu od 12. do 18. meseca života, deca iz obe grupe zabeležila su značajan napredak u postignuću na testovima za procenu psihomotornog razvoja. U ovom periodu, napredak dece iz grupa nije bio ujednačen. Porast (nekorigovane i korigovane) vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja u odnosu na inicijalne vrednosti u 12. mesecu života, bio je veći kod dece iz kontrolne grupe. Ova činjenica nagoni na zaključak, da u periodu od dvanaestog do osamnaestog meseca života, prevremeno rođena deca začeta IVF-om imaju lako snižen tempo razvoja u odnosu na prevremeno rođenu decu začetu spontano. I u ovom uzrastu, višeploidne trudnoće identifikovane su kao nezavisan faktor za lošije postignuće na testovima za procenu psihomotornog razvoja, u odnosu na rezultate koje postižu deca iz jednoplodnih trudnoća. Stoga je ovakav nalaz, najverovatnije, delimično i rezultat dobro poznatog negativnog uticaja višeploidnih trudnoća naneposredne/rane perinatalne ishodi na tempo psihomotornog razvoja tokom prvih 18 meseci života kod dece začete IVF-om<sup>204</sup>.

U uzrastu od 24 meseca, prevremeno rođena deca iz arteficialno začelih trudnoća, ni po jednom pokazatelju fizičkog i psihomotornog razvoja se nisu razlikovala od prevremeno rođene dece koja su rođena iz trudnoća nakon spontanog začeća. Prosečne vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja, ne samo da se nisu razlikovale između ispitivanih grupa, već istovremeno, nisu pokazivale značajno odstupanje u odnosu na očekivane vrednosti ovog skora za kalendarski uzrast bez korekcije u odnosu na GS (nekorigovani RQ u ispitivanoj grupi bio je  $92,481 \pm 8,838$ ). Na osnovu ovoga, možemo izneti zaključak, da se prevremeno rođena deca iz trudnoća koje su začete IVF-om i prevremeno rođena deca iz spontano začelih trudnoća, u uzrastu od 24 meseca života, ne razlikuju se po karakteristikama telesnog i psihomotornog razvoja u odnosu na svoje vršnjake iz opšte populacije. Odnosno, ni IVF, ali ni prevremeno

rođenje, nisu nezavisni negativni faktori rizika za ‘stepen’ psihomotornog razvoja u uzrastu od 24 meseca.

Rezultati i zaključci nekoliko objavljenih studija koje su se bavile procenom psihomotornog razvoja u uzrastu od dve godine kod prevremeno rođene i/ili dece koja su začeta tehnikama arteficialne reprodukcije, su u saglasnosti sa nalazima našeg istraživanja.

U istraživanju koje je objavljeno 2010. godine, ispitivana su deca u uzrastu od 24 meseca, a koja su rođena pre navršene 33. gestacijske nedelje<sup>205</sup>. Prosečna GS u ispitivanoj grupi je bila  $30,1 \pm 2$  nedelje (što je približno poklapa sa našim uzorkom), a za procenu psihomotornog razvoja upotrebljen je isti testovni materijal kao kod ispitanika u našoj studiji. Prosečna, nekorigovana, vrednost globalnog RQ kod ove dece iznosila je  $96 \pm 13$ , odnosno bila je u nivou prosečnog/očekivanog postignuća za kalendarski uzrast. Prevremeno rođena deca koja su uključena u istraživanje, ipak, imala su statistički značajno niže vrednosti RQ i u globalu (kod kontrolne grupe prosečan RQ iznosio je  $104 \pm 8$ ) i po pojedinim komponentama (motorika, društvenost i naročito jezičke sposobnosti) u odnosu na kontrolnu grupu dece. Autori ove studije zaključili su da GS, sem na polju jezičkih sposobnosti, nema značajan efekat na postignuće na testu za procenu psihomotornog razvoja u uzrastu od 2 godine. Isti autori, ispitivali su uticaj i drugih faktora na psihomotorni razvoj, te su identifikovali da su viši socioekonomski status i viši stepen edukacije roditelja bili pozitivan prediktor boljeg postignuća na testu.

Još jedno zanimljivo ispitivanje, je ono koje je sproveo Girsen sa saradnicima. Oni su istraživali uticaj porođajne telesne mase (odnosno uticaj SGA) na psihomotorni razvoj u uzrastu od 2 godine, kod dece koja su rođena prevremeno<sup>206</sup>. Ni za ovaj faktor rizika, nije utvrđena statistički značajna povezanost u smislu lošijeg postignuća na testu za procenu psihomotornog razvoja.

Istraživanja koja su ispitivala istu problematiku kod dece začete tehnikama asistirane reprodukcije, pokazala su uglavnom slične rezultate. *Pinborg* i saradnici su ispitivali rizik od pojave neuroloških sekvela i narušenog psihomotornog razvoja, kod blizanaca iz trudnoća koje su arteficialno začete (IVF, ICSI) i dobili rezultate koji su pokazali da su ova deca u potpuno istom riziku i za neurološki defecit i za neadekvatan psihomotorni razvoj kao i prirodno začeti blizanci, ali i deca iz jednoplodnih spontano začelih trudnoća<sup>207</sup> U istom istraživanju, rezultati su pokazali da su ovi rizici isti i kada su međusobno upoređeni blizanci začeti klasičnom IVF i blizanci začeti pomoću ICSI.

Struktura morbiditeta kod dece, tokom dvogodišnjeg perioda praćenja, nije se značajno razlikovala između grupa. Jedina razlika između grupa, konstatovana je u uzrastu od 12 i 18 meseci, bila je u učestalosti akutnih respiratornih infekcija, čija je pojava, pak, bila direktno povezana sa višeplođnim trudnoćama, odnosno brojem sibringa u domaćinstvu. Iz razloga što je broj blizanaca i trigeminusa veći u porodicama u kojima je potomstvo začeto veštačkom oplodnjom, ova deca su češće bila izložena mogućnosti respiratornog infekta.

Većina negativnih neonatalnih ishoda nakon asistirane koncepcije, zapravo je povezana sa višim rizikom od prematuriteta i višeplođnim trudnoćama koje su značajno češće ako su začete ART-om. Istraživanja u kojima je analiza različitih faktora rizika koje se dovode u vezu sa ART-om, ograničena na decu koja su rođena pre termina ili na decu sa PTM <1500 g, nisu utvrdila viši mortalitet ili morbiditet u ovoj populaciji dece koji bi isključivo bio posledica ART-a<sup>198,199,200,201,202,203</sup>.

Kao sveubohvatni zaključak ovog istraživanja može se reći da su prevremeno rođena deca začeta IVF-om eksponirana većem broju faktora rizika sa potencijalno negativnim uticajem na tok trudnoće i rane neonatalne ishode.

Ova deca, neposredno po rođenju i tokom prvih 18 meseci života, pokazuju blago zaostajanje u odnosu na prevremeno rođenu decu koja su

spontano začeta, po pojedinim pokazateljima koje u praksi rutinski koristimo za procenu fizičkog i psihomotornog razvoja. Takođe, prevremeno rođena deca iz trudnoća koje su začete pomoću IVF-a, posebno u periodu između 18. i 24. meseca života pokazuju izraženiji kapacitet i veći potencijal da prevaziđu eventualne inicijalne nedostake u odnosu na spontano začetu prevremeno rođenu decu, što implicira da ovu decu treba pratiti do navršene dve godine života, kako bi na vreme otkrili eventualne probleme u telesnom i psihomotornom razvoju, ali isto tako, da ne bi preuranjeno i neosnovano postavili dijagnozu usporenog psihomotornog razvoja.



## 7. ZAKLJUČAK

1. Prosečna starost majki dece koja su začeta IVF-om je veća od prosečne starosti majki dece koja su spontano začeta.
2. Struktura morbiditeta majki dece koja su začeta IVF-om i majki dece koja su začeta spontanom koncepcijom je ista, ali je stopa morbiditeta veća kod majki dece koja su začeta IVF-om.
3. Višeploidne trudnoće su veoma zastupljene kod začeca IVF-om.
4. Trudnoće začete IVF-om se skoro ekskluzivno okončavaju carskim rezom.
5. Prevremena ruptura ovojaka ploda je česta komplikacija trudnoća koje su začete IVF-om.
6. Stopa morbiditeta prevremeno rođene dece začete vantelesnom oplodnjom nije veća u odnosu na prevremeno rođenu decu začetu prirodnim putem.
7. U strukturi morbiditeta kod dece koja su začeta vantelesnom oplodnjom, zastupljena su ista oboljenja i komplikacije kao kod prevremeno rođene dece začete prirodnim putem. Incidencija pojedinih oboljenja je ista, sa izuzetkom bronhopulmonalne displazije koja se javlja češće kod dece začete vantelesnom oplodnjom i retinopatije prematuriteta koja se javlja češće kod dece začete prirodnim putem
8. Manja porođajna telesna masa, intrauterina restrikcija rasta, starost majke, stručna sprema majke, prethodna hronična oboljenja majke, bolesti majke dijagnostikovane tokom trudnoće, jednoplodna i višeplodna trudnoća, način porođaja i PROMsu potencijalni faktori rizika za lošiji postnatalni ishod kod dece iz arteficialno začelih trudnoća.
9. Vrednost Apgar skora u prvom minutu, kod prevremeno rođene dece začete trhnikama IVF-a, viši je u odnosu na prevremeno rođenu decu koja su spontano začeta.

10. U uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođena deca začeta tehnikama *in vitro* fertilizacije, sem po dostignutoj telesnoj masi, ne razlikuju se značajno po drugim telesnim karakteristikama, od prevremeno rođene dece koja su začeta prirodnim putem.
11. Faktori rizika za manju telesnu masu kod prevremeno rođene dece, u uzrastu od 12 meseci su: arteficijalno začeće, višeploidne trudnoće i intrauterina restrikcija rasta.
12. U uzrastu od 12 meseci, prevremeno rođena deca začeta *in vitro* fertilizacijom, imaju blago lošije (ali ne i značajno niže) postignuće na testovima za procenu psihomotornog razvoja, odnosno imaju viši rizik da postignu ispodprosečne vrednosti skora na testu za procenu psihomotornog razvoja.
13. U uzrastu od 18 meseci, nema razlike u pokazateljima telesnog razvoja između prevremeno rođene dece koja su arteficijalno začeta i dece koja su rođena iz spontano začelih trudnoća.
14. U uzrastu od 18 meseci, prevremeno rođena deca iz arteficijalno začelih trudnoća imaju niže postignuće na testovima za procenu psihomotornog razvoja u odnosu na prevremeno rođenu decu iz spontano začelih trudnoća.
15. Faktori rizika koji su povezani sa lošijim postignućem na testu za procenu psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece su arteficijalno začeće trudnoće i višeploidnost trudnoće.
16. U uzrastu od 24 meseca nema razlike u telesnim parametrima između prevremeno rođene dece koja su arteficijalno začete i prevremeno rođene dece koja su začeta prirodnim putem.
17. U uzrastu od 24 meseca nema razlike u postignuću na testu za procenu psihomotornog razvoja kod prevremeno rođene dece su arteficijalno začeće trudnoće i višeploidnost trudnoće.

18. U uzrastu od 24 meseca, prevremeno rođena deca, i iz arteficialno, i iz spontano začetih trudnoća, na testu za procenu psihomotornog razvoja postižu rezultate koji su u skladu sa njihovim kalendarskim uzrastom.

## 8. LITERATURA

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and sterility* 2013;99(1):63
2. Gurunath S, Pandian Z, Anderson R.A, Bhattacharya S. Defining infertility—a systematic review of prevalence studies. *Human reproduction update* 2011;17(5):575-88
3. Boivin J, Bunting L , Collins J.A, Nygren K.G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction* 2007; 22 (6):1506–12
4. Konstantidinis G, Spasojević S, Kostić-Todorović M. Newborns from in vitro fertilization conceived pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23 (Suppl3):110-2
5. Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2013 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Atlanta (GA): US Dept of Health and Human Services; 2015
6. Zeitlin J, Mohangoo A.D, Delnord M, Cuttini M. EURO-PERISTAT Scientific Committee. The second European Perinatal Health Report: documenting changes over 6 years in the health of mothers and babies in Europe. *J Epidemiol Community Health* 2013;67:983–5
7. Corchia C, Da Frè M, Di Lallo D, Gagliardi L, Macagno F, Carnielli V, Miniaci S, Cuttini M. Mortality and major morbidities in very preterm infants born from assisted conception or naturally conceived: results of the area-based ACTION study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2014;14:307
8. McDonald S.D, Han Z, Mulla S, Murphy K.E, Beyene J, Ohlsson A; Knowledge Synthesis Group. Preterm birth and low birth weight among in

- vitro fertilization singletons: a systematic review and meta-analyses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;146(2):138-48
9. McDonald S.D, Han Z, Mulla S, Ohlsson A, Beyene J, Murphy K.E; Knowledge Synthesis Group. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization тџинс: a systematic review and meta-analyses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;148(2):105-13
  10. Vermeiden JP, Bernardus RE. Are imprinting disorders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril* 2013; 99(3):642-51
  11. Wen J, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y, Liu J, Hu Z. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2012; 97(6):1331-7
  12. Fauser B.C, Devroey P, Diedrich K, Balaban B, Bonduelle M, Delemarre-van de Waal H.A. et al. Health outcomes of children born after IVF/ICSI: a review of current expert opinion and literature. *Reprod Biomed* 2014;28(2):162-82
  13. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, Okun N, Sierra S. Pregnancy outcomes after assisted human reproduction. *J Obstet Gynaecol Can* 2014;36(1):64-83
  14. Pinborg A, Wennerholm U.B, Romundstad L.B, Loft A, Aittomaki K, Söderström-Anttila V, Nygren KG. et al. Why do singletons conceived after assisted reproduction technology have adverse perinatal outcome? Systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013;19(2):87-104
  15. Fedder J, Loft A, Parner E.T, Rasmussen S, Pinborg A. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study. *Hum Reprod* 2013;28(1):230-40

16. Korosec S, Frangez H.B, Steblovnik L, Verdenik I, Bokal E.V. Independent factors influencing large-for-gestation birth weight in singletons born after in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2016;33(1):9-17
17. Ooki S. Birth defects after assisted reproductive technology according to the method of treatment in Japan: nationwide data between 2004 and 2012. *Environ Health Prev Med* 2015;20(6):460-5
18. Pinborg A, Loft A, Schmidt L, Andersen A.N. Morbidity in a Danish national cohort of 472 IVF/ICSI twins, 1132 non-IVF/ICSI twins and 634 IVF/ICSI singletons: health-related and social implications for the children and their families. *Hum Reprod* 2003;18(6):1234-43
19. Bonduelle M, Ponjaert I, Steirteghem A.V, Derde M.P, Devroey P, Liebaers I. Developmental outcome at 2 years of age for children born after ICSI compared with children born after IVF. *Hum Reprod* 2003;18(2):342-50
20. Ponjaert-Kristoffersen I, Bonduelle M, Barnes J, Nekkebroeck J, Loft A, Wennerholm U.B. et al. International collaborative study of intracytoplasmic sperm injection-conceived, in vitro fertilization-conceived, and naturally conceived 5-year-old child outcomes: cognitive and motor assessments. *Pediatrics* 2005; 115(3):e283-9
21. Bowen J.R, Gibson F.L, Leslie G.I, Saunders D.M. Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 1998;351:1529-34
22. Leslie G.I. Mental development of children conceived using intracytoplasmic sperm injection. The current evidence. *Minerva Ginecol* 2004;56(3):247-57
23. Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, Liebaers I, Ponjaert-Kristoffersen I. Follow-up of cognitive and motor development of 10-

- year-old singleton children born after ICSI compared with spontaneously conceived children. *Hum Reprod* 2008;23(1):105-11
24. Sandin S, Nygren K.G, Iliadou A, Hultman C.M, Reichenberg A. Autism and Mental Retardation Among Offspring Born After In Vitro Fertilization. *JAMA* 2013;310(1):75-84
  25. Berger S.L, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shilatifard A. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev* 2009;23:781–3
  26. Martin J.A, Osterman M.J, Kirmeyer S.E, Gregory E.C. Measuring Gestational Age in Vital Statistics Data: Transitioning to the Obstetric Estimate. *Natl Vital Stat Rep.* 2015;64(5):1-20
  27. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice bulletin no. 159: management of preterm labor. *Obstet Gynecol* 2016;127 (1):e29-38.
  28. Barton L, Hodgman J.E, Pavlova Z. Causes of death in the extremely low birth weight infant. *Pediatrics* 1999; 103(2):446-51
  29. GBD 2015 Mortality and Causes of Death, Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016;388 (10053): 1459–544
  30. Cloherty J.P. Care of the Extremely Low Birth Weight Infant". *Manual of neonatal care* (7th ed.). 2012. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. p. 146
  31. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller A.B, Kinney M, Lawn J. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reproductive health.* 2013;10(1):S2
  32. Romero R, Dey S.K, Fisher S.J. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science* 2014;345(6198):760-5

33. Betran A.P, Torloni M.R, Zhang J.J, Gülmezoglu A.M. WHO Statement on caesarean section rates. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 2016;123(5):667-70
34. Sipola-Leppänen M, Vääräsmäki M, Tikanmäki M, Matinoli H.M, Miettola S, Hovi P, Wehkalampi K, Ruokonen A, Sundvall J, Pouta A, Eriksson J.G. Cardiometabolic risk factors in young adults who were born preterm. *American journal of epidemiology* 2015;181(11):861-73
35. Ananth C.V, Friedman A.M, Gyamfi-Bannerman C. Epidemiology of moderate preterm, late preterm and early term delivery. *Clinics in Perinatology* 2013;40(4):601-10
36. Frey H.A, Klebanoff M.A. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 2016; 21(2):68-73
37. Robbins C.L, Hutchings Y, Dietz P.M, Kuklina E.V, Callaghan W.M. History of preterm birth and subsequent cardiovascular disease: a systematic review. *American journal of obstetrics and gynecology* 2014;210(4):285-97
38. Ueda P, Cnattingius S, Stephansson O, Ingelsson E, Ludvigsson J.F, Bonamy A.K. Cerebrovascular and ischemic heart disease in young adults born preterm: a population-based Swedish cohort study. *European journal of epidemiology* 2014;29(4):253-60
39. Sweet D.G, Carnielli V, Greisen G, Hallman M, Ozek E, Plavka R, Saugstad O.D, Simeoni U, Speer C.P, Vento M, Visser G.H. European consensus guidelines on the management of respiratory distress syndrome-2016 update. *Neonatology* 2017;111(2):107-25
40. Pramanik A.K, Rangaswamy N, Gates T. Neonatal respiratory distress. *Pediatric Clinics* 2015;62(2):453-69
41. Polin R.A, Carlo W.A. Surfactant replacement therapy for preterm and term neonates with respiratory distress. *Pediatrics* 2014;133(1):156-63



42. Wang J, Liu X, Zhu T, Yan C. Analysis of neonatal respiratory distress syndrome among different gestational segments. *International journal of clinical and experimental medicine* 2015;8(9):162-73
43. Sun H, Xu F, Xiong H, Kang W, Bai Q, Zhang Y, Zhou C, Zhuang F, Wang X, Zhu C. Characteristics of respiratory distress syndrome in infants of different gestational ages. *Lung* 2013;191(4):425-33
44. Isayama T, Lee S.K, Mori R, et al. Comparison of mortality and morbidity of very low birth weight infants between Canada and Japan. *Pediatrics* 2012; 130:e957–e965
45. Fanaroff A, Stoll B, Wright L, et al. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol* 2007;147:e141–e147
46. Bancalari E, Claure N. Definitions and Diagnostic Criteria for Bronchopulmonary Dysplasia. *Semin Perinatol* 2006:164-70
47. Greenough S, Kotecha E. Vrijlandt. Bronchopulmonary dysplasia: current models and concepts. *Eur Respir Mon* 2006; 37:217-33
48. Marter L. Epidemiology of bronchopulmonary dysplasia. *Sem Fet Neonat Med* 2009; 14:358-66
49. Harding R, Maritz G. Maternal and fetal origins of lung disease in adulthood. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2012;17:67-72
50. Motta C, Scott W, Mahony L, Koch J, Wyckoff M, Reisch J, Burchfield P.J, Brion L.P. The association of congenital heart disease with necrotizing enterocolitis in preterm infants: a birth cohort study. *Journal of Perinatology* 2015;35(11):949
51. Polito A, Piga S, Cogo P.E, Corchia C, Carnielli V, Da Frè M, Di Lallo D, Favia I, Gagliardi L, Macagno F, Miniaci S. Increased morbidity and mortality in very preterm/VLBW infants with congenital heart disease. *Intensive care medicine* 2013;39(6):1104-12

52. Morsing E, Liuba P, Fellman V, Maršál K, Brodzski J. Cardiovascular function in children born very preterm after intrauterine growth restriction with severely abnormal umbilical artery blood flow. *European journal of preventive cardiology* 2014;21(10):1257-66
53. Heuchan A.M, Clyman R.I. Managing the patent ductus arteriosus: current treatment options. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition* 2014;99(5):F431-6
54. Sallmon H, Koehne P, Hansmann G. Recent advances in the treatment of preterm newborn infants with patent ductus arteriosus. *Clinics in perinatology* 2016;43(1):113-29
55. Hull M.A, Fisher J.G, Gutierrez I.M, Jones B.A, Kang K.H, Kenny M, Zurakowski D, Modi B.P, Horbar J.D, Jaksic T. Mortality and management of surgical necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates: a prospective cohort study. *Journal of the American College of Surgeons* 2014;218(6):1148-55
56. Tanner S.M, Berryhill T.F, Ellenburg J.L, Jilling T, Cleveland D.S, Lorenz R.G, Martin C.A. Pathogenesis of necrotizing enterocolitis: modeling the innate immune response. *The American journal of pathology*. 2015;185(1):4-16
57. Jiao X, Han X. National Burden Of Hospitalizations For Necrotizing Enterocolitis: Results From The 2009 Kid's Inpatient Database. *Value in Health* 2015;18(3):A20.
58. Sharma R, Hudak M.L. A clinical perspective of necrotizing enterocolitis: past, present, and future. *Clinics in perinatology* 2013;40(1):27-35
59. Barišić N, Stojanović V, Doronjski A, Spasojević S. Identifikacija faktora značajnih za ishod lečenja novorođenčadi ekstremno male telesne mase. Prvi kongres perinatalne medicine-Beograd 2010; mart 2010; Beograd, Srbija

60. Wadhawan R, Oh W, Hintz S.R, Blakely M.L, Das A, Bell E.F, Saha S, Luptook A.R, Shankaran S, Stoll B.J, Walsh M.C. Neurodevelopmental outcomes of extremely low birth weight infants with spontaneous intestinal perforation or surgical necrotizing enterocolitis. *Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association* 2014;34(1):64
61. Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Bax M, Damiano D, Dan B, Jacobsson B. A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. *Dev Med Child Neurol Suppl* 2007;109(suppl 109):8-14
62. Linsell L, Malouf R, Morris J, Kurinczuk J.J, Marlow N. Prognostic factors for cerebral palsy and motor impairment in children born very preterm or very low birthweight: a systematic review. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2016;58(6):554-69
63. Trønnes H, Wilcox A.J, Lie R.T, Markestad T, Moster D. Risk of cerebral palsy in relation to pregnancy disorders and preterm birth: a national cohort study. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2014;56(8):779-85
64. Oskoui M, Coutinho F, Dykeman J, Jetté N, Pringsheim T. An update on the prevalence of cerebral palsy: a systematic review and meta-analysis. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2013;55(6):509-19
65. Demeši-Drljan Č, Mikov A, Filipović K, Tomašević-Todorović S, Knežević A, Krasnik R. Cerebralna paraliza kod prevremeno rođene dece. *Vojnosanitetski pregled* 2016; 73(4):343-8
66. Yin Foo R, Guppy M, Johnston L.M. Intelligence assessments for children with cerebral palsy: a systematic review. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2013;55(10):911-8
67. Colver A, Thyen U, Arnaud C, Beckung E, Fauconnier J, Marcelli M, McManus V, Michelsen S.I, Parkes J, Parkinson K, Dickinson H.O. Association between participation in life situations of children with

- cerebral palsy and their physical, social, and attitudinal environment: a cross-sectional multicenter European study. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 2012;93(12):2154-64
68. Van Soerge A.J, Schalij -Delfos N.E, Kerkhoff F.T, Van Rijn L.J, Van Hillegersberg J.L, Van Liempt I.L. et al. Reduction in screening for retinopathy of prematurity through risk factor adjusted inclusion criteria. *Br J Ophthalmol* 2013;97: 1143-7
  69. Fielder A.R, Reynolds J.D. Retinopathy of prematurity: clinical aspects. *Semin Neonatol* 2001;6: 461-75
  70. Fielder A.R, Levene M.I. Screening for retinopathy of prematurity. *Arch Dis Child* 1992;67: 860-7
  71. Tasman W. Retinopathy of Prematurity: Do We Still Have a Problem? *Arch Ophthalmol* 2011;129(8): 1083-6
  72. Gilbert C, Fielder A, Gordillo L, et al. Characteristics of infants with severe retinopathy of prematurity in countries with low, moderate and high levels of development: implications for screening programs. *Pediatrics* 2005;115(5):518-25
  73. Geloneck MM, Chuang AZ, Clark WL, et al, for the BEAT-ROP Cooperative Group. Refractive outcomes following bevacizumab monotherapy compared with conventional laser treatment: a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol* 2014;132(11):1327-33
  74. Erenberg A, Lemons J, Sia C, Trunkel D, Ziring P. Newborn and infant hearing loss: detection and intervention. American Academy of Pediatrics. Task Force on Newborn and Infant Hearing, 1998-1999. *Pediatrics* 1999;103(2):527-30
  75. Mikić B, Đoković S, Sovilj M, Pantelić S. Otoakustička emisija kod neonatusa, dece i odraslih u otoakustička emisija-teorija i praksa. Beograd: IEFPG. 2005

76. Hille E, Van Straaten HL, Verkerk PH. Prevalence and independent risk factors for hearing loss in NICU infants. *Acta paediatrica* 2007;96(8):1155-8
77. Declau F, Boudewyns A, Van den Ende J, Peeters A, van den Heyning P. Etiologic and audiologic evaluations after universal neonatal hearing screening: analysis of 170 referred neonates. *Pediatrics* 2008;121(6):1119-26
78. Den Ouden L, Rijken M, Brand R, Verloove-Vanhorick SP, Ruys JH. Is it correct to correct? Developmental milestones in 555 “normal” preterm infants compared with term infants. *The Journal of pediatrics* 1991;118(3):399-404
79. Slater R, Fabrizi L, Worley A, Meek J, Boyd S, Fitzgerald M. Premature infants display increased noxious-evoked neuronal activity in the brain compared to healthy age-matched term-born infants. *Neuroimage* 2010;52(2):583-9
80. Bisiacchi P.S, Mento G, Suppiej A. Cortical auditory processing in preterm newborns: an ERP study. *Biological psychology* 2009;82(2):176-85
81. Mento G, Bisiacchi P.S. Neurocognitive development in preterm infants: insights from different approaches. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2012;36(1):536-55
82. Key A.P, Lambert E.W, Aschner J.L, Maitre N.L. Influence of gestational age and postnatal age on speech sound processing in NICU infants. *Psychophysiology* 2012;49(5):720-31
83. Ribeiro F.M, Carvallo R.M, Marcoux A.M. Auditory steady-state evoked responses for preterm and term neonates. *Audiology and Neurotology* 2010;15(2):97-110

84. Inder T.E, Wells S.J, Mogridge N.B, Spencer C, Volpe J.J. Defining the nature of the cerebral abnormalities in the premature infant: a qualitative magnetic resonance imaging study. *J Pediatr* 2003;143(2):171-9
85. Thompson D.K, Inder T.E, Faggian N, Johnston L, Warfield S.K, Anderson P.J, Doyle L.W, Egan G.F. Characterization of the corpus callosum in very preterm and full-term infants utilizing MRI. *Neuroimage* 2011;55(2):479-90
86. Thompson D.K, Lee K.J, Egan G.F, Warfield S.K, Doyle L.W, Anderson P.J, Inder T.E. Regional white matter microstructure in very preterm infants: predictors and 7 year outcomes. *Cortex* 2014;52:60-74
87. Rogers C.E, Anderson P.J, Thompson D.K, Kidokoro H, Wallendorf M, Treyvaud K, Roberts G, Doyle L.W, Neil J.J, Inder T.E. Regional cerebral development at term relates to school-age social–emotional development in very preterm children. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry* 2012;51(2):181-91
88. Arpi E, Ferrari F. Preterm birth and behaviour problems in infants and preschool-age children: a review of the recent literature. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2013;55(9):788-96
89. Witt A, Theurel A, Tolsa C.B, Lejeune F, Fernandes L, de Jonge L.V, Monnier M, Graz M.B, Barisnikov K, Gentaz E, Hüppi P.S. Emotional and effortful control abilities in 42-month-old very preterm and full-term children. *Early human development* 2014;90(10):565-9
90. Zegers-Hochschild F, Adamson G.D, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Van der Poel S. The international committee for monitoring assisted reproductive technology (ICMART) and the world health organization (WHO) revised glossary on ART terminology, 2009. *Human reproduction* 2009;24(11):2683-7
91. The European IVF-monitoring Consortium (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), C. Calhaz-

- Jorge, C. De Geyter, M.S. Kupka, J. de Mouzon, K. Erb, E. Mocanu, T. Motrenko, G. Scaravelli, C. Wyns, V. Goossens; Assisted reproductive technology in Europe, 2013: results generated from European registers by ESHRE, Human Reproduction, <https://doi.org/10.1093/humrep/dex264>
92. Kissin D.M, Jamieson D.J, Barfield W.D. Monitoring health outcomes of assisted reproductive technology. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(1):91-3
  93. Dyer S, Chambers G.M, De Mouzon J, Nygren K.G, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, Banker M, Adamson G.D. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology 2008, 2009 and 2010. *Human Reproduction*. 2016;31(7):1588-609
  94. Bjelica A, Nikolić S. Development and Achievements of Assisted Reproductive Technology. *Med Pregl* 2015; 68(9-10): 353-7
  95. Radulović S. Prvi deo: Istorijat. U: Slobodan R, urednik. Asistirana reproduktivna tehnologija u humanoј reprodukciji. Beograd : Elit – Medica; 2007. P 3-17.
  96. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Engl J Med*. 2000;342(25):1919
  97. Cohen J, Trounson A, Dawson K, Jones H, Hazekamp J, Nygren KG, Hamberger L. The early days of IVF outside the UK. *Hum Reprod Update*. 2005;11(5):439–59
  98. Chian RC, Buckett WM, Abdul Jalil AK, Son WY, Sylvestre C, Rao D, et al. Natural-cycle in vitro fertilization combined with in vitro maturation of immature oocytes is a potential approach in infertility treatment. *Fertil Steril*. 2004;82(6):1675–8
  99. Yoon TK, Kim TJ, Park SE, Hong SW, Ko JJ, Chung HM, et al. Live births after vitrification of oocytes in a stimulated in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril*. 2003;79(6):1323–6

100. Beckers NG, Macklon NS, Devroey P, Platteau P, Boerrigter PJ, Fauser BC. First live birth after ovarian stimulation using a chimeric long-acting human recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) agonist (recFSH-CTP) for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2003;79(3):621–3
101. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004;364(9443):1405–10
102. Gardner DK, Surrey E, Minjarez D, Leitz A, Stevens J, Schoolcraft WB. Single blastocyst transfer: a prospective randomized trial. *Fertil Steril*. 2004;81(3):551–5
103. Verlinsky Y, Rechitsky S, Sharapova T, Morris R, Taranissi M, Kuliev A. Preimplantation HLA testing. *JAMA*. 2004;291(17):2079–85
104. Xu K, Rosenwaks Z, Beaverson K, Cholst I, Veeck L, Abramson DH. Preimplantation genetic diagnosis for retinoblastoma: the first reported liveborn. *Am J Ophthalmol*. 2004;137(1):18–23
105. Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med*. 2005;353(3):318–21
106. Kokkali G, Vrettou C, Traeger-Synodinos J, Jones GM, Cram DS, Stavrou D, et al. Birth of a healthy infant following trophoctoderm biopsy from blastocysts for PGD of beta-thalassaemia major. *Hum Reprod*. 2005;20(7):1855–9
107. Fishel S, Gordon A, Lynch C, Dowell K, Ndukwe G, Kelada E, et al. Live birth after polar body array comparative genomic hybridization prediction of embryo ploidy-the future of IVF? *Fertil Steril*. 2010;93(3):1006
108. Bedaiwy MA, Hussein MR, Biscotti C, Falcone T. Cryopreservation of intact human ovary with its vascular pedicle. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3258–69



109. Patrizio P, Gavish Z, Martel M, Azodi M, Silber S, Arav A. Whole human ovaries cryopreservation using a novel multi-gradient freezing device. *Fertil Steril.* 2007;88(1):S355
110. Son WY, Chung JT, Chian RC, Herrero B, Demirtas E, Elizur S, et al. A 38 h interval between hCG priming and oocyte retrieval increases in vivo and in vitro oocyte maturation rate in programmed IVM cycles. *Hum Reprod.* 2008;23(9):2010–6
111. Jones GM, Cram DS, Song B, Kokkali G, Pantos K, Trounson AO. Novel strategy with potential to identify developmentally competent IVF blastocysts. *Hum Reprod.* 2008;23(8):1748–59
112. Porcu E, Venturoli S, Damiano G, Ciotti PM, Notarangelo L, Paradisi R, et al. Healthy twins delivered after oocyte cryopreservation and bilateral ovariectomy for ovarian cancer. *Reprod Biomed Online.* 2008;17(2):265–7
113. Zakonobiomedicinski potpomognutojoplodnji. Službeni glasnik Republike Srbije, 40/2017 (05. maj 2017.)
114. Ceelen, M., van Weissenbruch, M.M., Vermeiden, J.P., van Leeuwen, F.E., Delemarre-van de Waal, H.A. Growth and development of children born after in-vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 2008; 90:1662–73
115. Fauser B.C, Devroey P, Diedrich K, Balaban B, Bonduelle M, Delemarre-van de Waal H.A, Estella C, Ezcurra D, Geraedts J.P, Howles C.M, 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;28(2):162-82
116. Cooper A.R., O'Neill K.E., Allsworth J.E., Jungheim E.S., Odibo A.O., Gray D.L., Ratts V.S., Moley K.H., Odem R.R. Smaller fetal size in singletons after infertility therapies: the influence of technology and the underlying infertility. *Fertil Steril* 2011; 96: 1100–16

117. Stern J. E, Luke B, Tobias M, Gopal D, Hornstein M. D, Diop H. Adverse pregnancy and birth outcomes associated with underlying diagnosis with and without assisted reproductive technology treatment. *Fertility and sterility* 2015; 103(6): 1438-45
118. Li B, Chen S, Tang N, Xiao X, Huang J, Jiang F. et al. Assisted reproduction causes reduced fetal growth associated with downregulation of paternally expressed imprinted genes that enhance fetal growth in mice. *Biology of reproduction* 2016;94(2):1-11
119. Turan N, Katari S, Gerson L.F, Chalian R, Foster M.W, Gaughan J.P, Coutifaris C, Sapienza C. Inter- and intra-individual variation in allele-specific DNA methylation and gene expression in children conceived using assisted reproductive technology. *PLoS Genet* 2010; 6:e1001033
120. Katari S, Turan N, Bibikova M, Erinle O, Chalian R, Foster M, Gaughan J.P, Coutifaris C, Sapienza C. DNA methylation and gene expression differences in children conceived in vitro or in vivo. *Hum Mol Gene* 2009;18:3769–78
121. Lambertini L, Marsit C.J, Sharma P, Maccani M, Ma Y, Hu J, Chen J. Imprinted gene expression in fetal growth and development. *Placenta* 2012;33:480–6
122. Oliver V.F, Miles H.L, Cutfield W.S, Hofman P.L, Ludgate J.L, Morison I.M. Defects in imprinting and genome-wide DNA methylation are not common in the in-vitro fertilization population. *Fertil. Steril* 2012; 97: 147–53
123. Zheng H.Y, Shi X.Y, Wang L.L, Wu Y.Q, Chen S.L, Zhang L. Study of DNA methylation patterns of imprinted genes in children born after assisted reproductive technologies reveals no imprinting errors: a pilot study. *Exp. Ther. Med* 2011; 2: 751–5

124. Strawn Jr, E.Y, Bick D, Swanson A. Is it the patient or the IVF? Beckwith-Wiedemann syndrome in both spontaneous and assisted reproductive conceptions. *Fertil Steril* 2010; 94: e1–e2
125. Manipalviratn S, DeCherney A, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2009; 91:305–15
126. Radunovic N, Kuczynski E, Rosen T, Dukanac J, Petkovic S, Lockwood C.J. Plasma Apolipoprotein A-I and B Concentrations in Growth-Retarded Fetuses: A Link between Low Birth Weight and Adult Atherosclerosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; 85 (1):85–8
127. Marino J.L. et al. Perinatal outcomes by mode of assisted conception and sub-fertility in an Australian data linkage cohort. *PloS one*, 2014, 9.1: e80398.
128. Fauser B. C. J. M. et al. Health outcomes of children born after IVF/ICSI: a review of current expert opinion and literature. *Reproductive biomedicine online* 2014; 28(2):162-82
129. Chen Z, Hagen D. E, Elsik C. G, Ji T, Morris C. J, Moon L. E, Rivera R. M. Characterization of global loss of imprinting in fetal overgrowth syndrome induced by assisted reproduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2015; 112(15): 4618-23
130. Jwa J, Jwa S.C, Kuwahara A, Yoshida A, Saito H. Risk of major congenital anomalies after assisted hatching: analysis of three-year data from the national assisted reproduction registry in Japan. *Fertility and sterility* 2015; 104(1):71-8
131. Pinborg A, Henningsen A. K. A, Malchau S. S, Loft A. Congenital anomalies after assisted reproductive technology. *Fertility and sterility* 2013; 99(2): 327-32
132. Belva F, Bonduelle M, Roelants M, Verheyen G, Van Landuyt L. Neonatal health including congenital malformation risk of 1072 children

- born after vitrified embryo transfer. *Human Reproduction* 2016; 31(7):1610-20
133. Qin J, Sheng X, Wang H, Liang D, Tan H, Xia J. Assisted reproductive technology and risk of congenital malformations: a meta-analysis based on cohort studies. *Archives of gynecology and obstetrics*2015;292(4): 777-98
  134. Wen J, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y, Liu J, Hu Z. Birth defects in children conceived by in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil Steril*2012; 97:1331–7
  135. Farhi A, Reichman B, Boyko V, Hourvitz A, Ron-El R, Lerner-Geva L. Maternal and neonatal health outcomes following assisted reproduction. *Reprod. Biomed. Online*2013;26: 454–61
  136. Farhi A, Reichman B, Boyko V, Mashlach S, Hourvitz A, Margalioth E.J, Levran D, Calderon I, Orvieto R, Ellenbogen A, Meyerovitch J, Ron-El R, Lerner-Geva L. Congenital malformations in infants conceived following assisted reproductive technology in comparison with spontaneously conceived infants. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*2013; 26: 1171–9
  137. Boulet S. L, Kirby R. S, Reefhuis J, Zhang Y, Sunderam S, Cohen B. et al. Assisted reproductive technology and birth defects among liveborn infants in Florida, Massachusetts, and Michigan, 2000-2010. *JAMA pediatrics* 2016;170(6): e154934-e154934
  138. Tararbit K, Lelong N, Thieulin A.C, Houyel L, Bonnet D, Goffinet F, Khoshnood B, and EPICARD Study Group. The risk for four specific congenital heart defects associated with assisted reproductive techniques: a population-based evaluation. *Hum. Reprod*2013;28: 367–74
  139. Davies M.J, Rumbold A. R, Moore V.M. Assisted reproductive technologies: a hierarchy of risks for conception, pregnancy outcomes and treatment decisions. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease* 2017; 8(4): 443-7

140. Williams C.L, Bunch K.J, Stiller C.A, Murphy M.F, Botting B.J, Wallace W.H, Davies M, Sutcliffe A.G. Cancer risk among children born after assisted conception. *N Engl J Med.* 2013; 369:1819-27
141. Reigstad M.M, Larsen I.K, Myklebust T.Å, Robsahm T.E, Oldereid N.B, Brinton L.A, Storeng R. Risk of cancer in children conceived by assisted reproductive technology. *Pediatrics* 2016;137(3):e20152061
142. Van Wely M. Assisted reproduction and cancer risk: how useful are national databases?. *Human Reproduction* 2015;30(8):1753-4
143. Sundh K.J, Henningsen A.K, Källen K, Bergh C, Romundstad L.B, Gissler M, Pinborg A, Skjaerven R, Tiitinen A, Vassard D, Lannering B. Cancer in children and young adults born after assisted reproductive technology: a Nordic cohort study from the Committee of Nordic ART and Safety (CoNARTaS). *Human Reproduction* 2014;29(9):2050-7
144. van Loendersloot L, van Wely M, Bossuyt P, Repping S, van der Veen, F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 2010;16: 577-89
145. Stojnić J. Ishodi trudnoća i stanja novorođenčadi nakon primene metoda asistirane reprodukcije. disertacija, Medicinski fakultet u Beogradu, 2015.
146. Klipstein S, Machtinger R, Ryley D, Goldman M, Alper M, Reindollar M. One last chance for pregnancy: a review of 2,705 in vitro fertilization cycles initiated in women age 40 years and above. *Fertility and Sterility* 2005; 84:435-45
147. Hourvitz A, Machtinger R, Maman E, Baum M, Dor J, Levron J. Assisted Reproduction in women over 40 years of age: How old is too old? *RBM Online* 2009; 19:599-603
148. Mills M, Rindfuss R, McDonald P, Velde E. Why do people postpone parenthood? Reasons and social policy incentives. *Human Reproduction Update* 2011;17: 848-60

149. Brethrick K, Fairbrother N, Avila L, Harbord S, Robinson W. Fertility and aging: do reproductive-aged Canadian women know what they need to know? *Fertility and Sterility* 2012; 93: 2162-8
150. Hammarberg K, Setter T, Norman R, Holden C, Michelmore J, Johnson L. Knowledge about factors that influence fertility among Australians of reproductive age: a population-based survey. *Fertility and Sterility* 2013; 99(2): 502-7
151. Homan G, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: a review. *Human Reproduction Update* 2007; 13: 209-23
152. Schmidt L, Sobotka T, Bentzen J, Andersen N. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. *Human Reproduction Update* 2011;18:29-43
153. Imdad A, Yakoob M.Y, Bhutta Z.A. Impact of maternal education about complementary feeding and provision of complementary foods on child growth in developing countries. *BMC Public Health* 2011; 11(Suppl 3):S25
154. Black R.E, Allen L.H, Bhutta Z.A, Caulfield L.E, de Onis M, Ezzati M, Mathers C, Rivera J: Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet* 2008; 371(9608):243-60
155. Boyle M. H, Racine Y, Georgiades K, Snelling D, Hong S, Omariba W. et al. The influence of economic development level, household wealth and maternal education on child health in the developing world. *Social science & medicine* 2006; 63(8):2242-54
156. Vogel J. P, Lee A. C, Souza J. P. Maternal morbidity and preterm birth in 22 low-and middle-income countries: a secondary analysis of the WHO Global Survey dataset. *BMC pregnancy and childbirth* 2014;14(1):56

157. Ovesen P. G, Jensen D. M, Damm P, Rasmussen S, Kesmodel U. S. Maternal and neonatal outcomes in pregnancies complicated by gestational diabetes. A nation-wide study. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2015;28(14):1720-24
158. Kazemier B. M, Koningstein F.N, Schneeberger C, Ott A, Bossuyt P.M, de Miranda E. Maternal and neonatal consequences of treated and untreated asymptomatic bacteriuria in pregnancy: a prospective cohort study with an embedded randomised controlled trial. *The Lancet Infectious diseases* 2015;15(11):1324-33
159. Dars S, Malik S, Samreen I, Kazi R. A. Maternal morbidity and perinatal outcome in preterm premature rupture of membranes before 37 weeks gestation. *Pakistan journal of medical sciences* 2014;30(3):626
160. Vogel J. P, Souza J. P, Mori R, Morisaki N, Lumbiganon P, Laopaiboon M. Maternal complications and perinatal mortality: findings of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 2014;121(s1):76-88
161. Zhu L, Zhang Y, Liu Y, Zhang R, Wu Y, Huang Y, Liu F, Li M, Sun S, Xing L, Zhu Y. Maternal and live-birth outcomes of pregnancies following assisted reproductive technology: a retrospective cohort study. *Scientific reports* 2016;6
162. Sazonova A, Källén K, Thurin-Kjellberg A, Wennerholm U.B, Bergh C. Neonatal and maternal outcomes comparing women undergoing two in vitro fertilization (IVF) singleton pregnancies and women undergoing one IVF twin pregnancy. *Fertility and sterility* 2013;99(3):731-7
163. Bhattacharya S, Kamath M.S. Reducing multiple births in assisted reproduction technology. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2014;28(2):191-9

164. Qin J.B, Wang H, Sheng X, Xie Q, Gao S. Assisted reproductive technology and risk of adverse obstetric outcomes in dichorionic twin pregnancies: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility* 2016;105(5):1180-92
165. Koivurova S, Hartikainen A.L, Karinen L, Gissler M, Hemminki E, Martikainen H. 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;17:2897-903
166. Le Ray C, Carayol M, Zeitlin J, Breart G, Goffinet F. Level of perinatal care of the maternity unit and rate of cesarean in low-risk nulliparas. *Obstet Gynecol* 2006;107:1269-77
167. Zhang J, Troendle J, Reddy U.M, Laughon S.K, Branch D.W, Burkman R. et al. Contemporary cesarean delivery practice in the United States. *Am J Obstet Gynecol* 2010;203:326
168. Andrijasevic S, Dotlic J, Aksam S, Micic J, Terzic M. Impact of conception method on twin pregnancy course and outcome. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 2014;74(10):933-9
169. Moini A, Shiva M, Arabipour A. et al. 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;165:29–32
170. Bamberg C, Fotopoulou C, Neissner P, Slowinski T, Dudenhausen J.W, Proquitte H, Bühner C, Henrich W. Maternal characteristics and twin gestation outcomes over 10 years: impact of conception methods. *Fertility and sterility* 2012;98(1):95-101
171. Poikkeus P, Saisto T, Punamaki R.L, Unkila-Kallio L, Flykt M, Vilska S, Repokari L, Tulppala M, Tiitinen A. Birth experience of women conceiving with assisted reproduction: a prospective multicenter study. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2014;93(9):880-7



172. Schieve L. A, Meikle S. F, Ferre C, Peterson H. B, Jeng G, Wilcox L.S. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med* 2002;346: 731-37
173. McDonald S. D, Han Z, Mulla S, Murphy K. E, Beyene J, Ohlsson A. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization singletons: a systematic review and meta-analyses. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2009;146(2):138-48
174. Jackson R. A, Gibson K. A, Wu Y. W, Croughan M. S. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstetrics & Gynecology* 2004; 103(3):551-63
175. Rozdarz K.M, Flatley C.J, Kumar S. Intrapartum and neonatal outcomes in singleton pregnancies following conception by assisted reproduction techniques. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2017 Apr 3, doi: 10.1111/ajo.12620. [Epub ahead of print]
176. Boulet S. L, Schieve L. A, Nannini A, Ferre C, Devine O, Cohen B. Perinatal outcomes of twin births conceived using assisted reproduction technology: a population-based study. *Human Reproduction* 2008;23(8):1941-8
177. Ensing S, Abu-Hanna A, Roseboom T.J, Repping S, van der Veen F, Mol B.W, Ravelli A.C. Risk of poor neonatal outcome at term after medically assisted reproduction: a propensity score-matched study. *Fertility and sterility* 2015;104(2):384-90
178. Bendsorp A.J, Hukkelhoven C.W, van der Veen F, Mol B.W, Lambalk C.B, van Wely M. Dizygotic twin pregnancies after medically assisted reproduction and after natural conception: maternal and perinatal outcomes. *Fertility and sterility* 2016;106(2):371-7
179. Dhalwani N.N, Boulet S.L, Kissin D.M, Zhang Y, McKane P, Bailey M.A, Hood M.E, Tata L.J. Assisted reproductive technology and perinatal

- outcomes: conventional versus discordant-sibling design. *Fertility and sterility* 2016;106(3):710-6
180. Corchia C, Da Frè M, Di Lallo D, Gagliardi L, Macagno F, Carnielli V, Miniaci S, Cuttini M. Mortality and major morbidities in very preterm infants born from assisted conception or naturally conceived: results of the area-based ACTION study. *BMC pregnancy and childbirth* 2014;14(1):307
181. Shah V, AlWassia H, Shah K, Yoon W, Shah P. Neonatal outcomes among multiple births  $\leq$  32 weeks gestational age: does mode of conception have an impact? A cohort study. *BMC pediatrics* 2011;11(1):54
182. Wang A.Y, Chughtai A.A, Lui K, Sullivan E.A. Morbidity and mortality among very preterm singletons following fertility treatment in Australia and New Zealand, a population cohort study. *BMC pregnancy and childbirth* 2017;17(1):50
183. Van Steirteghem A, Bonduelle M, Devroey P, Liebaers I. Follow-up of children born after ICSI. *Human reproduction update* 2002;8(2):111-6
184. Koivurova S, Hartikainen A.L, Sovio U, Gissler M, Hemminki E, Järvelin M.R. Growth, psychomotor development and morbidity up to 3 years of age in children born after IVF. *Human Reproduction* 2003;18(11):2328-36
185. Fenton T.R, Kim J.H. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC pediatrics* 2013;13(1):59
186. Niklasson A, Engstrom E, Hard A.L, Wikland K.A, Hellstrom A: Growth in very preterm children: a longitudinal study. *Pediatr Res* 2003;54: 899-905
187. Bertino E, Coscia A, Mombro M, Boni L, Rossetti G, Fabris C, Spada E, Milani S. Postnatal weight increase and growth velocity of very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006;91: F349-F356

188. Krauel V.X, Figueras A.J, Natal P.A, Iglesias P.I, Moro S.M, Fernandez P.C, Martin-Ancel A: Reduced postnatal growth in very low birth weight newborns with GE  $\leq$  32 weeks in Spain. *An Pediatr (Barc)* 2008;68: 206-12
189. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli V.P, De C.M, Darmaun D, Decsi T: Enteral nutrient supply for preterm infants. A comment of the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;50: 85-91
190. Nutrition Committee, Canadian Paediatric Society: Nutrient needs and feeding of premature infants. *CMAJ* 1995;152: 1765-85
191. Garite T.J, Clark R.H, Elliott J.P, Thorp J.A, Pediatrix/Obstetrix Perinatal Research Group. Twins and triplets: the effect of plurality and growth on neonatal outcome compared with singleton infants. *American journal of obstetrics and gynecology* 2004;191(3):700-7
192. Hashimoto K, Ogawa K, Horikawa R, Ikeda N, Kato K, Kamide A, Sago H. Gross motor function and general development of babies born after assisted reproductive technology. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 2016;42(3):266-72
193. Bowen J.R, Gibson F.L, Leslie G.I, Saunders D.M. Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection. *The Lancet*. 1998;351(9115):1529-34
194. Ishii N, Andoh A, Satoh N.et al.Assisted reproductive technology and perinatal period. Prognosis of babies born after ART. *Journal of Japan Society of Perinatal and Neonatal Medicine*2014;50: 102–4
195. Carson C, Kurinczuk J.J, Sacker A.et al.Cognitive development following ART: Effect of choice of comparison group, confounding and mediating factors. *Hum Reprod*2010; 25: 244–52
196. Romundstad L.B, Romundstad P.R, Sunde A et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation: A population-based cohort study. *Lancet* 2008; 372: 737–43

197. Bowen J.R, Gibson F.L, Leslie G.I, Saunders D.M. Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection. *The Lancet* 1998;351(9115):1529-34
198. Stewart J.E, Allred E.N, Collins M, Abbott J, Leviton A, Paneth N, Reuss M.L, Susser M, Hegyi T, Hiatt M, Sanocka U, Shahrivar F, Van Marter L, Banogan P, Genest D, Heller D, Shen-Schwarz S, Dammann O, Kuban K.C.K, Pagano M. Risk of cranial ultrasound abnormalities in very-low-birth-weight infants conceived with assisted reproductive techniques. *J Perinatol* 2002;22:37-45
199. Hashimoto L.N, Lindsell C.J, Brewer D.E, Eichel M.M, Donovan E.F. Contributions of infertility treatment to very-low-birth-weight multiple birth infants receiving neonatal intensive care. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:401-6
200. Schimmel M.S, Hammerman C, Lusky A, Reichman B. Very low-birth-weight-infants conceived by in vitro fertilization are not at higher risk for mortality and morbidity: a population-based study. *Fertil Steril* 2006;85: 907-12
201. Messerschmidt A, Olischar M, Bimbacher R, Weber M, Pollack A, Leitich H. Perinatal outcome of preterm infants <1500 g after IVF pregnancies compared with natural conception. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; 95:F225-F229
202. Shah V, AlWassia H, Shah K, Yoon W, Shah P. Neonatal outcomes among multiple births in  $\leq 32$  weeks gestational age: does mode of conception have an impact? a cohort study. *BMC Pediatrics* 2011;11:54-60
203. Picaud J.C, Chalias S, Combes C, Mercier G, Dechaud H, Cambonie G. Neonatal mortality and morbidity in preterm infants born from assisted reproductive technologies. *Acta Paediatr* 2012;101:846-51

204. Wadhawan R, Oh W, Perritt R.L, McDonald S.A, Das A, Poole W.K, Vohr B.R, Higgins R.D. Twin gestation and neurodevelopmental outcome in extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2009;123(2):e220-7
205. Charkaluk M.L, Truffert P, Fily A, Ancel P.Y, Pierrat V. Neurodevelopment of children born very preterm and free of severe disabilities: the Nord-Pas de Calais Epipage cohort study. *Acta Paediatrica* 2010;99(5):684-9
206. Girsen AI, Do SC, El-Sayed YY, Hintz SR, Blumenfeld YJ. Association between small-for-gestational age and neurocognitive impairment at two years of corrected age among infants born at preterm gestational ages: a cohort study. *Journal of Perinatology* 2017; 958–62
207. Pinborg A, Loft A, Schmidt L, Greisen G, Rasmussen S, Andersen A.N. Neurological sequelae in twins born after assisted conception: controlled national cohort study. *BMJ* 2004;329(7461):311