

Razvojni ishodi djece rođene nakon metoda potpomognute oplodnje u Klinici za pedijatriju KBC Osijek

Mešin, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:782198>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE

Marko Mešin

RAZVOJNI ISHODI DJECE ROĐENE
NAKON METODA POTPOMOGNUTE
OPLODNJE U KLINICI ZA
PEDIJATRIJU KBC OSIJEK

Diplomski rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE

Marko Mešin

RAZVOJNI ISHODI DJECE ROĐENE
NAKON METODA POTPOMOGNUTE
OPLODNJE U KLINICI ZA
PEDIJATRIJU KBC OSIJEK

Diplomski rad

Osijek, 2024.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za dječju neurologiju, genetiku, endokrinologiju i bolesti metabolizma Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: prof. prim. dr. sc. Silvija Pušeljić, dr. med.

Rad ima 54 lista, 12 tablica i 3 slike.

Zahvale

Oče,

Hvala Ti što si me pronašao, obukao mi haljinu, stavio prsten i obuo me.

Hvala Ti na liječničkom pozivu i na svim darovima kojima si me opremio.

Hvala Ti na kičmi mog oca i rukama moje majke.

Hvala Ti na blizini i ljubavi brata, sestara s obiteljima i dida Tuninoj ruci.

Hvala Ti na Marijanu s kojim sad igraš basket i kroz kojeg si vjerovao u mene.

Hvala Ti na lijepoj i ponosnoj domovini koja me je školovala i herojima koji su i za mene pali.

Hvala Ti na prijateljima kroz koje si mi blizu i čiju ljubav nikad neću razumjeti.

Hvala Ti na Mentorici čiji me uzor uči kako se titulama ljudima peru noge.

Hvala Ti na svim predavačima koji su dio sebe ugradili u mene.

Hvala Ti na teti Mirjani, Viktoriji i Sandi kod kojih ne postoji krivo vrijeme ni krivo pitanje.

Hvala Ti.

I hvala im.

Za sve učinjeno nikada im neću moći uzvratiti.

I to me raduje.

Ti si mnogo šire ruke.

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
1.1. Medicinski potpomognuta oplodnja	1
1.1.1. Komplikacije.....	1
1.1.2. Terapija progesteronom	2
1.2. Utjecaj metoda potpomognute oplodnje na epigenom ploda.....	3
1.2.1. Metilacijska dinamika u primordijalnim zametnim stanicama.....	4
1.2.2. Metilacijska dinamika u ranoj fazi embriogeneze	5
1.3. Utjecaj nepovoljnih čimbenika u trudnoći na plod.....	6
1.3.1. Prijevremeni porod.....	6
1.3.2. Intrauterino zaostajanje u rastu	10
1.3.3. Višeploidne trudnoće	11
1.3.4. Gestacijski dijabetes.....	12
2. HIPOTEZA	14
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	15
4. ISPITANICI I METODE	16
4.1. Ustroj studije.....	16
4.2. Ispitanici	16
4.3. Metode	16
4.4. Statističke metode.....	16
5. REZULTATI.....	17
5.1. Sociodemografski podaci	17
5.2. Bolesti majki.....	18
5.3. Bolesti vezane uz trudnoću.....	20
5.4. Ishodi trudnoće	21
5.5. Lijekovi u trudnoći	22
5.6. Perinatalni ishodi	24
5.7. Neurorazvoj djece.....	27
5.8. Rehabilitacija u ranoj dobi.....	28
5.9. Kasni ishodi	29
5.10. Statistički podaci koji se odnose na majke podvrgnute MPO	31
6. RASPRAVA.....	33
7. ZAKLJUČCI	41
8. SAŽETAK.....	42
9. SUMMARY	43

10. LITERATURA.....	44
11. ŽIVOTOPIS	54

POPIS KRATICA

ART – metode potpomognute oplodnje (engl. *assisted reproductive technologies*)

AS – *Apgar score*

CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

EWAS – cijeloegzomska studija asocijacija (engl. *Exome-wide association study*)

FEV1 – forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi

FET – prijenos smrznutog embrija (engl. *frozen embryo transfer*)

GDM – gestacijski *diabetes mellitus*

HR – omjer opasnosti (engl. *hazard ratio*)

ICR – kontrolna područja za gensko utiskivanje (engl. *imprinting control regions*)

ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija (engl. *intracytoplasmatic sperm injection*)

IUGR – intrauterino zaostajanje u rastu (engl. *intrauterine growth restriction*)

IVF – *in vitro* oplodnja (engl. *in vitro fertilisation*)

JIL – jedinica intenzivnog liječenja

KRAB-KZFP – s KRAB-om povezana domena koja sadrži proteine cinkovih prstiju (engl. *Krüppel-associated box-domain-containing zinc-finger proteins*)

MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

OHSS – sindrom hiperstimulacije jajnika (engl. *ovarian hyperstimulation syndrome*)

PGT – predimplantacijsko genetičko testiranje

RDS – respiratorni distress sindrom

ZFP – protein cinkovih prstiju (engl. *zinc finger protein*)

1. UVOD

Neplodnost, definirana kao nemogućnost začeća ploda nakon nezaštićenih odnosa tijekom godine dana ili više pogađa 12 % – 15 % parova (1). Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO) tijekom posljednjih nekoliko desetljeća postala je dio standardnog protokola u pristupu neplodnosti. Samo u 2018. godini napravljeno je 3 196 685 ciklusa u 79 zemalja i 2971 klinika, što je porast od 64,3 % u godinu dana. Kao rezultat, rođeno je 769 977 djece začete tom metodom. Trećina svih ciklusa te godine provedena je u Kini, a broj u SAD-u bio je 180 406 (2). U SAD-u tijekom 2021. godine provedeno je 368 502 ciklusa, što predstavlja porast od 104 % u četiri godine (3).

1.1. Medicinski potpomognuta oplodnja

Metode su potpomognute oplodnje (ART, engl. *Assisted Reproductive Technologies*) skup metoda za manipulaciju jajnim stanicama ili embrijima, prema definiciji Američkog centra za kontrolu bolesti, dok manipulacija spermom (intrauterina ili intratubarna inseminacija) ne pripada ovoj skupini (4). *In vitro* je oplodnja (IVF, engl. *In vitro fertilisation*) najčešće korištena metoda u ovoj skupini, a njezina je uspješnost 25,9 % po aspiraciji (2, 4). Intracitoplazmatska je injekcija spermija (ICSI, engl. *Intracytoplasmic sperm injection*) indicirana za pacijente s neuspjehom konvencionalnog IVF-a zbog smanjenog motiliteta spermija, malog broja aspiriranih oocita i kod krioprezervacije oocita (5). Uspješnost je ICSI metode s prijenosom embrija 20,0 % po aspiraciji (2). Prije implantacije može se napraviti predimplantacijsko genetičko testiranje (PGT) kojim se testira budući embrij na aneuploidije i na monogene poremećaje. Uzorak je stanica uzet u fazi cijepanja treći dan ili iz trofoektoderma blastociste peti dan. Uspješnost je oplodnje nakon PGT-a 46,2 % (2, 4). Preostali embriji mogu se krioprezervirati brzim smrzavanjem (vitifikacijom) i na taj način sačuvati za buduće oplodnje. U nekim se klinikama ovaj postupak radi i rutinski jer prijenos ovakvih embrija ima bolje ishode, uključujući smanjeni rizik od perinatalne smrtnosti i prijevremenog poroda. Uspješnost je oplodnje krioprezerviranim embrijima (FET, engl. *Frozen embryo transfer*) 31,9 % po oplodnji (2, 4, 7). Mnogi postupci u ART metodama mogu utjecati na epigenom, kao što su manipulacija embrija, kultura i prijenos te izlaganje gameta i embrija velikim promjenama hormonskih razina, temperature, pH i tlaku plinova u zraku (7).

1.1.1. Komplikacije

Najčešće komplikacije postupaka MPO jesu OHSS i višepodne trudnoće, koje se u općoj populaciji pojavljuju u 3,5 % trudnoća (8), dok su rezultat MPO-a u oko 25 % trudnoća (9). Višepodne su trudnoće najčešća komplikacija MPO-a i potencijalno su opasne i za majku

i za dijete. Povišena je incidencija za razvoj trudničke hiperemeze, hipertenzije u trudnoći i gestacijskog dijabetesa (GDM) (10). Kod fetusa je peterostruko veća incidencija mrtvorodenosti i sedmerostruko neonatalne smrti (11). Sindrom hiperstimulacije jajnika (OHSS, engl. *Ovarian hyperstimulation syndrome*) događa se 1 % – 5 % slučajeva (12). To je potencijalno smrtonosno stanje koje nastaje kao rezultat stimulacije jajnika gonadotropinima. Folikuli luče velike količine faktora rasta, kao što je faktor rasta vaskularnog endotela, zbog čega dolazi do pojačane neovaskularizacije i ekstrasvazacije s razvojem ascitesa, edema, kardijalnih i pleuralnih izljeva, tromboembolije i zatajenja bubrega. Rizik za razvoj OHSS-a imaju trudnice sa sindromom policističnih jajnika, više od 15 aspiriranih jajnih stanica i povišenim razinama estradiola (4, 13, 14). Ni jednoplodne trudnoće koje su rezultat MPO-a nisu izuzete od komplikacija u usporedbi s trudnoćama započetim prirodnim putem. Komplikacije uključuju prijevremeni porođaj, nisku porođajnu masu ploda (< 2500 g), veću incidenciju dovršavanja trudnoće carskim rezom, placentu previju, abrupciju posteljice i preeklampsiju. Mnogi su od ovih ishoda povezani s poremećenom placentacijom. Formiranje posteljice događa se rano u gestaciji i uključuje pravilnu i reguliranu invaziju stanica trofoblasta u majčinu deciduu (14).

1.1.2. Terapija progesteronom

Zbog protokola hiperstimulacije jajnika u procesu MPO žuto tijelo postaje disfunkcionalno i inhibirano, pojavljuju se suprafiziološke razine estradiola uz asinkronizirano lučenje estrogena i progesterona i niske razine luteinizirajućeg hormona. Kao terapija za ovo stanje obično se koriste analozi hormona oslobađanja gonadotropina, humani korionski gonadotropin, progesteron, estradiol te citokini kao što je faktor stimulacije granulocita (15). Da bi trudnoća opstala, nakon oplodnje ključno je održavati razine progesterona visokima. Progesteron u ovoj fazi potiče daljnju proliferaciju i zadebljanje endometrija maternice koji postaje receptivan i sprječava nastanak menstruacije. Nakon implantacije prirodnim putem oplođene jajne stanice, jajnici održavaju razinu progesterona sve do osmog tjedna trudnoće, što je povezano s porastom luteinizirajućeg hormona i ovulacijom, te je sinkroniziran dob embrija s dinamikom razvoja endometrija. Kod MPO često je potrebno unositi egzogeni progesteron, pri čemu je potrebno održavati ove razine stabilnima i sinkroniziranima jer je to ključno za uspješno donošenje trudnoće. U studiji Evansa i suradnika dokazano je da su visoke razine progesterona 19. dan nakon FET-a povezane s lošijim ishodima trudnoće (16). Također, dokazano je da razine progesterona trebaju pasti unutar uskog raspona na dan kada se pacijentici daje humani korionski

gonadotropin („hCG shot“) kako bi trudnoća bila uspješnija i da je prijevremeni porast progesterona povezan s nižim stopama preživljenja fetusa u novim ciklusima umjetne oplodnje. Razine iznad 1,5 – 2 ng/mL na dan davanja hCG-a imaju negativan utjecaj na ishod tih trudnoća jer ukoliko dođe do prijevremene elevacije razine progesterona, dolazi do asinkronije sazrijevanja embrija koji se razvija prirodnom brzinom i endometrija koji preuranjeno sazrijeva. Preuranjena ekspresija osteopontina i angiogenina kojom upravlja progesteron dovodi do smanjene receptivnosti endometrija i povećanog rizika od gubitka trudnoće. Unatoč saznanjima, progesteron se daje preuranjeno 5 % – 38 % svih ciklusa umjetne oplodnje (16). Različiti su ishodi preuranjenog porasta progesterona s obzirom na metodu umjetne oplodnje, u ciklusima sa svježim embrijima povišena razina progesterona imala je jači negativni utjecaj na ishode u odnosu na cikluse u kojima je vršen prijenos prethodno smrznutog embrija. Kad je progesteron bio ≥ 2 ng/mL, stopa je živorođenih bila 47 % u FET ciklusima u usporedbi s 10 % u ciklusima sa svježim embrijima (17).

1.2. Utjecaj metoda potpomognute oplodnje na epigenom ploda

Osim prethodno navedenih komplikacija, u usporedbi s prirodno začetom, djeca začeta MPO imaju povećani rizik od kongenitalnih poremećaja utiskivanja kao što su Silver-Russelov, Angelmanov, Beckwith-Wiedemannov (BWS) i Prader-Willijev sindrom (18). Poremećaji utiskivanja gena jesu bolesti koje nastaju ekspresijom samo majčine ili samo očeve kopije gena mjesto biparentalne aktivacije, a rezultat su epigenetičkih promjena na genomu. To postavlja pitanje utjecaja MPO-a na epigenomski profil djeteta (19). BWS koji karakterizira stanje prekomjernog rasta, fenotipski podsjeća na sindrom velikog potomstva kod životinja podvrnutih umjetnom osjemenjivanju, što sugerira da imaju sličan mehanizam nastanka. Također, sindrom velikog potomstva kod goveda povezan je s disregulacijom epigenoma, što implicira da su ovakve promjene mogući uzrok navedenih sindroma i kod čovjeka, te su istraživanja i opažanja nastavljena i kod ljudi (20). Budući da se vrijeme gametogeneze i embriogeneze i glavnih epigenetskih događaja u kojemu je genom posebno osjetljiv na čimbenike okoliša preklapa s vremenom MPO postupaka, oni predstavljaju znatan izvor epigenetskih promjena i posljedično mogu uzrokovati cjeloživotne negativne posljedice na čovjekovo zdravlje (21). Proces je metilacije glavna kovalentna modifikacija DNK i najčešće istražena epigenetska oznaka, a metilacijom se smanjuje ekspresija gena. Uglavnom se odvija u palindromskim CpG (citozin-fosfat-gvanin) dinukleotidima, a ne-CpG metilacija može se naći u neuronskim stanicama i oocitama u kojima su česte *de novo* metilacije (22). CpG regije visoke gustoće najčešće se nalaze na promotorima razvojnih gena i obično su

nemetilirane. Ostatak genoma siromašan je CpG regijama i obično su metilirane. U većini je somatskih stanica kod ljudi 60 % – 80 % (od oko 28 milijuna) CpG dinukleotida metilirano (23). Osim djelovanja na promotore, metilacijski obrasci utječu i na regrutiranje i interakciju specifičnih transkripcijskih čimbenika, kromatinskih modifikatora i remodelatora te aktivatora transkripcije (24). Mnogi neželjeni ishodi trudnoća započelih ART tehnikama povezani su s poremećenom placentacijom. Chuan i suradnici povezali su promjene metilacijskih obrazaca, strukture kromatina i ekspresiju mikro ribonukleinske kiseline s promjenama u migraciji i invaziji stanica trofoblasta, što implicira da je tijekom rane faze razvoja embrija ključna pravilna epigenetska regulacija koja je narušena ART tehnikama (25). Alternativna hipoteza ovoj, da IVF dovodi do epigenetskih promjena, jest ta da sama neplodnost roditelja predstavlja faktor koji mijenja epigenetski obrazac kod potomaka. Međutim, istraživanje na grupi majki koje nisu bile neplodne, a koje su primile donorsku jajnu stanicu pokazalo je da su prisutne značajne razlike u metilaciji između posteljica ovih trudnica i onih koje su začele prirodnim putem, što sugerira da su ovi postupci barem djelomično odgovorni za razlike u epigenetskim obrascima (26).

1.2.1. Metilacijska dinamika u primordijalnim zametnim stanicama

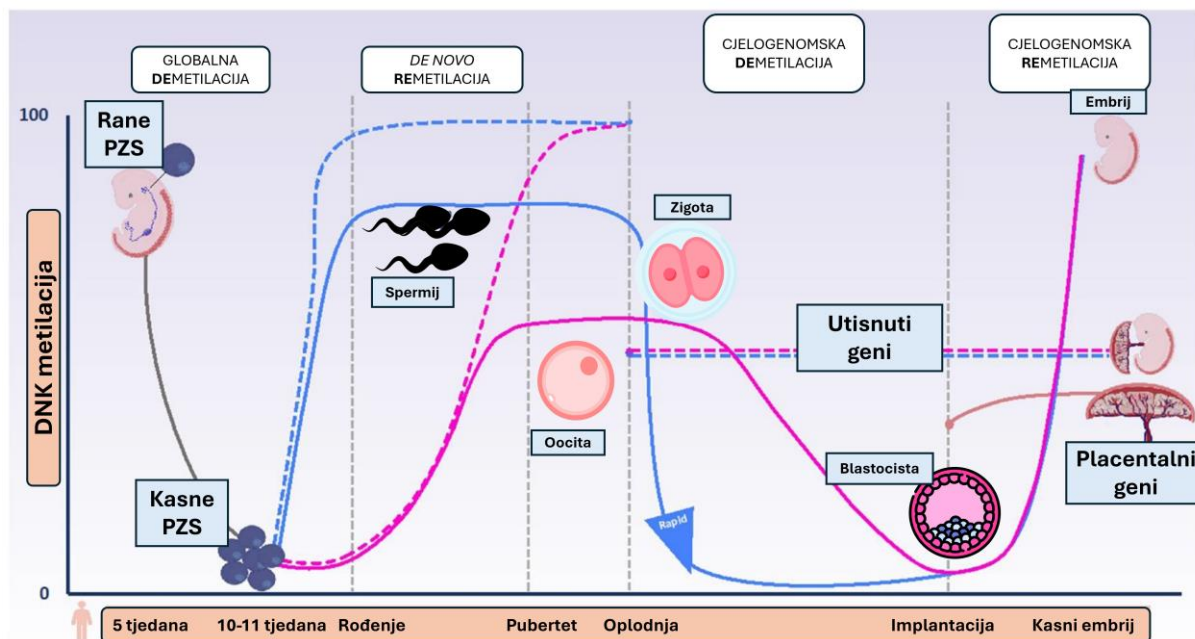
Metilacijski profili stabilno se nasljeđuju u stanicama koje se mitotski dijele, no tijekom razvoja germinativne linije i ranog embrionalnog razvoja, genom sisavaca prolazi kroz dva široko rasprostranjena vala reprogramiranja CpG metilacije. Prvi val demetilacije u ljudskim embrijima nastaje u primordijalnim zametnim stanicama ploda u razdoblju od četvrtog do sedmog tjedna razvoja, a vrhunac doseže između desetog i jedanaestog tjedna trudnoće, kada preostaje rezidualna metilacija koja iznosi oko 10 % ukupne (Slika 1). Ovi rezidualni genomske lokusi, koji se nazivaju i bjeguncima, uglavnom su retrotranspozoni. Posrijedi su evolucijski mlađe obitelji ponavljajućih elemenata kao što su *LINE-1* (engl. *Long interspersed nuclear element 1*) iz obitelji dugih isprepletenih nuklearnih elemenata i *Alu* elementi iz obitelji kratkih isprepletenih nuklearnih elemenata. Ovo zaostajanje metilacije deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u vjerojatno štetnim i inače aktivnim transpozicijskim elementima sugerira postojanje epigenetskog nasljeđa (27). Nakon što je demetilacija dosegla vrhunac u primordijalnim stanicama, slijedi spolno specifična faza metilacije u spermatogenezi i oogenezi. U muškoj germinativnoj liniji razina *de novo* metilacije raste prije rođenja, točnije, između 59. i 137. dana (28), kada doseže svoj vrhunac koji iznosi oko 80 % metiliranosti CpG-ova i koji se održava kroz mnoge mitotičke diobe prije ulaska u mejozu u pubertetu. Za razliku od njih, ženske germinativne stanice ostaju demetilirane ili

hipometilirane sve do sazrijevanja u postpubertetskom razdoblju kada se tijekom svakog menstruacijskog ciklusa ponovno uspostavlja metilacijski obrazac koji dosegne 50 % – 55 % metilacije CpG-ova u metafazi II. Budući da su procesi *de novo* DNK metilacije u oocitama progresivni i ne uspostavljaju se potpuno u vremenu kada se radi IVF, postoji mogućnost rizika za potencijalnu disregulaciju induciranu hiperstimulacijom jajnika, sazrijevanjem jajnih stanica *in vitro* i zamrzavanjem jajnih stanica (29) (Slika 1).

1.2.2. Metilacijska dinamika u ranoj fazi embriogeneze

Nakon oplodnje potreban je ponovni gubitak metilacije DNK kako bi se razvile embrionalne loze s postupno sve manjom potentnošću, odnosno sve većom metiliranošću. Početna demetilacija događa se 10 – 12 sati nakon oplodnje u očinskom genomu i ona je brža i dublja od one majčinog genoma, a posredovana je enzimom dioksidogenaza metilcitozina (Slika 1). Demetilacija je majčinog genoma ograničenija i sporija zahvaljujući KRAB-KZFP (engl. *Krüppel-associated box-domain-containing zinc-finger proteins*) zaštitnom mehanizmu pomoću kojega ICR-ovi (eng. *imprinting control regions*) izbjegavaju reprogramiranje metilacije DNK. ZFP57 (engl. *Zinc finger protein*) i ZFP445 prepoznaju TGCCGC slijed u ICR-u oocita i regrutiraju DNK metiltransferaze, protein povezan s KRAB-om i druge čimbenike metilacije (30). Mutacija gena za ZFP57 povezana je s prolaznim neonatalnim dijabetesom melitusom s multilokusnim greškama utiskivanja kod ljudi, čija je incidencija značajno veća nakon MPO, pri čemu je veća kod prijenosa svježeg embrija nego kod prijenosa prethodno zamrznutog embrija (31). Iz svega navedenog uočava se da je reprogramiranje DNK metilacije na cijelom genomu tijekom predimplantacijskog razvoja složena dinamika između globalne demetilacije i ciljane remetilacije pri čemu je očev genom jače i brže zahvaćen demetilacijom od majčinog (32). U fazi blastociste embrij doseže minimum razine metilacije, nakon čega dolazi do globalne remetilacije koja je specifična za staničnu liniju. Tri glavne stanične linije – pluripotentni epiblast (EPI), trofektoderm (TrE) i primitivni endoderm (PrE) iz kojih tim redom nastaju embrij, placenta i žumanjčana vreća, imaju različite metilacijske i posljedično ekspresijske obrasce pri čemu su i sami valovi remetilacije asinkroni. Primjerice, metilacija je TrE slabija od metilacije EPI, a PrE ima sporiju remetilaciju nego EPI i TrE. Stanice placente imaju poseban epigenetski profil u usporedbi sa somatskim stanicama i uglavnom su hipometilirane (33). Konačno, ART tehnike, kao što su hormonska stimulacija, aspiracija oocita, oplodnja, kultura embrija *in vitro*, biopsija, prijenos embrija i krioprezervacija vremenski se podudaraju s valovima globalnog epigenetičkog reprogramiranja i utiskivanja koji su osjetljivi na vanjske čimbenike

i ove metode imaju veliki potencijal za narušavanje ovog složenog mehanizma u gametama i embrijima.



Slika 1. Programiranje i reprogramiranje metilacije DNK tijekom razvoja ljudi. Rad autora prema predlošku (34); DNK – deoksiribonukleinska kiselina, PZS – primordijalne zametne stanice.

1.3. Utjecaj nepovoljnih čimbenika u trudnoći na plod

1.3.1. Prijevremeni porod

Studija Pelikha i suradnika analizirala je ishode MPO u razdoblju od 2009. do 2017. te je nađena učestalost prijevremenih poroda i niske porođajne težine (< 2500 g) kod prirodnog začeća 7,9 %, odnosno 6,1 %, dok je kod trudnoća započelih ART tehnikama učestalost istih 12,7 %, odnosno 9,3 %, što čini statistički značajnu razliku, pri čemu su razlike među braćom i sestrama statistički bile beznačajne (35). Prijevremeni porod, koji je definiran kao porod prije 37. tjedna trudnoće, u 2020. godini činio je 9,9 % svih poroda u svijetu ili svako deseto novorođenče, odnosno oko 13,4 milijuna poroda. Prijevremeni je porod heterogeno stanje koje uključuje tri klinička tipa s obzirom na etiologiju: medicinski indicirani prijevremeni porod, spontani prijevremeni porod i prijevremeno prsnuće vodenjaka. Prijevremeni porod indicira se 30 % – 35 % slučajeva prijevremenog poroda, a najčešći su uzroci stanja koja dovode majku ili fetus u opasnost, uključujući preeklampsiju i intrauterino zaostajanje u razvoju (IUGR, engl. *intrauterine growth restriction*). Spontani prijevremeni porod odnosi se na spontani porod prije 37. tjedna trudnoće i čini između 23 % i 64 % prijevremenih poroda.

Neki su od najčešćih uzroka infekcije, pothranjenost, majčin stres, velik indeks tjelesne mase majke, visoka dob majke, konzumacija alkohola i pušenje cigareta. Prijevremeno prsnuće vodenjaka čini 25 % – 30 % prijevremenih poroda i predstavlja prsnuće amnionske vreće prije 37. tjedna i više od sat vremena prije početka kontrakcija (36). Zbog napretka u liječenju ove djece preživljenje se drastično poboljšalo te oko 95 % nedonoščadi danas doživi odraslu dob (37). Najčešći su nepovoljni kratkoročni ishodi izrazito prijevremenog poroda (< 28 tjedana), čija se incidencija smanjuje s brojem tjedana gestacije, intracerebralno krvarenje svih stupnjeva (15 % – 25 %, od čega je 3. – 4. stupanj u 3 % – 6 % slučajeva), periventrikularna leukomalacija (2 % – 8 %), sepsa dokazana hemokulturom (15 % – 50 %), nekrotizirajući enterokolitis koji zahtijeva operaciju (4 % – 10 %), bronhopulmonalna displazija (15 % – 50 %), retinopatija nedonoščadi (2 % – 5%) i smrt u bolnici (10 % – 20 %). Učestalost svega navedenog iznad 33. tjedna gestacije svedena je na 1 % – 3 % (38). Patofiziološki proces u podlozi prijevremenog poroda u gotovo polovice slučajeva jest upala koja je prisutna na fetomaternalnoj barijeri te rezultira prijevremenim trudovima ili prijevremenim prsnućem vodenjaka s ili bez korioamnionitisa, a što predstavlja „prvi upalni udar“. Budući da ova djeca imaju ranjive površine tijela, sluznice i organske sustave, izlaganje antigenima kao što su mikroorganizmi, strana tijela, lijekovi, nutritivni antigeni te hipoksiji i hiperoksiji predstavlja „drugi upalni udar“. Ovaj je udar posebno izražen kod djece rođene izrazito prijevremeno, budući da se sazrijevanje imunološkog sustava u vidu raspoznavanja stranog od domaćeg odvija u trećem tromjesečju. Zbog svega je navedenog nedonoščad predisponirana za razvoj sepse, ali i za stanja koja dovode do nastanka trajne upale, koja predstavlja ključni posrednik u smrtnosti i razvoja komorbiditeta kod ove djece. Razvoju trajne upale posebno pridonose razvoj bronhopulmonalne displazije, nekrotizirajući enterokolitis i retinopatija, ali i intracerebralno krvarenje i periventrikularna leukomalacija. Glavni su endogeni faktori za razvoj trajne upale gestacijska dob, porođajna težina i spol (39). Prijevremeni porod povezan je s povećanom smrtnošću od svih uzroka u ranoj do srednjoj odrasloj dobi (18 – 45 godina). Procjenjuje se da se 29,7 % smrtnih slučajeva u dobi 18 – 45 godina i 2,6 % smrti u ukupnoj populaciji može pripisati prijevremenom porodu (< 37 tjedana). Prijevremeni porod uzrok je 51,8 % smrtnih slučajeva u dobi 18 – 45 među onima rođenim iznimno prijevremeno (< 27 tjedana) ili 0,1 % ukupne populacije. Prilagođeni omjeri rizika za ukupni mortalitet povezan s prijevremenim porođajem među ženama i muškarcima bili su 1,54 i 1,32 u dobi 20 – 29 godina i 1,55 i 1,17 u dobi 30 – 45 godina, u usporedbi s rođenjem u punom terminu (39. – 41. tjedan). Iznimno, prijevremeni porod povezan je s dvostrukom smrtnošću u obje dobne kategorije. Studija slučaja i kontrola Crumpa i suradnika usporedila je smrtnost 3,5 milijuna

osoba rođenih prijevremeno sa smrtnošću njihove braće i sestara te potvrdila da promatrane povezanosti nisu rezultat zbunjujućeg (engl. *confounding*) čimbenika. Što se tiče specifičnih uzroka smrti od rođenja do 45 godina starosti kod ljudi rođenih prijevremeno, najčešće su kardiovaskularni, respiratorni, endokrini i neurološki poremećaji i kod muškaraca i kod žena. Pri tome su respiratorni poremećaji, kongenitalne anomalije i neki perinatalni uzroci bili najčešći uzrok smrti u djetinjstvu, a endokrine, kardiovaskularne i neurološke bolesti prevladavale su u odrasloj dobi kao uzrok smrti. Vrlo prijevremeni porod (< 34 tjedna) povezan je s umjereno povećanom smrtnošću od izvanjskih čimbenika kao što su nesreće, nasilje i samoubojstvo (prilagođeni HR (engl. *hazard ratio*) 1,2, 95 % CI (engl. *confidence interval*), 1,01 – 1,43) (40). Meta-analiza 27 studija s oko 17 tisuća prijevremeno rođenih i 300 tisuća terminski rođenih mladih odraslih osoba pokazala je da je prijevremeni porod povezan s prosječnim povišenjem sistoličkog krvnog tlaka u toj dobi za 4,2 mmHg, a dijastoličkog za 2,6 mmHg, pri čemu je među ženama viši (41). U švedskoj kohorti od preko 636 000 odraslih osoba između 25 i 37 godina, prijevremeni je porođaj bio povezan s povećanim propisivanjem antihipertenziva – omjer rizika od 1,25 (95 % CI, 1,12 – 1,39) za one rođene 35. – 36. tjedna i 2,51 (95 % CI, 1,11 – 5,68) za one rođene izrazito prijevremeno (23. – 27. tjedan). Ista studija pokazala je povezanost metaboličkog sindroma (posebice tipa 2 dijabetesa), srčanog zatajenja, kronične bubrežne bolesti i apneje u snu s navedenim čimbenikom rizika (42). Prijevremeni porod povezan je s 1,2, odnosno 1,5 puta većim rizikom za razvoj dijabetesa tipa 1, odnosno tipa 2 u dobi od 18 do 43 godine. Izrazito prijevremeni porod (< 27 tjedana) povezan je s više od dvaput većim rizikom za razvoj oba tipa dijabetesa u odrasloj dobi, pri čemu je povezanost značajno jača u tipu II kod žena. Ispitivanje braće i sestara govori u prilog tomu da su nalazi za tip 2 neovisni o genetičkim i okolišnim čimbenicima, dok su oni s dijabetesom tipa 1 djelomično objašnjeni tim faktorima (43). Prijevremeni porod također je povezan i s višim rizikom za razvoj dislipidemije i kardiometaboličkog sindroma u odrasloj dobi. Prijevremeni (< 37 tjedana), odnosno izrazito prijevremeni (< 27 tjedana) porod, bili su povezani s 1,2 odnosno 2 puta većim rizikom od dislipidemije u dobi 18 – 44 godine (prilagođeni HR, 1,23; 95 % CI, 1,16 – 1,29; $P < 0,001$ i 2,00; 1,41 – 2,85; $P < 0,001$) i nije bilo značajne razlike među spolovima (44). Prijevremeni porod povezan je sa smanjenom funkcijom pluća koja može biti prisutna i u odrasloj dobi i koja je izraženija kod djece s bronhopulmonalnom displazijom (BPD). Forsirani ekspiratorni volumen zraka u prvoj sekundi ekspiririja (FEV1) bio je značajno smanjen u djece i odraslih rođenih prijevremeno s ili bez BPD-a. U usporedbi je s kontrolama rođenim u terminu FEV1 bio 7,2 % (95 % CI, 5,6 % do 8,7 %) niži u osoba rođenih prijevremeno bez BPD-a, 16,2 %

(12,4 % do 19,9 %) niži u onih s BPD-om kojima je bio potreban kisik duže od 28 dana i 18,9 % (16,7 % do 21,1 %) niži u onih s BPD-om kojima je kisik bio potreban dulje od 36 tjedana (45). Osobe koje su preživjele BPD, a rođene su prijevremeno ili su imale vrlo nisku porođajnu težinu, imale su smanjenu respiratornu funkciju, izražene respiratorne simptome i/ili radiološke abnormalnosti koje su trajale i u odrasloj dobi (46). Među prijevremeno rođenim osobama, s ili bez BPD-a, veća je učestalost simptoma astme i upotrebe bronhodilatatora u ranoj životnoj dobi te je dvaput veća učestalost propisivanja lijekova za liječenje astme u dobi od 25 do 35 godina života u usporedbi s terminskim porodom (47). Budući da je plućni imunološki sustav kod prijevremeno rođene djece nezreo, ova djeca su osjetljivija na respiratorne virusne infekcije i komplikacije istih, što može kompromitirati respiratornu funkciju kasnije u životu. Švedska studija pokazala je da je prijevremeni porod povezan s povećanom smrtnošću od infekcija koje su pretežno bile respiratorne u dobi od 29 do 36 godina (48). Djeca rođena prijevremeno imaju približno 1,4 puta veći rizik od poremećaja disanja tijekom spavanja u dobi od 20 do 43 godine, dok djeca rođena izuzetno prijevremeno (< 27 tjedana) imaju dvaput veći rizik za ovaj poremećaj bez razlike u spolovima. Studije na braći i sestrama opovrgnule su utjecaj zajedničkih genetskih i okolišnih čimbenika (49). Budući da prijevremeni porod prekida fetalnu nefrogenezu, ovi nefroni imaju smanjenu funkciju, a bubrezi povećanu osjetljivost za razvoj kronične bubrežne bolesti kasnije u životu. Naime, osobe rođene prerano, odnosno ekstremno prerano imaju gotovo dvaput, odnosno triput veći rizik za razvoj kronične bubrežne bolesti u razdoblju od rođenja do 43 godine života pri čemu je povezanost najjača u djetinjstvu, nakon kojeg opada, ali je i dalje značajna u adolescenciji i odrasloj dobi. Analize braće i sestara dokazale su da ova povezanost nije rezultat genetskih i drugih okolišnih čimbenika (50). Najčešći je uzrok cerebralne paralize prijevremeni porod koji rezultira ovim neurorazvojnim poremećajem u gotovo 15 % rođenih prije 28. tjedna. Ove osobe imaju viši rizik za poremećaje u kognitivnom razvoju. Djeca rođena vrlo prijevremeno (< 32 tjedana) ili ona s vrlo niskom porođajnom težinom (< 1500 g) imaju niži kvocijent inteligencije prosječno za 13,6 jedinica u dobi od 26 godina u usporedbi s kontrolama (51). Teški deficit vida ili sluha prisutan je kod 2 % – 5 % djece rođene izrazito prijevremeno. Rizik je od razvoja epilepsije kod djece rođene prijevremeno također viši u usporedbi s kontrolama – u dobi je od 25 do 37 godina rizik za hospitalizaciju zbog epilepsije značajno povećan čak i za one rođene između 35 i 36 tjedana, dok je peterostruk za one rođene prije 31. tjedna gestacije (52). Prevalencija poremećaja iz spektra autizma kod djece rođene između 25. i 31. tjedna gestacije iznosi 7 % (95 % CI: 4 – 9 %) (53). Prijevremeni porod ometa normalni razvoj mozga tijekom razdoblja brzog razvoja

sinapsi i može uzrokovati cjeloživotnu sklonost psihijatrijskim poremećajima. Švedska studija na 1,3 milijuna osoba pokazala je da su prijevremeno rođena djeca imala u odrasloj dobi značajno veću učestalost hospitalizacija zbog psihijatrijskih poremećaja kao što su depresija, bipolarni poremećaj i neafektivna psihoza u dobi između 17 i 30 godina s relativnim rizikom u rasponu od 1,5 do 3 (54). Oni koji su rođeni prije 27. tjedna, imaju 3,1 puta veće izgleda za propisivanje antipsihotika, 1,8 puta za propisivanje antidepresiva i isto toliko za hipnotike u usporedbi s kontrolama (55).

1.3.2. Intrauterino zaostajanje u rastu

IUGR se javlja u 15,4 % spontanih i 34,8 % trudnoća iz MPO (56). IUGR i malenost za gestacijsku dob povezani su s metaboličkim komplikacijama u odrasloj dobi zbog brzog postnatalnog rasta i povećanja postotka tjelesne masti uslijed nadoknađivanja intrauterinog zastoja. Metaboličke promjene uključuju intoleranciju glukoze, inzulinsku rezistenciju i razvoj dijabetesa, akumulaciju metaboličkih produkata i poremećen metabolizam aminokiselina, ali i povećan rizik od kardiovaskularnih bolesti i hipertenzije (64, 65). Također, ova novorođenčad ima i drugačiju tjelesnu građu i dinamiku omjera tjelesne masti i nemasne mase tijela od one rođene s normalnom gestacijskom masom. Naime, jedna studija pokazala je da su IUGR dojenčad i dojenčad malena za gestacijsku dob bila lakša i kraća od zdrave dojenčadi od rođenja do šest mjeseci starosti, imali su nižu masu bez masti (srednja razlika = -429,19 g ($p = 0,02$)) i masu masti (srednja razlika = -282,9 g ($p < 0,001$)) (59). Međutim, jedno je od objašnjenja za kasniji metabolički rizik već spomenuta brza nadoknada ovog manjka tjelesne masti, osobito u supkutanom masnom tkivu koja je brža od nadoknade mase bez masti i od rasta u duljinu i širinu. U podlozi je nekoliko predloženih mehanizama. Naime, značajno je veće lučenje inzulinu sličnog faktora rasta 1 koja prethodi nadoknadi masti. Ovaj hormon ima kritičnu ulogu u neonatalnom rastu, uključen je u diferencijaciju adipocita i razvoj masnog tkiva, kao i u rast u duljinu. Nadalje, ekspresija je lipoprotein lipaze u ove dojenčadi također viša i obrnuto korelira s porođajnom masom, što rezultira povećanim preuzimanjem triglicerida iz lipoproteina. Adiponektin, hormon koji luče adipociti, ima antidijabetička, antiaterosklerotična i protuupalna svojstva, a njegovo lučenje pozitivno korelira s porođajnom težinom i debljinom kožnog nabora. Razine leptina koji ima važnu ulogu u potrošnji energije i osjetljivosti na inzulin također je snižen u dojenčadi malene za gestacijsku dob (60). Također, vidljive su fluktuacije na težini i nakon rođenja. U studiji koja uključuje 5200 začete djece umjetnom oplodnjom i 20 800 djece začete prirodnim putem pokazano je da je u prosjeku masa novorođenčadi začetih prijenosom svježih embrija za 93,7

g manja (95 % CI (76,6 i 110,6 g)) od one začetih prirodnim putem, dok je novorođenčad začeta u ciklusu prijenosa smrznutog embrija 57,5 g (95 % CI (30,7 i 86,5 g)) teža od navedene skupine. Djeca začeta prijenosom svježeg embrija rasla su brže nakon rođenja za 7,2 g/tjedan, ali su ostala lakša u prosjeku za 171 g od djece začete prirodnim putem u razdoblju 6. – 8. tjedna. Također, bili su lakši za 133 g od djece začete prijenosom prethodno smrznutog embrija. Duljina i opseg glave slijedili su isti obrazac. U dobi 4 – 7 godina masa je bila slična onoj djece začete prirodnim putem (61).

1.3.3. Višepodne trudnoće

Stope su rađanja blizanaca u značajnom porastu u posljednjem desetljeću, a globalno su između 2010. i 2015. godine varirale od manje od 10 porođaja u regijama Latinske Amerike i jugoistočne Azije do 30 porođaja na 1000 porođaja u nekoliko afričkih zemalja. Većina varijacija tijekom vremena i među zemljama posljedica je varijacija u broju dizigotnih blizanaca jer je prevalencija monozigotnih blizanaca relativno slična diljem svijeta i tijekom vremena i stopa se kreće oko 3 – 4 para na 1000 rođenih parova blizanaca. Uzrok učestalosti dizigotnih blizanaca jest u najvećoj mjeri korištenje ART tehnika i sve veća dob majki, dok je na blagi porast stope monozigotnih samo utjecalo korištenje ovih metoda. Konkretno, kultura embrija na stakalcu u IVF-u povezana je s 2,25 puta većom učestalošću monozigotnih blizanaca (70, 71). Višepodne trudnoće povezane su s većim rizikom od morbiditeta i mortaliteta potomstva i majki. Tomu doprinose rizici od nedonošenosti, kongenitalnih anomalija i IUGR-a. Visoke stope komplikacija kod majke uključuju hiperemezu, anemiju i GDM. Zbog veće mase posteljice, u višestrukim trudnoćama povećana je incidencija hipertenzije u trudnoći i preeklampsije koja se češće javlja ranije u trudnoći u oko 2 % – 8 % trudnoća, te je vodeći uzrok smrti trudnica u svijetu. Perinatalni je mortalitet gotovo dvaput veći u trudnoćama pogođenih preeklampsijom s 12 % smrti majki s ovim stanjem (64). Učestalost monozigota među pojedincima s BWS, amioplazijom i defektima neuralne cijevi gotovo je deset puta veća, a i do stotinu je puta veća učestalost monozigota među pojedincima sa sirenelijom. Jedna je od hipoteza, koja nije do kraja potvrđena, da su jednopodne trudnoće s ovim sindromima započele kao monozigotne blizanačke trudnoće u kojima je nastao sindrom nestalog blizanca (65). Ovi SNP-ovi utječu i na druge reproduktivne osobine žena kao što je ranija dob začeca prvog djeteta, veći ukupni broj djece, ranija dob nastanka menopauze i manji rizik od razvoja sindroma policističnih jajnika (66). Alel rs11031006 koji se nalazi u visokoočuvanoj regiji uzvodno od gena *FSHB*, vjerojatno regulira i pojačava ekspresiju ovog gena poticanjem vezanja steroidogenog faktora 1 na promotor i na taj način

regulira razine folikulostimulirajućeg hormona. Cijelogenomska studija asocijacija (GWAS, engl. *Genome-wide association study*) na oko 8000 monizigotnih, 26 000 dizigotnih blizanaca i 680 000 kontrola replicirala je povezanost ovih lokusa s višeplođnim trudnoćama. Također, otkrila je i regije povezane sa ženskom neplodnosti kao što su gen za hormon oslobađanja gonadotropina 1 i gen za receptor za folikulostimulirajući hormon koji su uključeni u isti signalni put kao i *FSHB*. Druge regije, koje do sad nisu bile povezane s neplodnošću, kao što su *ZFPM1* i *IPO8* također su identificirane (67). Vrijeme nastanka monozigotnih blizanaca preklapa se s valovima epigenetskog reprogramiranja. Jedna cijeloegzomska studija asocijacija (EWAS, engl. *Exome-wide association study*) na pet neovisnih kohorti blizanaca ($n = 5723$) otkrila je 834 CpG mjesta koja su bila značajno različita između monozigotnih i dizigotnih blizanaca od kojih je 497 (60 %) bilo hipometilirano, a 337 (40 %) hipermetilirano u monzigotnih blizanaca te su ove razine metilacije bila stabilne tijekom života (srednja longitudinalna korelacija = 0,85), što implicira visoku stabilnost mjesta koja su metilirana rano u životu (68). Jedna studija analizirala je podatke o metilaciji DNK 3474 pojedinaca, 19 tkiva i 8 etničkih skupina i opisala je 4143 CpG mjesta koja su hipervarijabilna u više vrsta tkiva. I kod ovih je CpG-ova razina metilacije vjerojatno uspostavljena u ranom embrionalnom razvoju. Metilacija je hipervarijabilnih CpG-ova pod utjecajem genetičkih varijacija, ali nije njima determinirana i nije povezana s pouzdanošću sondi, epigenetskim driftom, starosti, spolom ili učinkom heterogenosti tkiva. Metilacija je ovih mjesta u korelaciji s tkivima koji potječu iz različitih zametnih listića. Ova su mjesta također u blizini endogenog retrovirusnog elementa 1 i endogenog retrovirusnog elementa grupe K kojima su obogaćeni te lokusa prethodno povezanih s perikonceptijskim okruženjem, metilacijom specifičnom za roditelja i karakterističnim obrascima metilacije kod monozigotnih blizanaca (69). U navedenoj EWAS studiji 37 % od 834 navedenih CpG mjesta bilo je na popisu hipervarijabilnih CpG-ova. Također, u istoj je studiji primijećeno da su korelacije razine metilacije navedenih različito metiliranih CpG mjesta među monozigotnim blizancima bile u prosjeku gotovo tri puta veće od onih u dizigotnih blizanaca (srednja monozigotna korelacija = 0,58; srednja dizigotna korelacija = 0,20), što sugerira značajnu nasljednost među monozigotnim blizancima, koja je značajno veća od srednje nasljednosti metilacijskih obrazaca u cijelom genomu koja iznosi 19 %.

1.3.4. Gestacijski dijabetes

Incidencija je GDM značajno veća kod trudnoća započetih MPO (52,3 %), za razliku od spontanih začeca (23,4 %). GDM je definiran kao bilo koji stupanj nepodnošenja glukoze

koji se prvi put javlja tijekom trudnoće, bez obzira na trajanje nakon trudnoće. Učestalost mu je 3 – 6 % i raste zbog starije generativne dobi i pretilosti majki, a obično se javlja nakon 20 – 24 tjedana trudnoće. Neke studije pokazuju da pacijentice s GDM i njihova dojenčad imaju veću vjerojatnost za razvoj dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti i metaboličkog sindroma u budućnosti (70). Međutim, već u trudnoći može uzrokovati komplikacije kao što su pobačaj, prijevremeni porod, malformacije fetusa, smrt fetusa, intrauterinu infekciju, hipertenziju u trudnoći, makrosomiju, polihidramnion i preeklampsiju (71). Kod ove je djece u dječjoj dobi značajno češća pretilost, inzulinska rezistencija s razvojem dijabetesa tipa 2, lošiji neurorazvojni ishodi i autizam (72).

ART tehnike unijele su revoluciju u pristupu neplodnim parovima i u nekoliko desetljeća od njihova nastanka značajno su unaprijeđene uz sve bolju selekciju i smanjenje stope višeplođnih trudnoća. Međutim, postignut je mali napredak u poboljšanju sigurnosti samih postupaka i, djelomično zbog kratkog vijeka samih metoda, ne zna se mnogo o posljedicama samog postupka za majku i dijete i stoga je ključno identificirati područja na kojima je potrebno raditi oko unaprijeđenja sigurnosti. Osim vidljivih fenotipskih utjecaja na plod i ishod trudnoće koji imaju genetsku podlogu, sve veći broj radova sugerira da tehnike korištene u umjetnoj oplodnji utječu i na epigenetske obrasce u fetusu i posteljici koje mogu biti uzrok neželjenim posljedicama samih postupaka. Budući da je i analiza epigenoma u samim začecima, još uvijek nije izvjestan puni opseg posljedica ovih manipulacija na zdravlje pojedinca. Zbog svega su navedenog djeca začeta MPO potencijalno u većem zdravstvenom riziku i kao takvi zahtijevaju posebnu pažnju znanosti.

2. HIPOTEZA

Prenatalni čimbenici rizika koji uvjetuju neplodnost i metode potpomognute oplodnje utječu na kasniju pojavnost neurorazvojnih poremećaja kod djece rođene iz takvih trudnoća češće nego kod djece začete prirodnim putem.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Primarni je cilj istraživanja utvrditi pojavnost neurorazvojnih odstupanja i kroničnih bolesti djece rođene nakon trudnoća koje su započele tehnikama potpomognute oplodnje.

Specifični su ciljevi istraživanja:

1. ispitati postoji li razlika u ranim perinatalnim ishodima (donošenost, tjelesna masa, *Apgar score* (AS), perinatalni mortalitet, morbiditet novorođenčadi, učestalost i trajanje liječenja novorođenčadi i nedonoščadi na JIL-u) između novorođenčadi koja su začeta nakon MPO i nakon spontanog začeća
2. ispitati postoji li razlika u karakteristikama majki (dob, paritet, komorbiditeti, lijekovi u trudnoći) koje su dijete začele postupcima MPO i onih koje su začele prirodnim putem
3. ispitati postoji li razlika u tijeku trudnoće žena (bolesti u trudnoći, komplikacije, održavanje trudnoće, način dovršenja trudnoće) koje su začele postupkom MPO i onih koje su začele spontano
4. analizirati kliničku sliku djeteta u dobi od tri godine te relevantne pokazatelje neurorazvoja (nalazi psihologa, logopeda, neuropedijatra) djece začete nakon MPO i usporediti ih s djecom iste dobi i vremena rođenja rođene nakon spontanog začeća.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao retrospektivna studija parova.

4.2. Ispitanici

U straživanje su uključena sva djeca rođena u Kliničkom bolničkom centru Osijek od 1. 1. 2018. godine do 31. 12. 2020. godine iz trudnoća nakon MPO te svako prvo iduće rođeno novorođenče s popisa u medicinskoj dokumentaciji koje je začeto spontano.

4.3. Metode

Podaci su prikupljeni pregledom medicinske dokumentacije i bolničkog informatičkog sustava za svakog ispitanika. Prikupljeni su osnovni demografski podaci o majci i trudnoći: dob, paritet, bračno stanje, način začeća, tijek trudnoće – prezentacija ploda, komorbiditeti, komplikacije, način poroda i uporaba lijekova u trudnoći. Prikupljeni su i podaci o djetetu: gestacijska dob, spol, težina i rezultat AS ljestvice. Također, prikupljeni su i podaci o tijeku liječenja djece: liječenje na JIL-u, mehanička ventilacija, reanimacija, vitalni parametri, uporaba lijekova, ultrazvuk mozga. U razdoblju do navršene tri godine praćeni su i bilježeni pojavnost kroničnih bolesti djece i njihov rast i razvoj – rehabilitacija nakon rođenja, atopijske bolesti, autizam. Konačno, vrednovan je i neurorazvoj djece kroz motorički, govorni i kognitivni razvoj uz nalaze neuropedijatara, genetičara, psihologa, logopeda i radnih terapeuta.

4.4. Statističke metode

Podaci su analizirani statističkim postupcima ispitivanja razlika i povezanosti pomoću statističkog programa SPSS 19.0. Srednje vrijednosti i raspršenje kontinuiranih varijabli izražene su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom za normalno distribuirane varijable te medijanom i interkvartilnim rasponom za varijable koje nemaju normalnu distribuciju. Za utvrđivanje razlika između dvaju nezavisnih uzoraka korišten je Mann-Whitney U test za neparametrijsku raščlambu, a za parametrijsku korišten je Studentov T test. Za utvrđivanje razlika među proporcijama između dvaju nezavisnih kategoričkih uzoraka korišten je χ^2 test. Statistička značajnost prihvaćena je za $P < 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Sociodemografski podaci

Istraživanje je provedeno na 458 djece od kojih je 246 (53,7 %) rođeno iz trudnoća započelih MPO a 212 (46,3 %) iz spontanih trudnoća. U MPO je skupini troje djece mrtvorodeno, dok je troje preminulo unutar nekoliko tjedana od rođenja, dok je u kontrolnoj jedno dijete mrtvorodeno. Također, zabilježeni su podaci 416 majki i njihove djece od kojih je 208 (50 %) začelo tehnikama MPO a 208 (50 %) spontano.

U promatranoj skupini trudnica, koje su začele MPO metodama, bilo je značajno više starijih od 35 godina nego u kontrolnoj skupini trudnica (χ^2 test, $P < 0,001$). U kontrolnoj skupini bilo je značajno više neudanih u usporedbi s promatranom skupinom (χ^2 test, $P = 0,007$). Značajno je bilo više trudnica u MPO skupini s višom i visokom stručnom spremom u usporedbi s kontrolnom skupinom (χ^2 test, $P = 0,001$) (Tablica 1).

Tablica 1. Sociodemografski podaci majki po skupinama

	Broj (%) ispitanica			P^*
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Dob majki (godine)				
≤ 35	120 (61,3)	165 (79,3)	285 (68,5)	< 0,001
≥ 36	88 (38,7)	43 (20,7)	131 (31,5)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Bračni status majke				
Udana	192 (92,3)	169 (81,2)	361 (86,8)	0,001
Neudana	16 (7,7)	39 (18,8)	55 (13,2)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Edukacija majke				
Srednja stručna sprema	71 (34,1)	99 (47,6)	170 (40,9)	0,007
Viša stručna sprema	137 (65,9)	109 (52,4)	246 (59,1)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

Značajna je razlika u medijanu dobi majki gdje su trudnice iz MPO skupine bile značajno starije od majki u kontrolnoj skupini (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 2).

Tablica 2. Dob majki

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	
Dob majki (godine)	34 (31 – 37)	32 (28 – 35)	< 0,001

* Mann-Whitney U test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.2. Bolesti majki

Trudnice u promatranoj skupini imale su značajno više komorbiditeta s kojima su ušle u trudnoću od kontrolne skupine (χ^2 test, $P = 0,002$). Trudnice u MPO skupini značajno su češće bolovale od endokrinoloških (χ^2 test, $P < 0,001$) i kardiovaskularnih (χ^2 test, $P = 0,03$), dok su trudnice u kontrolnoj skupini češće bolovale od autoimunih bolesti (χ^2 test, $P = 0,049$) (Tablica 3).

Tablica 3. Kronične bolesti majke prije trudnoće po skupinama

	Broj (%) ispitanica			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Autoimune				
Da	6 (2,9)	16 (7,7)	22 (5,3)	0,049
Ne	202 (97,1)	192 (92,3)	394 (94,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Psihijatrijske i neurološke				
Da	5 (2,4)	7 (3,3)	12 (2,9)	0,77
Ne	203 (97,6)	201 (96,7)	404 (97,1)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Endokrinološke				
Da	53 (25,5)	25 (12,1)	78 (18,8)	< 0,001
Ne	155 (74,5)	183 (87,9)	338 (81,2)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Kardiovaskularne				
Da	14 (6,7)	4 (1,9)	18 (4,3)	0,03
Ne	194 (93,3)	204 (98,1)	398 (95,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Ostalo				
Da	53 (25,5)	25 (12)	78 (18,7)	0,33
Ne	155 (74,5)	183 (88)	338 (81,3)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Komorbidity općenito				
Da (≥1)	87 (41,8)	56 (26,9)	143 (34,4)	0,002
Ne	121 (58,2)	152 (73,1)	273 (65,6)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.3. Bolesti vezane uz trudnoću

Značajno je više trudnica u MPO skupini koje su imale komplikacije u trudnoći (χ^2 test, $P = 0,001$) nego u kontrolnoj skupini. Gestacijski dijabetes značajno je bio češći kod MPO skupine (χ^2 test, $P = 0,049$), a isto vrijedi i za hipertenziju u trudnoći (χ^2 test, $P = 0,02$), bolesti štitnjače (χ^2 test, $P < 0,001$) i anemiju u trudnoći (χ^2 test, $P = 0,03$) (Tablica 4).

Tablica 4. Bolesti vezane uz trudnoću po skupinama

	Broj (%) ispitanica			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Bolesti vezane uz trudnoću				
Da (≥ 1)	107 (51,4)	73 (35,1)	180 (43,3)	0,001
Ne	101 (48,6)	135 (64,9)	236 (56,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Gestacijski dijabetes				
Da	28 (13,4)	20 (9,6)	48 (11,5)	0,049
Ne	180 (86,6)	188 (90,4)	368 (88,5)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Hipertenzija u trudnoći				
Da	25 (12)	11 (5,3)	36 (8,7)	0,02
Ne	183 (88)	197 (94,7)	380 (91,3)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Bolesti štitnjače				
Da	36 (17,3)	27 (13)	63 (15,2)	< 0,001
Ne	172 (82,7)	181 (87)	353 (84,8)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Anemija u trudnoći				
Da	34 (16,3)	25 (12)	59 (14,2)	0,03
Ne	174 (83,7)	183 (88)	357 (85,8)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.4. Ishodi trudnoće

U MPO skupini svaka je četvrta trudnoća bila blizanačka, dok je u kontrolnoj bilo značajno manje istih (χ^2 test, $P < 0,001$). Statistički značajna razlika među skupinama postoji i s obzirom na način dovršetka poroda (χ^2 test, $P < 0,001$), a *post-hoc* analizom utvrđeno je da su se majke u MPO skupini značajno češće podvrgavale operacijama hitnog carskog reza (χ^2 test, $P < 0,001$), dok su se u kontrolnoj skupini češće podvrgavale spontanom vaginalnom porodu (χ^2 test, $P < 0,001$). Majke u MPO skupini značajno su češće farmakološki održavale trudnoću (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 5).

Tablica 5. Broj plodova i ishod trudnoće po skupinama

	Broj (%) ispitanica			P*
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Broj plodova u ovoj trudnoći				
1	160 (76,9)	204 (98)	364 (87,5)	< 0,001
2	48 (23,1)	4 (2)	52 (12,5)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Način dovršetka trudnoće				
Elektivni carski	30 (14,4)	20 (9,6)	50 (12)	< 0,001
Hitni carski	82 (39,4)	37 (17,8)	119 (28,6)	
Spontani vaginalni	29 (13,9)	71 (34,1)	100 (24)	
Inducirani vaginalni	18 (8,7)	22 (10,6)	40 (9,6)	
Stimulirani	49 (23,6)	58 (27,9)	107 (25,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Održavanje trudnoće				
Da	91 (43,8)	6 (2,9)	97 (23,3)	< 0,001
Ne	117 (56,2)	202 (97,1)	319 (76,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.5. Lijekovi u trudnoći

Majke u MPO skupini značajno su češće koristile lijekove u trudnoći (χ^2 test, $P < 0,001$), a *post-hoc* analiza pokazala je da je značajno češće bila riječ o dva (χ^2 test, $P = 0,034$), odnosno tri i više lijekova (χ^2 test, $P < 0,001$). Značajno je više trudnica uzimalo antihipertenzive u MPO skupini (χ^2 test, $P = 0,013$) i lijekove koji nisu nigdje svrstani (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 6).

Tablica 6. Farmakološka terapija u trudnoći

	Broj (%) ispitanica			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Korištenje lijekova u trudnoći				
Da (≥1)	141 (67,8)	63 (30,3)	204 (49)	< 0,001
Ne	67 (32,2)	145 (69,7)	212 (51)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Broj lijekova u trudnoći				
0	67 (32,2)	145 (69,7)	212 (51)	
1	34 (16,3)	42 (20,2)	76 (18,3)	
2	28 (13,5)	14 (6,7)	42 (10)	< 0,001
≥ 3	79 (38)	7 (3,4)	86 (20,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Lijekovi koji djeluju na SŽS				
Da	6 (2,9)	6 (2,9)	12 (2,9)	> 0,99
Ne	202 (97,1)	202 (97,1)	404 (97,1)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Antihipertenzivi				
Da	19 (9,1)	6 (2,9)	25 (6)	0,013
Ne	189 (90,9)	202 (97,1)	391 (94)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Antibiotici				
Da	6 (2,9)	9 (4,3)	15 (3,6)	0,59
Ne	202 (97,1)	199 (95,7)	401 (96,4)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Nadomjesna terapija				
Da	43 (20,7)	36 (17,3)	79 (19)	0,45
Ne	165 (79,3)	172 (82,7)	337 (81)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Ostalo				
Da	89 (42,8)	17 (8,2)	106 (25,5)	< 0,001
Ne	119 (57,2)	191 (91,8)	310 (74,5)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	

 * χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja, SŽS – središnji živčani sustav

5.6. Perinatalni ishodi

Trudnoće započete ART tehnikama trajale su značajno kraće (χ^2 test, $P < 0,001$), a među pojedinim skupinama s obzirom na gestaciju značajno su bili češći porodi u MPO skupini u razdoblju 27 – 34 tjedna gestacije (χ^2 test, $P = 0,004$) i 34 – 38 (χ^2 test, $P = 0,005$). U kontrolnoj skupini bili su značajno češći porodi nakon 38. tjedna gestacije. Prezentacija ploda glavom bila je značajno češća u kontrolnoj skupini (χ^2 test, $P < 0,001$), dok su u MPO skupini bili značajno češći patološki položaji ploda. Plodovi iz trudnoća započelih ART tehnikama značajno su češće zaostajali u intrauterinom rastu (χ^2 test, $P = 0,02$) u usporedbi s kontrolnom skupinom. U broju blizanačkih plodova zaostalih u intrauterinom razvoju postojala je značajna razlika (χ^2 test, $P < 0,001$) pri čemu ih je značajno više bilo u MPO skupini, dok u neblizanačkim nije bilo značajne razlike među skupinama. Intrakranijalno krvarenje značajno češće imala su djeca iz MPO skupine (χ^2 test, $P < 0,001$), pri čemu je značajna razlika među skupinama u broju djece s prvim i drugim stupnjem krvarenja (χ^2 test, $P < 0,001$). Značajno je bila veća incidencija RDS-a kod novorođenčadi iz MPO skupine (χ^2 test, $P = 0,01$). Djeca iz skupine MPO značajno su češće trebala mehanički potpomognutu ventilaciju (χ^2 test, $P < 0,001$). Djeca u MPO skupini značajno su češće liječena na JIL-u u odnosu na kontrolnu skupinu (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 7).

Tablica 7. Perinatalni ishodi djece po skupinama

	Broj (%) djece			P*
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Trajanje trudnoće (tjedni)				
< 27	3 (1,4)	1 (0,5)	4 (0,9)	< 0,001
27 – 34	19 (9,1)	5 (2,4)	24 (5,8)	
34 – 38	54 (26)	30 (14,4)	84 (20,2)	
≥ 38	132 (63,5)	172 (82,7)	304 (73,1)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Prezentacija ploda				
Glava	156 (75)	184 (88,5)	340 (81,7)	< 0,001
Ostalo	52 (25)	24 (11,5)	66 (18,3)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Perinatalne fetalne ugroze				
Oligohidramnij i polihidramnij	8 (3,8)	15 (7,2)	23 (5,5)	0,15
Fetalna asfiksija	16 (7,7)	13 (6,3)	29 (7)	
Komplikacije pupkovine	45 (21,6)	59 (28,4)	104 (25)	
Komplikacije izgona	16 (7,7)	9 (4,3)	25 (6)	
Ne	123 (59,1)	113 (54,3)	236 (56,7)	
Ukupno	208 (100)	208 (100)	416 (100)	
Blizanački IUGR				
Da	26 (10,7)	2 (0,9)	28 (6,2)	< 0,001
Ne	217 (89,3)	209 (99,1)	426 (93,8)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	
Neblizanački IUGR				
Da	10 (4,1)	14 (6,7)	24 (5,3)	0,32
Ne	233 (95,9)	209 (93,7)	430 (94,7)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	
IUGR				
Da	36 (14,8)	16 (7,6)	52 (11,5)	0,02
Ne	207 (85,2)	195 (92,4)	402 (88,5)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja, IUGR – intrauterino zaostajanje u razvoju (engl. *intrauterine growth retardation*)

	Broj (%) djece			P*
	MPO	Kontrole	Ukupno	
APGAR 1'				
0 – 3	6 (2,4)	1 (0,4)	7 (1,5)	0,21
4 – 6	6 (2,4)	4 (1,8)	10 (2,2)	
7 – 10	234 (95,2)	207 (97,8)	441 (96,3)	
Ukupno	246 (100)	212 (100)	458 (100)	
APGAR 5'				
0 – 3	4 (1,6)	1 (0,5)	5 (1)	0,05
4 – 6	5 (2)	0 (0)	5 (1)	
7 – 10	237 (96,4)	211 (99,5)	448 (98)	
Ukupno	246 (100)	212 (100)	458 (100)	
Intrakranijalno krvarenje				
1. – 2. stupanj	67 (27,6)	16 (7,6)	83 (18,3)	< 0,001
3. – 4. stupanj	3 (1,2)	3 (1,4)	6 (1,3)	
Ne	173 (71,2)	192 (91)	365 (80,4)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	
Reanimacija nakon rođenja				
Da	6 (2,5)	1 (0,5)	7 (1,5)	0,18
Ne	237 (97,5)	210 (99,5)	394 (98,5)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	
RDS				
Da	32 (13,2)	12 (5,7)	44 (9,7)	0,01
Ne	211 (86,8)	199 (94,3)	410 (90,3)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	
Mehanička ventilacija				
Da	37 (15,2)	11 (5,2)	48 (8,7)	< 0,001
Ne	206 (84,8)	200 (94,8)	406 (91,3)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	
Hospitalizacija na JIL-u				
Da	86 (35,4)	45 (21,3)	131 (28,9)	0,001
Ne	157 (64,6)	166 (78,7)	357 (71,1)	
Ukupno	243 (100)	211 (100)	454 (100)	

* χ^2 test; JIL – jedinica intenzivnog liječenja, APGAR – *appearance, pulse, grimace, activity, respiration*; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja, RDS – respiratorni distress sindrom

Djeca začeta medicinski potpomognutom oplodnjom značajno su dulje boravila u JIL-u u odnosu na djecu začetu spontano (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 8).

Tablica 8. Trajanje liječenja na JIL-u

	Aritmetička sredina (standardna devijacija)		<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	
Liječenje na JIL-u (dani)	5,33 (11,36)	2,46 (7,97)	< 0,001

* Studentov t test; JIL – jedinica intenzivnog liječenja, MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.7. Neurorazvoj djece

Govorni razvoj značajno je češće bio usporen u MPO skupini u odnosu na kontrolnu (χ^2 test, $P = 0,01$) (Tablica 9).

Tablica 9. Neurorazvoj djece po skupinama

	Broj (%) ispitanica			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Motorni razvoj				
Usporen	12 (5)	3 (1,4)	15 (3,3)	0,06
Normalan	228 (95)	208 (98,6)	436 (96,7)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Govorni razvoj				
Usporen	27 (11,3)	9 (4,3)	36 (8)	0,01
Normalan	213 (88,7)	202 (95,7)	415 (92)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Kognitivni razvoj				
Usporen	16 (6,7)	5 (2,4)	21 (4,7)	0,05
Normalan	224 (93,3)	206 (97,6)	430 (95,3)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.8. Rehabilitacija u ranoj dobi

Djeca začeta MPO značajno su češće pohađala rehabilitacijske programe općenito (χ^2 test, $P < 0,001$). Konkretno, neurorazvojnu rehabilitaciju značajno su češće pohađala djeca začeta MPO (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 10).

Tablica 10. Rehabilitacija djece u ranoj dobi po skupinama

	Broj (%) djece			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Rehabilitacija općenito				
Da	97 (40,4)	53 (25,1)	150 (33,3)	< 0,001
Ne	143 (59,6)	158 (74,9)	436 (66,7)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Neurorazvojna rehabilitacija				
Da	82 (34,2)	27 (12,8)	109 (24,2)	< 0,001
Ne	158 (65,8)	184 (87,2)	342 (75,8)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Edukacijska rehabilitacija				
Da	5 (2)	6 (2,8)	11 (2,4)	0,83
Ne	235 (98)	205 (97,2)	440 (97,6)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Logoped				
Da	29 (12)	27 (12,8)	56 (12,4)	0,93
Ne	211 (87)	184 (87,2)	395 (87,6)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

5.9. Kasni ishodi

Statistički značajna razlika nije nađena između promatranih skupina s obzirom na broj oboljelih od kroničnih bolesti, autizma i pojavnost distonije (Tablica 11).

Tablica 11. Ishodi djece do treće godine po skupinama

	Broj (%) djece			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Kronične bolesti				
Atopijske	68 (28,3)	64 (30,3)	132 (29,3)	0,88
Ostale	14 (5,8)	11 (5,3)	25 (5,6)	
Ne	158 (65,8)	136 (64,4)	294 (65,2)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Autizam				
Da	4 (1,7)	4 (1,9)	8 (1,8)	0,85
Ne	236 (98,3)	207 (98,1)	443 (98,2)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Distonija				
Da	20 (8,3)	8 (3,8)	28 (6,2)	0,07
Ne	220 (91,7)	203 (96,2)	423 (93,8)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

Nije bilo statistički značajne razlike među promatranim skupinama u broju djece koja su imala hernije, srčane defekte, testikularne anomalije i ostale anomalije koje nisu nigdje svrstane. Također, nije bilo značajne razlike u incidenciji anomalija općenito među promatranim skupinama (Tablica 12).

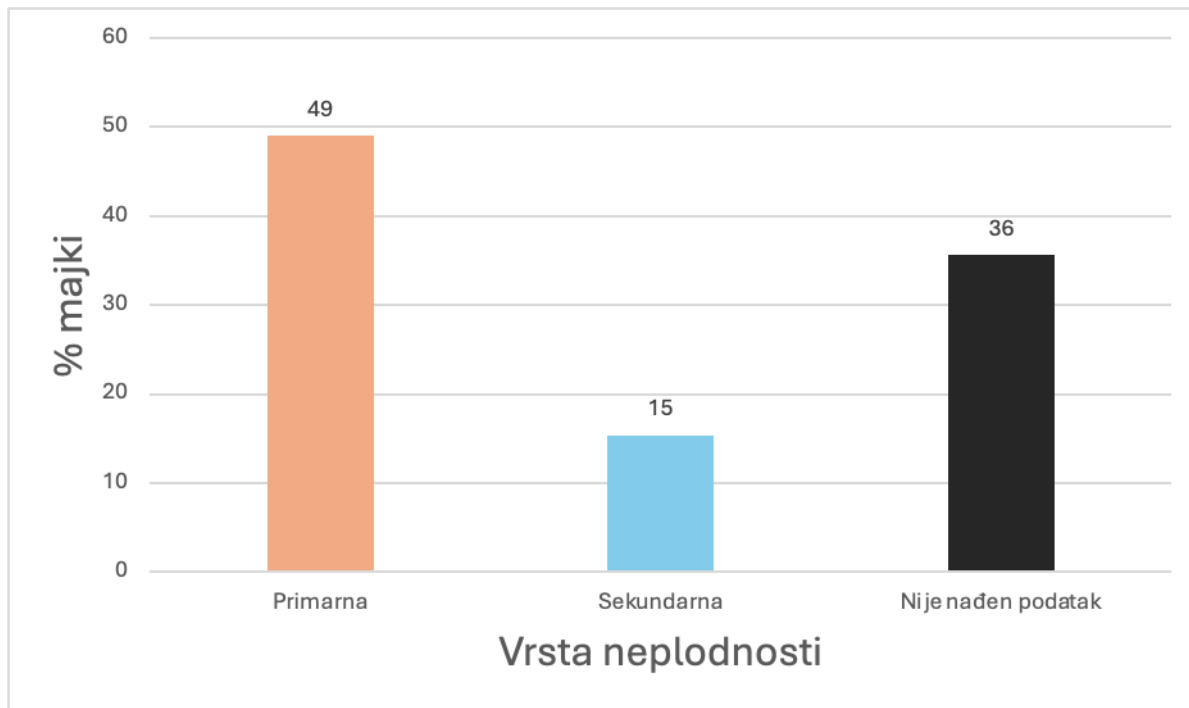
Tablica 12. Prisutnost anomalija kod djece po skupinama

	Broj (%) djece			<i>P</i> *
	MPO	Kontrole	Ukupno	
Hernije				
Da	11 (4,6)	4 (1,9)	15 (3,3)	0,19
Ne	229 (95,4)	207 (98,1)	436 (96,7)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Srčani defekti				
Da	11 (4,6)	4 (1,9)	15 (3,3)	0,19
Ne	229 (95,4)	207 (98,1)	436 (96,7)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Testikularne anomalije				
Da	11 (4,6)	8 (3,8)	19 (4,2)	0,85
Ne	229 (95,4)	203 (96,2)	232 (95,8)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Ostalo				
Da	27 (11,2)	17 (8,1)	44 (9,8)	0,33
Ne	213 (88,8)	194 (91,9)	407 (90,2)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	
Ukupno				
Da	36 (15)	25 (11,8)	61 (13,5)	0,40
Ne	204 (85)	186 (88,2)	390 (86,5)	
Ukupno	240 (100)	211 (100)	451 (100)	

* χ^2 test; MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

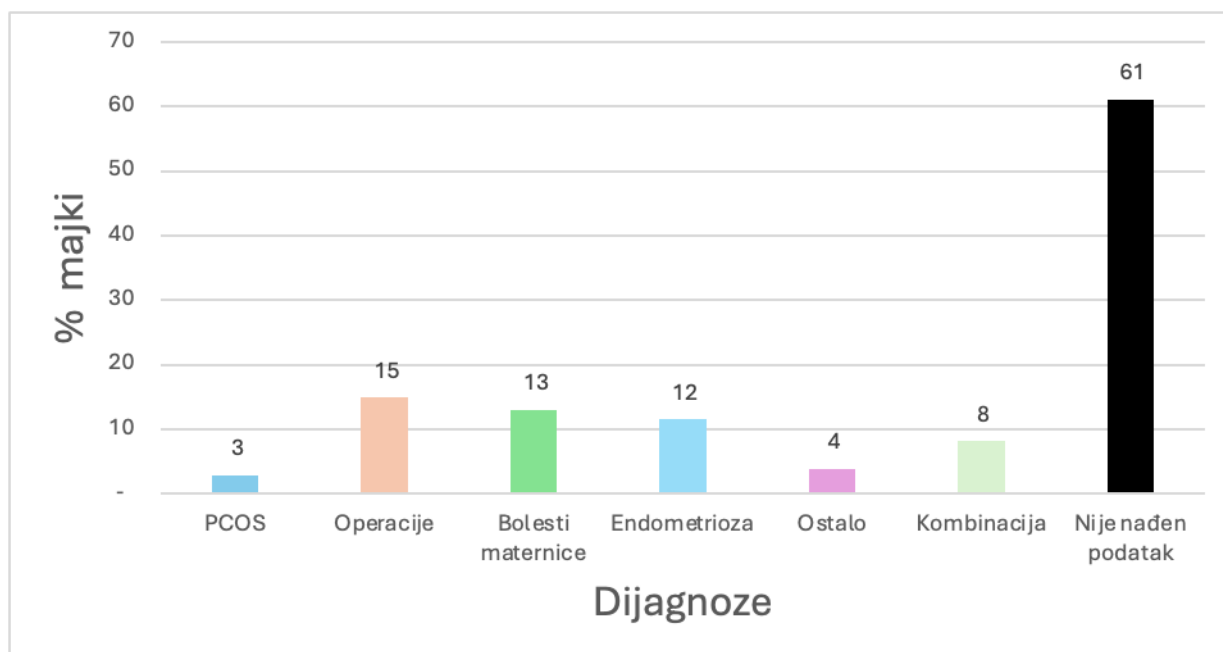
5.10. Statistički podaci koji se odnose na majke podvrgnute MPO

Primarna sterilnost bila je prisutna kod 102, sekundarna kod 32 majke, a nije nađen podatak u 74 slučaja (Slika 2).



Slika 2. Neplodnost majki

Sindrom policističnih jajnika imalo je 6 trudnica, 31 podvrgnuta je operacijama salpingektomije i/ili overiektomije, bolesti maternice u vidu polipa i anomalija imalo je 27 trudnica, endometriozu je imalo 24 majki, kombinaciju navedenog 17, ostale uzroke 8 majki, a nije nađen podatak kod 127 trudnica (Slika 3).



Slika 3. Etiologija neplodnosti majki; PCOS – sindrom policističnih jajnika (engl. *polycystic ovary syndrome*)

Nakon postupka MPO spontano su začele 34 trudnice (16,3 %), a broj je trudnica koje su razvile OHSS nakon postupka 8 (3,8 %).

6. RASPRAVA

Sve veći porast broja neplodnih parova direktno je povezan i sa sve većim porastom broja ciklusa MPO u svijetu i do razvitka samih metoda koje su svakim danom sve uspješnije. Štoviše, ove su metode tijekom posljednjih nekoliko desetljeća postale dio standardnog protokola u liječenju neplodnosti. Samo u 2018. godini napravljeno je oko 3,2 milijuna ciklusa iz kojih je rođeno oko 770 000 djece (2). Međutim, ova populacija pacijenata zahtijeva posebnu pozornost znanosti zbog potencijalnih komplikacija i lošijih ishoda trudnoća započetih ovim putem.

Ovo istraživanje provedeno je na 458 djece od kojih je 246 (53,7 %) rođeno iz trudnoća započetih MPO, a 212 (46,3 %) iz spontanih trudnoća. U MPO skupini troje je djece mrtvorodeno, dok je troje preminulo unutar nekoliko tjedana od rođenja. U kontrolnoj je skupini jedno dijete mrtvorodeno. Također, zabilježeni su podaci 416 majki njihove djece od kojih je 208 (50 %) začelo tehnikama MPO a 208 (50 %) spontano.

Prva značajnost koja je dokazana bila je u broju ispitanica starijih od 35 godina kojih je značajno više u MPO skupini. Također, medijan godina ove skupine majki bio je značajno veći od onog kontrolne skupine. Slične rezultate dobili su Thwaites i suradnici koji su dokazali da su majke koje se odluče na MPO u prosjeku tri godine starije od majki koje su spontano začele, a medijan godina iznosi 35 u usporedbi s 33 godine majki u kontrolnoj skupini (73). Isto istraživanje potvrđuje i rezultat da je značajno češće začecije izvan bračne veze kod kontrole skupine. To se djelomično može pripisati financijskim zahtjevima koji su vezani uz postupke MPO, što zahtijeva stabilnost veze, dok plodni parovi nemaju jednaku potrebu za stabilnošću (73). Žene koje se podvrgavaju MPO bile su značajno češće visokoobrazovane za razliku od žena u kontrolnoj skupini. Ovaj podatak naslanja se na već navedeni podatak o dobi, budući da zbog stjecanja akademskog statusa žene češće odgađaju odluku o planiranju potomstva. Također, financijski zahtjevi ovakvog oblika liječenja doprinose odgodi samog postupka koji, uz već navedeno, i dalje ima relativno nisku uspješnost – IVF 25,9 %, ICSI 20,0 %, FET 31,9 % IVF s PGT-jem 46,2 % (2).

Trudnice u MPO skupini imale su značajno više komorbiditeta s kojima ulaze u trudnoću od kontrolne skupine, a konkretno značajno češće bolovale su od endokrinoloških i kardiovaskularnih bolesti. To su potvrdili i Thwaites i suradnici koji su značajnosti primijetili, uz navedene, i kod pretilosti i sindroma policističnih jajnika, a svim je navedenim skupinama

zajedničko da negativno utječu na plodnost majki. Također, kod ovih žena bili su češći spontani pobačaji i neuspjele trudnoće, što dodatno otežava njihovo zdravstveno stanje (73). Podatak da trudnice u kontrolnoj skupini značajno češće boluju od autoimunih bolesti jest kontroverzan, budući da su Singh i suradnici dokazali značajno veći broj majki s autoimunim bolestima koje se podvrgavaju MPO. Najčešće se radilo o autoimunim bolestima štitnjače koje ima 10 % – 31 % ovih žena, za razliku 5 % – 15 % u općoj populaciji (74). Objašnjenje za ovakvu razliku u rezultatima jest manjak podataka u dokumentaciji u kojoj nije naveden uzrok hipotireoze koja je značajno češća u ovoj populaciji, a koja je svrstana u kategoriju endokrinoloških bolesti. Nije bilo značajne razlike u obolijevanju od psihijatrijskih i neuroloških bolesti, što su dokazali i Koukopoulos i suradnici. Iako je prisutna veća stopa anksioznosti i depresije tijekom trudnoće i nakon poroda kod žena podvrgnutih MPO, nije nađena značajna razlika u broju žena s navedenim bolestima između ove i kontrolne skupine (75).

Značajno je bilo više trudnica u MPO skupini koje imaju komplikacije u trudnoći nego u kontrolnoj skupini. Taj podatak slijede i rezultati vezani uz pojedine komplikacije. Konkretno, značajno češće MPO majke imale su GDM, hipertenziju u trudnoći u koju spada i preeklampsija, bolesti štitnjače u koje poglavito spada hipotireoza i anemija u trudnoći. Ove podatke potvrđuju i Pan i suradnici svojim istraživanjem u kojem su dokazali iste razlike uz veće postotke pojavnosti pojedinih komplikacija od onih koji su predstavljeni u ovom istraživanju. Uzroke veće pojavnosti GDM i hipertenzije pronašli su u starijoj dobi majke, višestrukim trudnoćama, hormonalnim promjenama uzrokovanim postupkom i sindromom policističnih jajnika koji je češći kod ovih žena. Hipotireoza u trudnoći uzrokovana Hashimotovim tireoiditisom bila je češća kod neplodnih žena zbog hormonalnih promjena tijekom tretmana koji aktiviraju latentni poremećaj ili pogoršavaju postojeći. Zbog veće stope višeplođnih trudnoća i većih potreba za željezom, kao i zbog povećanih metaboličkih zahtjeva uzrokovanim tretmanom medicinski potpomognute oplodnje kod ovih majki značajno češće nastaje anemija u trudnoći (76).

Kako bi se povećala uspješnost MPO, u postupku se često prenosi više od jednog embrija, što značajno povećava broj višeplođnih trudnoća u ovim postupcima koji raste i do 22 %. Također, starija dob majki koje se podvrgavaju ovim metodama doprinosi većoj vjerojatnosti ovakvih trudnoća (56). To pokazuju i rezultati ovog istraživanja u kojemu je značajno veći broj višeplođnih trudnoća u MPO skupini. Zbog veće incidencije višeplođnih trudnoća, ali i zbog već navedenih komplikacija u trudnoći značajno se češće ovakve trudnoće

dovršavaju hitnim i elektivnim carskim rezom (oko 40 %), dok je vaginalni porod češći kod prirodnih začeca (oko 75 %) (56). U ovom istraživanju dokazano je da se majke u MPO skupini značajno češće podvrgavaju operacijama hitnog carskog reza. Ukupno je na carski rez (elektivni i hitni) upućeno preko polovine ukupnog broja trudnica iz MPO skupine, dok su u kontrolnoj skupini bile podvrgnute spontanom vaginalnom porodu. Ukupno se vaginalnom porodu (spontanom, induciranom i stimuliranom) podvrgnulo oko tri četvrtine majki iz kontrolne skupine. Kako bi se povećale šanse za uspješno začecje i donošenost, oko 80 % žena koje prolaze kroz MPO koristi neku vrstu farmakološke podrške u očuvanju trudnoće. Najčešće je korišten progesteron koji je ključan za potporu implantaciji i održavanje trudnoće u ranoj fazi trudnoće (77). U proučavanoj MPO skupini, majke su također značajno češće održavale trudnoću progesteronskim pripravcima, što potvrđuje i Pan sa suradnicima (76).

Također, provjereno je i koje skupine i koliko lijekova trudnice u ove dvije skupine koriste kao kroničnu terapiju. Pisa i suradnici navode kako oko 78 % žena koristi jedan ili više lijekova tijekom trudnoće započete MPO, dok je prosječno vrijeme korištenja progesterona za očuvanje trudnoće 8,45 dana za razliku od kontrolne skupine u kojoj su te vrijednosti 39,8 % i 4,8 dana (78). U ovoj studiji, u MPO skupini majke su značajno češće koristile lijekove u trudnoći, a *post-hoc* analiza pokazala je da je značajno češće riječ o dva, odnosno tri i više lijekova koje je redovno uzimalo više od trećine majki u MPO skupini. Što se tiče pojedinih skupina lijekova, značajno je više trudnica uzimalo antihipertenzive u MPO skupini, što ide uz već naveden podatak o značajno većem broju trudnica s hipertenzijom i druge lijekove koji nisu nigdje svrstani. Statistički značajne razlike nije bilo u korištenju lijekova koji djeluju na središnji živčani sustav, antibiotika i nadomjesne terapije za liječenje hipotireoze.

Novorođenčad začeta MPO ima značajno nižu gestacijsku dob i pod većim su rizikom od IUGR-a i malenosti za gestacijsku dob. Pelikh i suradnici utvrdili su da je postotak nedonošenosti u MPO trudnoćama 29,8 %, a od OUGR-a 25,5 %, nasuprot 7,9 % i 6,1 % u kontrolnoj skupini na ukupnom uzorku od 248 013 trudnica. Jedan je od glavnih uzroka ovako visoke incidencije već navedena viša stopa višeplođnih trudnoća u kojima su česti ovakvi poremećaji (79). U ovoj je studiji zabilježeno da je više od trećine trudnica trudnoću završilo prije 38. tjedna gestacije, odnosno rodilo nedonoščad, pri čemu je četvrtina rodila u razdoblju 34. – 38. tjedana gestacije, a gotovo svaka deseta u razdoblju 27. – 34. tjedna, što je značajno više nego u kontrolnoj skupini. Uz to je svaki deseti plod začet MPO rođen kao blizanački IUGR, dok je ukupno u ovoj skupini djece rođeno oko 15 % plodova kao IUGR, za

razliku od kontrolne skupine u kojoj ih ima više od dvostruko manje. Iako u ovoj studiji nije dobivena značajna razlika u učestalosti perinatalnih fetalnih ugroza, istraživanja na većim populacijama žena upućuju suprotno. Bakhsh i suradnici uočili su veću učestalost oligohidramnija i polihidramnija kod žena s GDM (80) koji je kod MPO trudnoća značajno češći, pa bi se mogla očekivati značajna razlika kada bi se povećao broj pacijenata. Studija provedena na kohorti od 80 žena podvrgnutih ART tehnikama i 160 žena koje su začele spontano u dobi 19 – 25 godina, objavljena u časopisu *BMC Pregnancy and Childbirth*, pokazala je da je kod trudnoća započetih umjetnom oplodnjom značajno niži pH pupkovine pri čemu je svako deseto dijete imalo $\text{pH} < 7,1$ nasuprot kontrolnoj skupini gdje je postotak 0,0 %, što je jasan pokazatelj fetalne asfiksije uslijed češćih komplikacija poroda i operativnih poroda, višestrukih trudnoća i placentalne insuficijencije uslijed poremećene placentacije (81). Nasuprot tomu, Magušić, s Medicinskog fakulteta u Osijeku, na većem uzorku od ovog i različitom po rasponu godina, dokazala je da nije bilo značajne razlike u pH vrijednosti među skupinama (82). Manjak statistički značajne razlike među skupinama u broju čvorova i omotaja pupkovine podudara se i s objavljenom literaturom, dok je incidencija distocije ramena nešto veća u MPO skupini zbog češće indukcije poroda i operativnih poroda, iako precizne stope variraju (83). Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima AS ljestvice u prvoj i petoj minuti. Međutim, kineska studija provedena na 3836 novorođenčadi pokazala je da razlika postoji, pri čemu je manja u petoj minuti, budući da se većina djece stabilizira do drugog vremena mjerenja. Ponovno se razlog može naći u prijevremenim porodima, višestrukim trudnoćama i komplikacijama tijekom poroda koji su povezani s lošijim AS rezultatima (84). Intrakranijalno krvarenje značajno su češće imala djeca iz MPO skupine pri čemu je značajna razlika među skupinama u broju djece s 1. – 2. stupnjem krvarenja koje ima gotovo svako treće dijete u ovoj skupini za razliku od svakog petnaestog u kontrolnoj. Značajna razlika u broju djece s teškim krvarenjem (3. – 4. stupnja) nije dobivena. Turska studija na 940 novorođenčadi potvrđuje ovaj podatak i regresijskim analizama izvodi kao rizični faktor nižu gestacijsku dob, dok je *P* vrijednost vezana uz IVF kao faktor rizika jednaka 0,054 (85). U ovoj studiji svako treće dijete iz MPO skupine liječeno je na JIL-u, što čini statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu skupinu u kojoj je riječ o svakom petom. Nadalje, djeca iz MPO skupine značajno su dulje boravila u jedinici intenzivnog liječenja. Kanadska je studija na oko 16,5 tisuća novorođenčadi potvrdila ovaj podatak (86), dok je belgijska razvrstala novorođenčad s obzirom na broj plodova i u jednoplodnim trudnoćama dobila podatak o 18,3 % nasuprot 12,8 % djece u kontrolnoj skupini. U skupini blizanaca taj je postotak bio 67,7 % i 67 % (87). Značajno je bila veća incidencija RDS-a kod

novorođenčadi iz proučavane MPO skupine u kojoj ga ima gotovo svako osmo dijete, dok je svako sedmo zahtijevalo mehanički potpomognutu ventilaciju. Omelet sa suradnicima potvrdio je značajnost, ali zbog višestruko veće kohorte rezultati su nešto različiti. U njihovoj studiji novorođenčad iz jednoplodnih trudnoća započelih MPO u 1,5 % slučajeva treba mehaničku ventilaciju (nasuprot 0,7 %), dok je incidencija RDS-a 0,8 % (nasuprot 0,3 %), odnosno u dvoplodnim trudnoćama 7,9 % (nasuprot 6,5 %) i 6,1 % nasuprot 5,0 % (87), što pokazuje da višepodne trudnoće u ovom slučaju nisu uzrok lošijih ishoda.

Govorni razvoj u ovoj studiji značajno je češće bio usporen u MPO skupini u odnosu na kontrolnu pri čemu ga je imalo svako deseto dijete u navedenoj skupini, dok statistički značajna razlika nije nađena među skupinama s obzirom na motorni i kognitivni razvoj. Meta-analiza Djuwantona i suradnika pokazala je da nema značajne razlike u intelektualnom razvoju između ovih skupina, budući da je rizik za iste sličan u obje skupine i iznosi 1,01, odnosno incidencija je 3 na 1000 poroda, kao i u kontrolnoj skupini. Rizik od cerebralne paralize, međutim, bio je viši u MPO skupini s relativnim rizikom od 1,82. Što se tiče razlike u broju djece s autizmom, koja u ovoj studiji nije bila značajna, ni u navedenoj studiji nije nađena značajna razlika, te je relativni rizik iznosio 0,98 (88). Zhu i suradnici pokazali su da su nešto češća blaga kašnjenja u razvojnim stadijima i nespretnost među djecom začetom umjetnom oplodnjom (oko 5 % djece), ali nisu našli povezanost sa samim postupkom, već s produljenim vremenom do zečeća i samom neplodnosti roditelja (89). Što se tiče govornog razvoja, podaci su slični u svjetskoj literaturi (90). Međutim, rezultat je razlike u govornom razvoju u ovoj studiji drukčiji i nije zanemariv, pri čemu je rezultat i za kognitivni i motorni razvoj blizu značajnom. Međutim, i dalje relativno malen uzorak i zbunjujući faktori koji su prethodno navedeni kao što je IUGR, višepodne trudnoće i niska gestacijska dob, koji su mogući uzroci ovih rezultata, ograničavaju interpretaciju podataka te ih je potrebno isključiti u budućim istraživanjima.

Zbog veće incidencije intraventrikularnog krvarenja nedonoščadi, što kao posljedicu može imati umjereno teške do teške neurorazvojne posljedice (cerebralnu paralizu, oštećenje vida i sluha, kognitivna oštećenja) (88), ova djeca češće pohađaju tretmane neurorazvojne rehabilitacije kao što su Bobath, Vojta i neurorazvojna gimnastika, kako bi prevenirali razvoj komplikacija. To potvrđuju i rezultati ovog istraživanja, stoga je četvero od desetero djece pohađalo neki oblik neurorazvojne rehabilitacije, što je značajno češće od kontrolne skupine u kojoj je u pitanju svako deseto dijete. Nije nađena značajna razlika u broju djece kojima je indicirana edukacijska rehabilitacija, što je u skladu s već navedenim podatkom da nije

primijećena razlika u incidenciji poremećaja iz spektra autizma među ovim dvjema skupinama. Također, nije dokazana ni značajna razlika u broju djece koja pohađaju logopedsku terapiju, što je kontradiktorno već zbog navedenog podatka o kašnjenju u razvoju govora. Međutim, u logopedsku terapiju bila su uključena i djeca koja su imala samo poremećaje izgovora glasova, što se ne može okarakterizirati kao kašnjenje u govornom razvoju, a čime se može objasniti ovako velik broj djece u kontrolnoj skupini koja su odlazila na ovu vrstu terapije.

Statistički značajna razlika u ovoj studiji nije nađena među promatranim skupinama s obzirom na broj oboljelih od kroničnih bolesti među kojima su u obje skupine bile najčešće atopijske bolesti kao što su atopijski dermatitis, astma, bronhitis i alergijski rinitis. U skupinu ostalih bolesti svrstane su epilepsija, hematološki poremećaj, enureza, ulcerozni kolitis, blok grane, gastroezofagealna refluksna bolest, hipotireoza, skolioza i druge, gdje je najčešće riječ o povremenim slučajevima. Xu i suradnici pokazali su da umjetna oplodnja može utjecati na imunološki sustav utoliko što su blago povišene vrijednosti upalnih citokina kao što su interferon gama i interleukin 4, ali ova povišenja nisu statistički značajna. Također, ova djeca nemaju viši rizik od nastanka poremećaja imunološkog sustava ili kroničnih bolesti vezanih uz imunološki sustav (91). Hart i Norman pokazali su da je u kasnim ishodima do 12. godine života veća incidencija hipertenzije i intolerancije na glukozu, veća količina tjelesne masti, viša koštana dob i veća incidencija supkliničkih poremećaja funkcije štitnjače u potomaka iz trudnoća započetih umjetnom oplodnjom. Međutim, nisu dokazali je li uzrok sam IVF, lošiji ishodi samih trudnoća ili genetska predispozicija ove djece (92).

U ovoj studiji nije bilo statistički značajne razlike među promatranim skupinama u broju djece koja su imala malformacije, konkretno hernije, srčane defekte, testikularne anomalije i ostale anomalije koje nisu nigdje svrstane. Nasuprot tomu, Chen i Heilbronn u meta-analizi zaključili su da plodovi iz jednoplodnih trudnoća iz MPO postupaka imaju veći rizik od urođenih mana, što se može pripisati lošijim ishodima trudnoća, ali djelomično i indukciji ovulacije i samim MPO postupcima. Također, primijećeno je da se prevalencija malformacija povećala s produljenjem vremena do spontanog začeća, što implicira da je neplodnost sama rizični faktor. Međutim, među plodovima neplodnih parova dobivenih iz jednoplodnih trudnoća veći je broj djece s malformacijama genitalnih organa u usporedbi s djecom plodnih parova (90) pa se ne može isključiti ni sami postupak kao uzrok.

Primarna sterilnost bila je prisutna kod 102, sekundarna kod 32 majke, a nije nađen podatak u 74 slučaja. Nije se bilježilo radi li se o ženskoj ili muškoj neplodnosti zbog manjka podataka. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, primarna neplodnost pogađa 1,9 % žena koje pokušavaju zanijeti u razdoblju između 20 i 44 godine života, dok sekundarna neplodnost pogađa 10,5 % žena u istoj dobnoj skupini. Među neplodnim parovima primarnu neplodnost ima 7,34 %, a sekundarnu 10,5 % parova, što obuhvaća i muške i ženske uzroke neplodnosti (93). Uzroci neplodnosti razvrstani su na sindrom policističnih jajnika koji je imalo 6 trudnica, 31 podvrgnuta je operacijama salpingektomije i/ili overiektomije, bolesti maternice u vidu polipa i anomalija imalo je 27 trudnica, endometrioza je imala svaka deseta majka, kombinaciju navedenog 17, a ostale uzroke 8 majki. Nažalost, u većini slučajeva nije nađen podatak o razlogu neplodnosti. Svjetska zdravstvena organizacija navodi ovulacijske poremećaje u koje najprije pripada sindrom policističnih jajnika na prvom mjestu na popisu uzroka koji čini četvrtinu svih uzroka. Slijede tubarni poremećaji u vidu opstrukcija uslijed infekcija te komplikacija nakon operacija. Treći su po redu uterini poremećaji kao što su endometrioza, kongenitalne malformacije maternice i benigne tvorbe, dok su na posljednjem mjestu po učestalosti endokrinološki poremećaji osi hipotalamus-hipofiza (93).

Spontana trudnoća nakon postupka MPO nije rijetkost i najčešće se događa nekoliko godina nakon uspješnog MPO postupka, a postotak takvih parova kreće se oko 18 % – 24 % (56). U ovoj je studiji nakon postupka MPO spontano začela svaka šesta trudnica. Broj je trudnica koje su razvile OHSS nakon postupka 3,8 %, što je u skladu s podacima iz literature koja navodi da se ova komplikacija razvije u 20 % – 33 % ciklusa u blažem i 0,2 % – 8 % ciklusa u teškom obliku. Povećan rizik od razvoja ove komplikacije imaju žene sa sindromom policističnih jajnika (94).

Na kraju je potrebno istaknuti i ograničenja studije. Najprije su to zbunjujući faktori kao što su višeploidne trudnoće, niža gestacijska dob plodova i komplikacije koje idu uz navedeno i koje znatno mijenjaju statistiku mnogih parametara. Također, nije bilo selekcije trudnica s obzirom na dob koja je znatno viša u MPO skupini, a uz koju se vežu sve navedene komplikacije. Nadalje, kvalitetniji podaci bili bi dobiveni ako su majke iz obje skupine prvorođke, budući da je češće riječ o prvorođkama u MPO skupini. Također je potrebno uzeti veći broj ispitanika u budućim istraživanjima i provesti regresijske analize kako bi se utvrdila povezanost samog postupka s ishodima trudnoća. Konačno, bitno je i praćenje djece do polaska u prvi razred osnovne škole, kada se može očekivati da klinički znakovi blažih

kognitivnih odstupanja budu jasnije vidljivi i kada djeca prolaze nove sistematske preglede kroz koje se može opaziti potencijalno odstupanje i pratiti eventualna pojava komorbiditeta.

7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. žene koje su radi ostvarivanja trudnoće bile podvrgnute MPO bile su starije i obrazovanije, češće udane i imale su značajno više komorbiditeta, posebno iz skupine endokrinoloških i kardiovaskularnih bolesti s kojima su ulazile u trudnoću od kontrolne skupine
2. ispitanice u MPO skupini imale su značajno češće komplikacije u trudnoći, posebno GDM, hipertenziju, hipotireozu i anemiju, radi čega su češće koristile lijekove u trudnoći pri čemu je svaka treća ispitanica uzimala tri i više lijekova
3. u MPO skupini bilo je značajno više višeplođnih trudnoća, potrebe za farmakološkim održavanjem trudnoće i češće su se trudnoće dovršavale hitnim carskim rezom, dok su se u kontrolnoj skupini trudnoće češće dovršavale vaginalnim porodom
4. majke u MPO skupini imale su značajno češće prijevremeni porod i češće su rađale djecu koja su imala IUGR u odnosu na ispitanice iz kontrolne skupine
5. djeca iz MPO skupine imala su značajno češće intrakranijska krvarenja, češće i dulje boravila su u JIL-u i češće su razvijali respiratorni distress sindrom (RDS) uz potrebu za mehaničkom ventilacijom
6. zaostajanje u govornom razvoju uz potrebu neurorazvojne rehabilitacije češće je bilo prisutno u skupini djece začete MPO, a nije primijećena statistički značajna razlika među skupinama djece s tri godine starosti u pojavnosti kroničnih bolesti, autizma, motoričkih deficita ili razvojnih malformacija.

8. SAŽETAK

Cilj: Utvrditi pojavnost neurorazvojnih odstupanja i kroničnih bolesti djece rođene nakon trudnoće koja je započela tehnikom potpomognute oplodnje.

Nacrt studije: Retrospektivna sudija slučajeva i kontrola.

Ispitanici i metode: U istraživanje su uključena sva djeca rođena u Kliničkom bolničkom centru Osijek od 1. 1. 2018. godine do 31. 12. 2020. godine iz trudnoća nakon MPO te svako prvo iduće rođeno novorođenče s popisa u medicinskoj dokumentaciji koje je začeto spontano.

Rezultati: Trudnice u MPO skupini bile su značajno starije, obrazovanije i češće u bračnoj vezi, imale su značajno više komorbiditeta i to endokrinoloških i kardiovaskularnih, češće komplikacije u trudnoći kao što su gestacijski dijabetes, hipertenzija u trudnoći, hipotireoza i anemija u trudnoći. Imale su značajno veći broj višeplođnih trudnoća, češće su trudnoće bile dovršene hitnim carskim rezom, a u kontrolnoj skupini vaginalnim porodom. Majke u MPO skupini češće su farmakološki održavale trudnoću i češće su koristile lijekove u trudnoći. Također, majke u ovoj skupini češće su rađale nedonošad i djecu s IUGR-om. Djeca iz MPO skupine imala su značajno češće intrakranijalna krvarenja, češće i dulje boravila su u JIL-u, češće su imala RDS i potrebu za mehaničkom ventilacijom. Govorni je razvoj djece u MPO skupini bio značajno usporeniji i ova su djeca češće pohađala neurorazvojnu rehabilitaciju.

Zaključak: Trudnice koje su podvrgnute MPO imale su češće druge komorbiditete, češće su bile na politerapiji, trudnoće su bile kompliciranije s lošijim ishodom i kraćom gestacijom. Djeca začeta MPO imala su lošije perinatalne ishode i češće su zaostajala u govornom razvoju.

Ključne riječi: gestacijski dijabetes; *In vitro* oplodnja; intrauterino zaostajanje u rastu; metode potpomognute oplodnje

9. SUMMARY

Objective: To determine the incidence of neurodevelopmental deviations and chronic diseases in children born after pregnancies initiated by ART.

Study Design: Retrospective case-control study.

Participants and Methods: The study included all children born at the Clinical Hospital Center Osijek from January 1, 2018, to December 31, 2020, from pregnancies following medically assisted reproduction, and each subsequent newborn conceived spontaneously listed in the medical documentation.

Results: Pregnant women in the ART group were significantly older, more educated, more often in marital relationships, had significantly more comorbidities, and more frequently suffered from endocrinological and cardiovascular diseases. They had more complications during pregnancy, such as gestational diabetes, pregnancy hypertension, hypothyroidism, and anemia in pregnancy. There was a significantly higher number of multiple pregnancies, and pregnancies in the ART group were more often completed by emergency cesarean section, while vaginal delivery was more common in the control group. Mothers in the ART group more frequently maintained their pregnancies pharmacologically and used medication more often during pregnancy. Additionally, mothers in this group more often gave birth to preterm infants and infants with IUGR. Children in the ART group had significantly more frequent intracranial hemorrhages, longer stays in the intensive care unit, and more often had respiratory distress syndrome and needed mechanical ventilation. Speech development in children from the ART group was significantly slower, and these children more frequently attended neurodevelopmental rehabilitation.

Conclusion: Pregnant women undergoing ART had more frequent comorbidities, were on polytherapy more often, and their pregnancies were more complicated with poorer outcomes and shorter gestation. Children conceived by ART had poorer perinatal outcomes and more frequently lagged in speech development.

Keywords: Diabetes, Gestational; Fetal Growth Retardation; *In vitro* Fertilization; Reproductive Techniques, Assisted

10. LITERATURA

1. How common is infertility? | NICHD - Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development [Internet]. 2018 [citirano 13. siječanj 2024.] . Dostupno na: <https://www.nichd.nih.gov/health/topics/infertility/conditioninfo/common>
2. ICMART [Internet]. [citirano 13. siječanj 2024.] International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART). Dostupno na: <https://www.icmartivf.org>}}
3. National Summary Report [Internet]. [citirano 17. travanj 2024.] . Dostupno na: https://www.sartcorsonline.com/rptCSR_PublicMultYear.aspx?reportingYear=2021
4. Jain M, Singh M. Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques. U: StatPearls [Internet] [Internet]. StatPearls Publishing; 2023 [citirano 13. siječanj 2024.] . Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576409/>
5. Palermo GD, O'Neill CL, Chow S, Cheung S, Parrella A, Pereira N, i ostali. Intracytoplasmic sperm injection: state of the art in humans. *Reprod Camb Engl*. 2017;154(6):F93–110.
6. Roque M, Valle M, Sampaio M, Geber S. Obstetric outcomes after fresh versus frozen-thawed embryo transfers: A systematic review and meta-analysis. *JBRA Assist Reprod*. 2018;22(3):253–60.
7. Mani S, Ghosh J, Coutifaris C, Sapienza C, Mainigi M. Epigenetic changes and assisted reproductive technologies. *Epigenetics*. 2019;15(1–2):12–25.
8. Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, Folger SG, Jamieson DJ, Warner L, i ostali. Assisted Reproductive Technology Surveillance - ^{[[1]]}_{SEP}United States, 2013. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ Wash DC 2002*. 2015;64(11):1–25.
9. Sunderam S, Kissin DM, Zhang Y, Jewett A, Boulet SL, Warner L, i ostali. Assisted Reproductive Technology Surveillance — United States, 2017. *MMWR Surveill Summ*. 2020;69(9):1–20.

10. Day MC, Barton JR, O'Brien JM, Istwan NB, Sibai BM. The effect of fetal number on the development of hypertensive conditions of pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2005;106(5 Pt 1):927–31.
11. Scher AI, Petterson B, Blair E, Ellenberg JH, Grether JK, Haan E, i ostali. The risk of mortality or cerebral palsy in twins: a collaborative population-based study. *Pediatr Res.* 2002;52(5):671–81.
12. Ashrafi M, Bahmanabadi A, Akhond MR, Arabipoor A. Predictive factors of early moderate/severe ovarian hyperstimulation syndrome in non-polycystic ovarian syndrome patients: a statistical model. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;292(5):1145–52.
13. Steward RG, Lan L, Shah AA, Yeh JS, Price TM, Goldfarb JM, i ostali. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril.* 2014;101(4):967–73.
14. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2004;103(3):551–63.
15. Muñoz E, Taboas E, Portela S, Aguilar J, Fernandez I, Muñoz L, i ostali. Treatment of luteal phase defects in assisted reproduction. *Curr Drug Targets.* 2013;14(8):832–42.
16. Evans MB, Healy MW, DeCherney AH, Hill MJ. Adverse effect of prematurely elevated progesterone in in vitro fertilization cycles: a literature review. *Biol Reprod.* 2018;99(1):45–51.
17. Healy MW, Patounakis G, Connell MT, Devine K, DeCherney AH, Levy MJ, i ostali. Does a frozen embryo transfer ameliorate the effect of elevated progesterone seen in fresh transfer cycles? *Fertil Steril.* 2016;105(1):93-99.e1.
18. Kopca T, Tulay P. Association of Assisted Reproductive Technology Treatments with Imprinting Disorders. *Glob Med Genet.* 2021;8(1):1–6.
19. Eggermann T, Perez de Nanclares G, Maher ER, Temple IK, Tümer Z, Monk D, i ostali. Imprinting disorders: a group of congenital disorders with overlapping patterns of molecular changes affecting imprinted loci. *Clin Epigenetics.* 2015;7:123.

20. Chen Z, Hagen DE, Elsik CG, Ji T, Morris CJ, Moon LE, i ostali. Characterization of global loss of imprinting in fetal overgrowth syndrome induced by assisted reproduction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(15):4618–23.
21. Fleming TP, Watkins AJ, Velazquez MA, Mathers JC, Prentice AM, Stephenson J, i ostali. Origins of lifetime health around the time of conception: causes and consequences. *Lancet Lond Engl*. 2018;391(10132):1842–52.
22. Yu B, Dong X, Gravina S, Kartal Ö, Schimmel T, Cohen J, i ostali. Genome-wide, Single-Cell DNA Methylomics Reveals Increased Non-CpG Methylation during Human Oocyte Maturation. *Stem Cell Rep*. 2017;9(1):397–407.
23. Smith ZD, Meissner A. DNA methylation: roles in mammalian development. *Nat Rev Genet*. 2013;14(3):204–20.
24. Hu S, Wan J, Su Y, Song Q, Zeng Y, Nguyen HN, i ostali. DNA methylation presents distinct binding sites for human transcription factors. *eLife*. 2013;2:e00726.
25. Chen C, Gao Y, Liu W, Gao S. Epigenetic regulation of cell fate transition: learning from early embryo development and somatic cell reprogramming†. *Biol Reprod*. 2022;107(1):183–95.
26. Song S, Ghosh J, Mainigi M, Turan N, Weinerman R, Truongcao M, i ostali. DNA methylation differences between in vitro- and in vivo-conceived children are associated with ART procedures rather than infertility. *Clin Epigenetics*. 2015;7(1):41.
27. Tang WWC, Dietmann S, Irie N, Leitch HG, Floros VI, Bradshaw CR, i ostali. A Unique Gene Regulatory Network Resets the Human Germline Epigenome for Development. *Cell*. 2015;161(6):1453–67.
28. Gkoutela S, Zhang KX, Shafiq TA, Liao WW, Hargan-Calvopiña J, Chen PY, i ostali. DNA Demethylation Dynamics in the Human Prenatal Germline. *Cell*. 2015;161(6):1425–36.
29. Barberet J, Barry F, Choux C, Guilleman M, Karoui S, Simonot R, i ostali. What impact does oocyte vitrification have on epigenetics and gene expression? *Clin Epigenetics*. 2020;12(1):121.

30. Takahashi N, Coluccio A, Thorball CW, Planet E, Shi H, Offner S, i ostali. ZNF445 is a primary regulator of genomic imprinting. *Genes Dev.* 2019;33(1–2):49–54.
31. Fauque P, De Mouzon J, Devaux A, Epelboin S, Gervoise-Boyer MJ, Levy R, i ostali. Reproductive technologies, female infertility, and the risk of imprinting-related disorders. *Clin Epigenetics.* 2020;12(1):191.
32. Zhu P, Guo H, Ren Y, Hou Y, Dong J, Li R, i ostali. Single-cell DNA methylome sequencing of human preimplantation embryos. *Nat Genet.* 2018;50(1):12–9.
33. Zhou F, Wang R, Yuan P, Ren Y, Mao Y, Li R, i ostali. Reconstituting the transcriptome and DNA methylome landscapes of human implantation. *Nature.* 2019;572(7771):660–4.
34. Anvar Z, Chakchouk I, Demond H, Sharif M, Kelsey G, Van den Veyver IB. DNA Methylation Dynamics in the Female Germline and Maternal-Effect Mutations That Disrupt Genomic Imprinting. *Genes.* 2021;12(8):1214.
35. Pelikh A, Smith KR, Myrskylä M, Goisis A. Medically Assisted Reproduction Treatment Types and Birth Outcomes. *Obstet Gynecol.* 2022;139(2):211–22.
36. Moutquin JM. Classification and heterogeneity of preterm birth. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2003;110 Suppl 20:30–3.
37. Crump C, Winkleby MA, Sundquist J, Sundquist K. Prevalence of Survival Without Major Comorbidities Among Adults Born Prematurely. *JAMA.* 2019;322(16):1580–8.
38. Härtel C, Paul P, Hanke K, Humberg A, Kribs A, Mehler K, i ostali. Less invasive surfactant administration and complications of preterm birth. *Sci Rep.* 2018;8(1):8333.
39. Humberg A, Fortmann I, Siller B, Kopp MV, Herting E, Göpel W, i ostali. Preterm birth and sustained inflammation: consequences for the neonate. *Semin Immunopathol.* 2020;42(4):451–68.
40. Crump C. Preterm birth and mortality in adulthood: a systematic review. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2020;40(6):833–43.

41. Parkinson JRC, Hyde MJ, Gale C, Santhakumaran S, Modi N. Preterm birth and the metabolic syndrome in adult life: a systematic review and meta-analysis. *Pediatrics*. 2013;131(4):e1240-1263.
42. Crump C, Winkleby MA, Sundquist K, Sundquist J. Risk of Hypertension Among Young Adults Who Were Born Preterm: A Swedish National Study of 636,000 Births. *Am J Epidemiol*. 2011;173(7):797–803.
43. Crump C, Sundquist J, Sundquist K. Preterm birth and risk of type 1 and type 2 diabetes: a national cohort study. *Diabetologia*. 2020;63(3):508–18.
44. Crump C, Sundquist J, Sundquist K. Association of preterm birth with lipid disorders in early adulthood: A Swedish cohort study. *PLoS Med*. 2019;16(10):e1002947.
45. Kotecha SJ, Edwards MO, Watkins WJ, Henderson AJ, Paranjothy S, Dunstan FD, et al. Effect of preterm birth on later FEV1: a systematic review and meta-analysis. *Thorax*. 2013;68(8):760–6.
46. Gough A, Spence D, Linden M, Halliday HL, McGarvey LPA. General and respiratory health outcomes in adult survivors of bronchopulmonary dysplasia: a systematic review. *Chest*. 2012;141(6):1554–67.
47. Crump C, Winkleby MA, Sundquist J, Sundquist K. Risk of asthma in young adults who were born preterm: a Swedish national cohort study. *Pediatrics*. 2011;127(4):e913-920.
48. Strunk T, Simmer K, Burgner D. Prematurity and mortality in childhood and early adulthood. *JAMA*. 2012;307(1):32; author reply 32-33.
49. Crump C, Friberg D, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Preterm birth and risk of sleep-disordered breathing from childhood into mid-adulthood. *Int J Epidemiol*. 2019;48(6):2039–49.
50. Crump C, Sundquist J, Winkleby MA, Sundquist K. Preterm birth and risk of chronic kidney disease from childhood into mid-adulthood: national cohort study. *BMJ*. 2019;365:l1346.

51. Jaekel J, Sorg C, Baeuml J, Bartmann P, Wolke D. Head Growth and Intelligence from Birth to Adulthood in Very Preterm and Term Born Individuals. *J Int Neuropsychol Soc JINS*. 2019;25(1):48–56.
52. Crump C, Sundquist K, Winkleby MA, Sundquist J. Preterm birth and risk of epilepsy in Swedish adults. *Neurology*. 2011;77(14):1376–82.
53. Agrawal S, Rao SC, Bulsara MK, Patole SK. Prevalence of Autism Spectrum Disorder in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2018;142(3):e20180134.
54. Nosarti C, Reichenberg A, Murray RM, Cnattingius S, Lambe MP, Yin L, i ostali. Preterm birth and psychiatric disorders in young adult life. *Arch Gen Psychiatry*. 2012;69(6):E1-8.
55. Engeland A, Bjørge T, Klungsøyr K, Skurtveit S, Furu K. Preterm births and use of medication in early adulthood: a population-based registry study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2017;26(7):742–51.
56. da Silva SG, da Silveira MF, Bertoldi AD, Domingues MR, dos Santos I da S. Maternal and child-health outcomes in pregnancies following Assisted Reproductive Technology (ART): a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020;20(1):106.
57. Priante E, Verlato G, Giordano G, Stocchero M, Visentin S, Mardegan V, i ostali. Intrauterine Growth Restriction: New Insight from the Metabolomic Approach. *Metabolites*. 2019;9(11):267.
58. Barker DJP. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med*. 2007;261(5):412–7.
59. Manapurath R, Gadapani B, Pereira-da-Silva L. Body Composition of Infants Born with Intrauterine Growth Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2022;14(5):1085.
60. Okada T, Takahashi S, Nagano N, Yoshikawa K, Usukura Y, Hosono S. Early postnatal alteration of body composition in preterm and small-for-gestational-age infants: implications of catch-up fat. *Pediatr Res*. 2015;77(1):136–42.

61. Hann M, Roberts SA, D'Souza SW, Clayton P, Macklon N, Brison DR. The growth of assisted reproductive treatment-conceived children from birth to 5 years: a national cohort study. *BMC Med.* 2018;16(1):224.
62. Monden C, Pison G, Smits J. Twin Peaks: more twinning in humans than ever before. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2021;36(6):1666–73.
63. Hattori H, Kitamura A, Takahashi F, Kobayashi N, Sato A, Miyauchi N, i ostali. The risk of secondary sex ratio imbalance and increased monozygotic twinning after blastocyst transfer: data from the Japan Environment and Children's Study. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 2019;17(1):27.
64. Henderson JT, Whitlock EP, O'Connor E, Senger CA, Thompson JH, Rowland MG. Low-Dose Aspirin for Prevention of Morbidity and Mortality From Preeclampsia: A Systematic Evidence Review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2014;160(10):695–703.
65. van Dongen J, Gordon SD, Odintsova VV, McRae AF, Robinson WP, Hall JG, i ostali. Examining the Vanishing Twin Hypothesis of Neural Tube Defects: Application of an Epigenetic Predictor for Monozygotic Twinning. *Twin Res Hum Genet Off J Int Soc Twin Stud.* 2021;24(3):155–9.
66. Lyle SM, Ahmed S, Elliott JE, Stener-Victorin E, Nachtigal MW, Drögemöller BI. Transcriptome-wide association analyses identify an association between ARL14EP and polycystic ovary syndrome. *J Hum Genet.* 2023;68(5):347–53.
67. Mbarek H, Gordon SD, Duffy DL, Hubers N, Mortlock S, Beck JJ, i ostali. Genome-wide association study meta-analysis of dizygotic twinning illuminates genetic regulation of female fecundity. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2024;39(1):240–57.
68. van Dongen J, Hubers N, Boomsma DI. New insights into the (epi)genetics of twinning. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2023;39(1):35–42.
69. Derakhshan M, Kessler NJ, Ishida M, Demetriou C, Brucato N, Moore GE, i ostali. Tissue- and ethnicity-independent hypervariable DNA methylation states show evidence of establishment in the early human embryo. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(12):6735–52.

70. Fall CHD. Evidence for the intra-uterine programming of adiposity in later life. *Ann Hum Biol.* 2011;38(4):410–28.
71. Buchanan TA, Xiang AH, Page KA. Gestational diabetes mellitus: risks and management during and after pregnancy. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(11):639–49.
72. Nahum Sacks K, Friger M, Shoham-Vardi I, Abokaf H, Spiegel E, Sergienko R, i ostali. Prenatal exposure to gestational diabetes mellitus as an independent risk factor for long-term neuropsychiatric morbidity of the offspring. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(3):380.e1-7.
73. Thwaites A, Hall J, Barrett G, Stephenson J. How common is natural conception in women who have had a livebirth via assisted reproductive technology? Systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2023;38(8):1590–600.
74. Singh M, Wambua S, Lee SI, Okoth K, Wang Z, Fayaz FFA, i ostali. Autoimmune diseases and adverse pregnancy outcomes: an umbrella review. *BMC Med.* 2024;22(1):94.
75. Koukopoulos AE, De Chiara L, Oresti M, Kotzalidis GD, Viola A, Di Giammarco M, i ostali. Perinatal Mood and Anxiety Disorders in Women Undergoing Medically Assisted Reproduction. *Psychiatry Int.* 2020;1(2):98–114.
76. Pan H, Zhang X, Rao J, Lin B, He JY, Wang X, i ostali. Comparison of general maternal and neonatal conditions and clinical outcomes between embryo transfer and natural conception. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020;20(1):422.
77. Thomson G, Feeley C, Moran VH, Downe S, Oladapo OT. Women’s experiences of pharmacological and non-pharmacological pain relief methods for labour and childbirth: a qualitative systematic review. *Reprod Health.* 2019;16(1):71.
78. Pisa FE, Casetta A, Clagnan E, Michelesio E, Vecchi Brumatti L, Barbone F. Medication use during pregnancy, gestational age and date of delivery: agreement between maternal self-reports and health database information in a cohort. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015;15(1):310.

79. Pelikh A, Smith KR, Myrskylä M, Goisis A. Medically Assisted Reproduction Treatment Types and Birth Outcomes. *Obstet Gynecol.* 2022;139(2):211–22.
80. Bakhsh H, Alenizy H, Alenazi S, Alnasser S, Alanazi N, Alsowinea M, i ostali. Amniotic fluid disorders and the effects on prenatal outcome: a retrospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):75.
81. Karavani G, Chill HH, Dick A, Bergman M, Imbar T, Grisaru-Granovsky S, i ostali. Obstetric outcomes of young women following in-vitro fertilization: a case–control study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022;22(1):164.
82. Magušić L. Opstetrički i perinatalni ishodi u trudnoća začetih metodama potpomognute oplodnje [Internet] [info:eu-repo/semantics/masterThesis]. Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Faculty of Medicine; 2018 [citirano 05. lipanj 2024.] . Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:254710>
83. Nouri K, Ott J, Stoegbauer L, Pietrowski D, Frantal S, Walch K. Obstetric and perinatal outcomes in IVF versus ICSI-conceived pregnancies at a tertiary care center - a pilot study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11(1):84.
84. Wang J, Liu Q, Deng B, Chen F, Liu X, Cheng J. Pregnancy outcomes of Chinese women undergoing IVF with embryonic cryopreservation as compared to natural conception. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):39.
85. Turker G, Doger E, Arısoy AE, Günlemez A, Gökalp AS. The effect of IVF pregnancies on mortality and morbidity in tertiary unit. *Ital J Pediatr.* 2013;39(1):17.
86. Khudhari A, Mourad A, Phillips S, Alam MZ, Hemmings R, Jamal W. Perinatal outcomes of human singletons conceived naturally versus assisted reproductive technologies: analysis of the effect of stimulated IVF, modified natural IVF, and frozen embryo transfer. *Middle East Fertil Soc J.* 2021;26(1):7.
87. Ombelet W, Martens G, De Sutter P, Gerris J, Bosmans E, Ruyssinck G, i ostali. Perinatal outcome of 12 021 singleton and 3108 twin births after non-IVF-assisted reproduction: a cohort study. *Hum Reprod.* 2006;21(4):1025–32.

88. Djuwantono T, Aviani JK, Permadi W, Achmad TH, Halim D. Risk of neurodevelopmental disorders in children born from different ART treatments: a systematic review and meta-analysis. *J Neurodev Disord*. 2020;12:33.
89. Zhu JL, Obel C, Basso O, Olsen J. Parental infertility and developmental coordination disorder in children. *Hum Reprod*. 2010;25(4):908–13.
90. Chen M, Heilbronn LK. The health outcomes of human offspring conceived by assisted reproductive technologies (ART). *J Dev Orig Health Dis*. 2017;8(4):388–402.
91. Xu X, Wu H, Bian Y, Cui L, Man Y, Wang Z, i ostali. The altered immunological status of children conceived by assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol*. 26. 2021;19(1):171.
92. Hart R, Norman RJ. The longer-term health outcomes for children born as a result of IVF treatment: Part I—General health outcomes. *Hum Reprod Update*. 2013;19(3):232–43.
93. Infertility [Internet]. [citirano 05. lipanj 2024.] . Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
94. Mourad S, Brown J, Farquhar C. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2017(1):CD012103.

11. ŽIVOTOPIS

• OPĆI PODACI

Marko Mešin

Medicinski fakultet Osijek

J. Huttlera 4, 31 000 Osijek

Datum i mjesto rođenja: 8. svibnja 1996.,
Vinkovci

Adresa: Mala Cerna 82, 32272 Cerna

Mobitel: 0998479005

E-mail: mmesin@mefos.hr

• OBRAZOVANJE

2018. – 2024.: Medicinski fakultet Osijek, Sveučilišni integrirani prijediplomski i diplomski studij Medicina, Osijek

2015. – 2018.: Medicinski fakultet Osijek, Sveučilišni prijediplomski studij Medicinsko laboratorijske dijagnostike, Osijek

2011. – 2015.: Prirodoslovno-matematička gimnazija, Gimnazija Županja, Županja

2003. – 2011.: Osnovna škola Matije Antuna Reljkovića, Cerna

• STRUČNE AKTIVNOSTI

- Tečaj trajne izobrazbe liječnika I. kategorije – „Kada i kako učiniti krikotireotomiju“, ANEZIOS

• NAGRADE

- Nagrada za najbolji studentski sažetak (2018.); RECOOP, Bratislava

- Nagrada za prvo mjesto na Natjecanju u kliničkim vještinama (2023., 2024.); CroMSIC

• ČLANSTVA

- Znanstveni odbor; OSCON