# Izraženost posteljičnoga vaskularnoga endotelnoga čimbenika rasta i rani neurološki ishod novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih intrauterinim zastojem rasta

**Grah, Maja**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:330689

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-19**

*Repository / Repozitorij:*

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Maja Grah**

# Izraženost posteljičnoga vaskularnoga endotelnoga čimbenika rasta i rani neurološki ishod novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih intrauterinim zastojem rasta

## DISERTACIJA

**Zagreb, 2021.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Maja Grah**

# Izraženost posteljičnoga vaskularnoga endotelnoga čimbenika rasta i rani neurološki ishod novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih intrauterinim zastojem rasta

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2021.**

Disertacija je izrađena u Klinici za ginekologiju i porodiljstvo KB „Sveti Duh“, u Klinici za ginekologiju i porodništvo i Klinici za pedijatriju KBC „Sestre milosrdnice“ te u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Istraživanje je provedeno u okviru projekata voditeljice prof. dr. sc. Aide Salihagić Kadić:

- Novi algoritam za prevenciju neuroloških odstupanja i oštećenja u djece s intrauterinim zastojem u rastu (projekt Sveučilišta u Zagrebu, potpora 1);
- C/U omjer i motorički parametri u prevenciji perinatalnog oštećenja mozga, 108- 1081870- 1940 (projekt MZOS).

Voditelj rada: prof. dr. sc. Aida Salihagić Kadić

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Aidi Salihagić Kadić koja me uvela u svijet znanosti, probudila istraživački duh i naučila kritički razmišljati.
Veliko hvala suradnicima na istraživanju doc. dr. sc. Mirti Starčević, prof. dr. sc. Milanu Stanojeviću i prof. dr. sc. Katarini Vukojević. Zahvaljujem se doc. dr. sc. Milanu Miloševiću na pomoći pri statističkoj obradbi podataka.
Posebnu zahvalu dugujem svojim roditeljima, svom suprugu i dječici. Hvala im na njihovoj bezuvjetnoj podršci i ljubavi.

# SADRŽAJ


## POPIS KRATICA

## 1 UVOD ..... 1

**1.1 Intrauterini zastoj rasta (IUGR) ..... 1**
1.1.1 Definicija ..... 1
1.1.2 Incidencija ..... 2
1.1.3 Etiologija ..... 3
1.1.4 Klinička slika ..... 4
1.1.4.1 Dva fenotipa IUGR-a ..... 5
1.1.5 Kratkoročne i dugoročne posljedice IUGR-a ..... 6
1.1.5.1 Neurološke posljedice IUGR-a ..... 7
1.1.5.2 Neurološka procjena novorođenčeta ..... 9

**1.2 Razvoj posteljice i posteljične insuficijencije ..... 12**
1.2.1 Uredan razvoj posteljice ..... 12
1.2.2 Nastanak posteljične insuficijencije ..... 14

**1.3 Vaskularni endotelni čimbenik rasta ..... 14**
1.3.1 VEGF receptori ..... 15
1.3.2 Utjecaj VEGF-a na razvoj posteljičnog krvožilja ..... 16
1.3.3 Povezanost VEGF-a i posteljične insuficijencije ..... 17

## 2 HIPOTEZA ..... 19

## 3 ISPITANICI I POSTUPCI ..... 20

**3.1 Ispitanici ..... 20**

**3.2 Postupci ..... 21**
3.2.1 Ultrazvučni pregled trudnice ..... 21
3.2.2 Acidobazni status krvi pupkovine ..... 22
3.2.3 Neurološka procjena novorođenčeta ..... 22
3.2.3.1 UZV pregled mozga novorođenčeta ..... 22
3.2.3.2 ATNAT test ..... 22
3.2.4 Patohistološka analiza posteljice ..... 23
3.2.5 Imunofluorescentna analiza posteljice ..... 23
3.2.6 Perinatalni ishod ..... 24

**3.3 Statistička obrada podataka ..... 24**

## 4 REZULTATI ..... 26

**4.1 Usporedba IUGR i kontrolne skupine ..... 26**

**4.2 Analiza izraženosti posteljičnog VEGF-a ..... 31**
4.2.1 Usporedba izraženosti VEGF-a u urednim i insuficijentnim posteljicama ..... 31

**4.3 Povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda IUGR novorođenčadi ..... 34**

**4.4 Analiza praćenih parametara IUGR skupine prema spolu ..... 36**

**4.5 Analiza acidobaznog statusa krvi pupkovine IUGR novorođenčadi ..... 37**

**4.6 Analiza doplerskih parametara IUGR skupine ..... 39**

**4.7 Neurološki ishod IUGR novorođenčadi ..... 41**

**4.8 ROC analiza ..... 42**

**5 RASPRAVA ..... 47**

**5.1 Usporedba IUGR i kontrolne skupine ..... 47**
5.1.1 Patohistološka analiza posteljica ..... 49
5.1.2 Imunofluorescentna analiza posteljica ..... 51

**5.2 Analiza acidobaznog statusa krvi pupkovine IUGR novorođenčadi ..... 53**

**5.3 Analiza doplerskih parametara IUGR skupine ..... 55**
5.3.1 Pupčana arterija ..... 56
5.3.2 Srednja moždana arterija ..... 58
5.3.3 Cerebroumbilikalni omjer ..... 60

**5.4 Neurološki ishod IUGR skupine ..... 64**
5.4.1 UZV pregled mozga ..... 64
5.4.2 ATNAT ..... 67

**6 ZAKLJUČCI ..... 70**

**7 SAŽETAK ..... 71**

**8 SUMMARY ..... 73**

**9 POPIS TABLICA I SLIKA ..... 74**

**9.1 Popis tablica ..... 74**

**9.2 Popis slika ..... 76**

**10 LITERATURA ..... 78**

**11 ŽIVOTOPIS ..... 112**

# POPIS KRATICA

AC .....opseg abdomena

ATNAT .....neurološki pregled novorođenčeta u terminu po Amiel-Tison

AUC .....površina ispod ROC krivulje

C/U omjer .....cerebroumbilikalni omjer

CTG .....kardiotokografija

IUGR .....intrauterini zastoj rasta ploda

IVH .....intraventrikularno krvarenje

MCA .....srednja moždana arterija

PBS .....fosfatni pufer

pc .....percentila

pCO2 .....parcijalni tlak ugljikovog dioksida

PIVH .....periventrikularno/intraventrikularno krvarenje

PlGF .....placentni čimbenik rasta

pO2 .....parcijalni tlak kisika

PVL .....periventrikularna leukomalacija

RCOG.....eng. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists

RI .....indeks otpora

ROC analiza.....eng. Receiver Operating Charactristic Curve

SGA.....mala porođajna masa za gestacijsku dob

sVEGFR1 .....topivi oblik receptora za vaskularni endotelni čimbenik rasta

UA .....pupčana arterija

UZV .....ultrazvuk

VEGF .....vaskularni endotelni čimbenik rasta

VEGFR .....receptor za vaskularni endotelni čimbenik rasta

# 1 UVOD I SVRHA RADA

*“They are tiny, puny infants with great vitality. Their movements are untiring and their crying lusty, for their organs are quite capable of performing their allotted functions. These infants will live, for although their weight is inferior... their sojourn in the womb was longer.“*
Prof. Pierre Budin (1846-1907, Pariz)

## 1.1 Intrauterini zastoj rasta (IUGR)

Brzina rasta fetusa mijenja se kroz gestaciju. U pogledu pojedinačnih, a klinički važnih biometrijskih mjerenja, brzine porasta biparijetalnog promjera, opsega glave, duljine femura i opsega abdomena (AC, od eng. *Abdominal circumference*) najprije dosežu vrhunac s 13, 14, 15 i 16 tjedana trudnoće. Potom biparijetalni promjer, opseg glave i AC imaju drugo ubrzanje s 19 do 22, 19 do 21, odnosno 27 do 31 tjedan trudnoće (1). Procijenjena brzina prirasta fetalne mase doseže maksimum s 35 tjedana trudnoće. Općenito, normalan rast fetusa u jednoplodnoj trudnoći povećava se od približno 5 g / dan u razdoblju između 14 i 15 tjedana gestacije do 10 g / dan s 20 tjedana i 30 do 35 g / dan s 32 do 34 tjedna trudnoće, nakon čega se svakodnevna brzina prirasta mase smanjuje (2).

### 1.1.1 Definicija

Intrauterini zastoj rasta (IUGR, od eng. *Intrauterine growth restriction*) definira se kao stanje u kojem fetus ne ostvaruje svoj potencijal za rast (3,4). Umjereni IUGR karakterizira porođajna masa od 3. do 10. percentile (pc), a teškim IUGR-om se smatra onaj u kojem je porođajna masa < 3. pc (5). Najčešće se prepoznaje tijekom trudnoće, kada dođe do odstupanja ultrazvučnih biometrijskih mjera, posebice AC, od referentnih za gestacijsku dob (slika 1).




Slika 1. Prikaz ultrazvučnog mjerenja opsega abdomena (AC). Iz mjera je vidljivo da izmjereni AC odgovara dobi 29+3 tjedna trudnoće, a da je trajanje trudnoće prema amenoreji 33+3 tjedna.

Veliki dio IUGR-a se identificira postnatalno, kada se rodi dijete čija je porođajna masa ispod 10. pc za gestacijsku dob (5). Takva djeca se nazivaju malom za gestacijsku dob (SGA od eng. *Small for gestational age*) (5,6). Međutim, pojam SGA obuhvaća i djecu koja imaju IUGR, ali i djecu koja se opisuju kao konstitucijski SGA. Konstitucijski SGA čine djeca čija je porođajna masa ispod 10. pc zbog konstitucijskih razloga, uključujući majčinu visinu, masu, etničku pripadnost i paritet. Najvažnije je naglasiti da ta djeca nemaju povišen perinatalni mortalitet i morbiditet (6). Nadalje, poistovjećivanjem SGA i IUGR u dijagnosticiranju IUGR-a se propuštaju ona djeca čija je porođajna masa bila nešto iznad 10. pc, ali čiji je genetski potencijal bio znatno veći, a koja imaju povišen perinatalni mortalitet i morbiditet (5).

### 1.1.2 Incidencija

Incidencija IUGR-a u razvijenim zemljama se kreće od 3-10 % svih trudnoća. U zemljama u razvoju se smatra još većom. U 2012. godini, podaci Referentne grupe za dječju

zdravstvenu epidemiologiju, temeljeni na 14 kohorti, pokazali su da je IUGR zabilježen u 19,3 % živorođene djece u zemljama s niskim i srednjim dohotkom (7). Godišnje u svijetu IUGR pogađa čak 30 milijuna djece (8).

### 1.1.3 Etiologija

Uzroci IUGR-a mogu se podijeliti na: fetalne, posteljične, majčinske i okolišne (5). Naime, rast fetusa rezultat je interakcije fetalnog, unaprijed određenog potencijala rasta i zdravlja fetusa, posteljice i majke.

Međugeneracijske populacijske studije o porođajnoj masi zaključile su da genetski čimbenici pridonose 30 do 50 % varijacijama u porođajnoj masi, a ostalo čine okolišni čimbenici. Majčini geni utječu na porođajnu masu više od očevih gena (9). Nadalje, od majčinskih čimbenika izdvajaju se nuliparitet, kasna dob rađanja te ekstremi tjelesne mase. Konzumacija alkohola, narkotika – kokaina i heroina te pušenje cigareta dokazani su čimbenici rizika razvoja IUGR-a (10). Na globalnoj razini, pothranjenost majki može pridonijeti i do 40% slučajeva IUGR-a (11).

Fetalni čimbenici koji doprinose smanjenom rastu uključuju: genetske sindrome ili kromosomske aneuploidije, neke oblike prirođenih srčanih bolesti, urođene metaboličke poremećaje i niz vertikalno prenesenih majčinskih infekcija (ToRCH infekcije: toksoplazmoza, sifilis, varicella-zoster, parvovirus B19, rubeola, citomegalovirus i herpes) (10). Ukoliko postoji sumnja na IUGR uzrokovan navedenim fetalnim čimbenicima, daljnjom obradom, uključujući invazivne pretrage poput amniocenteze, ta se sumnja može potvrditi ili isključiti.

Ako se isključe intrinzični fetalni, okolišni ili majčinski uzroci u fetusa koji zaostaje u rastu, najvjerojatnije je zastoj rasta fetusa uzrokovan posteljičnom insuficijencijom. Posteljična insuficijencija je najčešći uzrok IUGR-a (12). Tema ove doktorske disertacije je ograničena upravo na IUGR uzrokovan posteljičnom insuficijencijom.

### 1.1.4 Klinička slika

Postoji nekoliko obilježja kliničke slike IUGR-a uzrokovanog insuficijencijom posteljice koja su jedinstvena i značajna radi razumijevanja, prepoznavanja, kliničkog praćenja i procjene ugroženosti ploda (13). Kao jedna od prvih manifestacija insuficijencije posteljice javlja se smanjenje protoka krvi od posteljice prema plodu koje dovodi do smanjenog unosa hranjivih tvari u fetalnu jetru (14). Posljedično, smanjenje veličine jetre i opsega trbuha prvi je fetalni znak posteljične disfunkcije. Kako bi se povećale šanse preživljavanja, u fetusu se aktiviraju kompenzacijski mehanizmi. Fetus reagira smanjenjem prirasta tjelesne mase, očuvanjem rasta mozga, ubrzavanjem sazrijevanja pluća i povećanjem proizvodnje eritrocita (15). Smanjena je mišićna masa fetusa, a sadržaj glikogena u skeletnim mišićima i jetri je manji zbog nižih koncentracija glukoze i inzulina u plazmi (16). Udio ukupne tjelesne masti i minerala u kostima je smanjen, što rezultira karakterističnim izgledom novorođenčadi s izraženim IUGR-om (slika 2) (17). Glava je relativno velika u odnosu na tijelo, subkutano masno tkivo oskudno, abdomen skafoidan, koža suha, a lice se opisuje kao lice starca (18).



Slika 2. Utjecaj posteljične insuficijencije na izgled novorođenčeta.

Posteljična patologija očituje se u smanjivanju dijastoličkog protoka u pupčanoj arteriji (UA, od eng. *Umbilical artery*), koji s pogoršanjem izostaje ili postaje obrnut (19). Kardiovaskularna prilagodba fetusa na hipoksiju najvažniji je mehanizam održavanja fetalne homeostaze, a postiže se preraspodjelom protoka krvi u korist vitalnih organa, prvenstveno mozga (efekt poštede mozga), srca i nadbubrežnih žlijezda (20). Preraspodjelu krvotoka u korist fetalnog mozga moguće je otkriti doplerskim mjerenjem protoka, odnosno indeksa otpora (RI, od eng. *Resistence index* ) u srednjoj moždanoj arteriji (MCA, od eng. *Middle cerebral artery*) i UA te određivanjem cerebroumbilikalnog omjera (C/U omjer, od eng. *Cerebroumbilical ratio*) (21).

#### 1.1.4.1 Dva fenotipa IUGR-a

S obzirom na vrijeme postavljanja dijagnoze i povezanost s doplerskim parametrima Figueras i suradnici dijele IUGR na 2 fenotipa, rano nastali IUGR i kasno nastali IUGR. Svaki od njih ima specifičnu kliničku sliku, problematiku vođenja trudnoće i posljedice (22).

Rani IUGR čini 20-30% svih intrauterinih zastoja u rastu, a povezan je s preeklampsijom u 50% slučajeva (23). Uzrokovan je teškom posteljičnom insuficijencijom. Praćen je abnormalnostima doplerskog zapisa UA u velikom broju slučajeva. Progresija bolesti produbljuje hipoksiju i acidozu, koje se reflektiraju u pogoršanju patoloških zapisa arterije umbilikalis te patološkim zapisom venskog duktusa (24). Rani IUGR u velikom broju slučajeva rezultira teškim oštećenjima i/ili fetalnom smrću prije navršenih 37 tjedana trudnoće (25). Nadzor i vođenje ovakvih trudnoća je izuzetno zahtjevno te je potrebno pažljivo odvagati rizike prematuriteta uzrokovanog prijevremenim dovršenjem trudnoće te rizike daljnjih nepovoljnih intrauterinih utjecaja (22).

Kasno nastali IUGR čini 70-80 % svih intrauterinih zastoja u rastu ploda (23). Povezanost s preeklampsijom je niska, a utvrđena je za manje od 10% slučajeva (23). Stupanj posteljične insuficijencije je blag, RI UA u većini slučaje nije povišen, uznapredovali hemodinamski poremećaj protoka arterije umbilikalis i patološki venski duktus se gotovo nikada ne vide (26,27). Unatoč tomu ovaj tip zastoja je povezan sa značajnim postotkom

patoloških vrijednosti C/U omjera (26). Iako je naizgled benignije prirode u usporedbi s rano nastalim IUGR-om, ovaj tip zastoja u rastu ploda karakterizira naglo pogoršanje fetalnog stanja prije poroñaja, značajan udio u intrauterinom mortalitetu kasno u trudnoći, velika povezanost s intrapartalnim fetalnim distresom i neonatalnom acidozom (22,28,29). Dijagnoza kasno nastalog IUGR se zbog slabije izraženih simptoma posteljične insuficijencije lako previdi, a posljedice podcijene. Kao vremenska granica razlikovanja rano od kasno nastalog IUGR-a se uzima postavljanje dijagnoze prije 32.-34. tjedna trudnoće, odnosno poroñaj djeteta prije navršenih 37 tjedana trudnoće (22).

### 1.1.5 Kratkoročne i dugoročne posljedice IUGR-a

IUGR je praćen značajno povišenim perinatalnim mortalitetom i morbiditetom (30–32). Rizik mortaliteta i morbiditeta povećava se u IUGR novorođenčadi zbog kompromitiranog rasta i smanjenih energetskih rezervi koje povećavaju ranjivost ove skupine tijekom stresnog perinatalnog razdoblja i prijelaza iz unutarmaternični u vanmaternični okoliš. Posljedice IUGR-a mogu se manifestirati i u odrasloj dobi; povećan je rizik nastanka hipertenzije, koronarne bolesti, moždanog udara, šećerne bolesti (33–38). Osim toga, IUGR povećava majčin rizik za razvoj ishemijske bolesti srca (39).

Prema Barkerovoj hipotezi intrauterini okoliš utječe na fetalni razvoj i može promijeniti homeostatske regulacijske mehanizme, rezultirajući razvojem kroničnih bolesti u odrasloj dobi (33,40). Objašnjenje kasnih posljedice promijenjenog ranog razvoja daje teorija intrauterinog programiranja. Nepovoljan intrauterini okoliš dovodi do promjena strukture važnih organa: broja stanica i receptora, nesrazmjera različitih tipova stanica unutar organa, te uzrokuje poremećaj opskrbe krvlju (33,40,41). IUGR i povezanost s bolestima odrasle dobi tipičan je primjer intrauterinog programiranja. Povezanost niske poroñajne mase i bolesti odrasle dobi dokazana je posve neovisno o čimbenicima rizika iz odrasle dobi (pušenje, pretilost, alkohol, manjak tjelovježbe). Dva čimbenika koja se smatraju izuzetno bitnim u intrauterinom programiranju su fetalna malnutricija i prekomjerna izloženost fetusa glukokortikoidima i stresu (42). U novije vrijeme govori se i o posteljičnom programiranju (43–45). Naime, posteljica se smatra ključnim organom u

programiranju mnogih bolesti odrasle dobi. Nažalost, naše znanje o rastu i funkciji posteljice jako zaostaje u odnosu na znanje i razumijevanje rasta i funkcije drugih organa (45).

#### 1.1.5.1 Neurološke posljedice IUGR-a

Rastući broj dokaza koji povezuju posteljicu s neurološkim razvojem naveo je Kratimenosa i suradnike da ovo novo područje interesa istraživača nazovu neuroplacentologija (44). Istraživanja su potvrdila da je IUGR uzrokovan insuficijencijom posteljice značajan čimbenik rizika za razvoj poremećaja središnjeg živčanog sustava (46–48). Spektar neuroloških oštećenja očituje se od lakših oblika poremećaja ponašanja pa sve do najteže posljedice, cerebralne paralize (48–51).

Naime, insuficijencija posteljice rezultira kroničnom hipoksemijom fetusa i smanjenom dostupnošću hranjivih sastojaka, uključujući poremećen prijenos aminokiselina te hipoglikemiju fetusa (52–54)**.** Uz to, promjena metabolizma posteljice rezultira povećanom proizvodnjom slobodnih radikala kisika i aberantnom aktivacijom kaskade komplementa. Dolazi do reprogramiranja fenotipa mikroglije i promjena puteva sazrijevanja mozga koja uključuje disreguliranu proliferaciju neuronskih stanica, sporije sazrijevanje oligodendrocita što rezultira hipomijelinizacijom te povećanom apoptozom (55–62). Osim toga, na hipoksiju su posebno osjetljiva područja mijelinizacije zbog jake metaboličke aktivnosti (63,64).

IUGR uzrokovan posteljičnom insuficijencijom povezan je sa smanjenim ukupnim volumenom mozga i količinom sive tvari (65,66). Nadalje, smanjen je i relativni volumen sive tvari neovisno o ukupnom volumenu mozga (65). Osim toga, u novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih IUGR-om opisane su promjene izgleda girusa i sulkusa kore mozga (67). U dobi od 12 mjeseci su također opisane promjene i sive i bijele tvari mozga (68). Utvrđena su oštećenja kortiko-bazalnih ganglijskih veza, pretežno u prefrontalnom i limbičkom području kod IUGR nedonoščadi u usporedbi s nedonoščadi uredne porođajne mase. Ove strukturne moždane promjene su u korelaciji s neurobihevioralnim

oštećenjima, poput hiperaktivnosti ili kognitivnih deficita u školskoj dobi (69). Usprkos smanjenoj izraženosti zastoja rasta mozga u odnosu na cijelo tijelo, dojenčad s IUGR-om često ima manji opseg glave od dojenčadi iz urednih trudnoća odgovarajuće gestacijske dobi (65,70,71). Smanjen opseg glave tijekom dojenačkog doba pokazao se snažnim prediktorom slabog neurorazvojnog ishoda (72).

Štetni učinci IUGR-a na strukturni razvoj mozga očituju se različitim funkcionalnim odstupanjima. Prijevremeno rođena IUGR djeca pokazuju funkcionalne neurobihevioralne deficite pažnje u usporedbi s prijevremeno rođenom djecom uredne porođajne mase, koji su u korelaciji s volumenom kortikalne sive tvari mozga (65). Nadalje, u dobi od 7 mjeseci IUGR dojenčad ima lošije vizualno prepoznavanje (73). Leitner i suradnici su u longitudinalnu studiju uključili 123 djeteta iz trudnoća s IUGR-om i efektom poštede mozga te ih pratili od rođenja do mlađe školske dobi (9-10 godina). Ovo istraživanje pokazalo je da IUGR djeca mogu razviti skup neurorazvojnih odstupanja u usporedbi s odgovarajućom skupinom djecom iz trudnoća uredna tijeka (49). Suboptimalne kognitivne sposobnosti (IQ <85) opisane su u 15% djece s IUGR-om. Osim toga, bila je veća vjerojatnost razvijanja specifičnih poteškoća u učenju, kao što su smanjene mogućnosti pamćenja i deficit pažnje, vizualnomotoričke smetnje te poremećaji ponašanja (49).

S obzirom na rezultate brojnih studija o poremećajima neurološkog razvoja uzrokovanog IUGR-om i posteljičnom insuficijencijom te sposobnost mozga u razvoju koji pokazuje značajnu plastičnost, važno je razumjeti čimbenike poremećaja neurorazvoja, kako bi se utvrdili mogući koraci prevencije perinatalnog oštećenja mozga (74). Potrebno je što ranije probrati djecu u koje bi rana habilitacijska intervencija pozitivno poduprla razvoj i plastičnost mozga. Ovim istraživanjem će se odrediti najbolji prediktori neurološkog ishoda IUGR novorođenčadi.

### 1.1.5.2 Neurološka procjena novorođenčeta

Prepoznavanje i praćenje neurorizične djece važno je radi otkrivanja neurorazvojnih odstupanja te primjene ranih terapijskih postupaka koji mogu pospješiti procese plastičnosti mozga i dovesti do oporavka oštećene funkcije. Pravovremeno započeti postupci habilitacije predstavljaju ujedno i sekundarnu prevenciju neurorazvojnih odstupanja (75).

Osnovna neurološka procjena novorođenčeta se temelji na slikovnim metodama prikaza mozga (ultrazvuk i/ili magnetska rezonanca) i na kliničkom pregledu.

UZV mozga je u svakodnevnom kliničkom radu najčešće korištena slikovna metoda prikaza mozga novorođenčeta. Razlog tomu su neinvazivnost pretrage, cijena u odnosu na druge slikovne metode te jednostavno korištenje. Ipak, rezultati ovise o kvaliteti uređaja, ali i iskustvu liječnika (76). Ultrazvučnim pregledom uz različite poremećaje anatomije, može se prikazati i hipoksično ishemično oštećenje bijele tvari mozga – periventrikularna leukomalacija (PVL) i periventrikularno odnosno intraventrikularno krvarenje (PIVH eng. *Peri/intraventricular haemorrhage*).

PVL nastaje najčešće intrauterino u graničnim opskrbnim područjima moždanih arterija, koja su najosjetljivija na promjene moždanog protoka. Postoji cistični i difuzni oblik oštećenja. Ako je noksa dostatno jaka, doći će do nekroze aktivne oligodendroglije, a nakon resorpcije nekrotičnog područja, nastat će ciste. Ovaj proces se razvija tijekom 14 do 21 dan od djelovanja nokse (77). Ciste perzistiraju sljedećih 1 do 4 mjeseca, a zatim glija ispuni cistične šupljine i ciste se više ne prikazuju ultrazvučnim pregledom, ali su moždane stanice tog područja zauvijek nestale. Obzirom na vremenski slijed navedenih procesa, ako se ciste mozga vide već 7 dana nakon rođenja, znači da je oštećenje nastalo intrauterino, barem 15 dana prije rođenja. Također, ako se ultrazvučni pregled mozga napravi prekasno, npr**.** nakon 7 mjeseci, kada glija već ispuni cistične šupljine, neće se moći dijagnosticirati PVL. Difuzne promjene prvenstveno zahvaćaju nezrele, nemijelizirane oligodendrocite bijele tvari koji su najzastupljenije stanice periventrikularnog područja nakon 24. tjedna gestacije (77). Posljedica ove difuzne, stanične PVL je poremećaj mijelinizacije (78). Žarišne nekrotične lezije koreliraju sa

cerebralnom paralizom (tj. s motoričkim deficitima), a difuzna lezija bijele tvari povezuje se s kognitivnim oštećenjima i poremećajima ponašanja (79).

PIVH najčešći je tip intrakranijskog krvarenja u novorođenčadi. U etiologiji važnu ulogu ima nezrelost i osjetljivost stijenki krvnih žila na hipoksiju i turbulencije protoka krvi (80). Nedonoščad ima veću sklonost iznenadnom porastu moždanog protoka krvi, vjerojatno zbog nedostatne autoregulacije moždanog protoka, odnosno zbog pasivnog odgovora moždanih krvnih žila na porast sistemskog krvnog tlaka (81). Mjesto nastanka periventrikularnog krvarenja je subependimalni germinativni matriks. Smješten ventrolateralno, neposredno do lateralnih moždanih komora, mjesto je nastanka neuroblasta između 10. i 20. tjedna, a u trećem tromjesečju glioblasta koji se potom diferenciraju u oligodendrogliju i astrocite (80). To je područje bogato prokrvljeno krvnim žilama tankih stijenki koje su izvor mogućeg krvarenja. PIVH krvarenje nastaje većinom prvih dana po rođenju, a u narednih 3-5 dana može doći do progresije krvarenja te je potrebno ponavljati ultrazvučne preglede mozga prema kliničkoj indikaciji (82).

Neonatalni UZV mozga smatra se zlatnim standardom u probiru neonatalnih ozljeda mozga, posebice u otkrivanju većih ili značajnih abnormalnosti, osobito teške IVH ili cistične PVL. Međutim, općenito se ne smatra dovoljno osjetljivim za otkrivanje i procjenu suptilnih neuroloških oštećenja u neonatalnom razdoblju (83,84). Bez obzira na značajan tehnološki napredak i sve kvalitetniji prikaz morfoloških promjena i oštećenja mozga slikovnim pretragama**,** postoji potreba za uvidom u neurološki status novorođenčeta kliničkim neurološkim pregledom.

Klinički neurološki pregled novorođenčeta uključuje procjenu djetetove razine budnosti, kranijalnih živaca, spontane motoričke aktivnosti, tonusa, mišićne snage i refleksnih reakcija (85). Postoji više publikacija koje opisuju neurološki pregled novorođenčadi (86–90). Jedna od citiranih metoda neurološkog pregleda jest neurološka procjena novorođenčeta po Amiel-Tison (ATNAT, od *eng. Amiel Tison neurological assessment at term*) (86). ATNAT test se temelji na procjeni funkcija gornjeg motoričkog kontrolnog sustava. Naime, razlikujemo dva sustava koja kontroliraju motoriku fetusa i novorođenčeta: donji (subkortikospinalni ili ekstrapiramidalni) i gornji (kortikospinalni ili

piramidalni) sustav. Donji motorički kontrolni sustav čine mali mozak, moždano deblo i kralježnična moždina. Njegovo dozrijevanje započinje u kralježničnoj moždini i teče uzlaznim smjerom, a dostupan je kliničkoj procjeni od 28. tjedna trudnoće. Najvažnija mu je zadaća uspostavljanje držanja tijela protiv sila teže i kontrola napetosti fleksornih mišića ekstremiteta. Gornji motorički kontrolni sustav koji čine moždane hemisfere i bazalni gangliji dozrijeva kasnije, te se klinički može procjenjivati od 32. tjedna trudnoće. Dozrijevanje gornjeg sustava teče silazno. Kontrolira donji sustav uz opuštanje ekstremiteta i kontrolu antigravitacijskih sila (91). To rezultira uspravljanjem cijelog tijela, razvojem hoda i uspostavom finih motoričkih funkcija. Oštećenja mozga u novorođenčeta su uglavnom lokalizirana u moždanim hemisferama (86). Posljedično, najbolji prediktori neurološkog oštećenja u novorođenčadi bi trebali biti oni odgovori koje ovise o kontroli gornjeg sustava. Funkcije koje ovise o integritetu donjeg sustava motoričke kontrole kao što su primitivni refleksi i pasivni tonus fleksornih mišića ekstremiteta ne pružaju informacije o cerebralnim hemisferama i bazalnim ganglijima. Prema ATNAT testu neurološki status novorođenčeta se definira uz pomoć deset glavnih kliničkih kriterija: opsegu glave, statusu šavova lubanje, uspostavi vizualnog kontakta, socijalnoj interakciji, nenutritivnom refleksu sisanja, kontroli kod posjedanja i vraćanja u ležeći položaj, pasivnom tonusu muskulature trupa i ekstremiteta, položaju prstiju i palčeva izvan šake, te procjeni autonomne kontrole tijekom pregleda (86). Praćenje rasta glave ima značajno mjesto u kliničkom pregledu jer odražava rast moždanih hemisfera. Palpacijom osnovnih šavova lubanje dobiva se dodatna informacija o simetričnom i cjelovitom rastu mozga. Osobito je informativan pregled skvamoznog šava koji se nalazi na poveznici između svoda i baze lubanje. Preklopljene kosti duž skvamoznog šava (koje se palpiraju kao greben iznad uha, između parijetalnih i temporalnih kostiju) znak su deficita u rastu moždanih hemisfera tijekom trudnoće (92). Sastavni dio neurološke procjene je interakcija djeteta i ispitivača: usmjerena pažnja i budnost djeteta, uz lako uspostavljanje vizualnog kontakta i dobra socijalna interakcija znaci su optimalne funkcije središnjeg živčanog sustava. Integritet gornjeg motoričkog kontrolnog sustava procjenjuje se prema pasivnom tonusu (fleksija prevladava u odnosu na ekstenziju), aktivnom tonusu (ravnoteža fleksije i ekstenzije), te spontanoj motoričkoj aktivnosti usmjerenoj na promatranje otvaranja ručica, neovisne pokrete prstima i aktivnu abdukciju palca. Palac

u čvrsto stisnutoj šaci znak je oštećenja gornjeg motoričkog kontrolnog sustava (tzv. neurološki palac) (86).

Ovim kratkim pregledom (5-15 min), mogu se utvrditi markeri oštećenja mozga koja su se dogodila prije, za vrijeme ili ubrzo nakon rođenja i tako predvidjeti neurorazvojne posljedice (93). Naime, rezultati su pokazali dobru korelaciju s neurološkim ishodom u dobi od 12, 15 i 24 mjeseca, posebice kod perinatalnih hipoksično-ishemičnih lezija (94–96).

## 1.2 Razvoj posteljice i posteljične insuficijencije

Uredan razvoj posteljice je preduvjet za normalan rast i razvoj ploda. Posteljica je organ putem kojeg se odvija komunikacija između majke i fetusa, preko kojeg fetus prima hranjive tvari i kisik, a istovremeno izlučuje proizvode svojeg metabolizma. Osim toga, ona producira brojne hormone i čimbenike, čija se prisutnost može dokazati i u fetalnoj i u majčinoj krvi (97). Posteljica je, dakle, organ koji majčin i fetalni organizam povezuje tijekom gestacijskog razdoblja u jedinstvenu cjelinu i bez kojeg je razvoj ploda nemoguć.

### 1.2.1 Uredan razvoj posteljice

Posteljica se razvija iz zametnog listića koji se naziva trofoblast, dok se sva fetalna tkiva razvijaju od embrioblasta. Oba zametna listića nastaju osmog dana nakon oplodnje diferencijacijom blastociste. Trofoblast se dalje dijeli na unutrašnji sloj citotrofoblast, koji proliferira, te vanjski sloj, sinciciotrofoblast, koji nakon implantacije blastociste u endometrij nagriza stijenku spiralnih arterija maternice i uzrokuje razaranje njihova mišićnog sloja. U njemu se pojavljuju lakune, šupljine u koje se izlijeva majčina krv, te se tako uspostavlja uteroplacentni krvotok. Citotrofoblast nakon toga, urastajući u sinciciotrofoblast, tvori resice u kojim se kasnije razvijaju krvne kapilare. U te kapilare pristiže fetalna krv bogata ugljikovim dioksidom i produktima fetalnog metabolizma, te one predstavljaju mjesto izmjene tvari između majke i fetusa. Razaranje mišićnog sloja spiralnih arterija uzrokuje njihovo širenje i sniženje vaskularnog otpora, što im omogućuje

prihvaćanje sve veće količine krvi potrebne plodu. Osim toga, gubitak mišićnih vlakana čini spiralne arterije neosjetljivim na djelovanje različitih vazokonstrikcijskih tvari i autonomnog živčanog sustava. Protok majčine krvi kroz posteljicu drastično se povećava tijekom trudnoće, od 50 mL/min u 10. tjednu trudnoće, na čak 625 mL/min u zadnjem tromjesečju (98–101).

Do kraja trećeg mjeseca trudnoće sve su funkcije posteljice, nutritivna, respiracijska, ekskrecijska te endokrina uspostavljene (102). Potrebno je naglasiti da posteljica započinje obavljati svoju nutritivnu, respiracijsku i ekskrecijsku funkciju i prije tog vremena. Ipak, u ranom embrionalnom razdoblju, dok posteljica još nije formirana, najveći dio prehrane osigurava trofoblast probavljanjem i apsorpcijom hranjivih tvari iz decidue endometrija. U prvome tjednu poslije implantacije to je jedini način na koji embrij može priskrbiti hranjive tvari. Prehrana embrija tim se načinom bar donekle odvija i sljedećih 8 tjedana (97). Posteljica počinje opskrbljivati fetus hranjivim tvarima približno od 16. dana poslije oplodnje (nešto više od tjedan dana poslije implantacije) te se postupno trofoblastična prehrana zamjenjuje prehranom preko posteljice (97). Sva se prehrana u kasnijim razdobljima trudnoće ostvaruje difuzijom kroz posteljičnu membranu. Male molekule ili tvari topive u lipidima kroz posteljičnu membranu prolaze jednostavnom difuzijom. Na taj se način transportiraju kisik i ugljikov dioksid, natrij, voda, ureja, masne kiseline i nekonjugirani steroidi. Glukoza, konjugirani steroidi, aminokiseline, nukleotidi, vitamini topivi u vodi, plazmatski proteini i kolesterol zahtijevaju transportne nosače za prolaz kroz posteljičnu membranu (103). Gradijent tlaka kisika između majčine krvi i krvi fetusa omogućuje prolaz kisika otopljenog u krvi velikih sinusa posteljice u fetalnu krv. U ranim stadijima trudnoće posteljična je membrana još debela jer nije potpuno razvijena. Zbog toga je slabo propusna. Nadalje, membranska je površina mala jer posteljica još nije znatnije narasla. Zbog toga je na početku difuzijska vodljivost neznatna. U kasnijoj se trudnoći, naprotiv, propusnost posteljice povećava zbog stanjivanja membranskih slojeva kroz koje se odvija difuzija, kao i zbog golemog povećanja njezine površine (97). Osim debljine posteljične membrane, koncentracijski gradijenti tvari koje se prenose kroz posteljicu, raspoloživost transportnih nosača, te majčinski i fetalni protok krvi utječu na izmjenu tvari između fetusa i majke. Prijenos lako difundibilnih molekula, poput kisika, u značajnijoj mjeri ovisi o protoku krvi nego o debljini posteljične membrane (99,103).

### 1.2.2 Nastanak posteljične insuficijencije

Endovaskularni trofoblast ima krucijalnu ulogu u razvoju posteljice. On posreduje pretvorbu spiralnih arterija u široke uteroplacentne arterije migriranjem i invadiranjem stijenki spiralnih arterija unutar decidue i miometrija (104,105). Na taj se način postiže nizak otpor u utreoplacentnoj cirkulaciji, povećan dotok krvi u interviloznе prostore te zadovoljavajuća oksigenacija i opskrba hranjivim tvarima fetusa. U trudnoćama kompliciranim IUGR-om i/ili preeklampsijom invazija je ograničena samo na decidualni dio spiralnih arterija, pa stoga izostaje njihova transformacija u žile niskog otpora protoku krvi kao u urednim trudnoćama i dolazi do posteljične hipoperfuzije (104,106,107). Nedostatna invazija trofoblasta se smatra uzrokom insuficijentne posteljice, odnosno ključnim događajem u patogenezi intrauterinog zastoja u rastu ploda (108). Poznato je da hipoksija stimulira invaziju trofoblasta, diferencijaciju, angiogenezu i vaskulogenezu (109–111). Spoznaje o povezanosti hipoksije i ranog razvoja posteljice potaknule su istraživanja izraženosti vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF, od eng. *Vascular endothelial growth factor*), glavnog hipoksijom stimuliranog čimbenika razvoja krvnih žila (112–114) .

## 1.3 Vaskularni endotelni čimbenik rasta

Izraženost VEGF-a u različitim stanicama tijela dramatično se povećava u uvjetima niskog parcijalnog tlaka kisika (pO2) te se smatra da je VEGF ključni medijator hipoksijom inducirane angiogeneze (115). Inhibitor angiogeneze koji se veže na VEGF se zadnjih desetak godina koristi u liječenju onkoloških bolesnika kod kojih je patološka angiogeneza jedan od čimbenika napredovanja karcinoma (116).

VEGF obitelj obuhvaća nekoliko glikoproteina: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E i posteljični čimbenik rasta (PlGF od eng. *Placental growth factor*) (117). VEGF-A i PlGF dva su najčešće spominjana i istraživana proteina VEGF obitelji. U užem smislu kada se govori o VEGF-u najčešće se to odnosi na VEGF-A. Prije otkrića ostalih VEGF čimbenika, VEGF-A se samo nazivao VEGF.

VEGF čimbenici imaju jak angiogeni utjecaj, što i sam njihov naziv sugerira. Oni reguliraju proces angiogeneze u fiziološkim, ali i patološkim stanjima, primjerice u onkološkim bolestima (118). VEGF-A djeluje na endotelne stanice, a njegove funkcije su proliferacija stanica, povećanje propusnosti krvnih žila, migracija stanica, aktivacija te invazija endotela u okolno tkivo (119).

U razumijevanju mehanizama djelovanja VEGF-a, važno je objasniti djelovanje PlGF-a zbog njihovog međusobnog odnosa. PlGF pripada istoj obitelji i dijeli 53% homolognosti s VEGF-om (120). Pokazao se kao slab stimulator kemotaksije i proliferacije endotelnih stanica u fiziološkim koncentracijama (121,122). S druge strane, PlGF potencira djelovanje niskih koncentracija VEGF na mikrovaskularne endotelne stanice (123). Smatra se da je kisik glavni regulator ravnoteže VEGF i PlGF (124). Izraženost PlGF-a stimulirana je pri povišenom pO2, a snižena pri niskom pO2 (112,124), dok izraženost VEGF-a i njegovih receptora stimulira niska razina pO2 (125).

### 1.3.1 VEGF receptori

VEGF svoje djelovanje posreduje pomoću nekoliko vrsta receptora: receptor za vaskularni endotelni čimbenok rasta 1 (VEGFR-1, od eng. *Vascular endothelial growth factor receptor 1*), receptor za vaskularni endotelni čimbenik rasta 2 (VEGFR-2, od eng. *Vascular endothelial growth factor receptor 2*). VEGFR-1 se još naziva Flt-1, a drugi naziv za VEGF-2 je KDR. Ostali opisani VEGF receptori su VEGFR-3, neuropilin-1 i neuropilin-2 (126–129). Uz njih još postoji topivi oblik receptora VEGFR-1 (sVEGFR-1 od eng. *Soluble vascular endothelial growth factor receptor 1*) koji veže slobodni VEGF i PlGF i time blokira njihovu funkciju. VEGF-A se u obliku homodimera ili u obliku heterodimera VEGF/PlGF može vezati za VEGFR-1 i VEGFR-2 dok se VEGF-B i PlGF u obliku homodimera mogu vezati samo za VEGFR-1. VEGF-C i VEGF-D vežu se za VEGFR-2 i VEGFR-3 dok se VEGF-E veže isključivo na VEGFR-2 (118). Hipoksija povećava izraženost VEGFR-1, ali ne i VEGFR-2 (130).

Mutacija s posljedičnim potpunim gubitkom funkcije (null-mutacija) VEGFR-1 i VEGFR-2 letalna je za mišji embrij (131). Nedostatak VEGFR-1 rezultira poremećajem organizacije

endotelnih stanica unatoč urednom razvoju tubularnog kardiovaskularnog sustava, dok nedostatak VEGFR-2 uzrokuje potpuni izostanak razvoja endotelnih stanica i težak poremećaj kardiovaskularnog sustava (130).

### 1.3.2 Utjecaj VEGF-a na razvoj posteljičnog krvožilja

VEGF i njegovi receptori imaju važnu ulogu u placentaciji. Istraživanjem na životinjama je utvrđeno da dolazi do propadanja trudnoće u slučaju inaktivacije gena za VEGF (132).

Za normalan razvoj posteljice nužni su procesi vaskulogeneze i angiogeneze (133). Vaskulogeneza je proces stvaranja novih krvnih žila. One nastaju iz mezenhimskih stanica. Vaskulogeneza započinje oko 21. dana nakon oplodnje diferencijacijom mezenhimalnih stanica u hemangioblaste koji urastaju i migriraju na periferiju primarnih resica te oko 28 dana nakon oplodnje stvaraju endotelne stanice. One formiraju cjevaste strukture sekundarnih resica, odnosno prve krvne žile unutar kojih se već 32 dana nakon oplodnje mogu naći eritrociti. VEGF se u ovom procesu luči iz mezenhimalnih stanica trofoblasta gdje je najviše izražen te posredstvom VEGFR-1 djeluje na hemangioblaste koji stvaraju hemangiogeni tračak i svojim urastanjem u trofoblast stvaraju primarne krvne žile. Diferencijacijom periferno smještenih hemangioblasta nastaju endotelne stanice, dok iz onih centralno smještenih nastaju eritrociti (134).

Angiogeneza je proces nastajanja novih krvnih žila iz već postojećih (133). Ona započinje oko 32. dana nakon oplodnje te traje do kraja trudnoće. Tijekom tog čitavog procesa dolazi do stvaranja novih i razgradnje starih krvnih žila u svrhu poboljšanja perfuzije posteljice i stvaranja krvožilnog sustava koja će imati dovoljnu površinu za adekvatan prijenos kisika i hranjivih tvari do fetusa (135). Angiogeneza se dijeli na granajući i negranajuću (133). U granajućoj angiogenezi nove krvne žile nastaju „pupanjem“ ili stvaranjem endotelne pregrade u starim krvnim žilama. VEGF koji se luči iz stanica trofoblasta djeluje na VEGFR-1 pri čemu potiče stvaranje cjevastih struktura obloženih endotelom, kao u vaskulogenezi, dok djelovanjem na VEGFR-2 potiče proliferaciju endotelnih stanica. Rezultat ovih procesa je granajuća angiogeneza (136). Negranajuća

angiogeneza je proces produživanja već postojećih krvnih žila posteljice. Ona započinje oko 24. tjedna trudnoće i traje do njezinog kraja, a karakterizirana je smanjenom proliferacijom trofoblasta, povećanom proliferacijom endotelnih stanica i rastom terminalnih resica (137). Zbog povećane koncentracije kisika u posteljici smanjuje se izraženost VEGF-a, a povećava PlGF-a. PlGF je izražen u trofoblastu, a vežući se kao homodimer isključivo na VEGFR-1 na endotelnim stanicama (123) zaslužan je za negranajuću angiogenezu (138,139).

Razina PlGF i VEGFR-1 se povisuje u trećem tromjesječju trudnoće (140). VEGF osim što utječe na vaskulogenezu i angiogenezu posteljice, djeluje i na permeabilnost krvnih žila posteljice te otpuštanje vazodilatacijskih tvari iz stanica trofoblasta (132,141–143).

### 1.3.3 Povezanost VEGF-a i posteljične insuficijencije

Uloga VEGF u razvoju posteljične insuficijencije nije sasvim razjašnjena. Rezultati studija o izraženosti VEGF-a u posteljicama zahvaćenim IUGR-om su kontradiktorni, neki autori navode pojačanu izraženost VEGF-a, a drugi nepromijenjenu (144–147). Postavlja se i pitanje predstavljaju li odstupanja u izraženosti i učincima VEGF-a uzrok ili posljedicu u stanjima posteljične insuficijencije, ili možda i jedno i drugo. Uzrokuje li poremećaj na razini VEGF čimbenika poremećaj invazije trofoblasta u spiralne arterije ili zbog poremećaja invazije trofoblasta i posteljične hipoperfuzije i hipoksije dolazi do poremećaja u izraženosti i djelovanju VEGF čimbenika? Nešto su jasnije spoznaje o povezanosti sFlt-1, solubilnog VEGF receptora i preeklampsije (148). Preeklampsija također nastaje zbog poremećaja invazije trofoblasta u spiralne arterije, a fetusi u trudnoćama kompliciranim preeklampsijom zaostaju u rastu (149). Hipoksična posteljica u preeklampsiji otpušta niz čimbenika u majčinu cirkulaciju i dovodi do sistemske endotelne disfunkcije majčinog krvožilja, vazospazma, povećane permeabilnosti i poremećaja koagulacije te se razvijaju tipični simptomi: hipertenzija, proteinurija, neurološki simptomi, oštećenje jetre i bubrega. Utvrđeno je da u trudnoći kompliciranoj preeklampsijom hipoksična posteljica pojačano otpušta sFlt-1 u majčinu krvi (150). Povišen sFlt-1, točnije

sFlt-1/PlGF omjer se pokazao kao dobar biokemijski marker i prediktor preeklampsije (148).

Unatoč rastućem broju istraživanja o ulozi VEGF-a u normalnim i insuficijentnim posteljicama, spoznaje o povezanosti izraženosti VEGF-a i fetalnog ishoda su vrlo oskudne. Utvrđena je korelacija između izraženosti VEGF-a i Apgar zbroja u prvoj, ali ne i u petoj minuti života novorođenčeta. U istoj studiji je opisana povezanost izraženosti VEGF-a u sinciciotrofoblastu i hematokrita krvi pupkovine (146). Pretraživanjem dostupne literature nema podataka o povezanosti posteljičnog VEGF-a s neurološkim ishodom djece s IUGR-om. Istodobno, sve se više pažnje obraća na povezanost lezija posteljice s neurološkim oštećenjima (151–154). Tri velike prospektivne studije povezuju makroskopski vidljive infarkte posteljice s cerebralnom paralizom, dvije s najtežim oblikom bolesti, spastičnim kvadriplegičnim oblikom cerebralne paralize (155–157). Odavno je poznato da posteljice iz trudnoća s IUGR-om karakteriziraju brojne abnormalnosti poput reducirane površine sinciciotrofoblasta, zadebljane barijere koju čini trofoblast i endotel fetalnih kapilara, pojačane apoptoze, smanjenja broja resica, broja arterija, lumena i grananja resica (158–164). Potreba za histološkim, biokemijskim i genetskim istraživanja povezanosti posteljične insuficijencije i moždanih poremećaja je prepoznata te je sve veći interes za sasvim novo područje u biomedicinskoj znanosti, o promjenama u posteljici kao pokazateljima neuroloških oštećenja (165). Prema vlastitim preliminarnim rezultatima moguća je povezanost između izraženosti VEGF-a u posteljici i neurološkog ishoda novorođenčadi s IUGR-om (166). Ovim istraživanjem će se usporediti izraženost VEGF-a u posteljicama iz urednih i IUGR-om kompliciranih trudnoća kako bi se razjasnile kontradiktornosti do sada opisane. Po prvi puta će se utvrdit povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda IUGR novorođenčadi. Osim toga, analizirat će se povezanost izraženosti VEGF-a s prenatalnim parametrima praćenja što također nije opisano u literaturi. Nadalje, istražit će se povezanost izraženosti VEGF-a s perinatalnim ishodom trudnoća kompliciranih IUGR-om.

# 2 HIPOTEZA

Izraženost VEGF-a snažnija je u posteljicama iz trudnoća s IUGR-om nego u posteljicama iz urednih trudnoća. Nadalje, pojačana izraženost posteljičnog VEGF-a povezana je s ranim morfološkim i/ili funkcionalnim oštećenjima mozga u novorođenčadi s IUGR-om, što se može očitovati kasnije tijekom života različitim odstupanjima od očekivanog neurološkog razvoja.

# 3 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

**Opći cilj:**

Usporediti izraženost VEGF-a u normalnim i posteljicama iz trudnoća s IUGR-om. Procijeniti odnos izraženosti posteljičnog VEGF-a i ranog morfološkog i funkcionalnog neurološkog ishoda u novorođenčadi iz trudnoća s IUGR-om.

**Specifični ciljevi:**

- Procijeniti građu i sazrijevanje posteljičnog tkiva patohistološkom analizom posteljica.
- Odrediti izraženost VEGF-a u posteljicama imunofluorescentnom metodom.
- Usporediti izraženost VEGF-a u normalnim i posteljicama iz trudnoća s IUGR-om.
- Utvrditi ulogu izraženosti VEGF-a kao pokazatelja funkcije posteljice.
- Procijeniti funkciju posteljice i cerebrovaskularni odgovor fetusa na posteljičnu insuficijenciju praćenjem hemodinamskih parametara (RI UA, RI MCA, C/U omjer).
- Procijeniti biokemijsku funkciju posteljice iz trudnoća s IUGR-om analizom acidobaznog statusa arterijske i venske krvi pupkovine (određivanjem pO2, parcijalnog tlaka ugljikovog dioksida (pCO2) i pH).
- Ispitati rani neurološki ishod u novorođenčadi s IUGR-om, procjenjujući morfologiju mozga ultrazvučnom metodom, a funkciju mozga ATNAT testom.

# 4 ISPITANICI I POSTUPCI

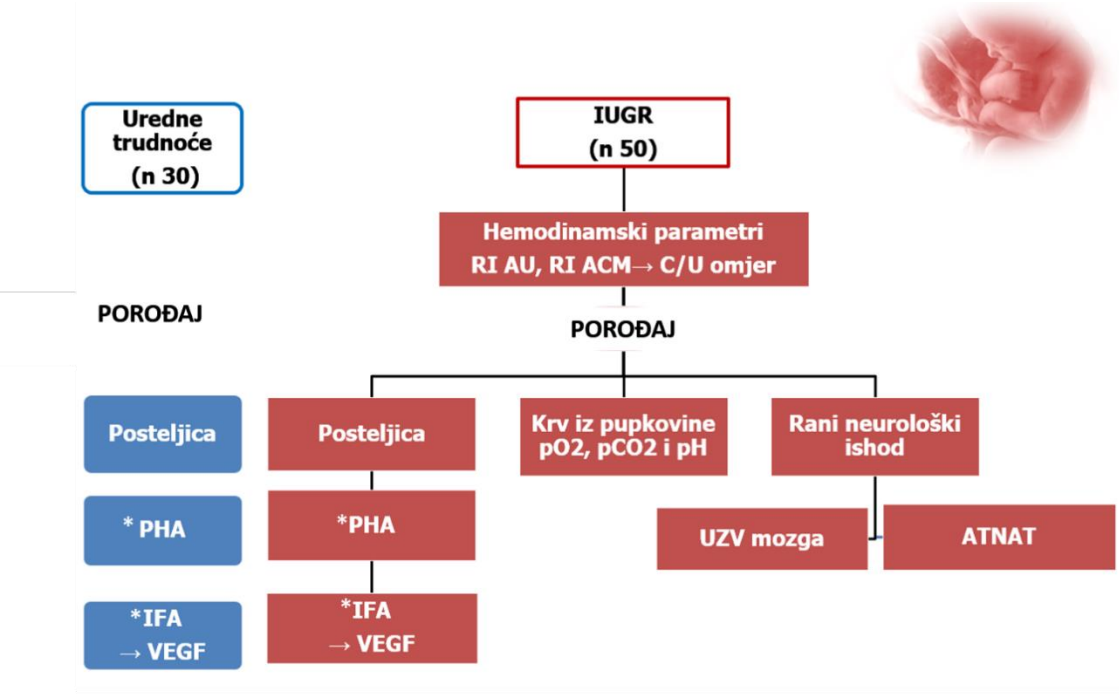
## 4.1 Ispitanici

Nakon potpisanog informiranog pristanka, u studiju je uključeno 50 trudnica hospitaliziranih u suradnim ustanovama (KB Sveti Duh, KBC Sestre Milosrdnice) zbog IUGR-a uzrokovanog insuficijencijom posteljice, gestacijske dobi > 28 tjedana trudnoće (slika 3).

IUGR je definiran prema fetalnoj masi procijenjenoj temeljem ultrazvučne biometrije ispod 10. pc za gestacijsku dob te potvrđen porođajnom masom ispod 10. centile za gestacijsku dob, spol i paritet majke prema Thomsonovim kriterijima koji se koriste u rodilištima suradnih ustanova (167). Određena je centilna krivulja porođajne mase (168). U studiju su uključene samo ispitanice čija je točna gestacijska dob ultrazvučno potvrđena u ranoj trudnoći, prije 12. tjedna trudnoće.

U studiju se nisu uključivale trudnoće s kromosomskim anomalijama, fetalnim malformacijskim sindromom i znakovima infekcije majke ili ploda, kao i višeplodne trudnoće. Trudnice s kroničnim prekoncepcijskim bolestima, ovisnostima (alkoholizam, narkomanija, pušenje) i drugim bolestima tijekom trudnoće također nisu uključivane u istraživanje.

Nakon potpisanog informiranog pristanka uključeno je 30 trudnica urednog tijeka jednoplodne trudnoće, gestacijske dobi > 37 tjedana trudnoće, koje su predstavljale kontrolnu skupina u analizi posteljica. U skupini zdravih trudnica učinjena je analiza posteljice, bez snimanja prenatalnih doplerskih parametara, acidobazne analize krvi pupkovine i procjene postnatalnog neurološkog ishoda novorođenčeta jer za navedene pretrage nije bilo kliničke indikacije (slika 3).




Slika 3. Shematski prikaz plana istraživanja.

## 4.2 Postupci

### 4.2.1 Ultrazvučni pregled trudnice

Ultrazvučni pregled učinjen je uređajem s doplerom u boji i s transabdominalnom sondom frekvencije 2-6 MHz te maksimalnom izlaznom energijom uređaja ispod dopuštene granice za uporabu u fetalnoj medicini (169). Učinjeno je standardno biometrijsko mjerenje fetusa (biparijetalni promjer, opseg abdomena, duljina femura) i mjerenje količine plodove vode (mjerenjem najvećeg vertikalnog džepa tekućine (170)). Izmjereni su RI UA i RI MCA, te je izračunat C/U omjer (RI MCA/ RI UA). Za procjenu fetoplacentne cirkulacije korišten je Pourcelotov indeks otpora (171). Učestalost navedenih mjerenja određivana je prema kliničkoj indikaciji. U statističkoj analizi korišteni su rezultati s najizraženijim odstupanjem. Istraživač nije imao utjecaj na kliničko vođenje trudnoće.

### 4.2.2 Acidobazni status krvi pupkovine

Preporuka Američkog udruženja opstetričara i ginekologa te Američke pedijatrijske akademije je učiniti analizu acidobaznog statusa krvi pupkovine nakon poroda pri sumnji na fetalni poremećaj metabolizma, zbog antepartalnih ili intrapartalnih uzroka (172). Plinska analiza ili acidobazni status krvi služi za precizno određivanje pO2, pCO2 i pH krvi. Uzorak arterijske i venske krvi se uzimao neposredno po porođaju, iz dvostruko pričvršćenog segmenta pupkovine, u standardizirane epruvete s podtlakom i antikoagulansom te se odmah transportirao u laboratorij radi analize. Standardnom biokemijskom analizom određeni su pO2, pCO2 i pH.

### 4.2.3 Neurološka procjena novorođenčeta

Rani neurološki ishod uključivao je procjenu morfologije mozga ultrazvučnim pregledom te procjenu funkcije mozga ATNAT testom (86). Neurološki pregledi su se provodili u suradnji s iskusnim neonatolozima.

#### 4.2.3.1 UZV pregled mozga novorođenčeta

Za ultrazvučni pregled mozga korišteni su aparati Siemens Sonoline G 40 i Aloka SSD 1000 sa sondom od 5,5 — 7,5 MHz. Nalazi periventrikularne leukomalacije razvrstani su po Pidcockovoj klasifikaciji (173), a krvarenja po Volpeovoj klasifikaciji (80). Pregled se radio kroz veliku fontanelu, a obavljao se tijekom prvog tjedna po rođenju, prema kliničkoj indikaciji. Prilikom obrade rezultata uzimao se u obzir ultrazvučni nalaz s najizraženijim promjenama.

#### 4.2.3.2 ATNAT test

Neurološki pregled kojim su pregledavana djeca u ovom istraživanju temelji se na procjeni funkcije središnjeg živčanog sustava koji je uvela Amiel-Tison (86). Pregled se provodio unutar 48 sati od porođaja. Parametri ATNAT pregleda su opisani u uvodu. Rezultati su

se dijelili u četiri skupine: uredan nalaz, blago odstupanje, umjereno odstupanje i teško odstupanje. Procjena je trajala 5 do 15 min, a provodili su je iskusni neonatolozi.

### 4.2.4 Patohistološka analiza posteljice

Analiza posteljice uključivala je patohistološku analizu 5 uzoraka pune debljine posteljičnog tkiva (od ovoja korionske ploče do bazalne decidue), čime je omogućena procjena pravilnog grananja i sazrijevanja posteljičnog tkiva. Uzorci su fiksirani u 4% formalinu, rutinski uklopljeni u parafin, rezani na rezove debljine 5 µm i obojeni hematoksilin-eozinom (H-E). Nakon analize i postavljene patohistološke dijagnoze i opisa, odabran je najreprezentativniji uzorak za dodatnu imunofluorescentnu analizu.

### 4.2.5 Imunofluorescentna analiza posteljice

Imunohistokemijski postupak započet je deparafiniranjem rezova u ksilolu, potom rehidriranjem u alkoholima sve niže koncentracije, a radi otkrivanja antigenskih mjesta kuhan je u citratnom puferu (pH 6.0) u mikrovalnoj pećnici na 95°C kroz 17 minuta i ispran u otopini fosfatnog pufera (PBS od eng. *Phosphate buffer saline*). Daljnji postupci provedeni su prema uputama proizvođača za uporabu protutijela i referentnim metodama laboratorija. Korišteno je sljedeće primarno protutijelo: kunićje poliklonalno antitijelo na ljudski antigen anti-VEGF A (u razrjeđenju 1:200, ab46154, R Chemicon, Temecula, CA, USA). Nakon jednosatne inkubacije rezova s primarnim protutijelom i ispiranja u PBS-u, koristilo se sekundarno fluorescentno majmunsko protutijelo na kunićji antigen Alexa fluor 488 u razrjeđenju 1:300 (A-11058, Invitrogen Molecular Probes Inc, Eugene, OR, USA). Rezovi su inkubirani jedan sat s navedenim sekundarnim fluorescentnim protutijelom u tamnoj komori, a nakon zadnjeg ispiranja PBS-om, uklopljeni u medij za uklapanje (Immuno-Mount, Shandom, Pittsburg, PA, USA) i prekriveni pokrovnim stakalcem. Analizirana je lokalizacija primijenjenog biljega u tkivu. Preparati su pregledani fluorescencijskim mikroskopom Olympus BX51 (Olympus, Tokyo, Japan) i slikani s DP71 digitalnom kamerom te analizirali putem DP-SOFT Version 3.1 računalnog programa. Rezovi namijenjeni negativnoj kontroli kod imunohistokemijskog bojenja svakog antigena

prošli su zajedno s ostalim rezovima istovjetan postupak, osim što nisu inkubirani primarnim protutijelom, nego su za to vrijeme bili u PBS-u. Za pozitivnu kontrolu koristile su se krvne žile na rezovima srca za koje se iz literature zna da reagiraju s primarnim protutijelom. Izraženost VEGF-a opisana je semikvantitativno. Jačina obojenja u tkivu prikazana je u četiri kategorije: (-) odsustvo reaktivnosti, (+) blaga izraženost, (++) umjerena izraženost i (+++) jaka izraženost. Nadalje, izraženost VEGF-a u posteljicama iz trudnoća s IUGR-om uspoređena je s izraženosti VEGF-a u 30 posteljica iz urednih trudnoća. Shematski prikaz cijelog istraživanja prikazan je na slici 3.

### 4.2.6 Perinatalni ishod

Perinatalni ishod je procijenjen iz prikupljenih kliničkih podataka o trajanju trudnoće, načinu porođaja, Apgar zbrojevima, potrebi novorođenčeta za reanimacijom i intenzivnom skrbi, porođajnoj masi.

## 4.3 Statistička obrada podataka

Podaci su prikazani tablično i grafički. Priprema podataka izvršena je pomoću računalnog tabličnog kalkulatora Microsoft Office Excel. Kolmogorov-Smirnovljevim testom analizirana je raspodjela kontinuiranih numeričkih vrijednosti te su se shodno dobivenim podacima primijenili odgovarajući neparametrijski testovi. Kategorijske i nominalne vrijednosti su prikazane kroz odgovarajuće frekvencije i udjele, dok su se razlike između njih analizirale Fisherovim egzaktnim testom, odnosno Fisher-Freeman-Haltonovim testom u slučajevima tablica većih od 2x2 formata. Kontinuirane vrijednosti prikazane su kroz medijane i interkvartilne raspone, a razlike između njih analizirane su Mann-Whitneyjevim U testom. Spearmanovi koeficijenti korelacije rho korišteni su u analizi povezanosti pojedinih kliničkih vrijednosti s izraženosti VEGF-a i ultrazvučnih pokazatelja, dok se u korelacijama s patološkim vrijednostima UZV koristio Kendallov tau-b koeficijent.

ROC analizom (od eng. *Receiver Operating Charactristic Curve*) prikazane su granične vrijednosti C/U omjera i RI UA vrijednosti u predikciji patoloških vrijednosti UZV pregleda i ATNAT testa.

P vrijednosti manje od 0,05 su smatrane značajnima. U analizi se koristila programska podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25.0 (https://www.ibm.com/analytics/spss-statistics-software) te MedCalc for Windows, verzija 19.0.3 (MedCalc Statistical Software version 19.0.3 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2019).

# 5 REZULTATI

## 5.1 Usporedba IUGR i kontrolne skupine

U statističku obradu je bilo uključeno 50 trudnica iz IUGR skupine i 30 trudnica iz kontrolne skupine. Između ispitivane (IUGR) i kontrolne skupine nije bilo statistički značajne razlike prema parametrima: dob majke (Mann-Whitney U test, P=0,933) (tablica 1), paritet i razina obrazovanja (tablica 2).

Tablica 1. Deskriptivna statistika ispitivane i kontrolne skupine za parametar dob majke

| | | N | Mean | SD | Minimum | Maximum | Centila | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | 25th | 50th (Median) | 75th |
| Dob majke (godine) | IUGR | 50 | 30.22 | 5.59 | 19.00 | 43.00 | 26.00 | 30.50 | 34.00 |
| | Kontrola | 30 | 30.37 | 4.37 | 22.00 | 39.00 | 27.00 | 31.00 | 34.00 |

Tablica 2. Razlike u paritetu i razini obrazovanja između ispitivane i kontrolne skupine (Fisher-Freeman-Haltonov test)

| | | Skupina | | | | P |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | IUGR | | Kontrola | | |
| | | N | % | N | % | |
| Razina obrazovanja | OŠ | 4 | 8.0 | 1 | 3.3 | 0.751 |
| | SSS | 31 | 62.0 | 18 | 60.0 | |
| | VŠS i VSS | 15 | 30.0 | 11 | 36.7 | |
| Paritet | 1 | 27 | 54.0 | 13 | 43.3 | 0.787 |
| | 2 | 14 | 28.0 | 12 | 40.0 | |
| | 3 | 4 | 8.0 | 3 | 10.0 | |
| | 4 | 4 | 8.0 | 2 | 6.7 | |
| | 5 | 1 | 2.0 | 0 | 0.0 | |

Razlike u promatranim kliničkim parametrima između ispitivane (IUGR) i kontrolne skupine prikazane su u tablici 3 i tablici 4. U IUGR skupini značajno su bili češći patološki i prepatološki nalaz kardiotokografije (CTG), inducirani vaginalni porođaj te planirani i hitni

carski rez, zatim potreba za intenzivnom skrbi i patološki nalaz posteljice. IUGR skupina u odnosu na kontrolnu imala je značajno kraće trajanje trudnoće u danima, manju porođajnu masu, nižu centilu porođajne mase, manju masu posteljice te niže zbrojeve po Apgarovoj u 1. i 5. minuti.

Tablica 3. Razlike u promatranim kliničkim parametrima između ispitivane (IUGR) i kontrolne skupine (Fisher-Freeman-Haltonov test)

| | | Skupina | | | | P |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | IUGR | | Kontrola | | |
| | | N | % | N | % | |
| Količina plodove vode | Uredna | 47 | 94,0 | 30 | 100,0 | 0,288 |
| | Smanjena | 3 | 6,0 | 0 | 0,0 | |
| CTG | Uredan nalaz | 37 | 74,0 | 30 | 100,0 | 0,006 |
| | Prepatološki nalaz | 6 | 12,0 | 0 | 0,0 | |
| | Patološki nalaz | 7 | 14,0 | 0 | 0,0 | |
| Način porođaja | Spontani vaginalni | 12 | 24,0 | 30 | 100,0 | <0,001 |
| | Induciran amniotomijom, vaginalni porođaj | 8 | 16,0 | 0 | 0,0 | |
| | Inducirani prostaglandinima, vaginalni porođaj | 6 | 12,0 | 0 | 0,0 | |
| | Planirani carski rez | 7 | 14,0 | 0 | 0,0 | |
| | Hitni carski rez | 17 | 34,0 | 0 | 0,0 | |
| Spol djeteta | Muški | 20 | 40,0 | 12 | 40,0 | 1,000 |
| | Ženski | 30 | 60,0 | 18 | 60,0 | |
| Potreba za intenzivnom skrbi | Ne | 42 | 84,0 | 30 | 100,0 | 0,022 |
| | Da | 8 | 16,0 | 0 | 0,0 | |
| Potreba za reanimacijom | Ne | 50 | 100,0 | 30 | 100,0 | |
| | Da | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | |
| PHD posteljice | Uredan nalaz | 11 | 22,0 | 30 | 100,0 | <0,001 |
| | Patološki nalaz | 39 | 78,0 | 0 | 0,0 | |

Tablica 4. Razlike u kontinuiranim kliničkim parametrima između ispitivane (IUGR) i kontrolne skupine (Mann-Whitney U test)

| Skupina | | N | Min | Max | Centile | | | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 25. | Medijan | 75. | |
| Trajanje trudnoće u danima | IUGR | 50 | 227,00 | 284,00 | 260,75 | 266,50 | 273,00 | <0,001 |
| | Kontrola | 30 | 261,00 | 289,00 | 272,50 | 278,00 | 283,00 | |
| Porođajna masa (g) | IUGR | 50 | 1360,00 | 2940,00 | 2037,50 | 2375,00 | 2535,00 | <0,001 |
| | Kontrola | 30 | 2950,00 | 3990,00 | 3295,00 | 3485,00 | 3692,50 | |
| Centila porođajne mase | IUGR | 50 | 1,00 | 9,00 | 1,00 | 1,00 | 3,00 | <0,001 |
| | Kontrola | 30 | 24,00 | 88,00 | 43,50 | 58,50 | 78,25 | |
| Apgar 1. minuta | IUGR | 50 | 3,00 | 10,00 | 9,00 | 10,00 | 10,00 | <0,001 |
| | Kontrola | 30 | 9,00 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | |
| Apgar 5. minuta | IUGR | 50 | 6,00 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | 0,014 |
| | Kontrola | 30 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | 10,00 | |
| Masa posteljice (g) | IUGR | 50 | 209,00 | 520,00 | 287,25 | 325,00 | 380,00 | <0,001 |
| | Kontrola | 30 | 347,00 | 595,00 | 420,00 | 450,00 | 480,00 | |

Kronični infarkt posteljice je bila najčešće postavljena dijagnoza u patohistološkoj analizi posteljica (tablica 5).

Tablica 5. Popis dijagnoza navedenih u nalazima patohistoloških analiza posteljica

| Dijagnoza | Broj posteljica |
|---|---|
| Infarctus chronicus placentae | 16 |
| Chorangiosis placentae | 9 |
| Minimalno hipoksično oštećenje | 6 |
| Villitis chronica | 6 |
| Thrombosis intervillosa placentae | 4 |
| Placenta partim circumvallata | 2 |
| Fibrosis villorum placentae | 2 |
| Oedema funiculi umbilicalis | 2 |
| Chorioanqioma placentae | 2 |
| Placenta succtenturiata | 2 |
| Insertio velamentosa funiculi umbilicalis | 2 |
| Insertio marginalis funiculi umbilicalis. | 1 |
| Thrombosis subchorialis placentae | 1 |
| Haematoma retroplacentare | 1 |
| Chorioamnionitis acuta | 1 |
| Haemorrhagia deciduae basalis | 1 |
| Deciduitis membranosa acuta focalis. | 1 |
| Arteria una funiculi umbilicalis | 1 |
| Maturitas retarda placentae | 1 |

Analiza povezanosti mase posteljice iz IUGR skupine s ostalim promatranim parametrima pokazala je statistički značajnu pozitivnu korelaciju s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze, RI MCA, C/U omjerom, trajanjem trudnoće, porođajnom masom djeteta, dok je statistički negativna korelacija nađena s RI UA, potrebom za intenzivnom skrbi, UZV mozga, ATNAT testom (tablica 6).

Tablica 6. Povezanost parametra mase insuficijentne posteljice s ostalim promatranim parametrima (žuto označena polja označavaju statistički signifikantnu razliku)

| | | **Masa posteljice** |
|---|---|---|
| Dob majke | Korelacijski koeficijent | 0,014 |
| | P | 0,887 |
| Gestacijska dob postavljanja dijagnoze | Korelacijski koeficijent | 0,242 |
| | P | 0,015 |
| RI AU | Korelacijski koeficijent | -0,279 |
| | P | 0,006 |
| RI ACM | Korelacijski koeficijent | 0,225 |
| | P | 0,026 |
| C/U omjer | Korelacijski koeficijent | 0,354 |
| | P | <0,001 |
| Trajanje trudnoće | Korelacijski koeficijent | 0,279 |
| | P | 0,005 |
| Porođajna masa | Korelacijski koeficijent | 0,431 |
| | P | <0,001 |
| pO2 (vena) | Korelacijski koeficijent | 0,177 |
| | P | 0,074 |
| pCO2 (vena) | Korelacijski koeficijent | -0,072 |
| | P | 0,466 |
| pH (vena) | Korelacijski koeficijent | 0,143 |
| | P | 0,154 |
| pO2 (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,184 |
| | P | 0,064 |
| pCO2 (arterija) | Korelacijski koeficijent | -0,135 |
| | P | 0,174 |
| pH (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,006 |
| | P | 0,953 |
| APGAR 1. min | Korelacijski koeficijent | 0,074 |
| | P | 0,511 |

| | | Masa posteljice |
|---|---|---|
| APGAR 5. min | Korelacijski koeficijent | 0,042 |
| | P | 0,716 |
| Količina plodove vode | Korelacijski koeficijent | -0,085 |
| | P | 0,474 |
| CTG | Korelacijski koeficijent | -0,015 |
| | P | 0,896 |
| Potreba za intenzivnom skrbi | Korelacijski koeficijent | -0,265 |
| | P | 0,026 |
| Neurološki status po ATNAT | Korelacijski koeficijent | -0,234 |
| | P | 0,038 |
| UZV mozga djeteta | Korelacijski koeficijent | -0,286 |
| | P | 0,012 |
| PHD posteljice | Korelacijski koeficijent | -0,015 |
| | P | 0,897 |
| Ekspresija VEGF-a | Korelacijski koeficijent | 0,002 |
| | P | 0,985 |

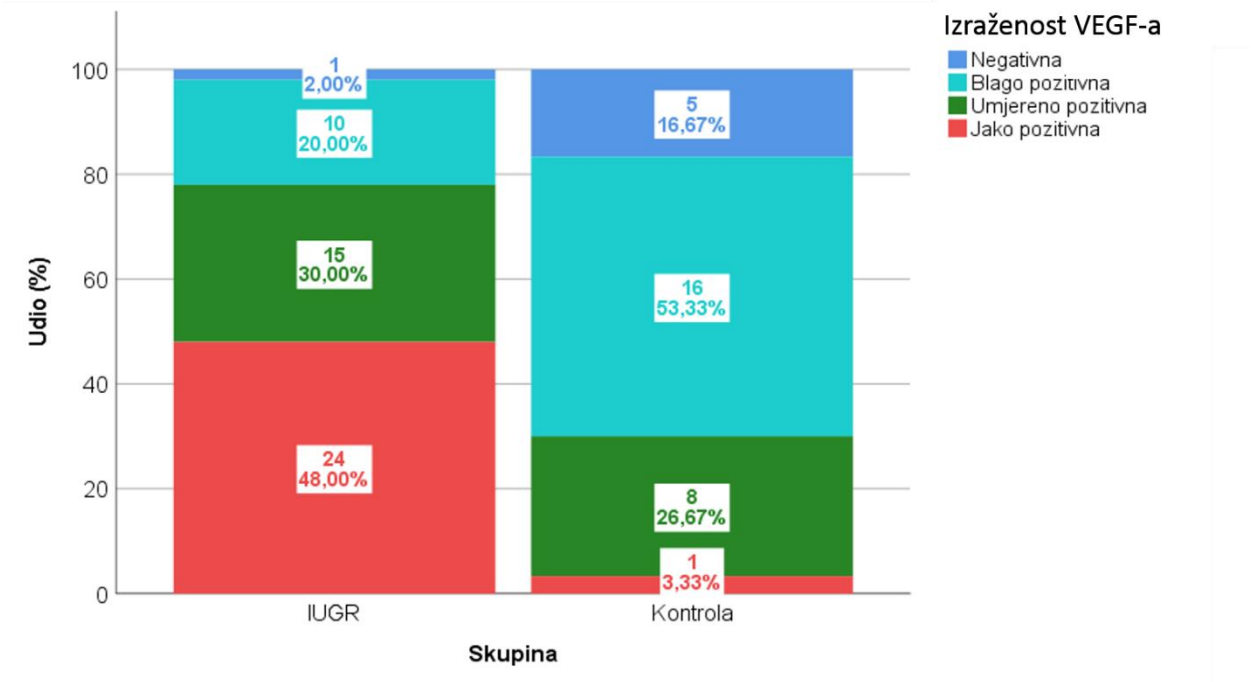
## 5.2 Analiza izraženosti posteljičnog VEGF-a

### 5.2.1 Usporedba izraženosti VEGF-a u urednim i insuficijentnim posteljicama

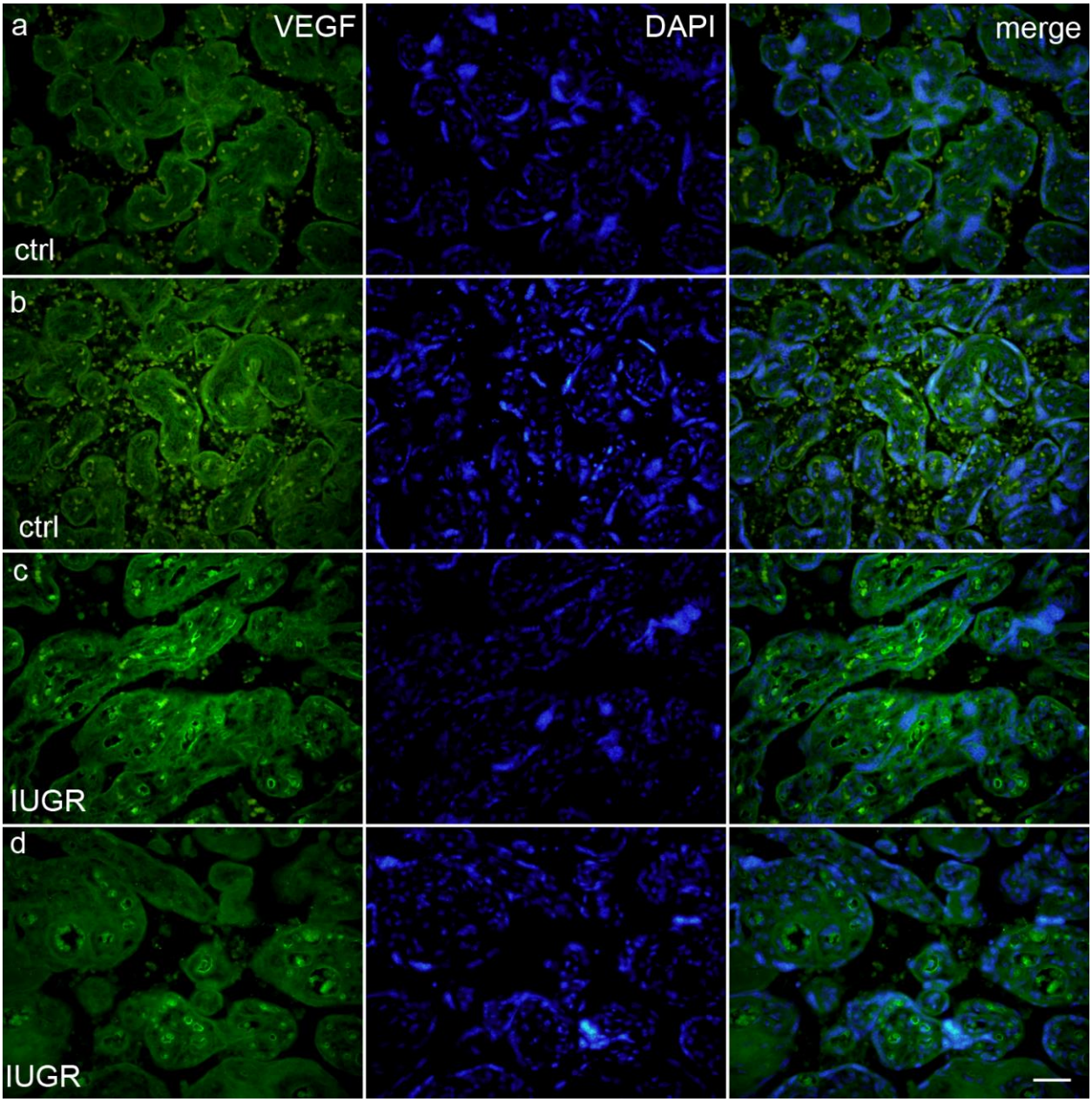
U IUGR skupini značajno je češće zastupljena umjerena i jako pozitivna izraženost VEGF-a (tablica 7, slika 4, slika 5).

Tablica 7. Razlike u izraženosti VEGF-a između ispitivane i kontrolne skupine (Fisher-Freeman-Haltonov test)

| | | Skupina | | | | P |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | IUGR | | Kontrola | | |
| | | N | % | N | % | |
| Izraženost VEGF-a | Negativna | 1 | 2,0% | 5 | 16,7% | <0,001 |
| | Blago pozitivna | 10 | 20,0% | 16 | 53,3% | |
| | Umjereno pozitivna | 15 | 30,0% | 8 | 26,7% | |
| | Jako pozitivna | 24 | 48,0% | 1 | 3,3% | |

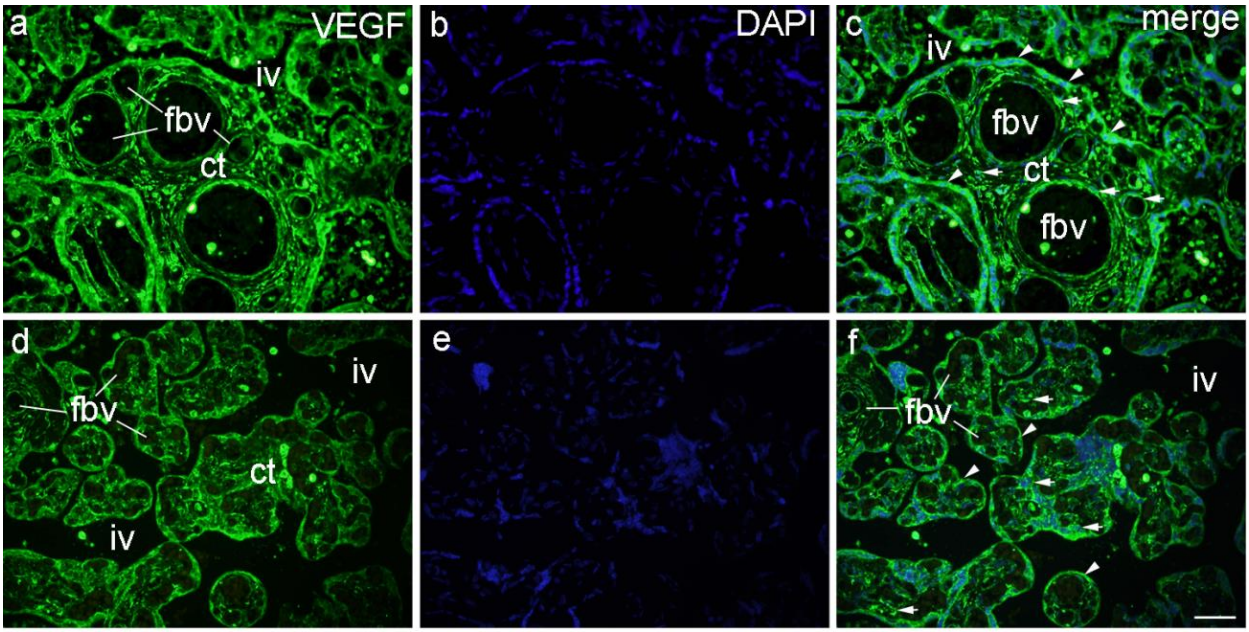



Slika 4. Razlike u izraženosti VEGF-a između ispitivane i kontrolne skupine.




Slika 5. Prikaz semikvantitativne analize izraženosti VEGF-a u insuficijentnim i kontrolnim posteljicama. **Slike a i b** prikazuju posteljice iz urednih trudnoća u kojih je izraženost VEGF-a bila blaga (+). **Slika c** posteljica iz IUGR skupine, izraženost VEGF-a jaka (+++). **Slika d** posteljica iz IUGR skupine, izraženost VEGF-a umjerena (++). Mjerna ljestvica 25 mikrometara, DAPI (fluorescentno bojanje jezgara), merge (preklop slika), ctrl (kontrola), IUGR (intrauterini zastoj rasta).

Na slici 6 je prikazana imunoflurescentna analiza izraženosti VEGF-a u urednoj i insuficijentnoj posteljici. U urednoj posteljici resice su histološki uredno razgranate i vaskularizirane za treći trimester trudnoće. Izražaj VEGF-a je negativan do blag, a prisutan je u endotelu fetalnih krvnih žila, vezivnom tkivu resice i sinciciotrofoblastu. U insuficijentnoj posteljici, resice su pojačano vaskularizirane, edematozne, sa zadebljanim sinciciotrofoblastom u kojem se stvaraju sincicijalne membrane te mnoštvom fibrinskih depozita u interviloznim prostorima. Izražaj VEGF-a je također prisutan u endotelu fetalnih krvnih žila, vezivnom tkivu resice i sinciciotrofoblastu, ali je umjeren do jak.




Slika 6. Prikaz imunofluorescentne analize izraženosti VEGF-a u IUGR (**Slike a-c**) i kontrolnoj posteljici (**Slike d-f**). Strelicom označene VEGF pozitivne stanice mogu se vidjeti u endotelu fetalnih krvnih žila (fbv), vezivnom tkivu resica (ct) i sinciciotrofoblastu (vrh strelice); intervilozni prostor (iv). **Slike b i e** prikazuju DAPI bojanje (fluorescentno bojanje jezgara). **Slika c** prikazuje preklapanje a-b. **Slika f** prikazuje preklapanje d-e. Povećanje ×40, mjerna ljestvica 25 mikromerata (μm).

## 5.3 Povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda IUGR novorođenčadi

Učinjena je analiza povezanosti izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda IUGR novorođenčadi procijenjenog UZV mozga i ATNAT testom, ali nisu utvrđene statistički značajne korelacije (tablica 8). Dodatno je analizirana povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a s ostalim promatranim parametrima u istraživanju, ali niti u toj analizi nisu nađene statistički značajne korelacije (tablica 9).

Tablica 8. Povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih IUGR-om

| | | **ATNAT** | **UZV mozga** |
|---|---|---|---|
| **Izraženost VEGF-a** | Korelacijski koeficijent | 0.028 | 0.116 |
| | P | 0.823 | 0.369 |

Tablica 9. Povezanost izraženosti VGFA-a s ostalim promatranim parametrima

| | | **Izraženost VEGF-a** |
|---|---|---|
| Dob majke | Korelacijski koeficijent | 0,043 |
| | P | 0,702 |
| Gestacijska dob postavljanja dijagnoze | Korelacijski koeficijent | 0,145 |
| | P | 0,197 |
| RI UA | Korelacijski koeficijent | 0,059 |
| | P | 0,604 |
| RI MCA | Korelacijski koeficijent | 0,009 |
| | P | 0,935 |
| C/U omjer | Korelacijski koeficijent | -0,046 |
| | P | 0,683 |
| Trajanje trudnoće | Korelacijski koeficijent | 0,084 |
| | P | 0,456 |
| Porođajna masa | Korelacijski koeficijent | 0,061 |
| | P | 0,586 |

| | | Izraženost VEGF-a |
|---|---|---|
| pO2 (vena) | Korelacijski koeficijent | 0,147 |
| | P | 0,188 |
| pCO2 (vena) | Korelacijski koeficijent | -0,044 |
| | P | 0,696 |
| pH (vena) | Korelacijski koeficijent | 0,079 |
| | P | 0,484 |
| pO2 (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,058 |
| | P | 0,605 |
| pCO2 (arterija) | Korelacijski koeficijent | -0,121 |
| | P | 0,280 |
| pH (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,048 |
| | P | 0,669 |
| Apgar 1. min | Korelacijski koeficijent | 0,047 |
| | P | 0,715 |
| Apgar 5. min | Korelacijski koeficijent | 0,184 |
| | P | 0,162 |
| Paritet | Korelacijski koeficijent | -0,107 |
| | P | 0,399 |
| Količina plodove vode | Korelacijski koeficijent | 0,232 |
| | P | 0,085 |
| CTG | Korelacijski koeficijent | 0,104 |
| | P | 0,428 |
| Potreba za intenzivnom skrbi | Korelacijski koeficijent | -0,071 |
| | P | 0,596 |
| Neurološki status po ATNAT | Korelacijski koeficijent | 0,028 |
| | P | 0,823 |
| UZV mozga djeteta | Korelacijski koeficijent | 0,116 |
| | P | 0,369 |
| PHD posteljice | Korelacijski koeficijent | 0,082 |
| | P | 0,543 |

## 5.4 Analiza praćenih parametara IUGR skupine prema spolu

U ispitivanoj skupini nije bilo značajnih razlika u promatranim parametrima obzirom na spol djeteta (tablica 10).

Tablica 10. Razlike u pojedinim kliničkim kategorijskim varijablama obzirom na spol djeteta (Fisher-Freeman-Haltonov test)

| IUGR skupina | | Spol djeteta | | | | P |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Muški | | Ženski | | |
| | | N | % | N | % | |
| Povišen RI UA za gestacijsku dob | Ne | 15 | 75,0 | 20 | 66,7 | 0,754 |
| | Da | 5 | 25,0 | 10 | 33,3 | |
| Količina plodove vode | Uredna | 19 | 95,0 | 28 | 93,3 | 1,000 |
| | Smanjena | 1 | 5,0 | 2 | 6,7 | |
| CTG | Uredan nalaz | 14 | 70,0 | 23 | 76,7 | 0,373 |
| | Prepatološki nalaz | 4 | 20,0 | 2 | 6,7 | |
| | Patološki nalaz | 2 | 10,0 | 5 | 16,7 | |
| Način porođaja | Spontani početak, vaginalni porođaj | 5 | 25,0 | 7 | 23,3 | 0,903 |
| | Inducirani amniotomijom, vaginalni porođaj | 4 | 20,0 | 4 | 13,3 | |
| | Inducirani prostaglandinima, vaginalni porođaj | 3 | 15,0 | 3 | 10,0 | |
| | Planirani carski rez | 2 | 10,0 | 5 | 16,7 | |
| | Hitni carski rez | 6 | 30,0 | 11 | 36,7 | |
| Potreba za intenzivnom skrbi | Ne | 17 | 85,0 | 25 | 83,3 | 1,000 |
| | Da | 3 | 15,0 | 5 | 16,7 | |
| Neurološki status po ATNAT | Uredan | 11 | 55,0 | 10 | 33,3 | 0,235 |
| | Blago odstupanje | 6 | 30,0 | 10 | 33,3 | |
| | Umjereno odstupanje | 3 | 15,0 | 10 | 33,3 | |
| | Teško odstupanje | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | |
| ATNAT (uredan ili patološki) | Uredan nalaz | 11 | 55,0 | 10 | 33,3 | 0,154 |
| | Patološki nalaz | 9 | 45,0 | 20 | 66,7 | |
| UZV mozga djeteta | Uredan | 12 | 60,0 | 15 | 50,0 | 0,457 |
| | Intraventrikularna hemoragija | 4 | 20,0 | 11 | 36,7 | |
| | Periventrikularna leukomalacija | 4 | 20,0 | 4 | 13,3 | |
| UZV mozga djeteta (uredan ili patološki) | Uredan nalaz | 12 | 60,0 | 15 | 50,0 | 0,569 |
| | Patološki nalaz | 8 | 40,0 | 15 | 50,0 | |
| PHD posteljice | Uredan nalaz | 4 | 20,0 | 7 | 23,3 | 1,000 |
| | Patološki nalaz | 16 | 80,0 | 23 | 76,7 | |
| Izraženost VEGF-a | Negativna ekspresija | 1 | 5,0 | 0 | 0,0 | 0,321 |
| | Blago pozitivna | 2 | 10,0 | 8 | 26,7 | |
| | Umjereno pozitivna | 6 | 30,0 | 9 | 30,0 | |
| | Jako pozitivna | 11 | 55,0 | 13 | 43,3 | |

## 5.5 Analiza acidobaznog statusa krvi pupkovine IUGR novorođenčadi

Tablica 11. Deskriptivna statistika mjerenih parametara acidobaznog statusa krvi pupkovine IUGR novorođenčadi

| Skupina | Srednja vrijednost | SD | Min | Max | Centile | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 25. | Median | 75. |
| pO2 (kPa) (vena) | 3.86 | 0.92 | 2.19 | 5.57 | 3.04 | 3.95 | 4.68 |
| pCO2 (kPa) (vena) | 5.66 | 1.05 | 3.49 | 7.90 | 5.09 | 5.62 | 6.08 |
| pH (vena) | 7.30 | 0.07 | 7.12 | 7.44 | 7.25 | 7.30 | 7.36 |
| pO2 (kPa) (arterija) | 2.99 | 0.78 | 1.20 | 5.70 | 2.39 | 2.90 | 3.52 |
| pCO2 (kPa) (arterija) | 5.85 | 1.11 | 3.14 | 8.80 | 5.48 | 5.90 | 6.31 |
| pH (arterija) | 7.23 | 0.07 | 7.06 | 7.36 | 7.19 | 7.24 | 7.30 |

Analizom venske krvi pupkovine veća vrijednost pO2 pozitivno korelira s trajanjem trudnoće i porođajnom masom, veća vrijednost pCO2 negativno korelira s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze, dok veća vrijednost pH negativno korelira s RI AU, a pozitivno s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze, porođajnom masom, Apgarom u 1. minuti i ultrazvučnim nalazom mozga novorođenčeta. Veća vrijednost pO2 arterijske krvi korelira s RI MCA i C/U omjerom, a veća vrijednost pCO2 negativno korelira s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze i C/U omjerom. Veća vrijednost pH arterijske krvi pozitivno korelira s Apgarom u 1. minuti i negativno s UZV mozga. Opisane povezanosti parametara acidobaznog statusa s ostalim promatranim parametrima su prikazane u tablici 12.

Tablica 12. Povezanost parametara acidobaznog statusa pupkovine IUGR novorođenčadi s ostalim promatranim parametrima (žuto označena polja označavaju statistički signifikantnu razliku)

| | | pO2 (vena) | pCO2 (vena) | pH (vena) | pO2 (arterija) | pCO2 (arterija) | pH (arterija) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gestacijska dob postavljanja dijagnoze | Korelacijski koeficijent | 0,147 | -0,206 | 0,204 | 0,104 | -0,246 | 0,170 |
| | P | 0,136 | 0,036 | 0,041 | 0,295 | 0,013 | 0,089 |
| RI UA | Korelacijski koeficijent | -0,097 | 0,174 | -0,210 | -0,066 | 0,174 | -0,126 |
| | P | 0,330 | 0,081 | 0,037 | 0,513 | 0,082 | 0,214 |

| | | pO2 (vena) | pCO2 (vena) | pH (vena) | pO2 (arterija) | pCO2 (arterija) | pH (arterija) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| RI MCA | Korelacijski koeficijent | -0,021 | 0,070 | 0,008 | 0,198 | -0,139 | -0,013 |
| | P | 0,834 | 0,486 | 0,940 | 0,049 | 0,168 | 0,900 |
| C/U omjer | Korelacijski koeficijent | 0,063 | -0,120 | 0,163 | 0,202 | -0,239 | 0,098 |
| | P | 0,519 | 0,219 | 0,100 | 0,040 | 0,015 | 0,322 |
| Količina plodove vode | Korelacijski koeficijent | 0,010 | 0,080 | -0,005 | 0,007 | -0,160 | 0,140 |
| | P | 0,935 | 0,500 | 0,967 | 0,951 | 0,177 | 0,244 |
| CTG | Korelacijski koeficijent | 0,194 | -0,061 | 0,152 | 0,175 | -0,087 | 0,097 |
| | P | 0,090 | 0,592 | 0,189 | 0,128 | 0,450 | 0,405 |
| Trajanje trudnoće | Korelacijski koeficijent | 0,200 | -0,073 | 0,170 | 0,115 | -0,131 | 0,076 |
| | P | 0,044 | 0,461 | 0,090 | 0,247 | 0,188 | 0,450 |
| Porođajna masa | Korelacijski koeficijent | 0,218 | -0,114 | 0,237 | 0,133 | -0,129 | 0,122 |
| | P | 0,027 | 0,248 | 0,017 | 0,180 | 0,194 | 0,221 |
| pO2 (vena) | Korelacijski koeficijent | 1,000 | -0,029 | 0,304 | 0,495 | 0,012 | 0,145 |
| | P | | 0,770 | 0,002 | <0,001 | 0,907 | 0,145 |
| pCO2 (vena) | Korelacijski koeficijent | -0,029 | 1,000 | -0,420 | -0,049 | 0,391 | -0,347 |
| | P | 0,770 | | <0,001 | 0,621 | <0,001 | <0,001 |
| pH (vena) | Korelacijski koeficijent | 0,304 | -0,420 | 1,000 | 0,288 | -0,389 | 0,623 |
| | P | 0,002 | <0,001 | | 0,004 | <0,001 | <0,001 |
| pO2 (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,495 | -0,049 | 0,288 | 1,000 | -0,169 | 0,220 |
| | P | <0,001 | 0,621 | 0,004 | | 0,087 | 0,027 |
| pCO2 (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,012 | 0,391 | -0,389 | -0,169 | 1,000 | -0,328 |
| | P | 0,907 | <0,001 | <0,001 | 0,087 | | 0,001 |
| pH (arterija) | Korelacijski koeficijent | 0,145 | -0,347 | 0,623 | 0,220 | -0,328 | 1,000 |
| | P | 0,145 | <0,001 | <0,001 | 0,027 | 0,001 | |
| Apgar 1. min | Korelacijski koeficijent | -0,110 | -0,062 | 0,256 | -0,063 | -0,160 | 0,222 |
| | P | 0,325 | 0,580 | 0,024 | 0,574 | 0,154 | 0,050 |
| Apgar 5. min | Korelacijski koeficijent | -0,052 | 0,019 | 0,167 | 0,001 | -0,186 | 0,100 |
| | P | 0,651 | 0,870 | 0,152 | 0,990 | 0,108 | 0,392 |
| Potreba za intenzivnom skrbi | Korelacijski koeficijent | 0,020 | 0,106 | -0,220 | -0,044 | 0,208 | -0,224 |
| | P | 0,863 | 0,368 | 0,066 | 0,711 | 0,080 | 0,062 |
| Neurološki status po ATNAT | Korelacijski koeficijent | -0,116 | 0,224 | -0,189 | -0,192 | 0,220 | -0,185 |
| | P | 0,298 | 0,045 | 0,095 | 0,086 | 0,050 | 0,102 |
| UZV mozga djeteta | Korelacijski koeficijent | -0,214 | 0,210 | -0,289 | -0,208 | 0,172 | -0,329 |
| | P | 0,058 | 0,062 | 0,011 | 0,066 | 0,131 | 0,004 |

| | | pO2 (vena) | pCO2 (vena) | pH (vena) | pO2 (arterija) | pCO2 (arterija) | pH (arterija) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| PHD posteljice | Korelacijski koeficijent | 0,080 | 0,044 | 0,059 | 0,083 | 0,121 | 0,074 |
| | P | 0,497 | 0,708 | 0,622 | 0,482 | 0,308 | 0,534 |

## 5.6 Analiza doplerskih parametara IUGR skupine

U tablici 13 prikazana je procjena funkcije posteljice i cerebrovaskularni odgovor fetusa na posteljičnu insuficijenciju praćenjem hemodinamskih parametara (RI UA, RI MCA, C/U omjer).

Povišen RI UA u odnosu na referentne vrijednosti za gestacijsku dob je zabilježen u 15 fetusa (30 %), a snižen RI MCA u odnosu na referentne vrijednosti za gestacijsku dob zabilježen je u 2 fetusa (4%). C/U omjer < 1 je izračunat u 13 fetusa (26%).

Tablica 13. Deskriptivna statistika doplerskih parametara fetoplacentne cirkulacije

| Skupina | Min | Max | Centile | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 25. | Medijan | 75. |
| RI UA | 0,53 | 1,00 | 0,61 | 0,67 | 0,74 |
| RI MCA | 0,55 | 0,85 | 0,69 | 0,72 | 0,77 |
| C/U omjer | 0,62 | 1,60 | 0,98 | 1,10 | 1,19 |

Tablica 14 prikazuje povezanost izmjerenih vrijednosti RI UA, RI MCA i izračunatog C/U omjera s ostalim promatranim parametrima. Veća vrijednost RI UA značajno negativno korelira s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze, trajanjem trudnoće, porođajnom masom, pH venske krvi i masom posteljice (tablica 6), dok značajno pozitivno korelira s potrebom za intenzivnom skrbi, lošijim neurološkim statusom po ATNAT-u i lošijim nalazom UZV mozga (tablica 14).

Veća vrijednost RI MCA značajno pozitivno korelira s arterijskim pO2 (tablica 12), masom posteljice (tablica 6), dok negativno korelira s lošijim neurološkim statusom po ATNAT-u (tablica 14).

Veća vrijednost C/U omjera pozitivno korelira s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze, trajanjem trudnoće, porođajnom masom, pO2 arterijske i venske krvi (tablica 12) i masom posteljice (tablica 6), dok značajno negativno korelira s pCO2 (tablica 12), potrebom za intenzivnom skrbi, lošijim neurološkim statusom po ATNAT-u i lošijim nalazom UZV mozga (tablica 14).

Tablica 14. Povezanost RI UA, RI MCA, C/U omjera s ostalim promatranim parametrima (žuto označena polja označavaju statistički signifikantnu razliku)

| | | RI AU | RI ACM | C/U omjer |
|---|---|---|---|---|
| Gestacijska dob postavljanja dijagnoze | Korelacijski koeficijent | -0,275 | 0,072 | 0,259 |
| | P | 0,006 | 0,475 | 0,009 |
| Gestacijska dob UZV pregleda | Korelacijski koeficijent | -0,250 | 0,059 | 0,205 |
| | P | 0,013 | 0,556 | 0,038 |
| Količina plodove vode | Korelacijski koeficijent | -0,007 | -0,091 | -0,017 |
| | P | 0,951 | 0,448 | 0,886 |
| CTG | Korelacijski koeficijent | 0,017 | -0,141 | -0,084 |
| | P | 0,887 | 0,228 | 0,464 |
| Trajanje trudnoće | Korelacijski koeficijent | -0,286 | 0,078 | 0,254 |
| | P | 0,005 | 0,439 | 0,010 |
| Porođajna masa | Korelacijski koeficijent | -0,369 | 0,058 | 0,328 |
| | P | 0,000 | 0,562 | 0,001 |
| Centila porođajne mase | Korelacijski koeficijent | -0,286 | 0,005 | 0,241 |
| | P | 0,010 | 0,962 | 0,028 |
| Apgar 1. min | Korelacijski koeficijent | -0,106 | -0,072 | 0,083 |
| | P | 0,352 | 0,529 | 0,459 |
| Apgar 5. min | Korelacijski koeficijent | -0,057 | -0,090 | 0,023 |
| | P | 0,624 | 0,442 | 0,841 |
| Potreba za intenzivnom skrbi | Korelacijski koeficijent | 0,350 | -0,192 | -0,383 |
| | P | 0,004 | 0,111 | 0,001 |
| Neurološki status po ATNAT | Korelacijski koeficijent | 0,400 | -0,239 | -0,484 |
| | P | 0,000 | 0,036 | 0,000 |
| UZV mozga djeteta | Korelacijski koeficijent | 0,368 | -0,078 | -0,378 |
| | P | 0,001 | 0,501 | 0,001 |
| PHD posteljice | Korelacijski koeficijent | 0,072 | -0,099 | -0,131 |
| | P | 0,550 | 0,411 | 0,266 |

## 5.7 Neurološki ishod IUGR novorođenčadi

Neurološka procjena novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih IUGR-om učinjena je ultrazvučnim pregledom i ATNAT testom. Ispitanici su prema ultrazvučnom nalazu podijeljeni na dvije skupine (uredan i patološki nalaz), odnosno na tri skupine (uredan nalaz, IVH, PVL) (tablica 15). Prema ATNAT testu ispitanici su također podijeljeni na dvije skupine (uredan i patološki nalaz), odnosno na četiri skupine (uredan nalaz, blago odstupanje, umjereno odstupanje, teško odstupanje) (tablica 15).

Tablica 15. Rani morfološki i funkcionalni neurološki ishodi u novorođenčadi iz trudnoća s IUGR-om

| **Neurološka procjena** | | **Skupina** | |
|---|---|---|---|
| | | **IUGR** | |
| | | **N** | **%** |
| UZV mozga (uredan ili patološki) | Uredan | 27 | 54,0 |
| | Patološki | 23 | 46,0 |
| UZV mozga | Uredan | 27 | 54,0 |
| | IVH Intraventrikularna hemoragija | 15 | 30,0 |
| | PVL Periventrikularna leukomalacija | 8 | 16,0 |
| ATNAT (uredan ili patološki) | Uredan nalaz | 21 | 42,0 |
| | Patološki nalaz | 29 | 58,0 |
| Neurološki status po ATNAT | Uredan | 21 | 42,0 |
| | Blago odstupanje | 16 | 32,0 |
| | Umjereno odstupanje | 13 | 26,0 |
| | Teško odstupanje | 0 | 0,0 |

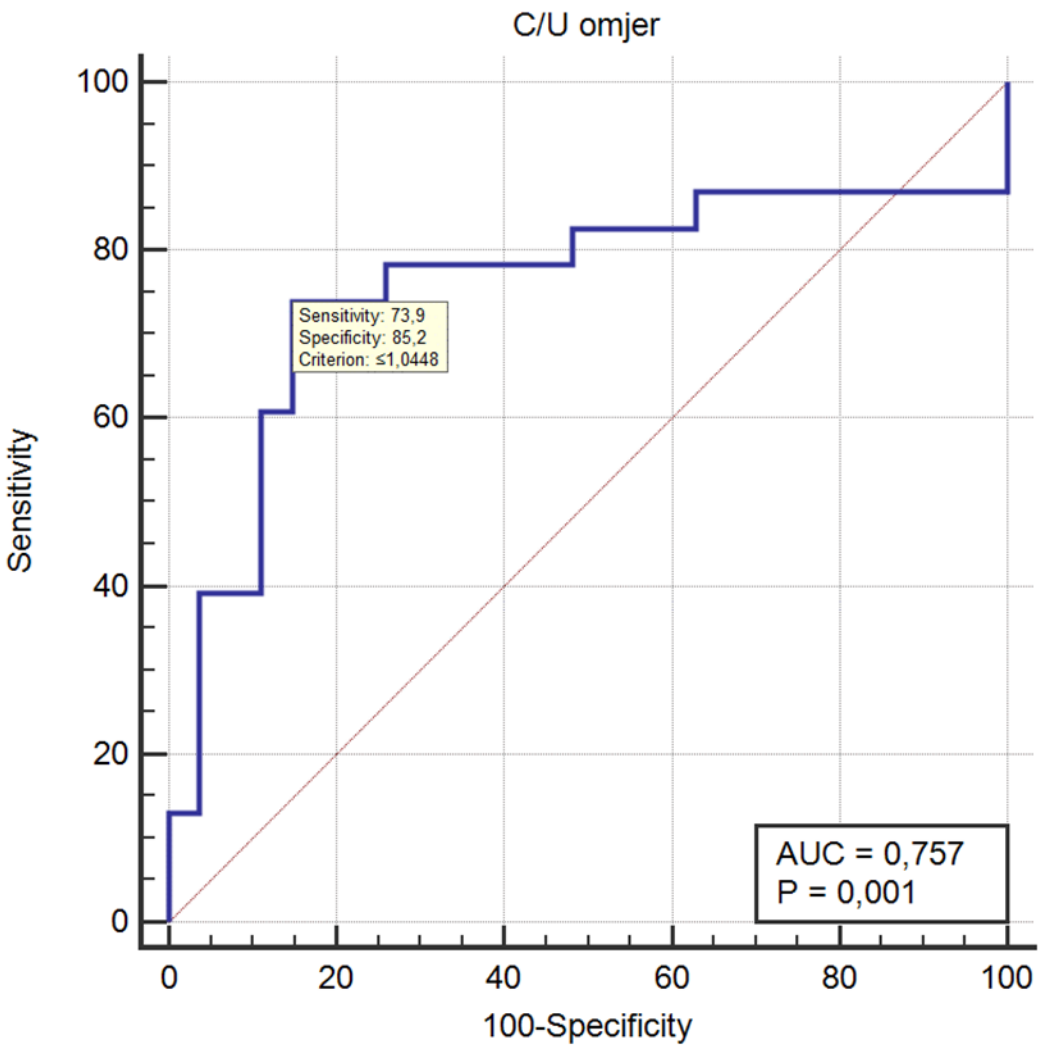
Analiza korelacije po ultrazvučnom nalazu za dvije skupine utvrdila je da patološki nalaz UZV mozga značajno negativno korelira s trajanjem trudnoće, porođajnom masom, pH venske i arterijske krvi (tablica 12), masom posteljice (tablica 6) i C/U omjerom (tablica 14), dok značajno pozitivno korelira s RI AU (tablica 14), potrebom za intenzivnom skrbi te lošijim neurološkim statusom po ATNAT-u.

Analiza korelacije po ATNAT-u za dvije skupine pokazala je pozitivnu povezanost patološkog ATNAT testa i RI AU (tablica 14), pCO2 venske krvi (tablica 12) i potrebe za intenzivnom skrbi. Negativna korelacija je utvrđena za parametre gestacijska dob u

trenutku postavljanja dijagnoze, RI ACM (tablica 14), C/U omjer (tablica 14), trajanje trudnoće, porođajna masa i masa posteljice (tablica 6).

### 5.8 ROC analiza

Najbolju povezanost s neurološkim oštećenjem prema ultrazvučnom nalazu mozga i ATNAT testu pokazao je C/U omjer, a potom povišen RI UA. Test korelacije ne može odrediti graničnu vrijednost C/U omjera i RI UA vrijednosti u predikciji patoloških neuroloških nalaza. Zato je učinjena ROC analiza. Svrha ROC analize je bila odrediti graničnu vrijednost promatranog parametra, kao i izračunati njegovu senzitivnost i specifičnost (174–176). Rezultati ROC analize su prikazani na slikama 7, 8, 9 i 10 i u tablicama 16, 17, 18, 19 .



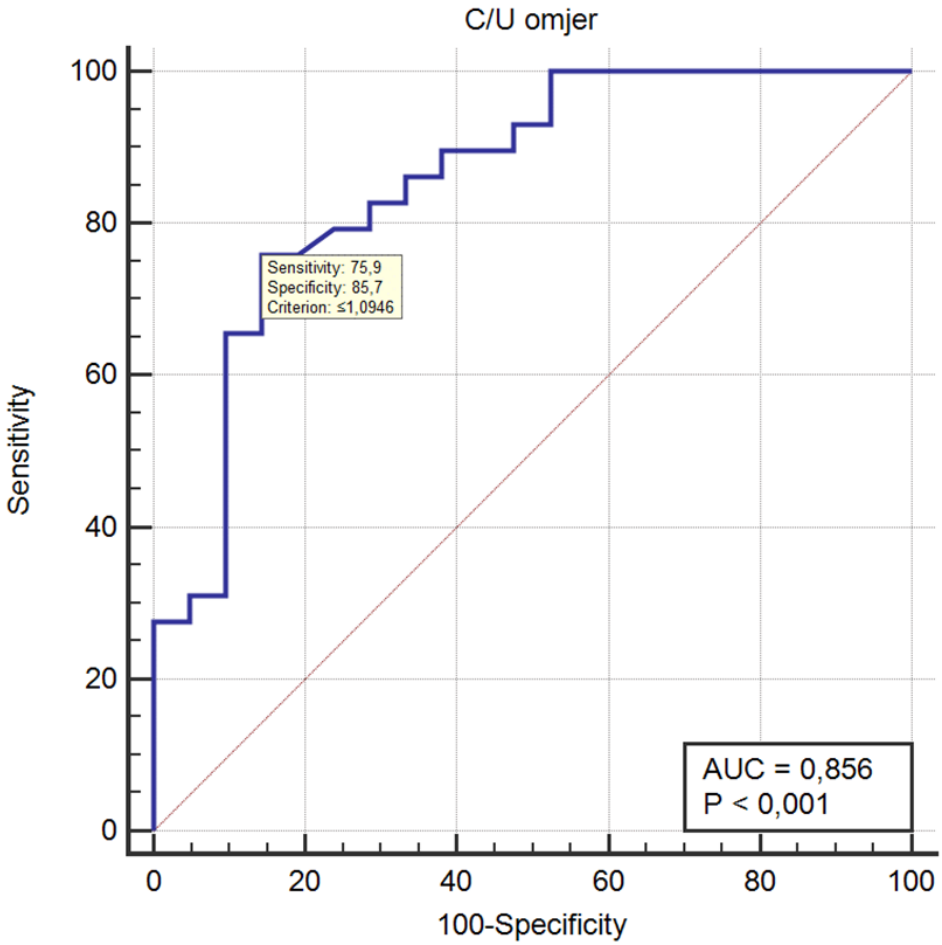

Slika 7. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza UZV mozga.

Tablica 16. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza UZV mozga

| | |
|---|---|
| **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | 0,757 |
| **Standardna greška** | 0,0779 |
| **95% interval pouzdanosti** | 0,615 to 0,867 |
| **z statistika** | 3,297 |
| **P vrijednost** | 0,001 |

**Youdenov indeks**

| | |
|---|---|
| **Youden index J** | 0,591 |
| **Povezani kriterij** | ≤1,044776119 |
| **Osjetljivost** | 73,91 |
| **Specifičnost** | 85,19 |



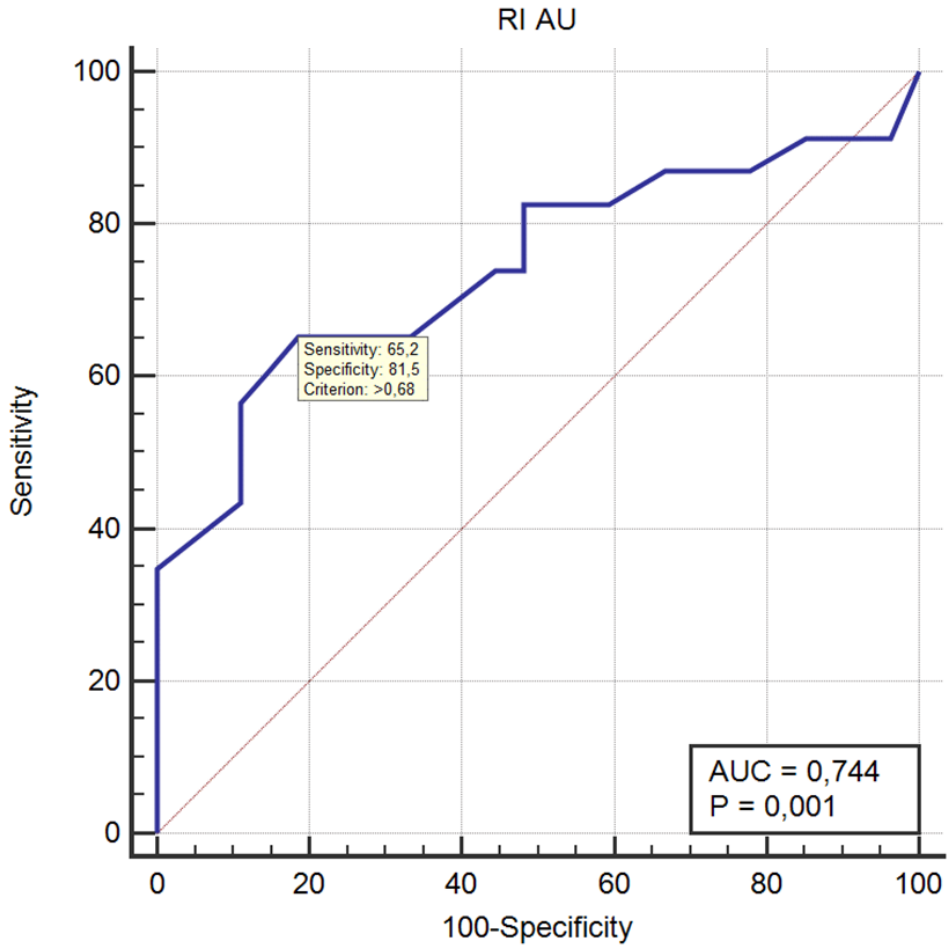

Slika 8. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa.

Tablica 17. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa

| | |
|---|---|
| **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | 0,856 |
| **Standardna greška** | 0,0552 |
| **95% interval pouzdanosti** | 0,728 to 0,939 |
| **z statistika** | 6,451 |
| **P vrijednost** | <0,0001 |

**Youdenov indeks**

| | |
|---|---|
| **Youden index J** | 0,6158 |
| **Povezani kriterij** | ≤1,094594595 |
| **Osjetljivost** | 75,86 |
| **Specifičnost** | 85,71 |



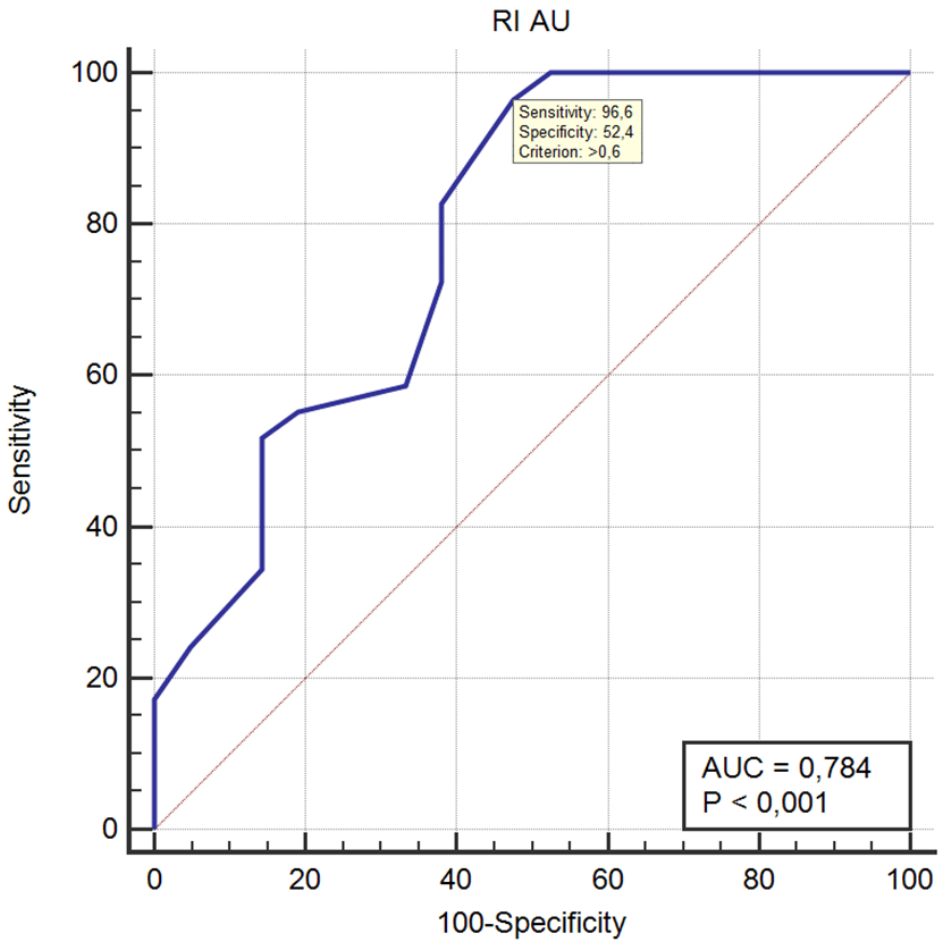

Slika 9. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza UZV mozga.

Tablica 18. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza UZV mozga

| | |
|---|---|
| **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | 0,744 |
| **Standardna greška** | 0,075 |
| **95% interval pouzdanosti** | 0,601 to 0,857 |
| **z statistika** | 3,252 |
| **P vrijednost** | 0,0011 |

**Youdenov indeks**

| | |
|---|---|
| **Youden index J** | 0,467 |
| **Povezani kriterij** | >0,68 |
| **Osjetljivost** | 65,22 |
| **Specifičnost** | 81,48 |




Slika 10. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa.

Tablica 19. ROC analiza RI AU  u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa

| | |
|---|---|
| **Površina ispod ROC krivulje (AUC)** | 0,784 |
| **Standardna greška** | 0,0687 |
| **95% interval pouzdanosti** | 0,645 to 0,888 |
| **z statistika** | 4,133 |
| **P vrijednost** | <0,0001 |

**Youdenov indeks**

| | |
|---|---|
| **Youden index J** | 0,4893 |
| **Povezani kriterij** | >0,6 |
| **Osjetljivost** | 96,55 |
| **Specifičnost** | 52,38 |

# 6 RASPRAVA

## 6.1 Usporedba IUGR i kontrolne skupine

Usporedbom socijalno-demografskih parametara u kontrolnoj i IUGR skupini nije nađena statistički značajna razlika u razini obrazovanja majke, dobi i paritetu (tablica 1, tablica 2). Usporedbom kontrolne i IUGR skupine pokazano je da IUGR skupina ima statistički značajno lošiji perinatalni ishod (tablica 3 i tablica 4). U IUGR skupini je u odnosu na kontrolnu skupinu statistički značajno manja porođajna masa novorođenčeta, niži su Apgar zbrojevi u prvoj i petoj minuti života, kraće je trajanje trudnoće, povećana je učestalost induciranog porođaja i porođaja carskim rezom, veća je učestalost potrebe djece za intenzivnom skrbi. Niti jedno dijete u istraživanju nije bilo reanimirano. Između kontrolne i IUGR skupine nije bilo razlike u podjeli prema spolu novorođenčadi (tablica 3). Osim toga, unutar ispitivane skupine razlika između muške i ženske novorođenčadi nije nađena niti u jednom parametru (tablica 10). Zbog toga je za sve daljnje analize bilo moguće promatrati ispitanike kao jedinstvenu skupinu, neovisno o spolu. Nadalje, nije nađena razlika u ultrazvučno procijenjenoj količini plodove vode (tablica 3). Usporedbom parametara patohistološke i imunofluorescentne analize posteljica nađene su značajne razlike između kontrolne i IUGR skupine u masama posteljica, u opisu patohistološke analize i u izraženosti VEGF-a (tablica 3, tablica 4, tablica 7, slika 4, slika 5, slika 6).

Nuliparitet i kasna dob rađanja smatraju se čimbenicima rizika za razvoj IUGR-a (5). Obrazovanje i zanimanje roditelja ima kompleksan utjecaj na trudnoću i ovisi o brojnim čimbenicima (177). Iz rezultata se može zaključiti da dob majke i paritet u ovoj studiji nisu utjecali na razvoj posteljične insuficijencije. Novija brazilska studija je također pokazala da obrazovanje majke nije čimbenik rizika za rađanje djece male mase i djece male za gestacijsku dob (178). Navedeni rezultati su u skladu s ovim istraživanjem.

Zanimljivo je da nije nađena statistički značajna razlika između kontrolne i IUGR skupine u ultrazvučno mjerenoj količini plodove vode. Oligohidramnij se smatra znakom uznapredovale posteljične insuficijencije (39). Nastaje kao posljedica kompenzacijske preraspodjele krvotoka, smanjenog protoka krvi kroz bubrege i smanjenog stvaranja

fetalnog urina. U IUGR skupini su zabilježena 3 slučaja oligohidramnija. Znači da se u ispitivanoj skupini posteljična insuficijencija nije u statistički značajnoj mjeri odražavala na stvaranje urina i količine plodove vode. Nadalje, u IUGR skupini oligohidramnij nije pokazao korelaciju s doplerskim fetoplacentnim parametrima, perinatalnim ishodom, niti s neurološkim ishodom novorođenčadi. Međutim, treba uzeti u obzir da su bila samo 3 slučaja oligohidramnija i da se na tako malom broju ne mogu donositi zaključci. Prema PORTO studiji, oligohidramnij ima kliničku važnost samo ako je udružen s procijenjenom tjelesnom masom ploda < 3. pc (179). U dva od tri slučaja s oligohidramnijem, porođajna masa je bila na 1. pc, a u trećem na 7. pc.

Kao što je već navedeno u uvodu, lošiji perinatalni ishod je važna karakteristika IUGR-a zbog čega predstavlja veliki perinatološki i javnozdravstveni problem. Usporedbom kontrolne i IUGR skupine pokazano je da IUGR skupina ima statistički značajno lošiji perinatalni ishod. U IUGR skupini je u odnosu na kontrolnu skupinu manja porođajna masa novorođenčeta, niži su Apgar zbrojevi u prvoj i petoj minuti života, kraće je trajanje trudnoće, povećana je učestalost induciranog porođaja i porođaja carskim rezom, veća je učestalost potrebe djece za intenzivnom skrbi (tablica 3, tablica 4). Manja porođajna masa je bila uključni kriterij i čimbenik razlikovanja ove dvije skupine, tako da je statistički značajna razlika očekivana. Medijan porođajne mase u kontrolnoj skupini je iznosio 3 485 g, a medijan porođajne mase u IUGR skupini je iznosio 2375 g., što je razlika od čak 1110 g (tablica 4). Medijan percentile porođajne mase kontrolne skupine je bio na 58. pc. U 80% novorođenčadi IUGR skupine porođajna masa je bila ispod 3. pc (tablica 4). S obzirom da se porođajna masa ispod 3. pc smatra teškim IUGR-om, prema parametru centile porođajne mase većina ispitanika se klasificirala u teški IUGR (5).

U IUGR skupini je utvrđeno statistički značajno kraće trajanje trudnoće u danima. Međutim, prije navršenih 37 tjedana trudnoće porođeno je samo 7 ispitanica (14%), od tih 7 su prije navršenih 34 tjedna trudnoće porođene 2 ispitanice (zbog patološkog CTG zapisa). Nadalje, većina, 43 ispitanice (86%) su porođene u terminu. Terminski IUGR se prema novijim spoznajama i klasifikacijama naziva kasno nastalim IUGR-om (22). Osobitosti takvog tipa zastoja su opisane u uvodu.

IUGR skupina je imala veću učestalost induciranih vaginalnih i porođaja dovršenih carskim rezom. Ukupno je bilo 14 induciranih porođaja (28%) i 24 carska reza (48%) pri čemu treba izdvojiti veliki postotak hitnih carskih rezova (70 % od svih carskih rezova ili 17/24) (tablica 3). Ovako veliki udio hitnih carskih rezova se može interpretirati u skladu s ranije iznesenim spoznajama o slaboj toleranciji hipoksije i intrapartalnog stresa kasno nastalih zastoja u rastu ploda (22). U prilog ovoj tvrdnji ide i veći broj prepatoloških i patoloških CTG zapisa u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu skupinu (tablica 3).

### 6.1.1 Patohistološka analiza posteljica

Usporedbom parametara patohistološke i imunofluorescentne analize posteljica nađene su značajne razlike u opisu patohistološke analize, masama posteljica i u izraženosti VEGF-a (tablica 3, tablica 4, slika 4, slika 5, slika 6).

Sve posteljice iz kontrolne skupine su imale uredan opis patohistološke analize. U ispitivanoj skupini je 22 % preparata imalo uredan opis, dok je 78 % preparata imalo patološki nalaz, odnosno postavljenu dijagnozu u patohistološkom nalazu. Slična raspodjela je potvrđena i od strane drugih autora koji navode samo 21,8% (31/142) urednih patohistoloških opisa u IUGR skupini posteljica (180).

U tablici 5 se nalazi popis dijagnoza opisanih u patohistoloskoj analizi preparata posteljica iz IUGR skupine. Najčešći je bio nalaz kroničnog infarkta posteljice. Prema novijim podacima istodobna prisutnost lezija posteljice povezanih s poremećajem njezine perfuzije (vaskulopatija, infarkt, uznapredovalo sazrijevanja vilusa, perivilozni fibrin, taloženje fibrina) i upalnih lezija (korioamnionitis, funisitis, vaskulitis) predstavlja čimbenik rizika lošijeg perinatalnog ishoda (181). U našem istraživanju je takva kombinacija lezija bila prisutna u 5 posteljica. Međutim, u dvoje novorođenčadi iz tih trudnoća je neurološki ishod prema UZV-u i ATNAT-u bio uredan, u dvoje patološki, a u jednog novorođenčeta je UZV bio patološki, a ATNAT uredan. Stoga se ne može povući paralela sa zaključkom navedenog istraživanja, ali i uzorak naših ispitanika s navedenim kombinacijama dijagnoza je bio vrlo mali (181).

Nijedna posteljična lezija nije patognomična za IUGR, ali mala masa posteljice i mikroskopske lezije su češće od većih anomalija. Nadalje učestaliji su i sljedeći nalazi: anomalije pupkovine, fetalna trombotska vaskulopatija, kronični vilitis nepoznate etiologije i kronični histiocitni intervilitis (182). Utvrđena je veća učestalost nekih posteljičnih lezija (vaskularne lezije, vilitis nepoznatog podrijetla sa vaskulopatijom, anomalijama pupkovine) s neurološkim oštećenjima djeteta, ali bez jasne povezanosti tipa lezije i neurološkog nalaza (182).

U našem istraživanju nađena je statistički značajna razlika u masama posteljica iz ispitivane i kontrolne skupine (tablica 4). Posteljice iz IUGR skupine su u prosjeku lakše od posteljica iz kontrolne skupine. Analiza povezanosti mase posteljica iz IUGR skupine s ostalim promatranim parametrima pokazala je statistički značajnu pozitivnu korelaciju s gestacijskom dobi postavljanja dijagnoze, RI MCA, C/U omjerom, trajanjem trudnoće, porođajnom masom djeteta, dok je negativna korelacija nađena s RI UA, potrebom za intenzivnom skrbi, UZV mozga, ATNAT testom (tablica 6). Znači da je manja masa posteljice bila statistički značajno povezana s lošijim nalazom doplerskih fetoplacentnih parametara, tj. s nižim RI MCA (znak vazodilatacije MCA uslijed redistribucije krvotoka), višim RI UA (odraz veće zahvaćenosti krvožilja posteljice) i nižim C/U omjerom (koji ako je bio manji < 1 ukazuje na prisutnost efekta poštede mozga). Također, i s manjom dobi postavljanja dijagnoze i manjim trajanjem trudnoće, ali mora se uzeti u obzira da posteljica raste kroz trudnoću i da je u manjoj gestaciji lakša. Nadalje, manja masa posteljice je bila povezana s lošijim perinatalnim ishodom IUGR djece, manjom porođajnom masom, potrebom za intenzivnom skrbi, neurološkim ishodom, tj. patološkim UZV nalazom mozga i ATNAT testom. Druge studije također opisuju povezanost mase posteljice i neonatalnog mortaliteta i morbiditeta (184,185). Međutim, istraživanja o povezanosti mase posteljice i neurološkog ishoda nema puno, a rezultati su kontradiktorni. Naime, neki autori navode povezanost veće mase posteljice, > 90 pc i lošijeg neurološkog ishoda, a druge studije povezuju manje mase posteljice, < 10 pc, s lošijim neurološkim ishodom, čak s cerebralnom paralizom (155,156,185–187). Nadalje, istraživanje Eskilda i suradnika je pokazalo da su masa posteljice, kao i omjer mase posteljice i porođajne mase djeteta, bili povezana s Apgar ≤7 (188). U našem istraživanju masa posteljice nije pokazala korelaciju s Apgar zbrojem ni u prvoj niti u petoj minuti

(tablica 6). Ipak, s obzirom na statistički značajnu povezanost mase posteljice s brojnim navedenim parametrima koji upućuju na ozbiljnost posteljične insuficijencije, uključujući neurološki ishod, smanjena masa posteljice se može interpretirati kao indikator smanjene funkcije posteljice i prediktor lošijeg perinatalnog ishoda.

### 6.1.2 Imunofluorescentna analiza posteljica

Statističkom analizom potvrđena je hipoteza da postoji značajna razlika u izraženosti VEGF-a između kontrolnih i IUGR posteljica (tablica 7, slika 4, slika 5, slika 6). U IUGR skupini je bila zastupljenija umjereno i jako pozitivna izraženost VEGF-a, a negativnu izraženost je imala samo 1 ispitanica. Jako pozitivna izraženost je opisana u 48% posteljica u ispitivanoj skupini te u samo 3,33 % posteljica kontrolne skupine. Analizom izraženosti VEGF-a u urednim i insuficijentnim posteljicama utvrđeno je da je u normalnim posteljicama izražaj VEGF-a bio prisutan u endotelu fetalnih krvnih žila, vezivnom tkivu resice i sinciciotrofoblastu (slika 6). U insuficijentnim posteljicama, resice su bile pojačano vaskularizirane, edematozne, sa zadebljanim sinciciotrofoblastom u kojem se stvaraju sincicijalne membrane te mnoštvom fibrinskih depozita u interviloznim prostorima. Izražaj VEGF-a je također bio prisutan u endotelu fetalnih krvnih žila, vezivnom tkivu resice i sinciciotrofoblastu (slika 6). Imunofluorescentna tehnika je odabrana jer u odnosu na PCR ili Western blot metodu može jasno prikazati u kojem dijelu posteljice se nalazi izražaj VEGF-a, dok se u tehnikama poput PCR-a ili Western blota vidi samo ukupni izražaj VEGF-a. Barut i suradnici su pokazali statistički značajno pojačanu izraženost VEGF-A u endotelnim stanicama, sinciciotrofoblastu, citotrofoblastu, izvanresičnom trofoblastu, glatkom mišiću krvnih žila i u stromi resica posteljice s IUGR-om u odnosu na posteljicu iz normalne trudnoće (189). Cheung i suradnici su izraženost VEGF-A dokazali u endovaskularnom, intramuralnom i intersticijskom ekstraviloznom trofoblastu, no osim ove izraženosti u fetalnim kotiledonima, u većim koncentracijama VEGF je bio izražen i u korionu i amnionu (190).

Analiza povezanost izraženosti VEGF-a s ostalim promatranim parametrima prikazana je u tablici 8 i tablici 9. Pojačana izraženost posteljičnog VEGF-a nije bila statistički značajno

povezana s klinički prepartalnim parametrima ni perinatalnim parametrima ishoda trudnoće, uključujući rani morfološki i funkcionalni neurološki nalaz. Komparacija rezultata ovog istraživanja s literaturom je otežana jer ovakva istraživanja do sada nisu provođena. Szentpéteri i suradnici su potvrdili povećanu izraženost VEGF-a u insuficijentnim posteljicama te pronašli pozitivnu povezanost jačine ekspresije i gestacijske dobi (145). Druga grupa autora je uočila povezanost intenziteta VEGF obojanosti i Apgar rezultata u 1. minuti, ali suprotno od naših rezultata, nije bilo razlike u izraženosti VEGF-a između posteljica s IUGR-om i normalnih posteljica. Međutim, ovo istraživanje je provedeno na malom uzorku od samo 17 urednih i 17 insuficijentnih posteljica (146). Naši rezultati nedvojbeno demonstriraju porast izraženosti VEGF-a u insuficijentnim posteljicama. Porast izraženosti VEGF u IUGR posteljicama u odnosu na one iz urednih trudnoća pokazatelj je aktivacije kompenzacijskih mehanizama posteljičnog tkiva. U uvjetima malperfuzije i hipoksije posteljičnog tkiva (zbog poremećaja invazije trofoblasta u spiralne arterije) povećana izraženost VEGF stimulira vaskulogenezu i angiogenezu. Međutim, povećana izraženost VEGF-a ne korelira s posljedicama posteljične insuficijencije, odnosno perinatalnim ishodom, uključujući neurološki ishod novorođenčeta. S obzirom da je ovo prvo istraživanje na tu temu, rezultati se mogu smatrati novom spoznajom.

Unatoč gore navedenim nejasnoćama, jedna animalna studija je pokazala potencijal VEGF-a u terapiji IUGR-a. Autori su uz primjenu vektora (adenovirus) postigli povećanu izraženost VEGF-a i povećan protok krvi u uterinim arterijama u fetusa s IUGR-om. U odnosu na kontrolnu skupinu zabilježeno je povećanje trajanja trudnoće, veća porođajna masa i više razine glukoze u krvi (191). Ovako obećavajući rezultati su potakli rasprave o prvoj genskoj intrauterinoj terapiji. Prva genska terapija u ljudi je primjenjena devedesetih godina prošlog stoljeća. Od 2017. godine se provodi 6-godišnja, prospektivna, multicentrična studija čiji cilj je stvaranje fenotipske baze podataka za teški, rano nastali IUGR. Dizajn ove studije ima brojne sličnosti s našim istraživanjem. Rezultati će se koristiti u daljnjim istraživanjima genske terapije posteljične insuficijencije VEGF-om i to u liječenju ranog, vrlo teškog IUGR-a (192).

## 6.2 Analiza acidobaznog statusa krvi pupkovine IUGR novorođenčadi

Održavanje fetalnog acidobaznog statusa unutar uskih normalnih vrijednosti od izuzetnog je značaja jer već mala odstupanja jako narušavaju homeostazu i funkcioniranje vitalnih sustava, kao što je središnji živčani i kardiovaskularni sustav (193). Dva glavna fetalna pufera su bikarbonati i hemoglobin; anorganski fosfati, eritrocitni bikarbonati i albumini imaju manju ulogu (194). Posteljica igra značajnu ulogu u održavanju razine bikarbonata u puferiranju fetalne krvi. U studiji koja je koristila model humane posteljice, zakiseljavanje majčinske strane cirkulacije nije značajno promijenilo acidobazni status fetusa i došlo je do izlijevanja bikarbonata iz posteljice u majčinu cirkulaciju (195).

Iako je fiziologija fetalne acidobazne ravnoteže slična onoj novorođenačkoj, postoje razlike. Fetus ne kompenzira acidemiju istim respiracijskim ili bubrežnim mehanizmima kao novorođenče (196). Naime, fetus prvenstveno ovisi o posteljici koja će djelovati poput pluća i bubrega u kompenzaciji acidemije jer ima respiracijsku i ekskrecijsku funkciju (193,197).

Smatra se da arterijska krv pupkovine odražava prvenstveno fetalni metabolizam, a venska funkciju posteljice (198). Fetalna acido-bazna ravnoteža može se procijeniti na više načina: antepartalno analizom krvi dobivenom kordocentezom, intrapartalno analizom krvi fetalnog vlasišta, postpartalno, tj. neposredno nakon rođenja djeteta analizom krvi pupkovine (196). Preporuča se učiniti analizu acidobaznog statusa krvi iz pupkovine nakon porođaja kod svih stanja kod koji postoji sumnja na poremećaje fetalnog metabolizma, kao što je npr**.** IUGR (172).

Fetusi koji imaju IUGR uzrokovan posteljičnom insuficijencijom kronično su hipoksemični, hipoglikemični te imaju povišenu koncentraciju laktata u krvi (53). U sveukupnoj populaciji naših ispitanika IUGR medijan arterijskog i venskog pH, kao i pCO2 i pO2 (tablica 11) je vrlo sličan medijanu ovih vrijednosti u urednim trudnoćama (arterijski pH 7,24, venski pH 7,29, arterijski pO2 2,98 kPa,venski pO2 3,74 kPa, arterijski pCO2 7,02, venski pCO2 5,7) (199). Nalazi plinova vezani uz posteljičnu funkciju mogli bi ukazivati da kompenzacijski mehanizam povećane izraženosti VEGF-a funkcionira. Fetalni pH je

obično 0,1 jedinicu niži od majčinog pH. Srednja pH vrijednosti pupčane arterijske krvi, deficit baza i vrijednosti pO2 i pCO2 za prijevremeno rođenu i terminsku djecu gotovo su identične, s malim razlikama u vrijednostima između studija ovisno o populaciji bolesnika (200–204). Normalni pH pupčane vene nešto je viši od pH pupčane arterije (7,25 do 7,45 nasuprot 7,18-7,38 (201).

Povezanost parametara acidobaznog statusa krvi pupkovine s perinatalnim ishodom i neurološkom procjenom novorođenčeta prikazana je u tablici 12. Poznato je da je rizik neonatalnog morbiditeta obrnuto povezan s pH pupčane krvi; što je niži pH veći je rizik (205,206). Velika metaanaliza u koju su bile uključene 51 studija i ukupno 481 753 djece dokazala je da je nizak pH arterijske pupčane krvi značajno povezan s neonatalnom smrtnošću, hipoksičnom ishemijskom encefalopatijom, intraventrikularnom hemoragijom ili periventrikularnom leukomalacijom i cerebralnom paralizom (205). Goldaber i suradnici su htjeli preciznije definirati granični patološki pH pupčane krvi (207). U ispitivanoj skupini je bilo 3506 novorođenčadi (2500 g ili više) s pH pupčane arterije ispod 7,20; ta novorođenčad podijeljena je u pet pH skupina: pH manji od 7,00, pH 7,00-7,04, 7,05-7,09, 7,10-7,14 i 7,15-7,19. Dvije trećine novorođenčadi s pH pupčane arterije manjim od 7,00 imalo je metaboličku komponentu u svojoj acidemiji, u usporedbi s 13,7% ili manje u svim ostalim pH skupinama. Nadalje, pH<7 je bio povezan s Apgar zbrojem <3 u 1. i 5. minuti. Pored toga, neonatalna smrt bila je značajno češća kod novorođenčadi s pH manjim od 7,00. Autori su definirali patološku fetalnu acidemiju pri pH umbilikalne krvi manjim od 7,00 (207). Predloženi prag za definiranje patološke fetalne acidemije od strane više autora je pH pupčane arterije <7,00 (172,207–213), koji se javlja u približno 4 na 1000 morfološki uredne terminske novorođenčadi (214). Međutim, i dalje ostaje nejasan hipoksični ili ishemični prag pri kojem dolazi do neuronalne nekroze mozga u razvoju (172).

Iz tablice 11 je vidljivo da je u našoj ispitivanoj skupini najniža vrijednost pH arterijske krvi iznosila 7,06, a najniža vrijednost pH venske krvi je bila 7,12. Dakle, niti jedno dijete u ispitivanoj skupini nije bilo u skupini patološke acidemije. Bez obzira na takve vrijednosti, udio neuroloških odstupanja je velik (tablica 15). Morfološki neurološki status prema ultrazvučnom pregledu mozga bio je patološki u 58% novorođenčadi, a funkcionalni

neurološki status prema ATNAT testu je opisan kao patološki u 46% ispitanika. Ovako veliki broj patoloških neuroloških nalaza novorođenčadi unatoč pH vrijednostima venske krvi 7,12-7,44 i arterijske krvi 7,06-7,36 (većina ispitanika je pH vrijednosti imala iznad 7,2), koje nisu kategorizirane kao patološka acidemija, mogao bi se objasniti iscrpljenošću fetalnog organizma dugotrajnim stanjem nedostatne nutritivne opskrbe koje predstavlja nepovoljan metabolički okoliš razvijajućem središnjem živčanom sustavu.

Poznato je da IUGR fetusi slabije podnose porođaj, te je u njih veća šansa za nastanak metaboličke acidoze (215). Naime, izolirana respiracijska acidoza fetusa obično je rezultat kratkotrajnog oštećenja uteroplacentne ili fetoplacentne cirkulacije i rijetko je povezana s nepovoljnim ishodom (216). Dugotrajniji poremećaj dovodi do progresivne metaboličke acidoze zbog anaerobne glikolize. Najteža fetalna acidoza je miješana, respiracijska i metabolička (217,218).

Iako se radi o najčešće citiranoj vrijednosti, pH nije idealan parametar za procjenu kumulativne izloženosti hipoksiji. Budući da je logaritamski izraz, on ne daje linearnu mjeru nakupljanja kiseline. Promjena koncentracije vodikovih iona povezana sa sniženjem pH od 7,0 na 6,9 gotovo je dvostruko veća od one koja je povezana sa sniženjem pH s 7,3 na 7,2 (219). U našem istraživanju su se doplerski parametri fetoplacentne cirkulacije pokazali boljim indikatorima izloženosti fetusa hipoksiji i boljim prediktorima neurološkog ishoda.

### 6.3 Analiza doplerskih parametara IUGR skupine

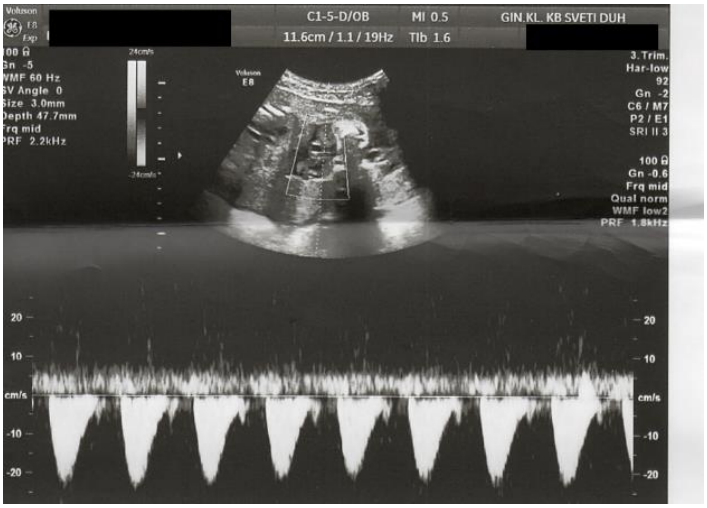
Mjerenja doplerskog protoka omogućuju neinvazivno otkrivanje znakova posteljične insuficijencije i fetalnih hemodinamskih promjena koje se javljaju zbog smanjene opskrbe ploda kisikom (220). Velika Cochrane analiza iz 2013. koja je uključila 18 studija i preko 10 000 ispitanica, utvrdila je smanjivanje perinatalne smrtnosti te manji broj indukcija porođaja i carskih rezova ukoliko se u visokorizičnim trudnoćama primjenjuju fetoplacentna doplerska mjerenja (221).

### 6.3.1 Pupčana arterija

Tijekom uredne trudnoće, indeks otpora protoka krvi u UA se postupno smanjuje (220). Porast indeksa otpora u UA odražava patološke promjene u krvožilju posteljice i posteljične perfuzijske defekte (222). Embolizacijski pokusi u animalnim studijama pokazuju da je zahvaćenost 50 do 70% terminalnih resica povezana s odsutnim ili obrnutim protokom na kraju dijastole (223). Gubitak dijastoličkog protoka ili obrnut dijastolički protok u UA vrlo su nepovoljni prognostički znakovi i važni elementi u vođenju takvih trudnoća kompliciranih IUGR-om (19). Poznate su referentne vrijednosti indeksa otpora UA tijekom trudnoće (224–226). Ako se uzmu u obzir granične vrijednost RI UA za gestacijsku dob, u ispitivanoj IUGR skupini je povišen RI UA za gestacijsku dob zabilježen u 15 ispitanica (30 %). Ovo se doima malim postotkom ako se prisjetimo da je 80% ispitanika imalo jako izraženo zaostajanje u rastu, odnosno porođajnu masu ispod 3. pc. Međutim, kao što je rečeno, većina ispitanika je pripadala kasno nastalom IUGR-u koji ne prate izražena odstupanja RI AU kao što je to kod rano nastalog IUGR-a (22). Dijagnoza IUGR-a prije 34+0 tjedana trudnoće je postavljena u 14 ispitanica, među tih 14 ispitanica u 7 je zabilježen povišen RI UA za gestacijsku dob. Dijagnoza IUGR-a nakon 34+0 tjedana trudnoće je postavljena u 36 ispitanica, među tih 36 ispitanica u 8 je zabilježen povišen RI UA za gestacijsku dob. Iz navedenog možemo zaključiti da se vrijednosti RI UA za gestacijsku dob značajno razlikovale ovisno da li je dijagnoza IUGR-a postavljena prije ili nakon navršenih 34 tjedna trudnoće, a udio ispitanika s RI AU povišenim za gestacijsku dob bio je veći kod manje gestacije. Takva distribucija vrijednosti RI UA je u skladu s ranije citiranim studijama o podjeli IUGR-a na dva fenotipa, rano nastali i kasno nastali IUGR (22,23,26).

Kao i gestacijska dob postavljanja dijagnoze, tako je i gestacijska dob porođaja, odnosno trajanje trudnoće u statistički značajnoj negativnoj korelaciji s RI UA (tablica 14). Potrebno je napomenuti da upravo doplerska odstupanja indiciraju dovršavanje trudnoće pa je kraće trajanje trudnoće. Obilježja doplerskog zapisa UA uvrštena su u smjernice vođenja trudnoća kompliciranih IUGR-om i odluku o dovršenju tih trudnoća (170). Prema autorima UpToDate baze trudnoću kompliciranu IUGR-om u slučaju obrnutog dijastoličkog protoka u arteriji umbilikalis treba dovršiti odmah ukoliko su navršena 32 tjedna trudnoće. U

suprotnom se uz intenzivni nadzor, uz primjenu i ostalih preporučenih metoda praćenja (CTG, biofizikalni profil) pokušava doseći 32 tjedna trudnoće. U slučaju odsutnog dijastoličkog protoka u UA (slika 11) trudnoća se preporuča dovršiti odmah ako je gestacija ≥34 tjedna trudnoće. U suprotnom se uz intenzivni nadzor pokušava doseći ta dob (39). Odsutan protok UA na kraju dijastole ili obrnuti dijastolički protok povezan je s izrazito nepovoljnim perinatalnim ishodom, osobito visokom perinatalnom smrtnošću (19). Vremenski slijed pogoršavanja hemodinamskih doplerskih parametara od UA do venskog duktusa dokazan je u više od 70 % fetusa s ranim IUGR-om (227). Nadalje, u vođenju IUGR-a u slučaju smanjenog dijastoličkog protoka u arteriji umbilikalis, povećanog RI UA, tj indeksa pulzatilnosti > 95 pc, porođaj se preporuča s 37 do 38 tjedana trudnoće. Ukoliko je dijagnosticiran IUGR, ali protok krvi kroz arteriju umbilikalis nije smanjen, preporuča se dovršiti trudnoću sa 39 do 40 tjedana trudnoće (39). U ovom istraživanju, u praćenju doplerskog zapisa UA nije zabilježen obrnuti protok u niti jedne ispitanice, a izostanak dijastoličkog protoka UA zabilježen je u 3 ispitanice.




Slika 11. Doplerski zapis pupčane arterije u ispitanice u koje je zabilježen izostanak protoka na kraju dijastole.

Utvrđena statistički značajna negativna korelacija RI UA i porođajne mase može se objasniti djelovanjem samih patofizioloških mehanizama, ali i jatrogenim utjecajima. Što je teži oblik posteljične insuficijencije, plod je jače zahvaćen, prirast tjelesne mase je manji, hemodinamski poremećaji su izraženiji, RI UA je viši. Odstupanja u doplerskom

zapisu, u zavisnosti od gestacijske dobi, indiciraju prijevremeno dovršenje trudnoće. Zaključno, i posteljična insuficijencija i prijevremeni porođaj su povezani direktno sa smanjenom porođajnom masom.

Od svih acidobaznih parametara pupčane krvi samo je pH venske krvi pokazao statistički značajnu negativnu korelaciju s RI UA. Opisano je da arterijska krv pupkovine odražava prvenstveno fetalni metabolizam, dok venska krv primarno odražava funkcije posteljice (198). Povezanost RI UA i pH venske krvi idu u prilog ovoj tvrdnji.

Analiza povezanosti RI UA i mase posteljice pokazala je statistički značajnu negativnu korelaciju. Viši RI UA ili niža masa posteljice ukazuju na teži stupanj posteljične insuficijencije (tablica 6). Hartung i suradnici navode korelaciju viših vrijednosti indeksa otpora AU i manjih masa posteljice i u urednim trudnoćama (228).

Viši RI UA je u našem istraživanju bio statistički značajno povezan s lošijim UZV mozga djeteta i lošijim rezultatima ATNAT testa. Međutim, važno je naglasiti da su patološki neurološki nalazi nađeni i u ispitanica koje nisu imale povišen RI UA za gestacijsku dob. Ovakav nalaz ne čudi ako se uzme u obzir da protok kroz UA odražava patološku promijenjenost posteljičnog krvožilja, odgovornu za IUGR i fetalnu hipoksiju, ali ne i fetalni odgovor na hipoksiju i fetalno stanje.

### 6.3.2 Srednja moždana arterija

U fiziološkim trudnoćama u krvnim žilama mozga prevladava visoki indeks otpora (39). Indeks otpora MCA se fiziološki smanjuje prema kraju trudnoće što se objašnjava povećanjem metaboličkih potreba mozga (229). Moždane arterije mogu mehanizmom autoregulacije, u slučaju hipoksije, osigurati zadovoljavajući protok krvi. Vazodilatacijom i vazokonstrikcijom održava se stalna perfuzija moždanog tkiva, potrebna za urednu metaboličku funkciju. Autoregulacija moždanog protoka posredovana je metaboličkim, živčanim i kemijskim čimbenicima (230). MCA je osjetljivija na promjene pO2 u krvi fetusa i reagira na hipoksiju vazodilatacijom (231). U stanju posteljične insuficijencije, aktivira se zaštitni kompenzacijski mehanizam i fetus preusmjerava krv prema vitalnim organima:

mozgu, srcu, nadbubrežnim žlijezdama (20,232). U MCA dolazi do povećanja protoka krvi, a RI MCA se smanjuje (233). U aktivnoj fazi porođaja također dolazi do pada otpora protoku krvi kroz MCA vjerojatno radi zaštite središnjeg živčanog sustava tijekom trudova (234). Prema Kassanosu i suradnicima, doplerska mjerenja MCA mogu detektirati i intrapartalnu hipoksiju (235).

Pojedini autori navode da RI MCA ne pruža praktično vrijedne informacije u vođenju trudnoća kompliciranih IUGR-om (39). Međutim, noviji podaci (u studijama koje su prihvatile podjelu IUGR-a uzrokovanog insuficijencijom posteljice na rani i kasni fenotip ukazuju na važnost doplerskih mjerenja MCA u kasno nastalom IUGR-a. Naime, dokazano je da u 15% slučajeva kasnog IUGR-a dolazi do promjena u protoku MCA (26). Vazodilatacija MCA, bez obzira na uredne protoke kroz UA, povećava rizik perinatalnih komplikacija (236).

U odnosu na referentne vrijednosti RI MCA za gestacijsku dob (237), samo dva fetusa u ispitivanoj skupini su imali vrijednosti RI ACM niže od graničnih za gestacijsku dob. Osobitosti moždanog protoka procijenjenog mjerenjem RI MCA u ispitivanoj IUGR skupini prikazane su u tablici 13. U ovom istraživanju su niže izmjerene vrijednosti RI MCA bile statistički značajno povezane s nižim vrijednostima pO2, manjom masom posteljice i s lošijim nalazom ATNAT-a (tablica 6, tablica 12, tablica 14).

Zapažena povezanost RI MCA i arterijskog pO2 je u skladu s objašnjenjem da fetalni kemoreceptori i baroreceptori imaju važnu ulogu u nastanku efekta zašite mozga (238). Niži pO2 fetalne krvi stimulira kemoreceptore i njihovim posredstvom povećava protok krvi kroz mozak. Hecher i suradnici su osim povezanosti doplerskih zapisa MCA s pO2, opisali povezanost MCA s pH umbilikalne venske krvi (239). Figueras i suradnici su utvrdili korelaciju doplerskih mjerenja u proksimalnim dijelovima MCA s vrijednostima pO2 arterijske krvi pupkovine, a distalnih s pH (229). Nadalje, povećanje protoka u MCA povezano je s većim rizikom za porođaj carskim rezom zbog patoloških CTG zapisa te rizikom za neonatalnu acidozu (240). Rezultati našeg istraživanja nisu potvrdili statistički

značajnu korelaciju RI MCA s patološkim CTG nalazom, rizikom za carski rez ili pH vrijednostima arterijske i venske krvi pupkovine (tablica 12, tablica 14).
RI MCA je pokazao statistički značajnu korelaciju s masom posteljice (tablica 6). U prilog ovom nalazu je studija Curtina i suradnika koja je utvrdila snažnu povezanost abnormalnog protoka MCA i posteljične patologije (241).

Zanimljivo je da je RI MCA u našoj studiji pokazao korelaciju s ATNAT testom, ali ne i s UZV nalazom mozga. Možemo zaključiti da je RI MCA pokazatelj suptilnih neuroloških odstupanja, koja ne moraju biti morfološki vidljiva u kasno nastalom IUGR-u. Osim toga, u slučaju većih oštećenja, djelovanjem edema ili zbog sloma kompenzacijskih mehanizama, RI MCA se može približavati normalnim vrijednostima (24,242–244). Istraživanja pokazuju da postoji nekoliko razdoblja u hemodinamskom odgovoru fetalnog mozga na hipoksiju (245,246). Za vrijeme rane faze cerebrovaskularna reaktivnost je održana, zatim je zabilježen njezin gubitak i na kraju postoji porast cerebralnog vaskularnog otpora s redukcijom perfuzije mozga. Poremećaj frekvencije srca nastupa nekoliko dana nakon gubitka cerebrovaskularne reaktivnosti, ali su neurološka oštećenja moguća i prije gubitka cerebrovaskularne reaktivnosti (244). U ovom istraživanju RI MCA je pokazao slabiju korelaciju s neurološkim ishodom od RI AU i C/U omjera.

### 6.3.3 Cerebroumbilikalni omjer

C/U omjer je omjer otpora protoka krvi u MCA i protoka krvi u UA. Na taj način u sebi objedinjuje patološke promjene na razini posteljice koje uzrokuju povećanje indeksa otpora UA i fetalni kompenzacijski mehanizam povećanja protoka krvi u mozgu koji se reflektira u smanjivanju indeksa otpora u MCA. Važno je za napomenuti da C/U omjer ne ovisi o frekvenciji fetalnog srca, za razliku od pojedinih komponenti tog omjera (244). Naime, poznato je da ubrzanje srčanog ritma fetusa povećava brzinu protoka na kraju dijastole, a time smanjuje indeks otpora. U normalnoj trudnoći indeks otpora u krvnim žilama mozga je veći od onog u posteljici, te je C/U omjer veći od 1. U slučaju bilo kakve preraspodjele krvi u korist fetalnog mozga (efekt poštede mozga) ovaj se omjer smanjuje

ispod 1. Brojnim istraživanjima je utvrđeno da C/U omjer predstavlja najprecizniji pokazatelj preraspodjele krvi u korist fetalnog mozga (21,243,244,247,248).

Arbeille i suradnici su u ispitivanjima na fetusima ovaca pokazali da C/U omjer vrlo precizno prati promjene pO2 te se smanjuje proporcionalno smanjenju pO2 u akutnoj i kroničnoj hipoksiji (247). Povezanost C/U omjera i pO2 arterijske krvi pupkovine se potvrdila i u ovom istraživanju (tablica 12). Osim toga, C/U omjer je bio niži (ne nužno < 1) ako je trajanje trudnoće bilo kraće, porođajna masa manja, ukoliko je novorođenče imalo potrebu za intenzivnom skrbi te ako je neurološki ishod prema UZV i ATNAT-u bio patološki. Odnosno, niža vrijednost C/U omjera bila je povezana s lošijim perinatalnim ishodom. Prediktivna vrijednost cerebroumbilikalnog omjera za lošiji perinatalni ishod analizirana je u nedavno objavljenoj metaanalizi. Opisana je prediktivna vrijednost C/U omjera za prijem novorođenčeta u jedinicu intenzivne njege, carski rez zbog patološkog CTG zapisa, lošiji Apgar zbroj u 5. minuti, perinatalnu smrt, neonatalnu acidozu i ultrazvučno dijagnosticirana neonatalna oštećenja mozga (249).

Novije studije ukazuju na mogućnost primjene C/U omjera i u niskorizičnim trudnoćama. Naime, cerebroumbilikalni omjer može prepoznati fetuse iz niskorizične skupine koji će razviti intrapartalne komplikacije (250). Morales i suradnici su demonstrirali vrijednost C/U omjera u predikciji niskog neonatalnog pH krvi u djece uredne porođajne mase (251). Nadalje, primjenom C/U omjera 24h prije indukcije porođaja moguće je predvidjeti intrapartalni fetalni distres i neonatalni ishod (252). Patološki C/U omjer također povećava rizik hitnog carskog reza i potrebe za intenzivnom skrbi neovisno o porođajnoj masi u terminske novorođenčadi (253,254).

Studije o neurološkim posljedicama IUGR-a pokazale su da efekt poštede mozga (C/U omjer <1) ne garantira uredan neurološki razvoj (243,244,246,248,255–257). U ovom istraživanju je 13 fetusa imalo C/U omjer < 1, među njima je čak 10 imalo patološki neonatalni ultrazvučni nalaz mozga, a 11 ih je po rođenju imalo patološki funkcionalni neurološki status prema ATNAT-u. Možemo reći da sam naziv „efekt poštede mozga" navodi na ne posve točan zaključak. Iako redistribucija označava kompenzacijske mehanizme koji se aktiviraju radi zaštite mozga, ti mehanizmi ne štite mozak u potpunost

te ih treba smatrati markerom potencijalnog oštećenja mozga. Štoviše, u našem nedavno provedenom istraživanju utvrđeno je da se i uz C/U omjer >1, odnosno bez doplerskih znakova hipoksije pojavljuju u fetusa sa kasnim zastojem rasta moždani funkcionalni poremećaji i/ili morfološka oštećenja (257). Nadalje, utvrđene su mikrostrukturne promjene mozga te promjene u metabolizmu mozga u novorođenčadi s IUGR-om bez doplerskih znakova hipoksije (258). U ovom istraživanju je 18 ispitanika koji nisu imali doplerske znakove hipoksije intrauterino imalo patološki ATNAT test, a 13 ispitanika bez doplerskih znakova intrauterine hipoksije imalo je patološki UZV mozga. Odnosno, oštećenja su nastala i prije doplerski evidentirane redistribucije krvi prema fetalnom mozgu. Radi preciznijeg predviđanja mogućeg oštećenja mozga, kao posljedice fetalne hipoksije, Arbeille i suradnici su uveli indeks hipoksije, koji se izračunava iz C/U omjera, a uzima u obzir stupanj i duljinu trajanja hipoksije (259). Prema Jugoviću i suradnicima, preraspodjela krvotoka u korist fetalnog mozga (C/U omjer <1), u slučaju hipoksije koja traje kraće razdoblje ili je blažeg stupnja, definirana indeksom hipoksije <150, djelotvoran je fiziološki kompenzacijski mehanizam koji štiti mozak fetusa od nastanka oštećenja, dok indeks hipoksije veći od 150, hipoksija duljeg trajanja ili većeg stupnja, ima izvrsnu prediktivnu vrijednost za neurološka oštećenja (243).

U ovom istraživanju je najbolja povezanost s ranim neurološkim ishodom IUGR novorođenčadi utvrđena upravo za C/U omjer, a potom za RI AU. Međutim, korelacijom se ne može odrediti granična vrijednost C/U omjera i RI UA u predikciji patoloških nalaza UZV mozga. Analiza osjetljivosti i specifičnosti testa ovisno o postavljanju te granice poznata je kao ROC analiza, koja je i načinjena.

ROC analiza potvrdila je dobru prediktivnu sposobnost C/U omjera u predviđanju patološkog ultrazvučnog nalaza mozga djeteta s površinom ispod krivulje (AUC, od eng. *Area under curve*) 0,757 i vjerojatnošću pravilne klasifikacije ispitanika od 75 % uz definiranu graničnu vrijednost C/U omjera ≤ 1,044. Pri toj vrijednosti je osjetljivost metode bila 73%, a specifičnost 85% (tablica 16, slika 7). U predikciji patološkog nalaza UZV mozga ROC analiza je pokazala vrlo sličnu prediktivnu sposobnost RI UA s AUC 0,744, tj. s vjerojatnošću pravilne klasifikacije ispitanika od 74 %, uz definiranu graničnu vrijednost RI UA > 0,68. Pri toj vrijednosti je osjetljivost metode bila 65%, a specifičnost

81% (tablica 18, slika 9). Stoga je unatoč gotovo istoj sposobnosti klasifikacije ispitanika C/U omjer klinički bolji parameter od RI AU u predikciji patoloških ultrazvučnih nalaza mozga u IUGR djece od RI UA jer ima manji broj lažno pozitivnih i lažno negativnih nalaza.

Također, kao i za ultrazvučni nalaz mozga, učinjena je ROC analiza C/U omjera i RI UA u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog ATNAT testa potvrdila je jako dobru prediktivnu sposobnost C/U omjera s vjerojatnošću pravilne klasifikacije ispitanika od 85 %, uz definiranu graničnu vrijednost C/U omjera ≤ 1,094. Pri toj vrijednosti je osjetljivost metode bila 75,8 %, a specifičnost 85,7 % (tablica 17, slika 8). Vjerojatnost pravilne klasifikacije ispitanika u predikciji patološkog ATNAT nalaza za RI AU je iznosila 78 %, uz definiranu graničnu vrijednost RI UA > 0,6. Osjetljivost metode je bila 96,5%, a specifičnost 52,3% (tablica 19, slika 10). Pri ovim definiranim vrijednostima u predviđanju patološkog ATNAT testa RI UA ima nešto nižu vjerojatnost klasifikacije ispitanika od C/U omjera, a značajno višu osjetljivost i nižu specifičnost. Znači da primjena RI UA dovodi do prepoznavanja jako velikog broja trudnica čije bi dijete imalo odstupanja u ATNAT testu, ali uz nisku specifičnost, tj. puno lažno pozitivnih rezultata. Lažno pozitivni rezultati u nadzoru IUGR-a bi mogli dovesti to nepotrebnih intervencija poput prijevremene indukcije poroda. Regan i suradnici su usporedbom perinatalnog ishoda u trudnoćama kompliciranim IUGR-om s povišenim RI UA utvrdili bolju predikciju neonatalnog ishoda korištenjem C/U omjera u odnosu na korištenje samo RI UA (260). Opisana je 90%-tna dijagnostička vrijednost C/U omjera u predikciji perinatalnih komplikacija kod zastoja u rastu (IVH, konvulzije, RDS), u odnosu na 83,3%-tnu vrijednost pulsatilnog indeksa UA i 78,8 %-tnu vrijednost pulsatilnog indeksa MCA (261). Analizom kasnijeg neurološkog ishoda, u dobi od 3 godine, ispitanika PORTO studije potvrdila se bolja predikcija ishoda korištenjem C/U omjera u odnosu na korištenje samo RI UA (262).

Klinička primjena C/U omjera u nadzoru trudnoća kompliciranih IUGR-om nije još jasno definirana. Primjerice, C/U omjer nije uvršten u RCOG (od eng. *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*) smjernice. Spominje se samo u kontekstu značenja sniženog protoka kroz MCA te se preporuča u terminskom IUGR-u, ukoliko su vrijednosti

doplerskog zapisa UA normalne, a MCA patološke, uzeti u obzir parametar MCA u određivanju vremena dovršavanja trudnoće (170). Međutim, nema upute kod koje skupine IUGR-a i kada koristiti C/U omjer. Bligh i suradnici postavljaju pitanje prihvatljive osjetljivosti i specifičnosti C/U omjera u vođenju IUGR-a (263). Nažalost, nedostatak metode kojom bi se potvrdilo stanje fetusa bez uplitanja u tijek trudnoće značajno otežava implementaciju C/U omjera u vodeće smjernice nadzora i vođenja IUGR-a. Dugo vremena C/U omjer nije bio u centru interesa istraživača, iako je poznat desetljećima, ali rastući broj studija unazad dvije godine pruža nadu da će nove spoznaje jasno definirati primjenu C/U omjera u svakodnevnom radu opstetričara (222,227,249,251,252,262–264). Njegova vrijednost u predviđanju patološkog neurološkog ishoda potvrđena je i u ovom istraživanju. Potrebno je naglasiti da su granične vrijednosti C/U omjera u predikciji neurološkog oštećenja bile veće od 1. Za patološki ultrazvučni nalaz granična vrijednost C/U omjera prema ROC analizi je bila 1,044, a za patološki ATNAT 1,094. Dakle, rizik za patološki neurološki ishod je bio povišen i prije pojave redistribucije fetalnog krvotoka prema mozgu. U ranijem istraživanju je ROC analizom C/U omjera u predikciji patološkog ATNAT testa dobivena slična vrijednost, 1.13 (257). Nadalje, granične vrijednosti RI AU za patološki nalaz UZV mozga i ATNAT testa su bile 0,68 i 0,60. Navedene vrijednosti su unutar referentnih vrijednosti RI AU za gestacijsku dob. Do 40. tjedna trudnoće je 95. pc za RI AU ispod 0,68 (225,226). Zaključno, rezultati ovog istraživanja jasno sugeriraju da odluku o daljnjem vođenju trudnoće kompliciranе kasno nastalim IUGR s urednim vrijednostima RI AU treba temeljiti na vrijednostima C/U omjera, a ne RI AU ili RI ACM.

## 6.4 Neurološki ishod IUGR skupine

Rani neurološki ishod novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih IUGR-om procijenjen je morfološki ultrazvučnim pregledom mozga i funkcionalno ATNAT testom.

### 6.4.1 UZV pregled mozga

Uredan nalaz neonatalnog UZV mozga ima u 85% prognostičku vrijednost za kasniji uredan neurološki razvoj djeteta (77). U ovom istraživanju je u ispitivanoj IUGR skupini ultrazvučnim pregledom mozga novorođenčeta uredan nalaz imalo 54% ispitanika IUGR skupine, a patološki nalaz 46% ispitanika (tablica 15). Hipoksično-ishemično oštećenje mozga dijagnosticira se u 7-17% nedonoščadi. U djece rođene u terminu incidencija je niža, ali nije točno definirana učestalost (265). Iz navedenog je vidljivo da udio patoloških neuroloških morfoloških nalaza u ovom istraživanju premašuje navedenu opću učestalost hipoksično-ishemičnih perinatalnih oštećenja mozga. Patološki nalazi ultrazvuka mozga novorođenčadi podijeljeni su na PVL i IVH.

PVL je opisana u osmero djece, a troje među njima je imalo najteži oblik, cističnu PVL (tablica 15). Glavnim uzrocima PVL se smatraju cerebralna ishemija/reperfuzija u kritičnim ili nezrelim periventrikularnim područjima te bakterijska infekcija majke i/ili fetusa koja izaziva citokinski odgovor u fetalnom mozgu, izlaže fetalni mozak citokinima iz majčine krvi ili dovodi do izravnog oštećenja djelovanjem bakterijskih endotoksina (266). U našem istraživanju su sve ispitanice s kliničkim ili laboratorijskim znakovima upale u majke ili djeteta bile isključene iz studije. Stoga se svi ultrazvučni patološki nalazi mogu promatrati kao posljedica posteljične insuficijencije. PVL se nekad smatrala isključivo lezijom izrazito nezrelog mozga. Zaista i jest najveća učestalost ovih lezija u djece rođene između 24. i 32. tjedna trudnoće (266). Međutim, PVL nije ograničena samo na rano prijevremeno rođenu djecu, već se javlja i u kasno prijevremeno rođene djece, ali i terminske novorođenčadi (267–270). Navedena zapažanja potvrđuje i ovo istraživanje. Osmero djece kod kojih je dijagnosticirana PVL u ovom istraživanju rođeno je između 35. i 40. tjedna trudnoće, od toga je sedmero djece rođeno nakon navršenih 37 tjedana trudnoće, dakle u terminu. Ipak, opća učestalost PVL-a kao i dugoročni ishod u kasno prijevremeno rođene i terminske djece nisu jasno određeni (271). Švedska studija o prevalenciji i podrijetlu cerebralne paralize ukazala je da unatoč općem trendu opadanja cerebralne paralize između 1995. i 1998. u prijevremeno rođene i terminske djece, zabilježen je porast diskinetičke cerebralne paralize u terminske djece. U ovoj skupini djece s diskinetičkom cerebralnom paralizom 71% ispitanika imalo je hipoksično-ishemijsku encefalopatiju u perinatalnom razdoblju (272). Mogli bi reći, iako je nezrelost moždanog tkiva vrlo važan čimbenik nepovoljnog neurološkog ishoda, zrelije moždano

tkivo je i dalje osjetljivo na hiposično ishemična oštećenja te je posteljična insuficijencija nezavisan parametar u razvoju neuroloških odstupanja.

Najčešća ultrazvučna lezija mozga u ispitivanoj IUGR skupini bila je IVH. Dijagnosticirana je u 30 % ispitanika. Učestalost IVH u djece tjelesne mase <1500 grama i <32 tjedna do 25%. U djece <1000 grama učestalost je do 40% (77). U našoj ispitivanoj skupini od 50 djece samo troje je imalo masu <1500 grama, niti jedno dijete nije porođeno prije navršenih 32 tjedna gestacije, a udio dijagnosticiranih IVH iznosio je visokih 30%. Možemo zaključiti da je s obzirom na gestacijsku dob i porođajnu masu učestalost IVH u ispitivanoj skupini bila veća od očekivane.

Prema stupnjevima hemoragičnih lezija najčešći je bio nalaz IVH 2. stupnja (10 djece), zatim 3. stupnja (5 djece). Nije bilo zabilježenih najtežih intraparenhimalnih krvarenje, tj. nije bilo 4. stupnja hemoragije. Moždana krvarenja se najčešće klasificiraju po Volpeu, prema opsegu krvarenja u ventrikulu (273). Izolirano krvarenje I. stupnja ne ostavlja nakon resorpcije vidljiv trag na UZV, a niti trajne neurorazvojne posljedice (77). Intraventrikularno krvarenje II. stupnja ultrazvukom je dobro uočljivo vrlo ehogeno okruglasto područje, ali bez dilatacije lumena lateralne komore. Nakon 7-10 dana, ehogeni ugrušak na UZV postaje anehogen u središnjem dijelu, da bi sljedećih (tje)dana potpuno nestao. Nekomplicirano krvarenje II. stupnja samo iznimno ostavlja trajne posljedice. Intraventrikularno krvarenje III. stupnja stvara hiperehogeni ugrušak koji dilatira lumen komore >5mm. Ako se krvarenje zaustavi, sljedećih dana ili tjedana ugrušak od sredine kolikvira, nakon toga se postepeno resorbira, a lumen komore se smanji. Sljedećih mjeseci nastaje ventrikulomegalia "ex vacuo" zbog atrofije parenhima mozga u 13-32% djece nakon IVH III (77). Veliko krvarenje III. stupnja, naročito ako je obostrano, često uzrokuje komplikacije, a najteža je posthemoragični hipertenzivni hidrocefalus. Hidrocefalus može nastati od 1 tjedan do 4 mjeseca nakon krvarenja, pa je UZV redovito praćenje obavezno. Intraparenhimno krvarenje IV. stupnja može nastati izolirano ili prodorom velikog krvarenja III. stupnja u moždani parenhim. Karakterizira ga visok mortalitet, a trajne posljedice ostavlja na 85 % djece (77). Ako je IVH kombinirana s PVL povećava se vjerojatnost teških neurorazvojnih poremećaja (77).

Odnos IUGR-a i IVH već se dugo istražuje (274). Međutim, dokazi o direktnoj povezanosti posteljične insuficijencije i IVH su nekonzistentni (275–278). Neke studije pokazuju da je IUGR povezan s povećanom prevalencom IVH-a i oštećenjima bijele tvari koja se mogu otkriti ultrazvučnim pregledom mozga (279–281). Bernstein i suradnici su u velikoj analizi koja je uključivala 19 759 novorođenčadi pokazali veći rizik razvoja IVH u novorođenčadi iz IUGR trudnoća u odnosu na one iz urednih trudnoća odgovarajuće gestacijske dobi (275). Nasuprot tome, druge studije izvijestile su o smanjenoj učestalosti IVH u IUGR djece (282,283) ili nisu pokazale promjenu učestalosti neonatalnih kranijalnih ultrazvučnih abnormalnosti u dojenčadi s IUGR-om u usporedbi s kontrolnom skupinom (278,284,285). Noviji podaci također potvrđuju veću pojavnost IVH u IUGR djece u odnosu na kontrolnu skupinu (257,286,287). Ovako kontradiktorni rezultati mogu biti posljedica različitih definicija IUGR-a, kriterija uključenja i kvalitete korištene ultrazvučne tehnologije (83). Rezultati ovog istraživanja potvrđuju veću učestalost IVH u IUGR novorođenčadi.

### 6.4.2 ATNAT

Patološki neurološki ishod prema ATNAT testu je bio učestaliji nego prema ultrazvučnom pregledu. Patološki nalaz ATNAT-a imalo je 58%, a uredan 42% ispitanika (tablica 15). U novorođenčadi koja su imala uredan ATNAT nalaz očekuje se i daljnji uredan neurološki razvoj. Naime, opisana je sposobnost ATNAT da prepozna djecu koja će imati uredan neurorazvoj unatoč intrauternim čimbenicima rizika (95). Također, prema Simardu i suradnicima ATNAT prepoznaje novorođenčad koja će imati neurorazvojne poteškoće u dobi od dvije godine (288). Nadalje, Murray i sur. su željeli utvrditi hoće li serijska primjena ATNAT-a bolje predvidjeti neurorazvojni ishod nakon 24 mjeseca u novorođenčadi sa sumnjom na hipoksično-ishemijsku encefalopatiju. Prema rezultatima, čak i ako su sva kasnija neurološka ispitivanja povezana s neurorazvojnim ishodom u dobi od 24 mjeseca, najbolja prediktivna vrijednost zabilježena je za ATNAT prilikom otpusta novorođenčeta iz bolnice (94). Stoga, ranu procjenu neurološke funkcije učinjenu u ovom istraživanju možemo smatrati prediktivnom za kasniji neurološki razvoj ispitanika.

Najčešći patološki ATNAT nalaz u ispitivanoj skupini je bio blago odstupanje (tablica 15). Prema Chaudhari i suradnicima djeca koja su ATNAT testom po rođenju imala određene blaže poremećaje tonusa, do 5. godine života više ne pokazuju neurološka odstupanja, osim siromašnijih jezičnih sposobnosti. Nadalje, u 10 djece koja su imala patološki ATNAT u terminu te sa 6 i 12 mjeseci, kasnije je postavljena dijagnoza cerebralne paralize (289). U navedenoj studiji je bio značajan udio SGA djece. Od 119 prijevremeno rođene djece, 57 (47,9%) je bilo maleno za gestacijsku dob. Od 71 terminskog novorođenčeta, 38 je bilo SGA (289). Ako se vodimo neurološkim ishodom u toj studiji, nije za očekivati teže neurološke posljedice u djece iz našeg istraživanja kod koje su zabilježena blaga odstupanja prema ATNAT testu. Gosselin i suradnici su također pratili djecu iz trudnoća kompliciranih IUGR-om te primjenjivali ATNAT test. Analizirali su utjecaj posteljične insuficijencije i IUGR-a na neurološki razvoj i intelektualne funkcije u 60 djece tijekom 5 godina (neka djeca su praćena i 7 god) (290). U 40 djece je po rođenju potvrđen IUGR. Neurološki status s 40 tjedana korigirane gestacijske dobi prema ATNAT testu bio je uredan u 26% djece, blago i umjereno odstupanje imalo je 67% djece, a teško neurološko odstupanje imalo je 7% djece. Dakle broj urednih nalaza je bio značajno manji, a patoloških veći u odnosu na naše istraživanje. Osim toga, u našem istraživanju uopće nije zabilježen težak neurološki ishod prema ATNAT-u. U citiranoj studiji je bio veći udio djece sa značajnim hemodinamskim poremećajima, 11 fetusa je imalo obrnut dijastolički protok u UA i bio je veliki broj prijevremeno rođene djece. Stoga je za očekivati lošije rezultate funkcionalne neurološke procjene (290).

Veći broj patoloških ATNAT nalaza u odnosu na ultrazvučne je moguć zbog toga što UZV ne može prikazati određena suptilna oštećenja koja ipak ostavljaju traga u neurološkoj funkciji. U 38% ukupnog broja ispitanika, 19 djece, su se rezultati preklapali, oba testa su bila patološka. Znači da je u 82 % djece patološki ultrazvučni nalaz odgovarao patološkom ATNAT testu, te da moždana morfološka oštećenja jasno pokazuju svoj utjecaj na funkciju mozga. S druge strane, veći broj patoloških nalaza ATNAT-a u odnosu na UZV mozga ukazuje da se suptilna oštećenja ne vide ultrazvučno, ali su dovoljna da izazovu odstupanje u ATNAT testu. Dobro preklapanje rezultata neonatalnog UZV mozga i ATNAT-a je pokazano i u istraživanju čiji je cilj bio u grupi visokorizične novorođenčadi

primjeniti ATNAT radi procjene neurološkog ishoda te ga usporediti s ostalim korištenim metodama u analizi neurološkog stanja djece kao što je UZV mozga i EEG (95).

Ovim istraživanjem su analizirani brojni klinički dostupni parametri u predikciji neurološkog ishoda novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih IUGR-om. Najbolji prediktor neurološkog statusa se pokazao C/U omjer. Nadalje, po prvi put je analizirana povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda novorođenčadi. Međutim, povezanost nije statistički potvrđena. Štoviše, nepovezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a s niti jednim promatranim parametrom koji ukazuje na fetalno/novorođenačko stanje mogla bi se objasniti određenom zaštitom fetusa od učinka povećane izraženosti posteljičnog VEGF-a. Zanimljivo je da u krvi pupkovine novorođenčadi s hipoksično-ishemičnim oštećenjima nije nađena razlika u koncentraciji VEGF-a u odnosu na kontrolnu skupinu (291). Nastuprot tomu, poznato je da posteljica izlučuje angiogene faktore, uključujući VEGF, u majčinu krv, kao i da VEGF i njegovi receptori imaju značajne efekte na majčin krvožilni sustav (od prilagodbe kardiovaskularnog sustava na trudnoću u urednim trudnoćama, do endotelne disfunkcije u preeklampsiji) (150,292). Insuficijentna posteljica pojačano producira VEGF. Kao što je ranije objašnjeno, pojačana produkcija VEGF-a predstavlja kompenzacijski mehanizam kako bi se dodatno stimulirala posteljična vaskulogeneza i angiogeneza u insuficijentnoj posteljici. Međutim, utjecaj pojačane izraženosti posteljičnog VEGF-a na sam fetus bi mogao uzrokovati poremećaj na razini fetalnog kardiovaskularnog sustava, posebice endotela, a to bi moglo imati jako loše posljedice po fetus. Za očekivati je da VEGF ima važnu ulogu u normalnom fetalnom razvoju, ali moguće je da se fetus brani u slučaju povećane izraženosti VEGF-a.

# 7 ZAKLJUČCI

- IUGR fetusi slabije toleriraju hipoksiju i intrapartalni stres.
- Novorođenčad iz trudnoća kompliciranih IUGR-om ima statistički značajno lošiji perinatalni ishod (niži su Apgar zbrojevi u prvoj i petoj minuti života, kraće je trajanje trudnoće, povećana je učestalost induciranog porođaja i porođaja carskim rezom, veća je učestalost potrebe djece za intenzivnom skrbi).
- Manja masa posteljice je prediktor lošijeg neurološkog ishoda IUGR novorođenčadi.
- Postoji značajna razlika u izraženosti VEGF-a između kontrolnih i IUGR posteljica. U insuficijentnim posteljicama je zastupljenija umjereno i jako pozitivna izraženost VEGF-a u odnosu na izraženost u urednim posteljicama.
- Izražaj VEGF-a je prisutan u endotelu fetalnih krvnih žila, vezivnom tkivu resica i sinciciotrofoblastu urednih i insuficijentnih posteljica.
- Pojačana izraženost posteljičnog VEGF-a nije statistički značajno povezana s klinički prepartalnim parametrima ni perinatalnim parametrima ishoda trudnoće, uključujući rani morfološki i funkcionalni neurološki nalaz.
- Najbolja povezanost s neurološkim ishodom IUGR novorođenčadi utvrđena je za C/U omjer.
- Neurološka odstupanja su nađena i u fetusa u kojih nije bilo doplerskih znakova redistribucije krvotoka
- UZV mozga novorođenčadi ne može prikazati određena suptilna oštećenja koja ostavljaju traga u neurološkoj funkciji. Neurološki pregled novorođenčadi bi trebao obuhvatiti i procjenu morfologije i procjenu funkcije mozga.

# 8 SAŽETAK

**Uvod:** Intrauterini zastoj rasta (IUGR), najčešće uzrokovan insuficijencijom posteljice, čimbenik je rizika ranih i kasnih neuroloških oštećenja. Zbog neadekvatne opskrbe ploda kisikom dolazi do preraspodjele krvotoka prema vitalnim organima, poglavito mozgu. Iako je ovu pojavu moguće otkriti uporabom doplera, još uvijek se sa sigurnošću ne može predvidjeti u koje djece će nastati neurološko oštećenje. Studije pokazuju da promjene na mozgu mogu nastati i bez doplerskih znakova fetalne hipoksije. Nadalje, zbog poremećaja razvoja posteljice razvija se i hipoksija posteljičnog tkiva. Nejasna je izraženost vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF) u posteljicama kod IUGR-a. Nadalje, nema podataka je li izraženost VEGF-a povezana s neurološkim oštećenjima.

**Cilj** ovog istraživanja je usporediti izraženost VEGF-a u urednim i insuficijentnim posteljicama. Nadalje, utvrditi povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a s ranim neurološkim ishodom novorođenčadi s IUGR-om. Analizirati povezanost ostalih dijagnostičkih parametara (doplerskih fetoplacentnih zapisa, patohistološke analize posteljice, acidobaznog statusa krvi pupkovine) s ranim neurološkim ishodom IUGR novorođenčadi.

**Ispitanici i postupci:** u studiju je uključeno 50 trudnica s dijagnosticiranim IUGR-om i 30 trudnica urednog tijeka jednoplodne trudnoće. U ispitivanoj IUGR skupini praćeni su doplerski zapisi pupčane arterije (UA) i srednje moždane arterije (MCA) te je izračunat cerebroumbilikalni omjer (C/U omjer), po porođaju je učinjena plinska analiza arterijske i venske krvi pupkovine, a posteljica je poslana na patohistološku analizu. Također, učinjena je imunofluorescentna analiza izraženosti posteljičnog VEGF-a. U skupini zdravih trudnica učinjena je patohistološka i imunofluorescentna analiza posteljice. Neurološki ishod IUGR novorođenčadi procijenjen je morfološki ultrazvučnim pregledom (UZV) mozga i funkcionalno testom po Amiel-Tison (ATNAT).

**Rezultati:** Postoji značajna razlika u izraženosti VEGF-a između kontrolnih i IUGR posteljica. U insuficijentnim posteljicama je zastupljenija umjereno i jako pozitivna izraženost VEGF-a u odnosu na izraženost u urednim posteljicama. Pojačana izraženost

posteljičnog VEGF-a nije statistički značajno povezana s ranim morfološkim i funkcionalnim neurološkim nalazom IUGR novorođenčadi. Najbolja povezanost s neurološkim ishodom IUGR novorođenčadi utvrđena je za C/U omjer. Za patološki ultrazvučni nalaz granična vrijednost C/U omjera prema ROC analizi je bila 1,044, a za patološki ATNAT 1,094.

**Zaključak:** U insuficijentnim posteljicama je pojačana izraženost VEGF-a u odnosu na uredne posteljice kompenzacijski mehanizam posteljičnog tkiva kako bi se dodatno stimulirala vaskulogeneza i angiogeneza. Po prvi put je analizirana povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda novorođenčadi. Izostanak povezanosti povećane izraženosti posteljičnog VEGF-a i parametra koji ukazuju na fetalno/novorođenačko stanje bi se mogao objasniti određenom zaštitom fetusa od učinka povećane izraženosti posteljičnog VEGF-a. C/U omjer se pokazao kao najbolji prediktor neurološkog ishoda.

# 9 SUMMARY

**Introduction**: Intrauterine growth restriction (IUGR), most frequently caused by placental insufficiency, is a risk factor for early and late brain disturbances. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the placenta of IUGR is unclear. Furthermore, there are no data whether the expression of VEGF correlates with neurological impairment.

**Patients and methods:** The study included 50 pregnant women diagnosed with IUGR and 30 healthy pregnant women. Doppler records of the umbilical artery (UA) and middle cerebral artery (MCA) were monitored and a cerebroumbilical ratio (C / U ratio) was calculated, gas analysis of the umbilical blood was performed at birth, and the placentas were sent for histopathologyycal and immunofluorescence VEGF analysis. The neurological outcome of the newborn IUGR was assessed morphologicaly by ultrasound examination of the brain and a functionaly by Amiel-Tison test (ATNAT).

**Results:** Stronger VEGF expression is more prevalent in insufficient placentas indicating increased vasculogenesis. Increased expression of placental VEGF is not associated with early morphological and functional neurological findings of newborn IUGR. The lack of correlation of placental VEGF with any observed parameter that indicates fetal / newborn wellbeing could be explained by existing of protective mechanism which prevents the effect of overexpressed placental VEGF on the fetus.

Maja Grah, Expression of the placental Vascular endothelial growth factor and early neurological outcome of newborns from pregnancies complicated with intrauterine growth restriction, 2019.

# 10 POPIS TABLICA I SLIKA

## 10.1 Popis tablica


- Tablica 1. Deskriptivna statistika ispitivane i kontrolne skupine za parametar dob majke ..... 25
- Tablica 2. Razlike u paritetu i razini obrazovanja između ispitivane i kontrolne skupine (Fisher-Freeman-Haltonov test) ..... 25
- Tablica 3. Razlike u promatranim kliničkim parametrima između ispitivane (IUGR) i kontrolne skupine (Fisher-Freeman-Haltonov test) ..... 26
- Tablica 4. Razlike u kontinuiranim kliničkim parametrima između ispitivane (IUGR) i kontrolne skupine (Mann-Whitney U test) ..... 27
- Tablica 5. Popis dijagnoza navedenih u nalazima patohistoloških analiza posteljica ..... 27
- Tablica 6. Povezanost parametra mase insuficijentne posteljice s ostalim promatranim parametrima (žuto označena polja označavaju statistički signifikantnu razliku) ..... 28
- Tablica 7. Razlike u izraženosti VEGF-a između ispitivane i kontrolne skupine (Fisher-Freeman-Haltonov test) ..... 30
- Tablica 8. Povezanost izraženosti posteljičnog VEGF-a i neurološkog ishoda novorođenčadi iz trudnoća kompliciranih IUGR-om ..... 33
- Tablica 9. Povezanost izraženosti VGFA-a s ostalim promatranim parametrima 33
- Tablica 10. Razlike u pojedinim kliničkim kategorijskim varijablama obzirom na spol djeteta (Fisher-Freeman-Haltonov test) ..... 35

- Tablica 11. Deskriptivna statistika mjerenih parametara acidobaznog statusa krvi pupkovine IUGR novorođenčadi ..... 36
- Tablica 12. Povezanost parametara acidobaznog statusa pupkovine IUGR novorođenčadi s ostalim promatranim parametrima (žuto označena polja označavaju statistički signifikantnu razliku) ..... 36
- Tablica 13. Deskriptivna statistika doplerskih parametara fetoplacentne cirkulacije ..... 38
- Tablica 14. Povezanost RI UA, RI MCA, C/U omjera s ostalim promatranim parametrima (žuto označena polja označavaju statistički signifikantnu razliku) . 39
- Tablica 15. Rani morfološki i funkcionalni neurološki ishodi u novorođenčadi iz trudnoća s IUGR-om..... 40
- Tablica 16. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza UZV mozga ..... 42
- Tablica 17. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa ..... 43
- Tablica 18. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza UZV mozga..... 44
- Tablica 19. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa .... 45

## 10.2 Popis slika


- Slika 1. Prikaz ultrazvučnog mjerenja opsega abdomena (AC). Iz mjera je vidljivo da izmjereni AC odgovara dobi 29+3 tjedna trudnoće, a da je trajanje trudnoće prema amenoreji 33+3 tjedna. ..... 2
- Slika 2. Utjecaj posteljične insuficijencije na izgled novorođenčeta. ..... 4
- Slika 3. Shematski prikaz plana istraživanja. ..... 20
- Slika 4. Razlike u izraženosti VEGF-a između ispitivane i kontrolne skupine. .... 30
- Slika 5. Prikaz semikvantitativne analize izraženosti VEGF-a u insuficijentnim i kontrolnim posteljicama. **Slike a i b** prikazuju posteljice iz urednih trudnoća u kojih je izraženost VEGF-a bila blaga (+). **Slika c** posteljica iz IUGR skupine, izraženost VEGF-a jaka (+++). **Slika d** posteljica iz IUGR skupine, izraženost VEGF-a umjerena (++). Mjerna ljestvica 25 mikrometara, DAPI (fluorescentno bojanje jezgara), merge (preklop slika), ctrl (kontrola), IUGR (intrauterini zastoj rasta). . 31
- Slika 6. Prikaz imunofluorescentne analize izraženosti VEGF-a u IUGR (**Slike a-c**) i kontrolnoj posteljici (**Slike d-f**). Strelicom označene VEGF pozitivne stanice mogu se vidjeti u endotelu fetalnih krvnih žila (fbv), vezivnom tkivu resica (ct) i sinciciotrofoblastu (vrh strelice); intervilozni prostor (iv). **Slike b i e** prikazuju DAPI bojanje (fluorescentno bojanje jezgara). **Slika c** prikazuje preklapanje a-b. **Slika f** prikazuje preklapanje d-e. Povećanje ×40, mjerna ljestvica 25 mikromerata (μm). ..... 32
- Slika 7. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza UZV mozga. ... 42
- Slika 8. ROC analiza C/U omjera u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa. . 43
- Slika 9. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza UZV mozga. ..... 44
- Slika 10. ROC analiza RI AU u predikciji patološkog nalaza ATNAT testa. ..... 45

- Slika 11. Doplerski zapis arterije umbilikalis u pacijentice u koje je zabilježen izostanak protoka na kraju dijastole..... 56

# 11 LITERATURA


1. Grantz KL, Kim S, Grobman WA, Newman R, Owen J, Skupski D i sur. Fetal growth velocity: the NICHD fetal growth studies. Am J Obstet Gynecol. 2018;219(3):285.e1-285.e36.

2. Resnik R. Intrauterine growth restriction. Obstet Gynecol. 2002;99(3):490–6.

3. Committee on Practice Bulletins--Gynecology, American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington, DC 20090-6920, USA. Intrauterine growth restriction. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. American College of Obstetricians and Gynecologists. Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet. 2001;72(1):85–96.

4. Henriksen T, Clausen T. The fetal origins hypothesis: placental insufficiency and inheritance versus maternal malnutrition in well-nourished populations. Acta Obstet Gynecol Scand. 2002;81(2):112–4.

5. George T Mandy. Infants with fetal (intrauterine) growth restriction. U: Leonard E Weisman, Melanie S Kim, urednici. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2019 [citirano 18. listopad 2019.]. Dostupno na: https://www.uptodate.com/

6. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. J Pediatr. 1967;71(2):159–63.

7. Lee AC, Kozuki N, Cousens S, Stevens GA, Blencowe H, Silveira MF i sur. Estimates of burden and consequences of infants born small for gestational age in low and middle income countries with INTERGROWTH-21st standard: analysis of CHERG datasets. BMJ. 2017;358:j3677.

8. Miller SL, Huppi PS, Mallard C. The consequences of fetal growth restriction on brain structure and neurodevelopmental outcome. J Physiol. 2016;594(4):807–23.

9. Michael Y Divon. Fetal growth restriction: Screening and diagnosis. U: Deborah Levine, Vanessa A Barss, urednici. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2019 [citirano 18. listopad 2019.]. Dostupno na: https://www.uptodate.com

10. Audette MC, Kingdom JC. Screening for fetal growth restriction and placental insufficiency. Semin Fetal Neonatal Med. 2018;23(2):119–25.

11. Villar J, Papageorghiou AT, Pang R, Ohuma EO, Ismail LC, Barros FC i sur. The likeness of fetal growth and newborn size across non-isolated populations in the INTERGROWTH-21st Project: the Fetal Growth Longitudinal Study and Newborn Cross-Sectional Study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2(10):781–92.

12. Mandruzzato G, Antsaklis A, Botet F, Chervenak FA, Figueras F, Grunebaum A i sur. Intrauterine restriction (IUGR). J Perinat Med. 2008;36(4):277–81.

13. Turan S, Miller J, Baschat AA. Integrated Testing and Management in Fetal Growth Restriction. Semin Perinatol. 2008;32(3):194–200.

14. Rigano S, Bozzo M, Ferrazzi E, Bellotti M, Battaglia FC, Galan HL. Early and persistent reduction in umbilical vein blood flow in the growth-restricted fetus: a longitudinal study. Am J Obstet Gynecol. 2001;185(4):834–8.

15. Tudehope D, Vento M, Bhutta Z, Pachi P. Nutritional requirements and feeding recommendations for small for gestational age infants. J Pediatr. 2013;162(3 Suppl):S81-89.

16. Anderson MS, Hay WW. Intrauterine growth restriction and the small-for-gestational-age infant. U: Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn. 5. izd. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 1999. str. 411.

17. Lapillonne A, Braillon P, Claris O, Chatelain PG, Delmas PD, Salle BL. Body composition in appropriate and in small for gestational age infants. Acta Paediatr Oslo Nor. 1997;86(2):196–200.

18. Rosenberg A. The IUGR newborn. Semin Perinatol. 2008;32(3):219–24.

19. Dev Maulik. Doppler ultrasound of the umbilical artery for fetal surveillance. U: Lynn L Simpson, Deborah Levine, Vanessa A Barss, urednici. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2019. Dostupno na: https://www.uptodate.com

20. Wladimiroff JW, Tonge HM, Stewart PA. Doppler ultrasound assessment of cerebral blood flow in the human fetus. Br J Obstet Gynaecol. 1986;93(5):471–5.

21. Arbeille P, Roncin A, Berson M, Patat F, Pourcelot L. Exploration of the fetal cerebral blood flow by duplex Doppler--linear array system in normal and pathological pregnancies. Ultrasound Med Biol. 1987;13(6):329–37.

22. Figueras F, Gratacós E. Update on the Diagnosis and Classification of Fetal Growth Restriction and Proposal of a Stage-Based Management Protocol. Fetal Diagn Ther. 2014;36(2):86–98.

23. Crovetto F, Crispi F, Scazzocchio E, Mercade I, Meler E, Figueras F i sur. First-trimester screening for early and late small-for-gestational-age neonates using maternal serum biochemistry, blood pressure and uterine artery Doppler. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2014;43(1):34–40.

24. Turan OM, Turan S, Gungor S, Berg C, Moyano D, Gembruch U i sur. Progression of Doppler abnormalities in intrauterine growth restriction. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2008;32(2):160–7.

25. Baschat AA, Cosmi E, Bilardo CM, Wolf H, Berg C, Rigano S i sur. Predictors of neonatal outcome in early-onset placental dysfunction. Obstet Gynecol. 2007;109(2 Pt 1):253–61.

26. Oros D, Figueras F, Cruz-Martinez R, Meler E, Munmany M, Gratacos E. Longitudinal changes in uterine, umbilical and fetal cerebral Doppler indices in late-onset small-for-gestational age fetuses. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2011;37(2):191–5.

27. Cruz-Martinez R, Figueras F, Hernandez-Andrade E, Oros D, Gratacos E. Changes in myocardial performance index and aortic isthmus and ductus venosus Doppler in term, small-for-gestational age fetuses with normal umbilical artery pulsatility index. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2011;38(4):400–5.

28. M Kady S, Gardosi J. Perinatal mortality and fetal growth restriction. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2004;18(3):397–410.

29. Figueras F, Eixarch E, Meler E, Iraola A, Figueras J, Puerto B i sur. Small-for-gestational-age fetuses with normal umbilical artery Doppler have suboptimal perinatal and neurodevelopmental outcome. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2008;136(1):34–8.

30. McIntire DD, Bloom SL, Casey BM, Leveno KJ. Birth weight in relation to morbidity and mortality among newborn infants. N Engl J Med. 1999;340(16):1234–8.

31. Frøen JF, Gardosi JO, Thurmann A, Francis A, Stray-Pedersen B. Restricted fetal growth in sudden intrauterine unexplained death. Acta Obstet Gynecol Scand. 2004;83(9):801–7.

32. Jones RA, Roberton NR. Problems of the small-for-dates baby. Clin Obstet Gynaecol. 1984;11(2):499–524.

33. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. BMJ. 1989;298(6673):564–7.

34. Van Assche FA, Holemans K, Aerts L. Fetal growth and consequences for later life. J Perinat Med. 1998;26(5):337–46.

35. Falkner Bonita, Hulman Sonia, Kushner Harvey. Birth Weight Versus Childhood Growth as Determinants of Adult Blood Pressure. Hypertension. 1998;31(1):145–50.

36. Seely EW, Solomon CG. Insulin resistance and its potential role in pregnancy-induced hypertension. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88(6):2393–8.

37. Ong KK, Dunger DB. Developmental aspects in the pathogenesis of type 2 diabetes. Mol Cell Endocrinol. 2001;185(1–2):145–9.

38. Lawlor DA, Davey Smith G, Ebrahim S. Birth weight of offspring and insulin resistance in late adulthood: cross sectional survey. BMJ. 2002;325(7360):359.

39. Robert Resnik. Fetal growth restriction: Evaluation and management. U: Charles J Lockwood, Deborah Levine, Vanessa A Barss, urednici. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2019 [citirano 17. listopad 2019.]. Dostupno na: https://www.uptodate.com

40. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. Clin Sci Lond Engl. 1998;95(2):115–28.

41. Kwon EJ, Kim YJ. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. Obstet Gynecol Sci. 2017;60(6):506–19.

42. Seckl JR, Holmes MC. Mechanisms of Disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal „programming“ of adult pathophysiology. Nat Clin Pract Endocrinol Metab. 2007;3(6):479–88.

43. Barker DJP, Thornburg KL. Placental programming of chronic diseases, cancer and lifespan: a review. Placenta. 2013;34(10):841–5.

44. Kratimenos P, Penn AA. Placental programming of neuropsychiatric disease. Pediatr Res. 2019;86(2):157–64.

45. Thornburg KL, Kolahi K, Pierce M, Valent A, Drake R, Louey S. Biological features of placental programming. Placenta. 2016;48 Suppl 1:S47–53.

46. Bos AF, Einspieler C, Prechtl HF. Intrauterine growth retardation, general movements, and neurodevelopmental outcome: a review. Dev Med Child Neurol. 2001;43(1):61–8.

47. Eixarch E, Meler E, Iraola A, Illa M, Crispi F, Hernandez-Andrade E i sur. Neurodevelopmental outcome in 2-year-old infants who were small-for-gestational age term fetuses with cerebral blood flow redistribution. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2008;32(7):894–9.

48. Gagnon R. Placental insufficiency and its consequences. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2003;110 Suppl 1:S99-107.

49. Leitner Y, Fattal-Valevski A, Geva R, Eshel R, Toledano-Alhadef H, Rotstein M i sur. Neurodevelopmental outcome of children with intrauterine growth retardation: a longitudinal, 10-year prospective study. J Child Neurol. 2007;22(5):580–7.

50. Geva R, Eshel R, Leitner Y, Valevski AF, Harel S. Neuropsychological outcome of children with intrauterine growth restriction: a 9-year prospective study. Pediatrics. 2006;118(1):91–100.

51. Jacobsson B, Hagberg G. Antenatal risk factors for cerebral palsy. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2004;18(3):425–36.

52. Soothill PW, Nicolaides KH, Campbell S. Prenatal asphyxia, hyperlacticaemia, hypoglycaemia, and erythroblastosis in growth retarded fetuses. Br Med J Clin Res Ed. 25. 1987;294(6579):1051–3.

53. McMillen IC, Adams MB, Ross JT, Coulter CL, Simonetta G, Owens JA i sur. Fetal growth restriction: adaptations and consequences. Reprod Camb Engl. 2001;122(2):195–204.

54. Cetin I, Alvino G. Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport. A review. Placenta. 2009;30 Suppl A:S77-82.

55. Fleiss B, Wong F, Brownfoot F, Shearer IK, Baud O, Walker DW i sur. Knowledge Gaps and Emerging Research Areas in Intrauterine Growth Restriction-Associated Brain Injury. Front Endocrinol [Internet]. 2019. [citirano 15. listopad 2019.];10. Dostupno na: https://www.frontiersin.org/

56. Miller SL, Yawno T, Alers NO, Castillo-Melendez M, Supramaniam VG, VanZyl N i sur. Antenatal antioxidant treatment with melatonin to decrease newborn neurodevelopmental deficits and brain injury caused by fetal growth restriction. J Pineal Res. 2014;56(3):283–94.

57. Rideau Batista Novais A, Pham H, Van de Looij Y, Bernal M, Mairesse J, Zana-Taieb E i sur. Transcriptomic regulations in oligodendroglial and microglial cells related to brain damage following fetal growth restriction. Glia. 2016;64(12):2306–20.

58. Kalanjati VP, Wixey JA, Miller SM, Colditz PB, Bjorkman ST. GABAA receptor expression and white matter disruption in intrauterine growth restricted piglets. Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci. 2017;59:1–9.

59. Tolcos M, McDougall A, Shields A, Chung Y, O'Dowd R, Turnley A i sur. Intrauterine Growth Restriction Affects Cerebellar Granule Cells in the Developing Guinea Pig Brain. Dev Neurosci. 2018;40(2):162–74.

60. Tolcos M, Petratos S, Hirst JJ, Wong F, Spencer SJ, Azhan A i sur. Blocked, delayed, or obstructed: What causes poor white matter development in intrauterine growth restricted infants? Prog Neurobiol. 2017;154:62–77.

61. Ke X, Lei Q, James SJ, Kelleher SL, Melnyk S, Jernigan S i sur. Uteroplacental insufficiency affects epigenetic determinants of chromatin structure in brains of neonatal and juvenile IUGR rats. Physiol Genomics. 2006;25(1):16–28.

62. Zinni M, Colella M, Batista Novais AR, Baud O, Mairesse J. Modulating the Oxytocin System During the Perinatal Period: A New Strategy for Neuroprotection of the Immature Brain? Front Neurol. 2018;9:229.

63. Grant PE, Yu D. Acute injury to the immature brain with hypoxia with or without hypoperfusion. Magn Reson Imaging Clin N Am. 2006;14(2):271–85.

64. Huang BY, Castillo M. Hypoxic-ischemic brain injury: imaging findings from birth to adulthood. Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc. 2008;28(2):417–39.

65. Tolsa CB, Zimine S, Warfield SK, Freschi M, Sancho Rossignol A, Lazeyras F i sur. Early alteration of structural and functional brain development in premature infants born with intrauterine growth restriction. Pediatr Res. 2004;56(1):132–8.

66. Businelli C, de Wit C, Visser GHA, Pistorius LR. Ultrasound evaluation of cortical brain development in fetuses with intrauterine growth restriction. J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. 2015;28(11):1302–7.

67. Dubois J, Benders M, Borradori-Tolsa C, Cachia A, Lazeyras F, Ha-Vinh Leuchter R i sur. Primary cortical folding in the human newborn: an early marker of later functional development. Brain J Neurol. 2008;131(Pt 8):2028–41.

68. Esteban FJ, Padilla N, Sanz-Cortés M, de Miras JR, Bargalló N, Villoslada P i sur. Fractal-dimension analysis detects cerebral changes in preterm infants with and without intrauterine growth restriction. NeuroImage. 2010;53(4):1225–32.

69. Fischi-Gómez E, Vasung L, Meskaldji D-E, Lazeyras F, Borradori-Tolsa C, Hagmann P i sur. Structural Brain Connectivity in School-Age Preterm Infants Provides Evidence for Impaired Networks Relevant for Higher Order Cognitive Skills and Social Cognition. Cereb Cortex N Y N. 2015;25(9):2793–805.

70. Harel S, Tomer A, Barak Y, Binderman I, Yavin E. The cephalization index: a screening device for brain maturity and vulnerability in normal and intrauterine growth retarded newborns. Brain Dev. 1985;7(6):580–4.

71. Padilla N, Perapoch J, Carrascosa A, Acosta-Rojas R, Botet F, Gratacós E. Twelve-month neurodevelopmental outcome in preterm infants with and without intrauterine growth restriction. Acta Paediatr Oslo Nor. 2010;99(10):1498–503.

72. Gale CR, O'Callaghan FJ, Bredow M, Martyn CN, Avon Longitudinal Study of Parents and Children Study Team. The influence of head growth in fetal life, infancy, and childhood on intelligence at the ages of 4 and 8 years. Pediatrics. 2006;118(4):1486–92.

73. Gotlieb SJ, Biasini FJ, Bray NW. Visual recognition memory in IUGR and normal birth-weight infants. Infant Behav Dev. 1988;11(2):223–8.

74. Gleeson JG, Polleux F. Neurodevelopment and disease. Curr Opin Neurobiol. 2012;22(5):735–6.

75. Mustafić N. Neurorizično dijete. Pedijatrija Danas. 2006;2(1):54–60.

76. Gupta P, Sodhi KS, Saxena AK, Khandelwal N, Singhi P. Neonatal cranial sonography: A concise review for clinicians. J Pediatr Neurosci. 2016;11(1):7–13.

77. Jelena Polak Babić. Ultrazvuk mozga novorođenčeta. Paediatr Croat. 2004;48(1):28–35.

78. Johnston MV, Trescher WH, Ishida A, Nakajima W. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain. Pediatr Res. 2001;49(6):735–41.

79. Volpe JJ. Cerebral white matter injury of the premature infant-more common than you think. Pediatrics. 2003;112(1 Pt 1):176–80.

80. Volpe JJ. Intraventricular hemorrhage and brain injury in the premature infant. Neuropathology and pathogenesis. Clin Perinatol. 1989;16(2):361–86.

81. Lou HC, Lassen NA, Friis-Hansen B. Impaired autoregulation of cerebral blood flow in the distressed newborn infant. J Pediatr. 1979;94(1):118–21.

82. Steggerda SJ, Leijser LM, Walther FJ, van Wezel-Meijler G. Neonatal cranial ultrasonography: how to optimize its performance. Early Hum Dev. 2009;85(2):93–9.

83. Malhotra A, Ditchfield M, Fahey MC, Castillo-Melendez M, Allison BJ, Polglase GR i sur. Detection and assessment of brain injury in the growth-restricted fetus and neonate. Pediatr Res. 2017;82(2):184–93.

84. de Vries LS, Benders MJNL, Groenendaal F. Progress in Neonatal Neurology with a Focus on Neuroimaging in the Preterm Infant. Neuropediatrics. 2015;46(4):234–41.

85. Suresh Kotagal. Neurologic examination of the newborn. U: Joseph A Garcia-Prats, Douglas R Nordli, Melanie S Kim, urednici. UpToDate [Internet]. UpToDate; 2019. Dostupno na: https://www.uptodate.com/contents/neurologic-examination-of-the-newborn?source=history_widget

86. Amiel-Tison C. Update of the Amiel-Tison neurologic assessment for the term neonate or at 40 weeks corrected age. Pediatr Neurol. 2002;27(3):196–212.

87. Dubowitz L, Ricciw D, Mercuri E. The Dubowitz neurological examination of the full-term newborn. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2005;11(1):52–60.

88. Sheridan-Pereira M, Ellison PH, Helgeson V. The construction of a scored neonatal neurological examination for assessment of neurological integrity in full-term neonates. J Dev Behav Pediatr JDBP. 1991;12(1):25–30.

89. Morgan AM, Koch V, Lee V, Aldag J. Neonatal neurobehavioral examination. A new instrument for quantitative analysis of neonatal neurological status. Phys Ther. 1988;68(9):1352–8.

90. Campbell SK, Hedeker D. Validity of the Test of Infant Motor Performance for discriminating among infants with varying risk for poor motor outcome. J Pediatr. 2001;139(4):546–51.

91. Amiel-Tison C, Gosselin J. From Neonatal to Fetal Neurology: Some Clues for Interpreting Fetal Findings. Donald School Journal of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. 2008.: 48-63.

92. Amiel-Tison C, Gosselin J, Infante-Rivard C. Head growth and cranial assessment at neurological examination in infancy. Dev Med Child Neurol. 2002;44(9):643–8.

93. Gosselin J, Amiel-Tison C, Infante-Rivard C, Fouron C, Fouron J-C. Minor neurological signs and developmental performance in high risk children at preschool age. Dev Med Child Neurol. 2002;44(5):323–8.

94. Murray DM, Bala P, O'connor CM, Ryan CA, Connolly S, Boylan GB. The predictive value of early neurological examination in neonatal hypoxic–ischaemic encephalopathy and neurodevelopmental outcome at 24 months. Dev Med Child Neurol. 2010;52(2):e55–9.

95. Paro-Panjan D, Neubauer D, Kodric J, Bratanic B. Amiel-Tison Neurological Assessment at term age: clinical application, correlation with other methods, and outcome at 12 to 15 months. Dev Med Child Neurol. 2005;47(1):19–26.

96. Amess PN, Penrice J, Wylezinska M, Lorek A, Townsend J, Wyatt JS i sur. Early brain proton magnetic resonance spectroscopy and neonatal neurology related to neurodevelopmental outcome at 1 year in term infants after presumed hypoxic-ischaemic brain injury. Dev Med Child Neurol. 1999;41(7):436–45.

97. Guyton, Hall. Medicinska fiziologija. 11. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2006. str 1042–1052, 1027–1041, 918-930..

98. Grbeša Đ. Rani razvoj posteljice. U: Kurjak A, urednik. Ginekologija i perinatologija. Varaždinske Toplice: Tonimir; 2003. str. 15–25.

99. Salihagić Kadić A, Predojević M. Prehrana ploda i intrauterino programiranje bolesti odrasle dobi. U: Grgurić J, Jovančević M, urednici. Preventivna i socijalna pedijatrija. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. str. 186–92.

100. Salihagić Kadić A, Kurjak A. Fiziologija ljudske posteljice. U: Ultrazvuk u ginekologiji i porodništvu. Zagreb: Art studio Azinović; 2000. str. 222–33.

101. Sadler TW, Langman J. Langman's medical embryology. 12th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2012. str 384.

102. Marieb EN. Human Anatomy and Physiology. 5. izd. San Francisco: Benjamin Cummings; 2000. str 1118–1148.

103. Johnson MH, Everitt BJ. Essential reproduction. 5. izd. Oxford ; Boston: Blackwell Scientific Publications; 2000. str 203–222.

104. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. Br J Obstet Gynaecol. 1994;101(8):669–74.

105. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. J Pathol Bacteriol. 1967;93(2):569–79.

106. Redline RW, Patterson P. Pre-eclampsia is associated with an excess of proliferative immature intermediate trophoblast. Hum Pathol. 1995;26(6):594–600.

107. Robertson WB, Brosens I, Dixon G. Uteroplacental vascular pathology. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1975;5(1–2):47–65.

108. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. Biol Reprod. 2003;69(1):1–7.

109. Burton GJ. Oxygen, the Janus gas; its effects on human placental development and function. J Anat. 2009;215(1):27–35.

110. Fong G-H. Mechanisms of adaptive angiogenesis to tissue hypoxia. Angiogenesis. 2008;11(2):121–40.

111. Ohneda O, Nagano M, Fujii-Kuriyama Y. Role of hypoxia-inducible factor-2alpha in endothelial development and hematopoiesis. Methods Enzymol. 2007;435:199–218.

112. Khaliq A, Dunk C, Jiang J, Shams M, Li XF, Acevedo C i sur. Hypoxia down-regulates placenta growth factor, whereas fetal growth restriction up-regulates placenta growth factor expression: molecular evidence for „placental hyperoxia“ in intrauterine growth restriction. Lab Investig J Tech Methods Pathol. 1999;79(2):151–70.

113. Wang K, Jiang Y, Chen D, Zheng J. Hypoxia Enhances FGF2- and VEGF-Stimulated Human Placental Artery Endothelial Cell Proliferation: Roles of MEK1/2/ERK1/2 and PI3K/AKT1 Pathways. Placenta. 2009;30(12):1045–51.

114. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. Science. 1997;277(5332):1669–72.

115. Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. Identification of a 5’ enhancer. Circ Res. 1995;77(3):638–43.

116. Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer. Drugs. 2014;74(16):1891–925.

117. Li X, Eriksson U. Novel VEGF family members: VEGF-B, VEGF-C and VEGF-D. Int J Biochem Cell Biol. 2001;33(4):421–6.

118. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis. Genes Cancer. 2011;2(12):1097–105.

119. Parikh AA, Ellis LM. The vascular endothelial growth factor family and its receptors. Hematol Oncol Clin North Am. 2004;18(5):951–71, vii.

120. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Delli-Bovi P, Persico MG. Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to the vascular permeability factor. Proc Natl Acad Sci U S A. 15. 1991;88(20):9267–71.

121. Hauser S, Weich HA. A heparin-binding form of placenta growth factor (PlGF-2) is expressed in human umbilical vein endothelial cells and in placenta. Growth Factors Chur Switz. 1993;9(4):259–68.

122. Birkenhäger R, Schneppe B, Röckl W, Wilting J, Weich HA, McCarthy JE. Synthesis and physiological activity of heterodimers comprising different splice forms of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor. Biochem J. 1996;316 ( Pt 3):703–7.

123. Park JE, Chen HH, Winer J, Houck KA, Ferrara N. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR. J Biol Chem. 1994;269(41):25646–54.

124. Ahmed A, Dunk C, Ahmad S, Khaliq A. Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by oxygen--a review. Placenta. 2000;21 Suppl A:S16-24.

125. Taylor CM, Stevens H, Anthony FW, Wheeler T. Influence of hypoxia on vascular endothelial growth factor and chorionic gonadotrophin production in the trophoblast-derived cell lines: JEG, JAr and BeWo. Placenta. 1997;18(5–6):451–8.

126. Malamitsi-Puchner A, Boutsikou T, Economou E, Sarandakou A, Makrakis E, Hassiakos D i sur. Vascular Endothelial Growth Factor and Placenta Growth Factor in Intrauterine Growth-Restricted Fetuses and Neonates. Mediators Inflamm. 2005;2005(5):293–7.

127. de Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N, Williams LT. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. Science. 1992;255(5047):989–91.

128. Terman BI, Dougher-Vermazen M, Carrion ME, Dimitrov D, Armellino DC, Gospodarowicz D i sur. Identification of the KDR tyrosine kinase as a receptor for

vascular endothelial cell growth factor. Biochem Biophys Res Commun. 1992;187(3):1579–86.

129. Millauer B, Wizigmann-Voos S, Schnürch H, Martinez R, Møller NP, Risau W i sur. High affinity VEGF binding and developmental expression suggest Flk-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis. Cell. 1993;72(6):835–46.

130. Gerber HP, Condorelli F, Park J, Ferrara N. Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia. J Biol Chem. 1997;272(38):23659–67.

131. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. Nature. 1995;376(6535):66–70.

132. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M i sur. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. Nature. 1996;380(6573):435–9.

133. Arroyo JA, Winn VD. Vasculogenesis and angiogenesis in the IUGR placenta. Semin Perinatol. 2008;32(3):172–7.

134. Huppertz B, Peeters LLH. Vascular biology in implantation and placentation. Angiogenesis. 2005;8(2):157–67.

135. Zygmunt M, Herr F, Münstedt K, Lang U, Liang OD. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2003;110 Suppl 1:S10-18.

136. Breier G. Angiogenesis in embryonic development--a review. Placenta. 2000;21 Suppl A:S11-15.

137. Kumazaki K, Nakayama M, Suehara N, Wada Y. Expression of vascular endothelial growth factor, placental growth factor, and their receptors Flt-1 and KDR in human placenta under pathologic conditions. Hum Pathol. 2002;33(11):1069–77.

138. Wilting J, Birkenhäger R, Eichmann A, Kurz H, Martiny-Baron G, Marmé D i sur. VEGF121 induces proliferation of vascular endothelial cells and expression of flk-1 without affecting lymphatic vessels of chorioallantoic membrane. Dev Biol. 1996;176(1):76–85.

139. Kurz H, Wilting J, Sandau K, Christ B. Automated evaluation of angiogenic effects mediated by VEGF and PlGF homo- and heterodimers. Microvasc Res. 1998;55(1):92–102.

140. Clark DE, Smith SK, Sharkey AM, Charnock-Jones DS. Localization of VEGF and expression of its receptors flt and KDR in human placenta throughout pregnancy. Hum Reprod Oxf Engl. 1996;11(5):1090–8.

141. Burton GJ, Charnock-Jones DS, Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta. Reprod Camb Engl. 2009;138(6):895–902.

142. Sharkey AM, Charnock-Jones DS, Boocock CA, Brown KD, Smith SK. Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor in human placenta. J Reprod Fertil. 1993;99(2):609–15.

143. Shore VH, Wang TH, Wang CL, Torry RJ, Caudle MR, Torry DS. Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. Placenta. 1997;18(8):657–65.

144. Lash GE, Taylor CM, Trew AJ, Cooper S, Anthony FW, Wheeler T i sur. Vascular endothelial growth factor and placental growth factor release in cultured trophoblast cells under different oxygen tensions. Growth Factors Chur Switz. 2002;20(4):189–96.

145. Szentpéteri I, Rab A, Kornya L, Kovács P, Joó JG. Gene expression patterns of vascular endothelial growth factor (VEGF-A) in human placenta from pregnancies with intrauterine growth restriction. J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. 2013;26(10):984–9.

146. Tse JY, Lao TT, Chan CC, Chiu PM, Cheung AN. Expression of vascular endothelial growth factor in third-trimester placentas is not increased in growth-restricted fetuses. J Soc Gynecol Investig. 2001;8(2):77–82.

147. Regnault TRH, Orbus RJ, de Vrijer B, Davidsen ML, Galan HL, Wilkening RB i sur. Placental expression of VEGF, PlGF and their receptors in a model of placental insufficiency-intrauterine growth restriction (PI-IUGR). Placenta. 2002;23(2–3):132–44.

148. Perales A, Delgado JL, de la Calle M, García-Hernández JA, Escudero AI, Campillos JM i sur. sFlt-1/PlGF for prediction of early-onset pre-eclampsia: STEPS (Study of Early Pre-eclampsia in Spain). Ultrasound Obstet Gynecol. 2017;50(3):373–82.

149. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruysse L, Romero R. The “great obstetrical syndromes” are associated with disorders of deep placentation. Am J Obstet Gynecol. 2011;204(3):193–201.

150. Makris A, Thornton C, Thompson J, Thomson S, Martin R, Ogle R i sur. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. Kidney Int. 2007;71(10):977–84.

151. Harteman JC, Nikkels PGJ, Benders MJNL, Kwee A, Groenendaal F, de Vries LS. Placental pathology in full-term infants with hypoxic-ischemic neonatal encephalopathy and association with magnetic resonance imaging pattern of brain injury. J Pediatr. 2013;163(4):968-995.e2.

152. Rosier-van Dunné FMF, van Wezel-Meijler G, Kaschula ROC, Wranz P a. B, Odendaal HJ, de Vries JIP. Placental histology related to fetal brain sonography. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2011;96(1):F53-58.

153. Elbers J, Viero S, MacGregor D, DeVeber G, Moore AM. Placental pathology in neonatal stroke. Pediatrics. 2011;127(3):e722-729.

154. Chang KTE, Keating S, Costa S, Machin G, Kingdom J, Shannon P. Third-trimester stillbirths: correlative neuropathology and placental pathology. Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc. 2011;14(5):345–52.

155. Walstab J, Bell R, Reddihough D, Brennecke S, Bessell C, Beischer N. Antenatal and intrapartum antecedents of cerebral palsy: a case-control study. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2002;42(2):138–46.

156. Nielsen LF, Schendel D, Grove J, Hvidtjørn D, Jacobsson B, Josiassen T i sur. Asphyxia-related risk factors and their timing in spastic cerebral palsy. BJOG Int J Obstet Gynaecol. 2008;115(12):1518–28.

157. Blair E, de Groot J, Nelson KB. Placental infarction identified by macroscopic examination and risk of cerebral palsy in infants at 35 weeks of gestational age and over. Am J Obstet Gynecol. 2011;205(2):124.e1-7.

158. Ishihara N, Matsuo H, Murakoshi H, Laoag-Fernandez JB, Samoto T, Maruo T. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation. Am J Obstet Gynecol. 2002;186(1):158–66.

159. Smith SC, Baker PN, Symonds EM. Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 1997;177(6):1395–401.

160. Giles WB, Trudinger BJ, Baird PJ. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: pathological correlation. Br J Obstet Gynaecol. 1985;92(1):31–8.

161. Krebs C, Macara LM, Leiser R, Bowman AW, Greer IA, Kingdom JC. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree. Am J Obstet Gynecol. 1996;175(6):1534–42.

162. Lee MM, Yeh MN. Fetal microcirculation of abnormal human placenta. I. Scanning electron microscopy of placental vascular casts from small for gestational age fetus. Am J Obstet Gynecol. 1986;154(5):1133–9.

163. Macara L, Kingdom JC, Kaufmann P, Kohnen G, Hair J, More IA i sur. Structural analysis of placental terminal villi from growth-restricted pregnancies with abnormal umbilical artery Doppler waveforms. Placenta. 1996;17(1):37–48.

164. Salafia CM, Pezzullo JC, Minior VK, Divon MY. Placental pathology of absent and reversed end-diastolic flow in growth-restricted fetuses. Obstet Gynecol. 1997;90(5):830–6.

165. Nelson KB, Blair E. The placenta and neurologic and psychiatric outcomes in the child: study design matters. Placenta. 2011;32(9):623–5.

166. Predojević M, Vukojević K, Saraga-Babić M, Kos M, Starčević M, Predovan M i sur. Expression of VEGF in normal and pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. 3 Congr Croat Physiol Soc 1 Reg Congr Physiol Soc [Internet]. 2013. [citirano 17. listopad 2019.]; Dostupno na: https://www.bib.irb.hr/668809?lang=END&rad=668809

167. Thomson AM, Billewicz WZ, Hytten FE. The assessment of fetal growth. J Obstet Gynaecol Br Commonw. 1968;75(9):903–16.

168. Nicolaides KH, Wright D, Syngelaki A, Wright A, Akolekar R. Fetal Medicine Foundation fetal and neonatal population weight charts. Ultrasound Obstet Gynecol. 2018;52(1):44–51.

169. The Safe Use of Diagnostic Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. Donald Sch J Ultrasound Obstet Gynecol. 2012;6(3):313–7.

170. The Investigation and Management of the Small–for–Gestational–Age Fetus [Internet]. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists, Green–top Guideline No.31;Dostupno na: https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_31.pdf

171. Pourcelot L. Applications cliniques de l’examen Doppler transcutané / L. Pourcelot. U: Vélocimétrie ultrasonore Doppler : application à l’étude de l’écoulement sanguin dans les gros vaisseaux = Ultrasonic Doppler velocimetry : application to blood flow studies in large vessels : séminaire, Paris, 7-11 octobre 1974 Paris : Editions INSERM, 1975. Paris : Editions INSERM, 1975; str. 213-240.

172. Executive Summary: Neonatal Encephalopathy and Neurologic Outcome, Second Edition. Obstet Gynecol. 2014;123(4):896–901.

173. Pidcock FS, Graziani LJ, Stanley C, Mitchell DG, Merton D. Neurosonographic features of periventricular echodensities associated with cerebral palsy in preterm infants. J Pediatr. 1990;116(3):417–22.

174. Hoo ZH, Candlish J, Teare D. What is an ROC curve? Emerg Med J EMJ. 2017;34(6):357–9.

175. Altman DG, Bland JM. Statistics Notes: Diagnostic tests 3: receiver operating characteristic plots. BMJ. 1994;309(6948):188.

176. Schisterman EF, Perkins NJ, Liu A, Bondell H. Optimal cut-point and its corresponding Youden Index to discriminate individuals using pooled blood samples. Epidemiol Camb Mass. 2005;16(1):73–81.

177. Park M-J, Son M, Kim Y-J, Paek D. Social Inequality in Birth Outcomes in Korea, 1995-2008. J Korean Med Sci. 01. 2013;28(1):25–35.

178. de Sadovsky ADI, Mascarello KC, Miranda AE, Silveira MF. The associations that income, education, and ethnicity have with birthweight and prematurity: how close are they? Rev Panam Salud Publica Pan Am J Public Health. 2018;42:e92.

179. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O’Donoghue K i sur. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. Am J Obstet Gynecol. 2013;208(4):290.e1-6.

180. Parra-Saavedra M, Crovetto F, Triunfo S, Savchev S, Peguero A, Nadal A i sur. Placental findings in late-onset SGA births without Doppler signs of placental insufficiency. Placenta. 2013;34(12):1136–41.

181. Catov JM, Scifres CM, Caritis SN, Bertolet M, Larkin J, Parks WT. Neonatal outcomes following preterm birth classified according to placental features. Am J Obstet Gynecol. 2017;216(4):411.e1-411.e14.

182. Marcorelles P. [Placental features in intrauterine growth retardation]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2013;42(8):996–1007.

183. Lao TT, Wong W. The neonatal implications of a high placental ratio in small-for-gestational age infants. Placenta. 1999;20(8):723–6.

184. Promboon S, Mi MP, Chaturachinda K. Birth weight, placental weight and gestation time in relation to natural selection in Thailand. Ann Hum Genet. 1983;47(2):133–41.

185. Wintermark P, Boyd T, Gregas MC, Labrecque M, Hansen A. Placental pathology in asphyxiated newborns meeting the criteria for therapeutic hypothermia. Am J Obstet Gynecol. 2010;203(6):579.e1-9.

186. Nelson KB, Ellenberg JH. Antecedents of cerebral palsy. I. Univariate analysis of risks. Am J Dis Child. 1985;139(10):1031–8.

187. Torfs CP, van den Berg B, Oechsli FW, Cummins S. Prenatal and perinatal factors in the etiology of cerebral palsy. J Pediatr. 1990;116(4):615–9.

188. Eskild A, Haavaldsen C, Vatten LJ. Placental weight and placental weight to birthweight ratio in relation to Apgar score at birth: a population study of 522 360 singleton pregnancies. Acta Obstet Gynecol Scand. 2014;93(12):1302–8.

189. Barut F, Barut A, Gun BD, Kandemir NO, Harma MI, Harma M i sur. Intrauterine growth restriction and placental angiogenesis. Diagn Pathol. 2010;5:24.

190. Cheung CY, Singh M, Ebaugh MJ, Brace RA. Vascular endothelial growth factor gene expression in ovine placenta and fetal membranes. Am J Obstet Gynecol. 1995;173(3 Pt 1):753–9.

191. Carr DJ, Wallace JM, Aitken RP, Milne JS, Martin JF, Zachary IC i sur. Peri- and Postnatal Effects of Prenatal Adenoviral VEGF Gene Therapy in Growth-Restricted Sheep. Biol Reprod. 2016;94(6):142.

192. Spencer R, Ambler G, Brodszki J, Diemert A, Figueras F, Gratacós E i sur. EVERREST prospective study: a 6-year prospective study to define the clinical and biological characteristics of pregnancies affected by severe early onset fetal growth restriction. BMC Pregnancy Childbirth. 23 2017;17(1):43.

193. Nageotte MP. Intrapartum fetal surveillance. U: Creasy & Resnik's Maternal-Fetal Medicine Principles and Practice. 7. izd. Philadelphia: Saunders; 2013. str. 488.

194. Blechner JN. Maternal-fetal acid-base physiology. Clin Obstet Gynecol. 1993;36(1):3–12.

195. Aarnoudse JG, Illsley NP, Penfold P, Bardsley SE, Rispens P, Hytten FE. Permeability of the human placenta to bicarbonate: in-vitro perfusion studies. Br J Obstet Gynaecol. 1984;91(11):1096–102.

196. Hyagriv N Simhan. Umbilical cord blood acid-base analysis at delivery. U: Charles J Lockwood, Vanessa A Barss, urednici. UpToDate [Internet]. UpToDate, Waltham, MA; 2019. Dostupno na: https://www.uptodate.com

197. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, et al. The newborn infant. U: Williams Obstetrics. 23. izd. New York: McGraw-Hill; 2010. str. 590.

198. Cantu J, Szychowski JM, Li X, Biggio J, Edwards RK, Andrews W i sur. Predicting fetal acidemia using umbilical venous cord gas parameters. Obstet Gynecol. 2014;124(5):926–32.

199. Kotaska K, Urinovska R, Klapkova E, Prusa R, Rob L, Binder T. Re-evaluation of cord blood arterial and venous reference ranges for pH, pO(2), pCO(2), according to spontaneous or cesarean delivery. J Clin Lab Anal. 2010;24(5):300–4.

200. Riley RJ, Johnson JW. Collecting and analyzing cord blood gases. Clin Obstet Gynecol. 1993;36(1):13–23.

201. Yeomans ER, Hauth JC, Gilstrap LC, Strickland DM. Umbilical cord pH, PCO2, and bicarbonate following uncomplicated term vaginal deliveries. Am J Obstet Gynecol. 1985;151(6):798–800.

202. Ramin SM, Gilstrap LC, Leveno KJ, Burris J, Little BB. Umbilical artery acid-base status in the preterm infant. Obstet Gynecol. 1989;74(2):256–8.

203. Dickinson JE, Eriksen NL, Meyer BA, Parisi VM. The effect of preterm birth on umbilical cord blood gases. Obstet Gynecol. 1992;79(4):575–8.

204. Helwig JT, Parer JT, Kilpatrick SJ, Laros RK. Umbilical cord blood acid-base state: what is normal? Am J Obstet Gynecol. 1996;174(6):1807–12.

205. Malin GL, Morris RK, Khan KS. Strength of association between umbilical cord pH and perinatal and long term outcomes: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2010;340:c1471.

206. Andres RL, Saade G, Gilstrap LC, Wilkins I, Witlin A, Zlatnik F i sur. Association between umbilical blood gas parameters and neonatal morbidity and death in neonates with pathologic fetal acidemia. Am J Obstet Gynecol. 1999;181(4):867–71.

207. Goldaber KG, Gilstrap LC, Leveno KJ, Dax JS, McIntire DD. Pathologic fetal acidemia. Obstet Gynecol. 1991;78(6):1103–7.

208. Gilstrap LC, Leveno KJ, Burris J, Williams ML, Little BB. Diagnosis of birth asphyxia on the basis of fetal pH, Apgar score, and newborn cerebral dysfunction. Am J Obstet Gynecol. 1989;161(3):825–30.

209. Goldaber KG, Gilstrap LC. Correlations between obstetric clinical events and umbilical cord blood acid-base and blood gas values. Clin Obstet Gynecol. 1993;36(1):47–59.

210. King TA, Jackson GL, Josey AS, Vedro DA, Hawkins H, Burton KM i sur. The effect of profound umbilical artery acidemia in term neonates admitted to a newborn nursery. J Pediatr. 1998;132(4):624–9.

211. Sehdev HM, Stamilio DM, Macones GA, Graham E, Morgan MA. Predictive factors for neonatal morbidity in neonates with an umbilical arterial cord pH less than 7.00. Am J Obstet Gynecol. 1997;177(5):1030–4.

212. Winkler CL, Hauth JC, Tucker JM, Owen J, Brumfield CG. Neonatal complications at term as related to the degree of umbilical artery acidemia. Am J Obstet Gynecol. 1991;164(2):637–41.

213. Agrawal SK, Doucette F, Gratton R, Richardson B, Gagnon R. Intrapartum computerized fetal heart rate parameters and metabolic acidosis at birth. Obstet Gynecol. 2003;102(4):731–8.

214. Graham EM, Ruis KA, Hartman AL, Northington FJ, Fox HE. A systematic review of the role of intrapartum hypoxia-ischemia in the causation of neonatal encephalopathy. Am J Obstet Gynecol. 2008;199(6):587–95.

215. Lin CC, Moawad AH, Rosenow PJ, River P. Acid-base characteristics of fetuses with intrauterine growth retardation during labor and delivery. Am J Obstet Gynecol. 1980;137(5):553–9.

216. Low JA, Panagiotopoulos C, Derrick EJ. Newborn complications after intrapartum asphyxia with metabolic acidosis in the term fetus. Am J Obstet Gynecol. 1994;170(4):1081–7.

217. van den Berg PP, Nelen WL, Jongsma HW, Nijland R, Kollée LA, Nijhuis JG i sur. Neonatal complications in newborns with an umbilical artery pH < 7.00. Am J Obstet Gynecol. 1996;175(5):1152–7.

218. Goodwin TM, Belai I, Hernandez P, Durand M, Paul RH. Asphyxial complications in the term newborn with severe umbilical acidemia. Am J Obstet Gynecol. 1992;167(6):1506–12.

219. Ross MG, Gala R. Use of umbilical artery base excess: algorithm for the timing of hypoxic injury. Am J Obstet Gynecol. 2002;187(1):1–9.

220. Salavati N, Smies M, Ganzevoort W, Charles AK, Erwich JJ, Plösch T i sur. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction. Front Physiol. 2018;9:1884.

221. Alfirevic Z, Stampalija T, Gyte GML. Fetal and umbilical Doppler ultrasound in high-risk pregnancies. Cochrane Database Syst Rev. 2013;(11):CD007529.

222. Baschat AA. Planning management and delivery of the growth-restricted fetus. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018;49:53–65.

223. Morrow RJ, Adamson SL, Bull SB, Ritchie JW. Effect of placental embolization on the umbilical arterial velocity waveform in fetal sheep. Am J Obstet Gynecol. 1989;161(4):1055–60.

224. Gosling RG, Dunbar G, King DH, Newman DL, Side CD, Woodcock JP i sur. The quantitative analysis of occlusive peripheral arterial disease by a non-intrusive ultrasonic technique. Angiology. 1971;22(1):52–5.

225. Acharya G, Wilsgaard T, Berntsen GKR, Maltau JM, Kiserud T. Reference ranges for serial measurements of umbilical artery Doppler indices in the second half of pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2005;192(3):937–44.

226. Umbilical Artery Doppler Reference Ranges [Internet]. [citirano 16. listopad 2019.]. Dostupno na: http://perinatology.com/calculators/umbilicalartery.htm

227. Morales-Roselló J, Khalil A, Fornés-Ferrer V, Alberola-Rubio J, Hervas-Marín D, Peralta Llorens N i sur. Progression of Doppler changes in early-onset small for gestational age fetuses. How frequent are the different progression sequences? J

Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. 2018;31(8):1000–8.

228. Hartung J, Bamberg C, Hocher B, Slowinski T, Bollmann R. P13.23: Relationship between umbilical artery Doppler resistance with placenta and neonatal birth weight in normal pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol. 2006;28:594–594.

229. Figueras F, Lanna M, Palacio M, Zamora L, Puerto B, Coll O i sur. Middle cerebral artery Doppler indices at different sites: prediction of umbilical cord gases in prolonged pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol. 2004;24(5):529–33.

230. Johnson P, Stojilkovic T, Sarkar P. Middle cerebral artery Doppler in severe intrauterine growth restriction. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2001;17(5):416–20.

231. Veille JC, Penry M. Effects of maternal administration of 3% carbon dioxide on umbilical artery and fetal renal and middle cerebral artery Doppler waveforms. Am J Obstet Gynecol. 1992;167(6):1668–71.

232. Baschat AA. Neurodevelopment following fetal growth restriction and its relationship with antepartum parameters of placental dysfunction. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2011;37(5):501–14.

233. Baschat AA, Gembruch U, Harman CR. The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2001;18(6):571–7.

234. Yagel S, Anteby E, Lavy Y, Ben Chetrit A, Palti Z, Hochner-Celnikier D i sur. Fetal middle cerebral artery blood flow during normal active labour and in labour with variable decelerations. Br J Obstet Gynaecol. 1992;99(6):483–5.

235. Kassanos D, Siristatidis C, Vitoratos N, Salamalekis E, Creatsas G. The clinical significance of Doppler findings in fetal middle cerebral artery during labor. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2003;109(1):45–50.

236. Hecher K, Spernol R, Stettner H, Szalay S. Potential for diagnosing imminent risk to appropriate- and small-for-gestational-age fetuses by Doppler sonographic examination of umbilical and cerebral arterial blood flow. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 1992;2(4):266–71.

237. Bahlmann F, Reinhard I, Krummenauer F, Neubert S, Macchiella D, Wellek S. Blood flow velocity waveforms of the fetal middle cerebral artery in a normal population: reference values from 18 weeks to 42 weeks of gestation. J Perinat Med. 2002;30(6):490–501.

238. Simanaviciute D, Gudmundsson S. Fetal middle cerebral to uterine artery pulsatility index ratios in normal and pre-eclamptic pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol. 2006;28(6):794–801.

239. Hecher K, Snijders R, Campbell S, Nicolaides K. Fetal venous, intracardiac, and arterial blood flow measurements in intrauterine growth retardation: relationship with fetal blood gases. Am J Obstet Gynecol. 1995;173(1):10–5.

240. Berkley E, Chauhan SP, Abuhamad A. Doppler assessment of the fetus with intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2012;206(4):300–8.

241. Curtin WM, Millington KA, Ibekwe TO, Ural SH. Suspected Fetal Growth Restriction at 37 Weeks: A Comparison of Doppler and Placental Pathology. BioMed Res Int [Internet]. 2017. [citirano 20. listopad 2019.];2017. Dostupno na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5376925/

242. Simpson L, Khati NJ, Deshmukh SP, Dudiak KM, Harisinghani MG, Henrichsen TL i sur. ACR Appropriateness Criteria Assessment of Fetal Well-Being. J Am Coll Radiol JACR. 2016;13(12 Pt A):1483–93.

243. Jugović D, Tumbri J, Medić M, Jukić MK, Kurjak A, Arbeille P i sur. New Doppler index for prediction of perinatal brain damage in growth-restricted and hypoxic fetuses. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2007;30(3):303–11.

244. Salihagić-Kadić A, Medić M, Jugović D, Kos M, Latin V, Kusan Jukić M i sur. Fetal cerebrovascular response to chronic hypoxia--implications for the prevention of brain damage. J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. 2006;19(7):387–96.

245. Fignon A, Salihagic A, Akoka S, Moraine C, Lansac J, Laurini R i sur. Twenty-day cerebral and umbilical Doppler monitoring on a growth retarded and hypoxic fetus. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1996;66(1):83–6.

246. Salihagić A, Georgescus M, Perrotin F, Laurini R, Arbeille B, Fignon A i sur. Daily Doppler assessment of the fetal hemodynamic response to chronic hypoxia: a five-case report. Prenat Neonatal Med. 2002;5:35.

247. Arbeille P, Maulik D, Fignon A, Stale H, Berson M, Bodard S i sur. Assessment of the fetal PO2 changes by cerebral and umbilical Doppler on lamb fetuses during acute hypoxia. Ultrasound Med Biol. 1995;21(7):861–70.

248. Arbeille P, Maulik D, Salihagic A, Locatelli A, Lansac J, Platt LD. Effect of long-term cocaine administration to pregnant ewes on fetal hemodynamics, oxygenation, and growth. Obstet Gynecol. 1997;90(5):795–802.

249. Conde-Agudelo A, Villar J, Kennedy SH, Papageorghiou AT. Predictive accuracy of cerebroplacental ratio for adverse perinatal and neurodevelopmental outcomes in suspected fetal growth restriction: systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2018;52(4):430–41.

250. Prior T, Mullins E, Bennett P, Kumar S. Prediction of intrapartum fetal compromise using the cerebroumbilical ratio: a prospective observational study. Am J Obstet Gynecol. 2013;208(2):124.e1-6.

251. Morales-Roselló J, Khalil A, Morlando M, Bhide A, Papageorghiou A, Thilaganathan B. Poor neonatal acid-base status in term fetuses with low cerebroplacental ratio.

Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2015;45(2):156–61.

252. Fiolna M, Kostiv V, Anthoulakis C, Akolekar R, Nicolaides KH. Prediction of adverse perinatal outcome by cerebroplacental ratio in women undergoing induction of labor. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2019;53(4):473–80.

253. Khalil AA, Morales-Rosello J, Elsaddig M, Khan N, Papageorghiou A, Bhide A i sur. The association between fetal Doppler and admission to neonatal unit at term. Am J Obstet Gynecol. 2015;213(1):57.e1-57.e7.

254. Khalil AA, Morales-Rosello J, Morlando M, Hannan H, Bhide A, Papageorghiou A i sur. Is fetal cerebroplacental ratio an independent predictor of intrapartum fetal compromise and neonatal unit admission? Am J Obstet Gynecol. 2015;213(1):54.e1-54.e10.

255. Laurini RN, Arbeille B, Gemberg C, Akoka S, Locatelli A, Lansac J i sur. Brain damage and hypoxia in an ovine fetal chronic cocaine model. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1999;86(1):15–22.

256. Roza SJ, Steegers EAP, Verburg BO, Jaddoe VWV, Moll HA, Hofman A i sur. What is spared by fetal brain-sparing? Fetal circulatory redistribution and behavioral problems in the general population. Am J Epidemiol. 2008;168(10):1145–52.

257. Starčević M, Predojević M, Butorac D, Tumbri J, Konjevoda P, Kadić AS. Early functional and morphological brain disturbances in late-onset intrauterine growth restriction. Early Hum Dev. 2016;93:33–8.

258. Sanz-Cortés M, Figueras F, Bargalló N, Padilla N, Amat-Roldan I, Gratacós E. Abnormal brain microstructure and metabolism in small-for-gestational-age term fetuses with normal umbilical artery Doppler. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2010;36(2):159–65.

259. Arbeille P, Carles G, Bousquet F, Body G, Lansac J. Fetal cerebral and umbilical artery blood flow changes during pregnancy complicated by malaria. J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med. 1998;17(4):223–9.

260. Regan J, Masters H, Warshak CR. Estimation of the growth rate in fetuses with an abnormal cerebroplacental ratio compared to those with suspected growth restriction without evidence of centralization of blood flow. J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med. 2015;34(5):837–42.

261. Gramellini D, Folli MC, Raboni S, Vadora E, Merialdi A. Cerebral-umbilical Doppler ratio as a predictor of adverse perinatal outcome. Obstet Gynecol. 1992;79(3):416–20.

262. Monteith C, Flood K, Pinnamaneni R, Levine TA, Alderdice FA, Unterscheider J i sur. An abnormal cerebroplacental ratio (CPR) is predictive of early childhood delayed neurodevelopment in the setting of fetal growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2019;221(3):273.e1-273.e9.

263. Bligh LN, Solai AA, Greer RM, Kumar S. Diagnostic Performance of Cerebroplacental Ratio Thresholds at Term for Prediction of Low Birthweight and Adverse Intrapartum and Neonatal Outcomes in a Term, Low-Risk Population. Fetal Diagn Ther. 2018;43(3):191–8.

264. Figueras F, Caradeux J, Crispi F, Eixarch E, Peguero A, Gratacos E. Diagnosis and surveillance of late-onset fetal growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2018;218(2):S790-S802.e1.

265. Mejaški-Bošnjak V, Gojmerac T, Đuranović V, Krakar G. Hipoksično-ishemično oštećenje mozga u nedonoščadi. Gynaecol Perinatol 2004; 13(Suppl 2);41-5. Gynaecol Perinatol. 2014;13;41-5(2):41–5.

266. Kinney HC, Haynes RL, Folkerth RD. White matter lesions in the perinatal period. U: Pathology and Genetics: Acquired and Inherited Diseases of the Developing Nervous System. Basel: ISN Neuropathology Press; 2004. str. 156–70.

267. Pierson CR, Folkerth RD, Billiards SS, Trachtenberg FL, Drinkwater ME, Volpe JJ i sur. Gray matter injury associated with periventricular leukomalacia in the premature infant. Acta Neuropathol (Berl). 2007;114(6):619–31.

268. Kinney HC, Panigrahy A, Newburger JW, Jonas RA, Sleeper LA. Hypoxic-ischemic brain injury in infants with congenital heart disease dying after cardiac surgery. Acta Neuropathol (Berl). 2005;110(6):563–78.

269. Galli KK, Zimmerman RA, Jarvik GP, Wernovsky G, Kuypers MK, Clancy RR i sur. Periventricular leukomalacia is common after neonatal cardiac surgery. J Thorac Cardiovasc Surg. 2004;127(3):692–704.

270. Mahle WT, Tavani F, Zimmerman RA, Nicolson SC, Galli KK, Gaynor JW i sur. An MRI study of neurological injury before and after congenital heart surgery. Circulation. 2002;106(12 Suppl 1):I109-114.

271. Kinney HC. The near-term (late preterm) human brain and risk for periventricular leukomalacia: a review. Semin Perinatol. 2006;30(2):81–8.

272. Himmelmann K, Hagberg G, Beckung E, Hagberg B, Uvebrant P. The changing panorama of cerebral palsy in Sweden. IX. Prevalence and origin in the birth-year period 1995-1998. Acta Paediatr Oslo Nor. 2005;94(3):287–94.

273. Volpe JJ. Intraventricular hemorrhage and brain injury in the premature infant. Diagnosis, prognosis, and prevention. Clin Perinatol. 1989;16(2):387–411.

274. Procianoy RS, Garcia-Prats JA, Adams JM, Silvers A, Rudolph AJ. Hyaline membrane disease and intraventricular haemorrhage in small for gestational age infants. Arch Dis Child. 1980;55(7):502–5.

275. Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. The Vermont Oxford Network. Am J Obstet Gynecol. 2000;182(1 Pt 1):198–206.

276. Gilbert WM, Danielsen B. Pregnancy outcomes associated with intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2003;188(6):1599-1601.

277. von Beckerath A-K, Kollmann M, Rotky-Fast C, Karpf E, Lang U, Klaritsch P. Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2013;208(2):130.e1-130.e6.

278. Malhotra A, Yahya Z, Sasi A, Jenkin G, Ditchfield M, Polglase GR i sur. Does fetal growth restriction lead to increased brain injury as detected by neonatal cranial ultrasound in premature infants? J Paediatr Child Health. 2015;51(11):1103–8.

279. Padilla-Gomes NF, Enríquez G, Acosta-Rojas R, Perapoch J, Hernandez-Andrade E, Gratacos E. Prevalence of neonatal ultrasound brain lesions in premature infants with and without intrauterine growth restriction. Acta Paediatr Oslo Nor 1992. 2007;96(11):1582–7.

280. McElrath TF, Allred EN, Boggess KA, Kuban K, O'Shea TM, Paneth N i sur. Maternal antenatal complications and the risk of neonatal cerebral white matter damage and later cerebral palsy in children born at an extremely low gestational age. Am J Epidemiol. 2009;170(7):819–28.

281. Baschat AA, Gembruch U, Viscardi RM, Gortner L, Harman CR. Antenatal prediction of intraventricular hemorrhage in fetal growth restriction: what is the role of Doppler? Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2002;19(4):334–9.

282. Aucott SW, Donohue PK, Northington FJ. Increased morbidity in severe early intrauterine growth restriction. J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc. 2004;24(7):435–40.

283. Mari G, Abuhamad AZ, Keller M, Verpairojkit B, Ment L, Copel JA. Is the fetal brain-sparing effect a risk factor for the development of intraventricular hemorrhage in the preterm infant? Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 1996;8(5):329–32.

284. Simchen MJ, Beiner ME, Strauss-Liviathan N, Dulitzky M, Kuint J, Mashiach S i sur. Neonatal outcome in growth-restricted versus appropriately grown preterm infants. Am J Perinatol. 2000;17(4):187–92.

285. Claris O, Besnier S, Lapillonne A, Picaud JC, Salle BL. Incidence of ischemic-hemorrhagic cerebral lesions in premature infants of gestational age < or = 28 weeks: a prospective ultrasound study. Biol Neonate. 1996;70(1):29–34.

286. Hasmasanu MG, Bolboaca SD, Baizat MI, Drugan TC, Zaharie GC. Neonatal short-term outcomes in infants with intrauterine growth restriction. Saudi Med J. 2015;36(8):947–53.

287. Cruz-Martinez R, Tenorio V, Padilla N, Crispi F, Figueras F, Gratacos E. Risk of ultrasound-detected neonatal brain abnormalities in intrauterine growth-restricted fetuses born between 28 and 34 weeks' gestation: relationship with gestational age at birth and fetal Doppler parameters. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. 2015;46(4):452–9.

288. Simard M-N, Lambert J, Lachance C, Audibert F, Gosselin J. Prediction of developmental performance in preterm infants at two years of corrected age: contribution of the neurological assessment at term age. Early Hum Dev. 2011;87(12):799–804.

289. Chaudhari S, Bhalerao M, Chitale A, Patil B, Pandit A, Hoge M. Transient tone abnormalities in high risk infants and cognitive outcome at five years. Indian Pediatr. 2010;47(11):931–5.

290. Gosselin J, Fouron J-C, Amiel-Tison C. Consequences of Uteroplacental Insufficiency on Developmental and Intellectual Performances. NeoReviews. 2006;7(4):e202–7.

291. Ergenekon E, Gücüyener K, Erbaş D, Aral S, Koç E, Atalay Y. Cerebrospinal fluid and serum vascular endothelial growth factor and nitric oxide levels in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. Brain Dev. 2004;26(5):283–6.

292. Ren Y, Wang H, Qin H, Yang J, Wang Y, Jiang S i sur. Vascular Endothelial Growth Factor expression in peripheral blood of patients with pregnancy induced hypertension syndrome and its clinical significance. Pak J Med Sci. 2014;30(3):634–7.

# 12 ŽIVOTOPIS

Rođena sam 30.05.1982. godine. Diplomirala sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2007. godine. 2008. godine položila sam stručni ispit za doktora medicine i stekla licencu za samostalan rad. Od 2008. do 2011. godine bila sam zaposlena u Katedri za fiziologiju i imunologiju kao znanstveni novak-asistent na projektu „C/U omjer i motorički parametri u prevenciji perinatalnog oštećenja mozga“, pod vodstvom prof. dr. sc. Aide Salihagić Kadić. Uz rad na projektu, sudjelovala sam u izvođenju nastave na hrvatskom i engleskom jeziku. Od 2011. do 2018. sam specijalizirala ginekologiju i porodništvo na Klinici za ginekologiju i porodništvo Kliničke bolnice „Sveti Duh“. Tijekom specijalizacije sam nastavila znanstveno istraživačku suradnju s prof. dr. sc. Aidom Salihagić Kadić na projektu „Novi algoritam za prevenciju neuroloških odstupanja i oštećenja u djece s intrauterinim zastojem u rastu“. Udana sam i majka sam dvije djevojčice.