



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI  
MEDICINSKI FAKULTET



**Arnela Cerić Banićević**

**KORELACIJA KVALITATIVNOG ALFA-1  
MIKROGLOBULINA, VRIJEDNOSTI  
INTERLEUKINA 6 TE CERVIKOMETRIJE I  
CERVIKALNE INFEKCIJE KOD TRUDNICA SA  
SIMPTOMIMA PRIJEVREMENOG PORODA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2020. godine



UNIVERSITY OF BANJA LUKA  
FACULTY OF MEDICINE



**Arnela Cerić Banićević**

**CORRELATION OF QUALITATIVE ALPHA-1  
MICROGLOBULIN, INTERLEUKIN  
6 VALUES ALONG WITH CERVICOMETRY  
AND CERVICAL INFECTION IN PREGNANT  
WOMEN WITH SYMPTOMS OF  
PRETERM BIRTH**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2020.

**MENTOR:** Prof. dr Vesna Ećim - Zlojutro redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

**NASLOV:** Korelacija kvalitativnog Alfa-1 mikroglobulina, vrijednosti interleukina 6 te cervikometrije i cervicalne infekcije kod trudnica sa simptomima prijevremenog poroda

**REZIME:** Jedan od problema modernog akušerstva je prepoznati i izdvojiti trudnice koje će prijevremeno roditi. U poslednjih deset godina zbog lažno pozitivnih nalaza, odnosno zbog testova sa niskom pozitivnom prediktivnom vrijednošću, povećava se broj nepotrebnih dana hospitalizacije kao i nepotrebne terapije.

U populaciji trudnica sa simptomima prijevremenog poroda, vjerovatnoća PP je 25%. U prospektivnom istraživanju uključili smo dvije grupe trudnica, sa simptomima prijetećeg PP između 22 i 37 nedelje trudnoće i druga grupa iste gestacije, bez simptoma. Kod svake trudnice smo uradili test na placentalni alfa1 mikroglobulin, ultrazvučno pratili dužinu grlića, te uzeli uzorak cervicalnog brisa na mirobiontsku analizu, uzorak krvi za IL6, te CRP.

Cilj je bio analizirati dijagnostičku tačnost testova u svrhu predviđanja PP < 37. te < 34. nedelje. Ukupna učestalost PP < 37. nedelje je bila 28%, dok je učestalost PP < 8% do 34. nedelje. Do 7 dana od hospitalizacije prijevremeno se porodilo 16%, sve su bile PAMG1 pozitivne, 75% se porodi prijevremeno ako je PAMG1 pozitivan, a dužina grlića ispod 25mm.

Kombinacijom testova najbolju prediktivnu tačnost smo dobili kod PAMG1 pozitivnog testa, dužine grlića ispod 15mm, te porast CRP-a iznad 15, 96%. Ukupan broj bolničkih dana bio je 29% kod prijevremeno porođenih do 71% kod terminskih porođenih bez obzira na simptomatologiju, što opravdava dalja istraživanja u pravcu rasterećenja zdravstvenog sistema, ali i ljekara prilikom odluke o tretmanu trudnica sa znacima prijevremenog poroda.

**Ključne riječi:** PAMG-1, cervikometrija, prijevremeni porod

**Naučna oblast:** Ginekologija i opstetricija

**Naučno polje:** Kliničke medicinske nauke

**Klasifikaciona oznaka prema šifrarniku za naučnu oblast:**

**Tip odabrane licence Kreativne zajednice:** Autorstvo-nekomercijalno (CC BY-NC)

**ABSTRACT:** Identifying and extracting pregnant women who will undergo preterm birth is one of the problems of modern obstetrics. In the last ten years, there are excess hospitalization days along with unnecessary medical therapies, due to false positive tests, i.e., tests with low positive predictive values.

Probability of preterm birth\* (PB in the further text) is 25%, in the population of pregnant women with the symptoms of preterm birth. We included two groups of pregnant women in the prospective study, with the symptoms of PB, between 22<sup>nd</sup> and 37<sup>th</sup> week of pregnancy, along with another group of the same gestation length, without any symptoms. Every pregnant woman was tested for placental alpha macroglobulin-1 (PAMG1) along with ultrasound monitoring of cervical length; performed cervical swab sampling for microbiology test and blood sample test for interleukin 6 (IL6) as well as CRP levels.

The aim was to analyze diagnostic accuracy of tests for the purpose of predicting PB in the <37<sup>th</sup> and <34<sup>th</sup> week. Total frequency of PB in the <37<sup>th</sup> week was 28%, while the frequency of PB was <8% till 34<sup>th</sup> week. There was 16% of preterm births, within 7 days from hospitalization, and they all had positive PAMG1 test results; 75% of women undergo preterm birth if their PAMG1 test result is positive and cervical length is under 25 mm.

Combining the tests, we got best predictive accuracy with PAMG1 positive test result, cervical length under 15 mm and increased CRP values above 15, 96%. Total number of hospitalization days was 29% with preterm births up to 71% with full term births, regardless of symptomatology, which justifies further studies, towards relief of healthcare system as well as doctors, regarding decision making in treatment of pregnant women with the symptoms of preterm birth.

Key words: PAMG1, Cervicometry, Preterm Birth

Scientific area: Gynaecology and Obstetrics

Scientific field: Clinical and Medical Sciences

Classifying reference according to the code book for the scientific area: Creative Commons  
licenses: Attribution-NonCommercial CC BY-NC

## ZAHVALNICA

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Prijevremeni porod .....	1
1.1.1. Definicija i učestalost .....	1
1.1.2. Rani i kasni morbiditet prijevremeno rođene djece .....	1
1.2. Podjela i faktori rizika za prijevremeni porod .....	3
1.2.1. Podjela prijevremenog poroda .....	3
1.2.2. Faktori rizika za nastanak prijevremenog poroda .....	3
1.3. Uzroci prijevremenog poroda .....	4
1.3.1. Kontrakcije uterusa te skraćenje dužine grlića .....	5
1.3.2. Intrauterina infekcija .....	7
1.3.3. Uloga citokina u prijevremenom porodu.....	8
1.3.4. Biološki markeri prijevremenog poroda .....	10
1.4. Izbor rizične grupe trudnica za prijevremeni porod .....	13
1.4.1. Tranvaginalni ultrazvuk, cervikometrija (TVS) .....	13
1.4.2. Tehnika izvođenja cervikometrije (TVS) .....	14
1.4.3. Cervikalni bris, cervikovaginalna infekcija/bakterijska vaginoza .....	15
2. HIPOTEZA .....	16
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	17
4. ISPITANICE I METODE .....	18
Korištene statističke obrade podataka .....	21
5. REZULTATI.....	22
MODEL 1 PAMG1+grlić <15+CRP>15 .....	30
MODEL 2 PAMG1+grlić <15+CB .....	31
MODEL 3 CB+grlić<15+CRP>15 .....	33
6. DISKUSIJA .....	36
7. ZAKLJUČCI .....	42

# 1. UVOD

## 1.1. Prijevremeni porod

### 1.1.1. Definicija i učestalost

Prijevremeni porod (PP) te njegove kratkoročne i dugoročne posljedice najveći su problem u današnjem akušerstvu. Definiše se kao rađanje djeteta između 22. nedelje do prije navršene 37. nedelje trudnoće s učestalošću u opštoj populaciji trudnica u Europi između 5 - 9 % (1), a u SAD-u i Kanadi do 12% (1,2). Uprkos poboljšanju zdravstvene zaštite i njege, upotrebi novih i „poboljšanih“ lijekova te nove tehnologije u velikoj većini razvijenih zemalja učestalost PP se u zadnjih nekoliko decenija uopšte nije smanjila nego se povećala i do 5% u odnosu na prije 30 i više godina. Posljedice PP su odgovorne za 75% novorođenačke smrtnosti te za više od 50 % kratkoročnog i dugoročnog morbiditeta, a više od 2/3 komplikacija se javlja kod djece rođene prije 34. nedelje trudnoće (1-4).

Takođe, njegova učestalost, te novorođenački morbiditet, predstavljaju važne epidemiološke pokazatelje kvalitete zdravstvene zaštite pojedine zemlje.

Učestalost morbiditeta novorođenčadi proporcionalna je dobi trudnoće kada se dijete rodilo, a raste s manjom gestacijskom dobi.

Po dobi se PP dijeli na: porod < 28. nedelje (ekstremno rani PP) koji i donosi najviše problema, a njegova učestalost je oko 5%; porod između 29-31. nedelje (rani ili teški PP) čija učestalost iznosi oko 15%; porod između 32-34. nedelje (umjereni PP) čija učestalost se kreće oko 20% te na kraju porod između 35 – 37. nedelje (blagi ili granični PP) čija učestalost je oko 60-70% (5).

### 1.1.2. Rani i kasni morbiditet prijevremeno rođene djece

Iako su umjereni i granični PP pet puta češći od ranih ili ekstremno ranih PP, uticaj komplikacija koje nastaju u toj grupi nisu još detaljno istražene u odnosu na zdravu terminsku novorođenčad. U proteklih 30 godina učestalost broja PP se povećala za 30 % - kojih 2/3 obuhvataju PP > 34. nedelje.

Djeca rođena u tom gestacijskom razdoblju u poređenju s terminskom novorođenčadi imaju značajno veću učestalost respiracijskog distres sindroma (RDS), apnoičnih epizoda, hipoglikemije, žutice, kernikterusa, poteškoća hranjenja, periventrikularne leukomalacije te većeg broja ponovnih prijema u bolnicu.

Ako se prate dugoročne komplikacije PP djece rođene između 34 – 37. nedelja, djeca školske dobi rođena prijevremeno imaju veću učestalost poremećaja motorike, govora, pisanja, čitanja te ponašanja (6-8).

U grupi ekstremno ranog i ranog PP smrtnost te rani morbiditet novorođenčadi značajno raste zbog nedovoljne plućne zrelosti te pojave teških oblika RDS-a, nekrotizirajućeg enterokolitisa te sepse. Naravno da se ukupno preživljavanje te grupe značajno poboljšalo u proteklih 20 godina antenatalnom primjenom kortikosteroidne profilakse, posnatalnom primjenom surfaktanta i metoda potpomognute ventilacije te unaprijeđenjem intenzivne njegе novorođenčadi.

Međutim, problem ostaje u razvoju kasnih komplikacija u ranoj dječijoj, pretškolskoj, školskoj te adolescentnoj dobi kada se značajno povećava učestalost neurorazvojnih poremećaja, a manifestuje se povećanom učestalošću cerebralne paralize (85 puta veća kod poroda < 28 nedelja, 60.5 puta veća kod djece rođene između 28-32. nedelje te šest puta veća kod djece rođene između 32-37. nedelje, u poređenju s terminskom novorođenčadi). Značajno je veća učestalost i ostalih motoričkih deficitova od poremećaja koordinacije do poremećaja grube i fine motorike (9-11). Poremećaji ponašanja u kasnijoj životnoj dobi djece rođene < 32 nedelja manifestuju se u raznim kognitivnim, emocionalnim i socijalnim disfunkcijama. Rizik nastanka problema ponašanja raste gotovo pet puta (hiperaktivnost, poremećaji pažnje, emocionalni poremećaji, anksioznost, depresija, poremećaji prilagođavanja te socijalnih kontakata).

Od ostalih znakova kasnog morbiditeta treba napomenuti i bronhopulmonalnu displaziju koja se javlja u čak 40 % djece rođene < 32 nedelje koja su preživjela do predškolske dobi te povećanu učestalost ponavljanja hospitalizacija zbog plućnih bolesti. Retinopatija prematuriteta te posljedična sljepoća je jedna od najtežih komplikacija prematuriteta, a njeni se učestalost značajno smanjila u posljednjih 20 godina te danas iznosi oko 3% (5), dok je učestalost gluhoće i drugih poteškoća sluha kao posljedice PP oko 2% u dječjoj dobi.

Djeca rođena prije termina također imaju značajno niže antropometrijske mjere (visina, dužina te indeks tjelesne mase) tokom dječje dobi, ali u školskoj i adolescentnoj dobi dolazi do postupnog izjednačavanja s terminsko rođenom djecom. Zbog prvobitno smanjenog rasta, a kasnije ubrzanog, mogu se javiti različite kasne komplikacije u smislu povećane učestalosti šećerne bolesti te kardiovaskularnih bolesti.

## 1.2. Podjela i faktori rizika za prijevremenih porod

### 1.2.1. Podjela prijevremenog poroda

1. Spontani prijevremeni porod (obuhvata oko 50% PP) koji započinje trudovima prije navršene 37. nedelje trudnoće
2. Prijevremeno prsnuće plodovih ovoja prije termina (PPPO) (25-30%), koji započinje prsnućem ovoja bar sat vremena prije početka trudova prije navršene 37. nedelje trudnoće
3. Iatrogeni PP zbog majčinih ili fetalnih indikacija (obuhvaća oko 30-35%) (1-4)

Najveći udio PP obuhvata spontani PP iako se u zadnjih par decenija povećao udio iatrogenih PP zbog ugroženosti majke, ploda ili oboje.

Takođe, u zadnjih par decenija povećala se i učestalost višeplodnih trudnoća prvenstveno zbog metoda asistirane reprodukcije. Udio višeplodnih trudnoća obuhvata oko 2.5 % svih trudnoća, a veliki dio djece iz takvih trudnoća se rađa prije termina (12).

### 1.2.2. Faktori rizika za nastanak prijevremenog poroda

Jedan od najvažnijih faktora rizika PP je opterećena akušerska anamneza u smislu prethodnog PP, jer se ponovljeni PP javlja u 15 pa čak do 50% slučajeva (13). Relativni rizik ponovnog PP raste 2.5 puta nakon prethodnog, a veći je što je porod prije uslijedio u prethodnoj trudnoći. Najvjerojatniji uzrok je nepepoznata subklinička intrauterina infekcija koja nije bila izlječena te je dovela do njegovog ponavljanja (4,6). Iako višeplodne trudnoće obuhvataju oko 2-3 % ukupnih broja svih trudnoća više od polovine blizanaca će se roditi prije termina (13,14). U oko 40% slučajeva porod nastupa nakon spontanih trudova ili spontanog PPPO-a. Svako vaginalno krvarenje, a posebno krvarenje zbog abrupcije ili niskog ležišta posteljice je povezano s većom učestalošću PP. Izrazito mala (oligohidramnij) ili velika (polihidramnij) količina plodove vode je povezana s PP ili PROM (15). Bilo kakva operacija, a posebno operacija u trbuhu trudnice u drugom ili trećem tromjesječju povezana je s većom učestalošću PP. Ostale kronične bolesti majke kao što su bolesti štitnjače (hipo i hipertireoza), astma, šećerna bolest, hipertenzija, sistemski lupus eritematosus te druge kolagenoze povezane su s većom učestalošću PP zbog komplikacija osnovne bolesti koje najčešće zahtijevaju dovršenje trudnoće prije termina. S druge strane anomalije materice ili hirurški zahvati na materici i cerviku (konizacija, miomektomija) su povezani s većom učestalošću PP (16-19). Pušenje tokom trudnoće ne samo da povećava nastanak zastoja

rasta ploda nego i 2 puta povećava rizik PP prvenstveno zbog nikotina i ugljikovog monoksida koji su jaki vazokonstriktori te uzrokuju irreverzibilna oštećenja posteljice i smanjuju protok krvi kroz nju (20).

Razmak između dvije trudnoće manji od šest mjeseci povezan je s dvostrukim povećanjem rizika PP u sljedećoj, a uzrok tome može biti pojačan upalni odgovor te manje zalihe minerala, esencijalnih vitamina i amnokiselina. Kod trudnica izloženih stresu te povećanim opterećenjem na poslu u smislu povećane količine posla i trajanja radnog vremena, učestalost PP se dovodi u vezu sa nastankom subkliničke infekcije (21,22). Primjećeno je da trudnice izložene stresu imaju više vrijednosti proučalnih citokina i CRP-a u krvi (23). Stepen uhranjenosti je takođe povezan s učestalosti PP.

Niži stepen uhranjenosti u smislu nižeg indeksa tjelesne mase prije trudnoće te nižih vrijednosti oligoelemenata (željeza, cinka, folata) je povezan s većom učestalošću PP.

Mogući mehanizam nastanka PP kod niskog indeksa tjelesne mase prije trudnoće može se objasniti smanjenom količinom krvi te smanjenim protokom krvi kroz matericu tokom trudnoće (24,25).

### 1.3. Uzroci prijevremenog poroda

Prijevremeni porod se danas smatra sindromom koji je posljedica višestrukih mehanizama koji uključuju upalu, uteroplacentarnu ishemiju i/ili krvarenje, stres te ostale opšte ili lokalne imunološke procese. Međutim detaljnji tok i uzrok pojave prijevremenih trudova je još uvijek nepoznat. Povišen udio faktora rizika nad protektivnim mehanizmima dovodi do promjene iz stanja električne i mehaničke „tištine“ materice u pojavu trudova i PP-a (26,27). Od poznatih faktora rizika najčešće se spominju uterina infekcija koja dovodi do aktivacije kaskade prostoglandina koji se smatraju jednim od inicijatora pojave prijevremenih trudova. Prostaglandini imaju važnu ulogu u započinjanju terminskog poroda, a također imaju značaju ulogu i u nastanku PP. Ciklooksigenaza (COX) koja je odgovorna za prvi korak u sintezi prostoglandina iz arahidonske kiseline postoji u dva oblika kao: COX1 i COX2. Dokazano je da COX2 aktivnost dovodi do aktivacije kaskadnog mehanizma koji dovodi do sinteze prostoglandina i započinjanje PP.

Otkrivanje fakora rizika predstavlja prvi korak u spriječavanju i liječenju PP, a takođe može dati važne informacije o mehanizmima koji dovode do njega. Danas je poznato mnogo

fetalnih i majčinih faktora koji su ili mogu biti povezani s PP, a uključuju različite demografske pokazatelje, stanje ishranjenosti, opterećenu ginekološku i akušersku anamnezu, dosadašnji tok trudnoće, upale, pojavu kontrakcija i promjene dužine cerviksa te prisustvo raznih bioloških i genetskih markera.

### 1.3.1. Kontrakcije uterusa te skraćenje dužine grlića

Kontrakcije uterusa se počinju javljati od drugog tromjesječja trudnoće i u nekoliko studija je njihova veća učestalost povezana s većom učestalošću PP. Međutim, kod velike većine trudnica postoji velika varijabilnost u frekvenciji i intenzitetu prijevremenih kontrakcija tako da kontrakcije kao odvojene, nisu dovoljno pouzdane za predviđanje PP.

Kako se približava porod cerviks materice sazrijeva, a to se očituje njegovim skraćivanjem, smekšavanjem te otvaranjem. Bilo digitalnim pregledom bilo transvaginalnim ultrazvučnim pregledom cerviksa (cervikometrija) njegovo skraćenje je povezano s većim rizikom PP (28-30).

Tabela 1 Popis literature sa praćenjem dužine grlića i vjerovatnoćom PP

Reference	Dužina grlića (mm)	Nedelje gestacije PP	Prevalenca PP%	Osjetljivost %	Specifičnost %	PPV%	NPV%
Iams i sar(31)	20	35	4	23	97	26	97
Taipale i sar(32)	≤25	37	2	6	100	39	99
Heath i sar(33)	≤15	≤32	2	58	99	52	99
Hassan i sar(34)	≤15	≤32	4	8	99	47	97
Guzman(35)	25	34	12	76	68	20	96
Owen i sar(36)	25	35	26	19	98	75	77
Tsoi sar(37)	≤15	37	8	94	86	37	99
Rizzo i sar(38)	≤20	37	43	68	79	71	76
Ness i sar(39)	20	37	25	36	87	47	81
Palacio i sar(40)	25	36	15	53	81	34	90

Ultrazvučno, što je cerviks kraći veća je vjerovatnoća PP. Vjerovatnoća PP u nedelju dana nakon cervikometrije uz dužinu grlića veću od 30 mm, u drugom tromjesječju je samo 1% (41-43).

Slabost grlića (cervikalna insuficijencija) se definiše kao asimptomatsko otvaranje najčešće u drugom ili ranom trećem tromjesječju trudnoće (44, 45). Kao posljedica toga dolazi do prolapsa plodovih ovoja u cervikalni kanal ili vaginu, nakon čega u velikom postotku dolazi do njihovog prsnuća te poroda ili pobačaja (14). Ovo se stanje bez odgovarajućeg terapijskog djelovanja često ponavlja. Uzroci cervikalne slabosti mogu se podijeliti na nasljedne i stečene.

Od nasljednih malformacija materice sa insuficijencijom cerviksa povezani su uterus bicornis, uterus septus, uterus subseptus te uterus u obliku slova T (46). Kombinacija cervikalne slabosti s ovim malformacijama pojavljuje se u više od trećine slučajeva što treba imati na umu kod žena s jednom od ovih malformacija.

Od stečenih faktora koji dovode do cervikalne slabosti najznačajniji su mehanički, posebito tehnički loše i grube dilatacije kod kiretaža, konizacije cerviksa, kauterizacije i amputacije cerviksa. Precizna i jasna dijagnoza izolovane cervikalne slabosti u većini slučajeva još uvijek je nejasna i predstavlja dijagnostički izazov.

Razlog tome djelomično leži u različitosti kriterija za postavljanje dijagnoze, ali i zbog različitih metoda kojima se objektiviziraju pozitivni anamnestički podaci koji govore u prilog cervikalne slabosti (44,46). Sumnju na slabost cerviksa postavljamo na osnovu opterećene anamneze.

Podaci koji nam govore u prilog tome su: pobačaj ili porod < 34. nedelje trudnoće u prethodnim trudnoćama, ruptura plodovih ovoja < 32. nedelje u prethodnim trudnoćama, podaci o konizaciji, amputaciji, dilataciji, elektrokoagulaciji te ostalim operacijskim postupcima na cerviku, te postojanje nekih drugih anomalija jajovoda, materice i vagine (46). Uz anamnezu, postoje i određeni dijagnostički postupci, koji ukoliko su učinjeni prije trudnoće, govore u prilog postojanja cervikalne insuficijencije.

To su: histerosalpingografija koja kod cervikalne slabosti pokazuje lijevkast ili tunelast cerviks s proširenim unutrašnjim ušćem (više od 1 cm), zatim prohodnost cerviksa izvan trudnoće za Hegarov dilatator broj 8 ili više u drugoj polovici menstrualnog ciklusa te mogućnost izvlačenja napunjenog balona Folleyevog katetera iz cerviksa također u drugom

dijelu menstruacijskog ciklusa (44).

### 1.3.2. Intrauterina infekcija

Od 25 do 40% svih prijevremenih poroda dešava se kod trudnica sa intrauterinom infekcijom, a ovaj postotak raste sa manjom gestacionom dobi i dostiže 80% ukoliko je do prijevremenog poroda došlo prije 30. nedjelje gestacije (49). Infekcije predstavljaju ne samo najčešći, nego i jedini etiološki faktor, za koji je utvrđena uzročno posljedična veza sa prijevremenim porodom.

Mirkoorganizmi mogu da stignu do amnionske šupljine i dovedu do intrauterine infekcije različitim putevima: ascendentno iz vagine preko cerviksa, hematogena diseminacija kroz placentu, retrogradno iz peritonealne duplje preko jajovoda ili jatrogeno tokom medicinskih procedura. Svakako je ascendentni put infekcije najčešći i one su preko 50% kod prijevremenog poroda. Pretpostavlja se da postoji faza procesa koji dovodi do nastanka intrauterine infekcije.

U prvoj dolazi do poremećaja vaginalne flore, naseljavanja pojedinačnih mikroorganizama i/ili polimikrobne infekcije u kome normalna laktobacilarna flora bude zamijenjena patološkom florom.

Iz vagine preko grlića mikroorganizmi dolaze do decidue i horiona, odakle mogu da prolaze do fetalnih krvnih sudova ili do amniona i ploda (50-52). Bez obzira na put, svaki prodor dovodi do imunološkog odgovora majke ili fetusa. Kada patogen savlada fizičko hemijske barijere na sluznicama, pokreće se više različitih signalnih puteva koji aktiviraju druge komponente imune odbrambene mreže i akutnog upalnog odgovora.

Dolazi do povećanja propustljivosti krvnih sudova, ekstravazacije proteina akutne faze i proteina komplementa. Svi procesi se odigravaju kontrolisano, a jedan od značajnjih je oslobođanje proinflamatornih citokina (IL6, IL1, TNF).

Dokazano je da dovode do manjeg ili većeg porasta sinteze prostaglandina u plodovim ovojima te u decidui i miometrijumu. Koncentracije IL6, IL1, TNF u amnionskoj tečnosti su povišene kod žena sa prijevremenim porodom i intrauterinom infekcijom i u pozitivnoj su korelaciji sa nalazima histološkog horioamnionitisa i kulture (53,54). Mikroorganizmi koji se najčešće nalaze u plodovoj vodi su niske virulencije pa bi mogli dovesti do hronične infekcije bez prisutnih kliničkih, odnosno laboratorijskih znakova.

Pozitivna kultura mikroorganizama ne mora značiti da se radi o aktivnoj intrauterinoj infekciji. S druge strane u oko 80% ekstremno ranih ili ranih prijevremenih poroda pozitivna

kultura povezana je sa horioamnionitisom (55-58). Dokazano je da su bakterije prisutne u fetalnoj krvi u oko 1/3 slučajeva kad su prisutne u amnionu. Najčešće prodor mikroorganizama nastupa u drugom tromjesečju, te je to pravo vrijeme kada se može dijagnostikovati infekcija u još subkliničkoj fazi te preventivno djelovati.

### 1.3.3. Uloga citokina u prijevremenom porodu

Među najbolje proučenim citokinima i njihovoj ulozi u prijevremenom porodu, sigurno spada IL6. Jedan od razloga za ovo je činjenica da je IL6 jedan od najsenzitivnijih citokina kada je u pitanju horioamnionitis (53,54,56). Povišena koncentracija u serumu trudnice, amnionskoj tečnosti i serumu fetusa je bolji indikator horioamnionitisa od klasičnih parametara kao što su rezultati bakterijske kulture, koncentracije glukoze u plodovoj vodi, temperature te broj leukocita trudnice.

Najznačajniji izvor IL6 u trudnoći su decidua, plodovi ovoji i trofoblast. U sekreciji učestvuju imune, ali i neimune ćelije trofoblastnog kompartimenta, a najznačajniji faktori stimulacije sekrecije IL6 su IL1b i TNF- $\alpha$ . Upalni odgovor imunog sistema sastoji se od četiri faze. Rekacija počinje fazom inicijacije, slijedi faza privlačenja imunokompetentnih ćelija, faza imunomodulacije i na kraju faza inhibicije.

Pod uticajem biološkog, fizičkog ili hemijskog agensa, oštećene ćelije luče citokine IL1 i TNF- $\alpha$  koji imaju pirogeno dejstvo, aktiviraju endotelne ćelije i angiogenetske procese, posreduju u razvijanju šoka, stimulišu proliferaciju trofoblasta, aktiviraju ciklooksigenazu tip 2, čime podstiču sintezu prostaglandina. Nekoliko sati poslije početka zapaljenske reakcije počinje sekrecija imunomodulatornog citokina IL6.

Djeluje kao faktor rasta u odnosu na B limfocite, stimuliše sintezu i sekreciju antitijela i aktivira T limfocite (59). Ovo je faza imunomodulacije, odnosno faza koja prethodi smirivanju inflamatorne reakcije. Poslednja imunosupresivna faza zapaljenske reakcije posredovana je citokinima IL10, IL4 TGF-b1,2,3. IL10 je citokin koji inhibiše sintezu i sekreciju svih citokina i na taj način doprinosi smirivanju upalne reakcije.

Postojanje intrauterine infekcije predstavlja najčešći i najvažniji mehanizam koji dovodi do PP bilo da se radi o spontanoj pojavi trudova prije termina ili PROM-a (57).

Intrauterina infekcija bi mogla biti odgovorna za 40% PP iako bi taj postotak mogao biti i veći (60). U velikoj mjeri PP je posljedica subkliničke infekcije koja se teško može dokazati. Razni mikroorganizmi dovode do oslobođanja proupatnih citokina (IL6, IL8, IL1 $\alpha$ ,

TNF $\alpha$ ) i hemokina, tj. aktivacije humorarnog kraka imunosti posjedovanih TH1 limfocitima.

Bakterijski endotoksini i prouparni citokini stimuliraju proizvodnju prostaglandina, ostalih upalnih medijatora te aktivaciju raznih enzima (matriksmetaloproteinaza). Prostaglandini vezanjem na receptore dovode do pojave trudova, a aktivirani enzimi dovode do razgradnje ekstracelularnog matriksa u ovojima ploda. Postoji obrnuto proporcionalna veza između infekcije i vremena nastanka PP.

Ekstremno rani i rani PP u najvećoj mjeri su uzrokovani infekcijom. Ako se upoređuju PP < 24. nedelje gotovo svi su uzrokovani horioamninitisom za razliku od kasnih PP između 35 – 37. nedelje kada je horioamnionitis odgovoran za 10% (55).

Upalni odgovor ploda se povezuje s početkom i inicijacijom PP, ali intrauterina upala može uzrokovati i periventrikularnu leukomalaciju mozga, cerebralnu paralizu i hroničnu plućnu bolest ploda i prije nastanka PP.

Mikoorganizmi najčešće dolaze u amnijsku šupljinu uzlaznim putem kroz cerviks iz vagine, a mogu se širiti i hematogeno kroz posteljicu, retrogradno iz trbušne šupljine kroz jajovode te prilikom invazivnih dijagnostičkih postupaka (amniocenteza, kordocenteza itd). Bakterijska vaginoza se karakteriše promjenom ekosistema vagine (61-63).

Klinički znakovi BV uključuju pojačani bjelkasti iscjadak, mirisa na ribu kada se iscjadak pomješa s kalijevim hidroksidom, pH vagine viši od 4.5 te prisustvo „clue cells“ u nativnom preparatu brisa vagine (Amselovi kriteriji). Danas se citološki kriteriji BV definišu po Nugentovoj bodovnoj skali (63).

Temelje se na smanjenom broju laktobacila, a povećanom broju ostalih mikroorganizama, a posebno Mobilluncusa, Bacteroides spp te Gardnerelle vaginalis.

Zbir bodova između 7-10 se koristi za postavljanje citološke dijagnoze BV i takav citološki nalaz je povezan s tri puta većim brojem PP. Tačan mehanizam kojim BV dovodi do povećane incidencije PP je još uvijek nepoznat, ali negativna promjena lokalnog ekosistema vagine pomaže širenju uzlazne infekcije i nastanku intrauterine infekcije.

#### 1.3.4. Biološki markeri prijevremenog poroda

Biomarkeri iz različitih bioloških tečnosti (plodova voda, cervikalna sluz, vaginalna sluz, krv, plazma i slina) koriste se za predikciju rizika PP.

Sam izraz marker obuhvata širi pojam nekog faktora koji može predvidjeti PP, a biomarkeri su faktori koji se mogu naći u biološkim tečnostima (65-67).

Najčešće biomarkeri koji se dovode u vezu s PP su citokini (IL6, IL8, L1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ) i hemokini, razni mikroorganizmi (Chlamydia, Ureaplasma), metaloproteinaze iz cervikalne sluzi, estriol iz sline te niz materija u plodovoj vodi, serumu, plazmi i peridentalnoj tečnosti.

Placentni alfa mikroglobulin-1 (PAMG-1) je humani protein koji je prvi put izolovan 1975. godine iz amnionske tečnosti. Placentarni alfa-1 mikroglobulin je glikoprotein kojeg proizvode decidualne ćelije (68-70).

Po poslednjim istraživanjima prisustvo proteina objašnjava se transudacijom kroz horionske pore tokom uterusne kontrakcije ili degradacijom ekstracelularnog matriksa fetalnih membrana tokom inflamatornog procesa (69-72).

Koncentracija u plodnoj vodi kreće se od 2000,0 do 25000,0 mg/L, dok je koncentracija u krvi majke između 0,5 – 2,0 mg/L. Komercijalni test poznat kao PartoSure sadrži monoklonska antitijela koja otkrivaju izuzetno male količine proteina prisutnog u vaginalnom sekretu. Test (PartoSure) ima granicu osjetljivosti na 5,0 mg/L.

#### Dijagnostički potencijal

Zbog svoje koncentracije u amnionskoj tečnosti, PAMG-1 se pokazao kao odličan marker proteina amnionske tečnosti.

Prijevremena ruptura fetalnih membrane (PROM) događa se u otprilike 10% trudnoća i jedna je od najčešćih dijagnoza povezanih sa preuranjenim porodom i neonatalnim komplikacijama koja zahtjevaju prijem u bolnicu.

Rizici neonatalnih komplikacija kao rezultat PROM-a mogu uključivati infekciju, prijevremeno rađenje, prolaps pupčnika i abrupciju placente.

Placentni alfa makroglobulin-1 (PAMG-1) bio je predmet više od 20 kliničkih istraživanja, u procjeni rizika od prijevremenog poroda kod trudnica koji pokazuju znakove ili simptome prijevremenog poroda.

Rezultati ovih studija sugerisali su da se test za PAMG-1, može pokazati kao vrlo moćan prediktor neposredne spontane trudnoće kod pacijenata kojiima prijeti porod.

Test je ocjenjen u multicentralnoj, multinacionalnoj pilot studiji, koja je obuhvatila 101 trudnicu sa jednoplodnom trudnoćom, koje su pokazale simptome prijevremenog poroda, klinički intaktne amnionske membrane i minimalne dilatacije grlića materice.

U ovoj grupi, PartoSure test je dao 97,4% i 93,6% negativnu prediktivnu vrijednost, a 78,3% i 87,0% pozitivnu prediktivnu vrijednost za predviđanje poroda u roku od  $\leq 7$  i  $\leq 14$  dana, odnosno 90,0% i 80,0% osjetljivosti i 93,8% i 96,1% specifičnosti za  $\leq 7$  i  $\leq 14$  dana.

Druga recenzirana, objavljena studija te iste grupe autora uključivala je 203 pacijenta i pokušala da uporedi PartoSure test sa standardnim metodama za procenu rizika od prijevremenog poroda kod pacijenata sa preuranjenim porodom.

Autori su zaključili da je detekcija PAMG-1 od strane PartoSure-a jedini najbolji prediktor skorašnjeg spontanog porođaja u roku od 7 dana u poređenju sa merenjem dužine grlića materice transvaginalnim ultrazvukom sa od 25 mm (CL) i fetalnim testiranjem fibronektina (fFN) putem komercijalno dostupnih, brzih testova.

Nadalje, autori su predložili da je statistička superiornost PartoSure-a nad fFN-om i CL-om u odnosu na SP i PPV ( $P <0,01$ ) osigurala dokaz da PartoSure može poslužiti za značajno poboljšanje postojeće prakse i na kraju za smanjenje nepotrebnih prijema u bolnicu.

Špansko društvo ginekologa (SEGO) nedavno je obavjestilo u svojim Smjernicama za prijevremeni porode da je glavna korist ovog testa [PartoSure], njegova visoka negativna prediktivna vrijednost; njegov prognostički kapacitet kod populacije sa velikom prevalencijom prijevremenosti.

Iz tog razloga [PAMG-1] se koristi kod žena sa skraćenim grlićem materice i može biti koristan za donošenje kliničkih odluka i upotrebu tokolitika, upotrebu kortikosteroida ili praćenje ovih pacijenata.

U grupi trudnica bez kliničkih znakova pokazalo se kako će one sa pozitivnim PAMG-1 porod započeti u značajno kraćem roku u poređenju sa asimptomatskim trudnicama u kojih je nalaz testa bio negativan (73-75).

Dodatna klinička korist testa je činjenica da na rezultate odnosno ishod testa ne utiče onečišćenje uzorka sjemenom tečnosti, urinom, primjesom krvi do u količini do 50% sadržaja uzorka. Može se raditi bez spekuluma te i nakon vaginalog pregleda.

Publikacije koje sugeriju njegovu superiornost u odnosu na konvencionalne metode za procjenu rizika od prevremenog poroda prikazan su u tabeli 2.

Test je pokazao osjetljivost od približno 99% i specifičnost u rasponu od 87,5– 100% (9,10). Posebno su zanimljivi rezultati uporednog ispitivanja koje je pokazalo kako je PAMG-1 test

kao pojedinačni dijagnostički postupak pokazao veću dijagnostičku tačnost nego pregled u spekulumima kombinovan sa nitrazinskim i Fern testom.

Tabela 2 Popis literature sa PAMg1 testom u procjeni vjerovatnoće za PP

Referenca	Način odabira	Broj pozitivnih	Broj negativnih	Lažno pozitivnih	Lažno negativnih	Ukupno	PPV	NPV	Tačnost
<b>Lee (76)</b>	slučajni	157	21	3	2	183	98,1%	91,3%	97,3%
<b>Gekmez (77)</b>	slučajni	25	21	0	0	46	100%	100%	100%
<b>Kwek(78)</b>	klinički	38	59	0	3	100	100%	95,2%	97,0%
<b>Ramsauer(79)</b>	Klinički	51	143	2	3	199	96,2%	97,9%	97,5%
<b>Albayrak(80)</b>	Slučajni	83	77	2	5	167	97,6%	93,9%	95,8%
<b>Abdelazim(81)</b>	Klinički	73	74	1	2	150	98,6%	97,7%	98,0%
<b>Marcelin(82)</b>	Klinički	39	40	2	2	80	95,0%	94,8%	95,0%
<b>Ukupno</b>		<b>577</b>	<b>589</b>	<b>10</b>	<b>18</b>	<b>1194</b>	<b>98,3%</b>	<b>97,0%</b>	<b>97,7%</b>

#### 1.4. Izbor rizične grupe trudnica za prijevremeni porod

Najstariji test izbora visoko rizične populacije u svrhu procijene rizika PP je bimanualni pregled cerviksa. Taj pregled se još uvijek rutinski koristi u kliničkoj praksi izbora niskorizične i visokorizične populacije. Sam pregled je jeftin, jednostavan i smatra se da palpacijski možemo procijeniti rizik PP samim mjerjenjem oblika, dužine, te otvorenosti cerviksa.

U velikoj većini zemalja Zapadne Europe, SAD-a te Kanade ovaj tip pregleda je napušten, ali se još uvijek koristi pri procijeni rizika PP kod svakog ginekološkog pregleda u trudnoći. Najveći nedostatak bimanulanog pregleda je nemogućnost pregleda unutrašnjeg ušća cerviksa te njegovog supravaginalnog dijela koji je zapravo i najvažniji dio za analizu jer se čvrsti vezivni prsten koji funkcionalno zatvara cerviks nalazi upravo u nivou unutrašnjeg ušća.

Shodno tome bimanualni pregled karakteriše se niskom osjetljivošću, specifičnošću te PPV i NPV te ne zadovoljava kriterije pouzdanog testa i kao takav bi trebao biti napušten (28,29,83). Interopservacijske varijacije su ekstremno velike i iznose oko 50%, što znači da je greška između mjerjenja dva kliničara ekstremno velika i takav test ima nezadovoljavajuću dijagnostičku tačnost procijene rizika PP, a učestalim mjerenjima višestruko se povećava rizik širenja cervicalne infekcije.

##### 1.4.1. Tranzvaginalni ultrazvuk, cervikometrija (TVS)

Unazad 20 godina razvojem UZV tehnologije transvaginalni ultrazvuk cerviksa predložen je kao metoda izbora trudnica s povećanim rizikom PP.

Postoje mnogi UZV znaci cerviksa koji su dovedeni u vezu sa procijenom rizika PP, a među njima se dužina njegovog zatvorenog dijela kanala (cervikometrija) pokazala kao najbolja metoda izbora visokorizične populacije u poređenju sa drugim parametrima (izgled unutrašnjeg ušća, prohodnost kanala „funneling“, itd.) (84).

Drugi najčešći UZV znak koji se koristi u procijeni rizika je tzv „funneling“, odnos između ukupne dužine cervikalnog kanala te otvorenog unutrašnjeg dijela. Transvaginalni ultrazvuk je sigurna metoda, a frekvencija dijagnostičkog UZV prema najnovijim preporukama Svjetske federacije za upotrebu ultrazvuka u medicini (WFUMB), Međunarodnog udruženja za ultrazvuk u ginekologiji i akušerstvu (ISUOG) te Američkog instituta za upotrebu ultrazvuka u medicini (AIUM) nije štetna za trudnicu i plod (83-85).

U poređenju sa bimanualnim pregledom manja je mogućnost iatrogene inokulacije bakterija iz vagine u cerviks čak i kod PROM-a, a samim time i manja mogućnost nastanka infekcije koja je danas od poznatih faktora najčešći uzrok PP. Transvaginalni UZV je dobro prihvaćen od strane trudnica, a bol i/ili nelogodnost pri pregledu navodi manje od 2% trudnica (86).

Važna osobina testa je i otkrivanje bolesti ili stanja u asimptomatskoj fazi. Skraćenje dužine cerviksa i pregled unutrašnje osi može se jedino postići transvaginalnim UZV (86). Najranije promjene unutrašnje osi i njeno otvaranje se uvijek događaju u asimptomatskoj fazi, a tek kasnije dolazi do postupnog skraćenja dužine cerviksa, otvaranja i prohodnosti vanjske osi cerviksa koja se može palpirati pri bimanualnom pregledu (86,83). Cervikometrija je dobro opisana i standardizovana metoda, a jedno od najznačajnijih prednosti u odnosu na ostale metode je mala inter i intraopservacijska varijacija koja se kreće između 5-7%. Takođe je potrebno oko 30-50 pregleda pod nadzorom da bi se savladala osnovna tehnika mjerjenja i sposobilo za samostalno mjerjenje.

#### 1.4.2. Tehnika izvođenja cervikometrije (TVS)

Postoji nekoliko tehnika izvođenja cervikometrije. Trasvaginalni pristup je superiorniji u odnosu na transabdominalni pristup koji je potpuno napušten pri mjerenu i analizi ceviksa. Cervikometriju izvodimo od drugog tromjesječja trudnoće do samog termina, a raniji pregledi nemaju smisla, jer cerviks nije jasno formiran u obliku u kojem ostaje do kraja trudnoće (87,88). Sam postupak mjerjenja se sastoji od slijedećih 10 tačaka:

1. isprazniti mokraćni mjehur koji svojom veličinom može mijenjati oblik cerviksa i anatomske odnose
2. staviti vaginalnu sondu u aseptičnim uslovima u vaginu u područje prednjeg svoda
3. prikazati mokraćni mjehur, plodovu vodu i vodeću čest ploda
4. naći mediosagitalnu ravan te pronaći unutrašnju os cerviksa
5. povući lagano sondu da smanjimo pritisak sonde na cerviks
6. nakositi sondu da bi prikazali najdužu ravan cerviksa
7. učinti barem tri mjerena, a kalipere postaviti od unutrašnje do vanjske osi cerviksa
8. snimiti najbolji prikaz,
9. zabilježiti postojanje T, Y, V, U izgleda unutrašnje osi te "funellinga"
10. lagano pritisnuti gornji uterini segment 15-tak sekundi, te ponoviti pretragu radi ocijene dinamike promjene dužine cerviksa

#### 1.4.3. Cervikalni bris, cervikovaginalna infekcija/bakterijska vaginoza

Bakterijska vaginoza je veoma čest i složen klinički sindrom, karakteriše ga promjena mikroflore u vagini. Kliničku sliku BV čini (89,90)

1. pojačan, ljepljiv i gust bjelkast vaginalni iscijedak neugodnog mirisa uz vaginalno pečenje ili svrab
2. povišen stepena pH vagine  $> 4.5$
3. prisutnost mirisa nalik na ribu zbog amina nakon dodatka 10%bazne otopine kalijevog hidroksida
4. prisutnost više od 20% „clue cells“ (epitelne ćelije okružene bakterijama) u vaginalnom razmazu

U više od 50 % slučajeva trudnice nemaju simptome iako postoji promjena mikroflore, a učestalost BV u trudnica se kreće oko 20% (59,60).

U normalnim uslovima Laktobacili su dominantna vaginalna flora te obuhvaćaju više od 95% bakterija u vagini. Kod BV dolazi do redukcije broja laktobacila koji proizvode vodonikov peroksid, laktacin i acidolinin te posljedičnog porasta anaerobnih bakterija, ponajprije Gardnerelle vaginalis, Ureaplasme urealiticum, Mycoplasme hominis, Mobiluncus spp., te ostalih (62,89). Uzrok promjene mikroklima vagine nije poznat, ali povećana učestalost BV se javlja kod žena koje često mijenjaju partnere, koje imaju intrauterini uložak, uz često pranje i tuširanje vagine te kod onih koje imaju manjak laktobacila koji proizvode vodonikov peroksid (56,90-92).

Do smanjenja broja laktobacila koji proizvode vodonikov peroksid i time zakiseljuju vaginu, pojavljuje se češće neposredno nakon menstruacije kada raste nivo estrogena. Promjene u lokalnom imunološkom sastavu vagine, ali i kvaliteta opšteg imunološkog odgovora na različite vaginalne patogene najvjerovaljnije dovode do same promjene mikroflore. Velika većina trudnica nema znakova infekcije iako se smanjio broj laktobacila (93,94).

U najnovije vrijeme ispituje su uloga citokina i hemokina u vagini te njihova promjena može dovesti do niza događaja koji prethode promjeni vaginalne mikroflore. Današnji zlatni standard koji se koristi za dokaz BV su citološki kriteriji definirani Nugentovom bodovnom skalom (90,95,96). BV se temelji na smanjenom broju laktobacila, a povećanom broju ostalih mikrorganizama posebno Mobilluncusa, Bacteroides spp te Gardnerelle vaginalis. Broj bodova između 7-10 se koristi za postavljenje citološke dijagnoze BV i takav citološki nalaz je povezan s 1.5 - 3 puta većim brojem PP (89,90).

## 2. HIPOTEZA

Na osnovu literaturnih podataka izvukli smo hipoteze:

- pozitivna kultura cervikalnog brisa biće u korelaciji sa skraćenom dužinom grlića ispod 25mm
- vrijednosti IL6 biće povišene u grupi trudnica sa simptomima prijevremenog poroda
- u populaciji trudnica sa simptomima prijevremenog poroda, prethodnim dijagnostičkim testovima, očekujemo statistički značajno poboljšanje dijagnostičke tačnosti procjene rizika stvarne učestalosti prijevremenog poroda.
- pozitivan kvalitativni test na alfa 1 mikroglobulin biće u korelaciji sa dužinom grlića ispod 25mm za nastanak poroda unutar 7-14 dana

### **3. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Utvrđiti:

1. Da li pozitivan test na PAMG-1 u grupi trudnica sa simptomima prijevremenog poroda znači da će se isti desiti unutar 7/14 dana
2. Da li postoji razlika u dužini grlića obe grupe ispitanica
3. Da li postoji razlika u mikrobiološkoj analizi cervikalnog brisa
4. Da li postoji razlika u serumskoj vrijednosti IL6 i C reaktivnog proteina
5. Da li se kombinacijom testova može postići bolja dijagnostika prijevremenog poroda

#### 4. ISPITANICE I METODE

Istraživanje je provedeno kao prospektivna studija kod trudnica sa simptomima prijevremenog poroda, od 22. do 36,6. nedjelja gestacije, hospitalizovanih u KGA RS Banjaluka. Dijagnoza prijevremenog poroda je postavljena sa prisutnim barem jednim od navedenih kriterija:  $\geq 5$  kontrakcija materice na sat duže od 2 sata, prohodnost cervikalnog kanala od 1 do 3 cm. Faktori uključenja kod eksperimentalne grupe trudnica (n=25): jednoplodne trudnoće, prisutni simptomi prijevremenog poroda, gestacije 22 do 36,6 nedjelja.

Faktori uključenja kod kontrolne grupe trudnica (n=25): jednoplodne trudnoće, bez prisutnih simptoma prijevremenog poroda, gestacije 22 do 36,6 nedjelja trudnoće. Faktori neuključenja kod obe grupe trudnica bili su slijedeći: trudnoća manja od 22 ili veća od 36,6 nedjelja, trudnice sa prijevremenom rupturom plodovih ovoja, trudnice kod kojih postoji dokazana anomalija ploda nespojiva sa životom ili intrauterina smrt ploda, višeplodna trudnoća, trudnice sa hirurškim zahvatima na grliću materice (konizacija ili serklaž), trudnice sa urođenim malformacijama spajanja Mullerovih cijevi ( uterus duplex, uterus dydelphus, uterus bicornis, cervix duplex), trudnice sa ostalim rizičnim faktorima za prijevremeno završenje trudnoće (bolesti srca, bubrega, šećerna bolest, autoimune bolesti i dr.).

Potencijalnim ispitanicama za istraživanje pristupilo se tokom boravka na odjelu Reproduktivne ginekologije te odjelu Perinatologije, Klinike za ginekologiju i akušerstvo UKC Banja Luka, te polikliničkim ambulantama ukoliko se radilo o ispitanicama druge grupe.

Prvi pregled za obe grupe ispitanica gestacije trudnoće veće od 22. nedjelje uključivao je: uzimanje anamnestičkih podataka i na osnovu tih klasifikacija u grupe, klinički pregled, ultrazvučna biometrija ploda radi procjene gestacijske dobi, izvođenja kvalitativnog testa za PAMG-1, ultrazvučna cervikometrija, uzimanje cervikalnog brisa za mikrobiološku analizu, analiza vrijednosti IL6 iz seruma trudnice, analiza postojećih laboratorijskih analiza kompletna krvna slika (KKS), C reaktivni protein (CRP).

Izvođenje kvalitativnog testa na PAMG-1 prihvatanjem boćice sa otapalom i protresanjem, kako bi sva tečnost pala na dno. Postavi se boćica u uspravan položaj, priloženi štapić, bez prethodnog dodirivanja, uvede duboko u vaginu do 5 cm. Nakon 30 sekundi izvadi se štapić sa natopljenom vatom. Za to vrijeme trudnica leži na leđima.

Tokom 30 sekundi kružnim pokretima ispere se štapić sa vatom u predviđenom rastvoru. Nakon 30 sekundi izvadi se štapić i odbaci. Test traka postavi se bijelim krajem i drži 5 minuta. Rezultat testa se očita nakon postavljanja na suhu, čistu i ravnu podlogu.

Pozitivnim testom smatrao se ukoliko u testnoj regiji vidimo dvije linije, odnosno negativan, ukoliko je vidljiva jedna linija. Test se proglašio nevažećim u slučaju vremenske distance od postavljanja test trake duže od 10 minuta, što nismo imali. Pri transvaginalnom UZV koristili smo aparat Voluson 730 PRO vaginalne sonde frekvencije 7,5 MHz, te pri fetalnoj biomeriji abdominalne sonde frekvencije 5,5 MHz, isti aparat.

Sam postupak izvođenja cervikomerije ispoštovan po preporuci po slijedećim tačkama: prazan mokraćni mjehur koji svojom veličinom može mijenjati oblik cerviksa i anatomske odnose, postavljane vaginalne sonde u aseptičnim uslovima u vaginu u područje prednjeg svoda, uz prikaz mokraćnog mjehura, plodne vode i vodeće česti ploda, prikazati mediosagitalnu ravan te unutrašnju os cerviksa, povući lagano sondu i nakositi sondu te prikazati najdužu ravninu cerviksa, učiniti bar tri mjerena, a kalipere postaviti od unutrašnje do vanjske osi, snimiti, te arhivirati najbolju sliku.

Analizirali smo slijedeće parametre: 1. dužinu cervikalnog kanala, 2. oblik unutrašnjeg ušća u miru i nakon povećanog intraabdominalnog pritiska. Povećan intraabdominalni pritisak

dobio se pritiskom dlana ruke ispitivača na fundus uterusa u trajanju od oko 30 sekundi, nakon čega se ponovi cervikometrija radi praćenja dinamike promjena na cerviku. Materijal za mikrobiološku analizu uzimao se sterilnim štapićem, čvrsto omotanim vatom.

Uzorak se uzimao iz vanjskog ušća vrata materice pri čemu se okretanjem štapića postiže da vata bude natopljena sa svih strana. Materijal se odmah slao u mikrobiološki laboratorij. Svaki preparat ima svoj matični broj.

Primljeni preparat bi se obrađivao mikroskopski i mikrobiološki. Mikrobiološko podrazumijeva dva preparata, prvi se boji po običnim bojenjem metilensko plavim za diferenciranje ćelijskih elemenata, a drugi se boji složeno po Gramu za diferenciranje bakterija uz korišćenje imerzionog objektiva. Kulturelno ispitivanje se izvodi zasijavanjem na diferencijalnu podlogu za enterobakterije, pri čemu se koristio Endo agar (fuksin laktova, Drigalski, metilensko plavo). Posebno se zasijavana krvne ploče, zagrijane na 37 stepeni, od kojih se jedna inkubira aerobno uz dodatak SO<sub>2</sub>, a druga anaerobno.

Cervikalni bris se zasijava I na tečnu podlogu, kod nas dekstrozni bujon tioglikonat. Inkubacija traje 24 sata, nakon čega se nalaz očitava. Za antibiogram se koriste diskovi Bekton Dickinson, te antibiogram tablete Torlak. Vrijednosti IL6 određivao se u laboratoriji Univerzitetsko Kliničkog centra Banjaluka. Dio seruma se zamrznuo na temperaturi -80 stepeni do konačnog određivanja koncentracije.

Za određivanje vrijednosti IL6 koristio se ELISA metoda na apratima Rayto RT-3100 (Microplate Washer) i Rayto RT-2100C (Microplate Reader).

## Korištene statističke obrade podataka

Statistička obrada podataka je vršena u programu SPSS verzija 20 (SPSS Inc, Čikago, Illinois, SAD). Od parametara deskriptivne statistike korišćeni su proporcija, srednja vrednost, standardna devijacija (SD) i srednji rang. Za poređenje nominalnih i ordinalnih varijabli između dve ili tri grupe ispitanika korišćen je  $\chi^2$  test ili Fisher-ov test tačne verovatnoće u zavisnosti od broja slučajeva. Značajnost razlike kontinuiranih neparametarskih varijabli između dvije grupe ispitanika je ispitivana pomoću Mann-Whitneyevog U testa. Mann-Whitney U test se koristi za poređenje samo dvije grupe. Nivo značajnosti za sve statističke analize bio je 0,05 za statistički značajnu razliku i 0,01 za visoko statistički značajnu razliku.

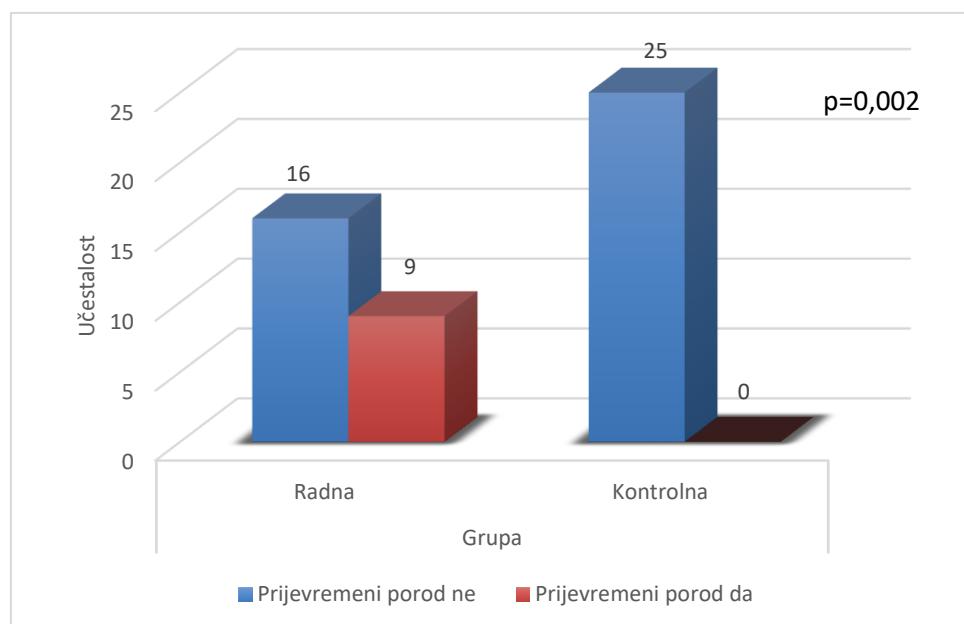
Za kreiranje prediktivnih modela korištena je binarna regresija. Binarna regresija uglavnom se primjenjuje ili za predviđanje (binarna klasifikacija) ili za procjenu povezanosti između eksplanatornih varijabli i rezultata. U medicini se binarne regresije koriste za modelovanje binarnog izbora.

Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

## 5. REZULTATI

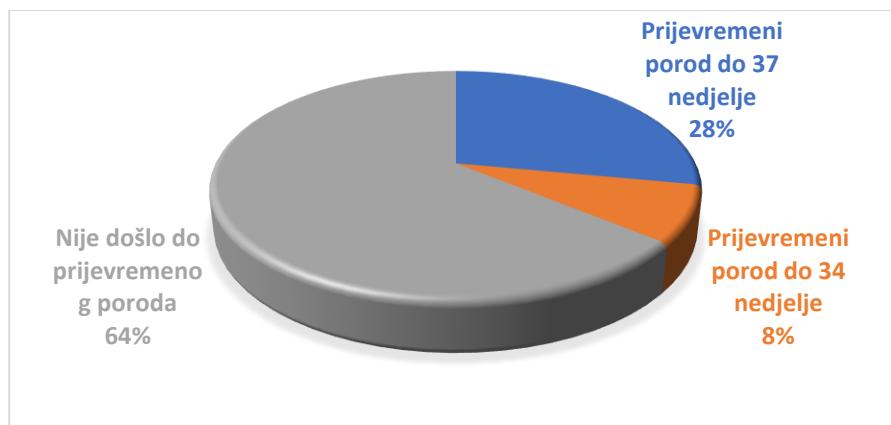
U periodu od 1.10.2017. do 1.2.2020. godine sveukupno 50 trudnica smo uključili u istraživanje. Sve trudnice zadovoljile su tražene faktore uključenja i isključenja. U obe grupe analizirali smo učestalost prijevremenom poroda, učestalost istog do 7 dana od prijema, dužinu grlića u obe grupe, rezultat PAMg-1 testa, vrijednosti IL6, te kulture cervikalnog brisa.

Distribucija ispitanika radne i kontrolne grupe u odnosu na učestalost prijevremenih poroda prikazana je na slici 1. U kontrolnoj grupi nije bilo prijevremenih poroda za razliku od radne grupe gdje ih je bilo 9 odnosno 36%.



Slika 1 Ukupan broj prijevremenih poroda za obe grupe

Rezultati Fisher's Exact testa su pokazali da je postojao očekujući statistički značajno veći broj ( $p<0,05$ ) prijevremenih poroda u ispitivanoj grupi nego u kontrolnoj grupi.



Slika 2. Ukupan broj prijevremenih poroda do 37. i do 34. nedjelje gestacije u grupi sa simptomima

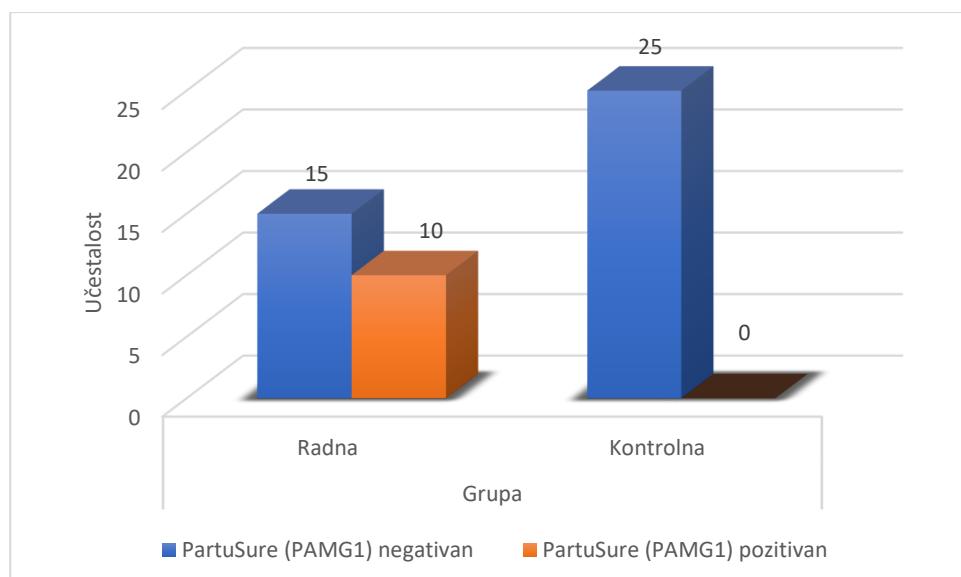
Na osnovu rezultata  $\chi^2$  testa ( $\chi^2=12,080$ ;  $p=0,002$ ) došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) razlika između broja ispitanika unutar grupe sa simptomima koji su se porodili do 34. nedjelje te do 37. nedjelje i kod kojih nije došlo do prijevremenog poroda (Slika 2).

Najveći broj ispitanika koji su imali simptome nije se porodio ranije. Utvrđeno je da se 44,4% prijevremenih poroda desilo u periodu do 7 dana nakon prijema (Tabela 3).

Tabela 3 Ukupan broj prijevremenih poroda i prijevremenih poroda do 7 dana nakon hospitalizacije u radnoj grupi.

		N	%
<b>Prijevremeni porod</b>			
Da	9	36,0	
Ne	16	64,0	
<b>Ukupno</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>	
<b>Broj poroda do 7 dana nakon prijema</b>			
Da	4	16,0	
Ne	21	84,0	
<b>Ukupno</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>	

Kod radne grupe 40% PartuSure testova bio je pozitivna, dok kod kontrolne grupe nije bilo pozitivnih PartuSure testova (Slika 3.).



Slika 3 Razliku u broju pozitivnih PAMG1 testova u obe grupe

Na osnovu rezultata Pearson Chi-Square testa ( $\chi^2=12,500$ ;  $p=0,000$ ) došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna veza ( $p<0,05$ ) između ishoda PartuSure testa i grupe kojoj trudnica pripada.

Trudnice iz eksperimentalne grupe su češće imale pozitivan PartuSure test u odnosu na trudnice kontrolne grupe.

U grupi trudnica kod kojih se desio prijevremeni porod pozitivan PartuSure test imalo je njih 77,8 % a kod 22,2% trudnica ovaj test je bio negativan. Kada je riječ o grupi trudnica koje nisu imale prijevremeni porod negativan PartuSure test imalo je njih 81,3%, dok je pozitvan test bio kod svega 18,8% trudnica.

Na osnovu rezultata Fišerovog egzaktnog testa ( $p=0,009$ ) došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) zavisnost između PartuSure-a i prijevremenog poroda. Trudnice sa negativnim PartuSure testom su imale višestruko manji broj prijevremenih poroda u odnosu na broj prijevremenih poroda kod trudnica kod kojih je PartuSure bio pozitivan.

Iz tabele 4 je vidljivo da su sve trudnice koji su se porodili ranije bili pozitivni na PAMG-1 testu.

Tabela 4 Ukupan broj prijeveremeno porođenih PAMG 1 pozitivnih do 7 dana od hospitalizacije

		PartuSure (PAMG-1)		<b>Ukupno</b>
		<b>Negativan</b>		
<b>Porod u periodu do 7 dana od prijema</b>	<b>DA</b>	<b>N</b>	0	4
		<b>%</b>	0,0	40,0
<b>NE</b>	<b>N</b>	15	6	21
	<b>%</b>	100,0	60,0	84,0
<b>Ukupno</b>	<b>N</b>	15	10	25
	<b>%</b>	100,0	100,0	100,0

Na osnovu rezultata Fisher's Exact testa ( $p=0,017$ ) došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) korelacija između poroda u periodu do 7 dana od dana prijema i pozitivnog PAMG-1 testa.

Tabela 5 prikazuje razliku u dužini grlića kod trudnica obe grupe.

Tabela 5 Razlika u dužini grlića za obe grupe

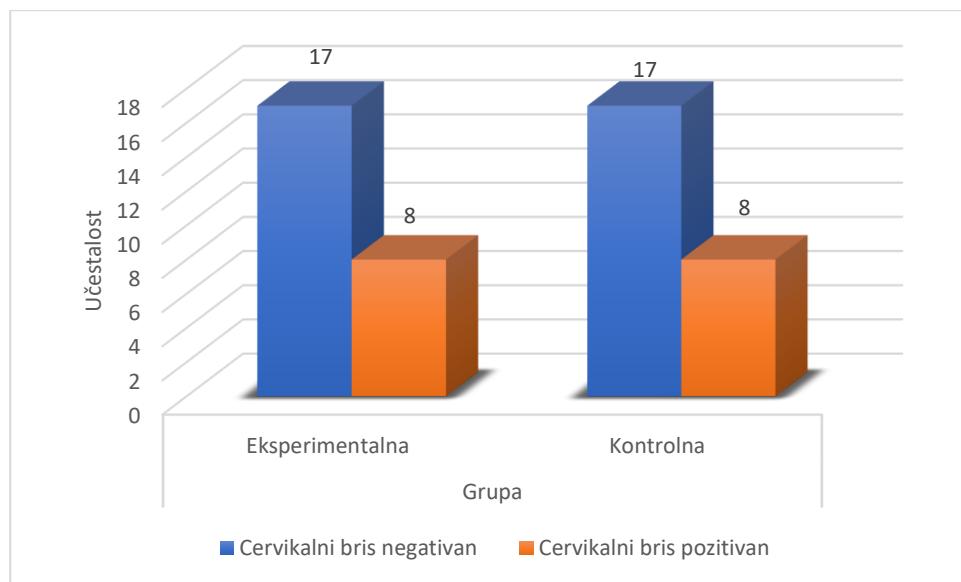
<b>Dužina grlića maternice</b>	<b>Grupa</b>		<b>Ukupno</b>
	<b>Eksperimentalna</b>	<b>Kontrolna</b>	
<b>&gt;25</b>	<b>N</b>	9	21
	<b>%</b>	36,0	84,0
<b>25≥ ≥15</b>	<b>N</b>	10	4
	<b>%</b>	40,0	16,0
<b>&lt;15</b>	<b>N</b>	6	0
	<b>%</b>	24,0	0,0
<b>Ukupno</b>	<b>N</b>	25	25
	<b>%</b>	100,0	100,0
<b>Fisher's Exact Test</b>		$P=0,001$	

Na osnovu rezultata Fišerovog egzaktnog testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) razlika između eksperimentalne i kontrolne grupe u dužini

grlića maternice.

Prosječna družina grlića maternice kod eksperimentalne grupe iznosila je  $20,22 \pm 7,25$ .

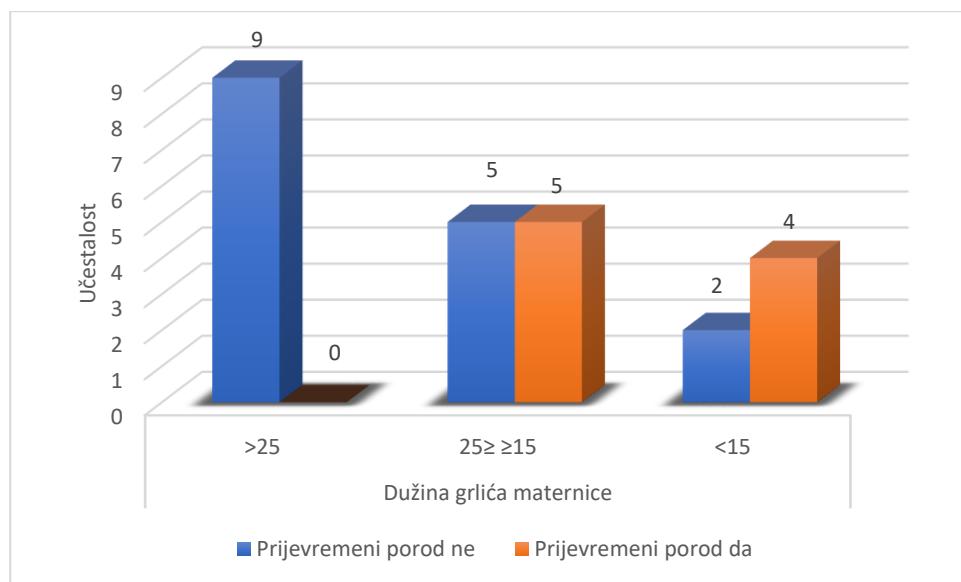
U 68% slučajeva cervikalni bris je bio negativan kod obe grupe, kontrolne i eksperimentalne. Pozitivan cervikalni bris bio je podjednako zastavljen u obe grupe, a bio je zastavljen kod 32% trudnica u svakoj grupi (Slika 4).



Slika 4. Pozitivna/negativna kultura cerviklnog brisa u obe grupe

Fisher's test ( $\chi^2=0,000$ ;  $p=1,000$ ) je pokazao da nije postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) razlika između trudnica eksperimentalne i kontrolne grupe u distribuciju trudnica u odnosu na kulturu cervikalnog brisa.

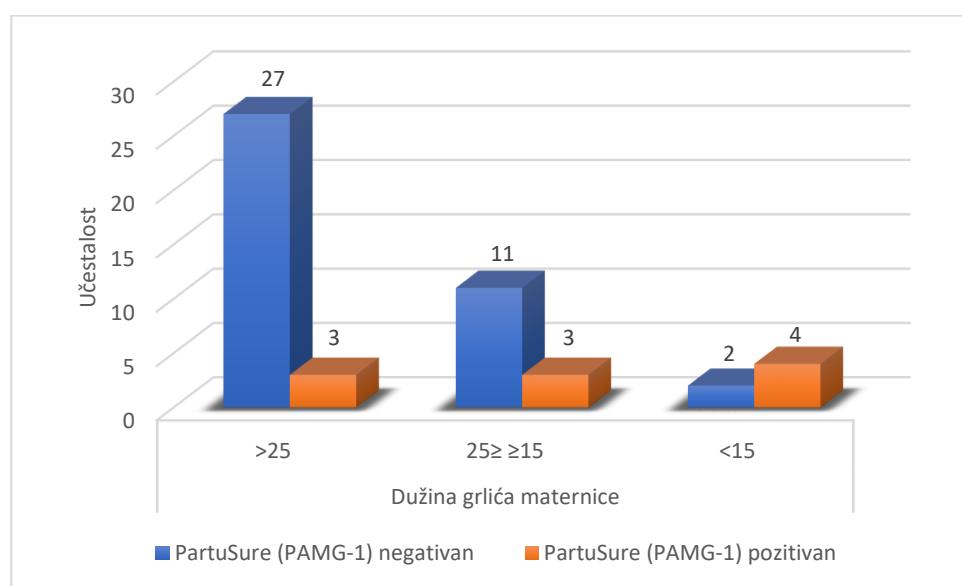
Na slici 5 je prikazana distribucija trudnica u odnosu na dužinu glica maternice sa prijevremenim i bez prijevremenog poroda.



Slika 5 Učestalost prijevremenog poroda prema dužini grlića.

Rezultati Fisher's Exact testa ( $\chi^2=8,772$ ;  $p=0,010$ ) su pokazali da je postojala statistički ( $p<0,05$ ) značajna veza između dužine grlića maternice i prijevremenog poroda. Trudnice čija je dužina grlića maternice bila kraća od 15 mm češće su se prijevremeno porađale, dok se trudnice sa dužinom grlića maternice dužom od 25 mm nisu uopšte porađali ranije.

Distribucija trudnica sa različitom dužinom grlića maternice u odnosu na PartuSure test (Slika 6).

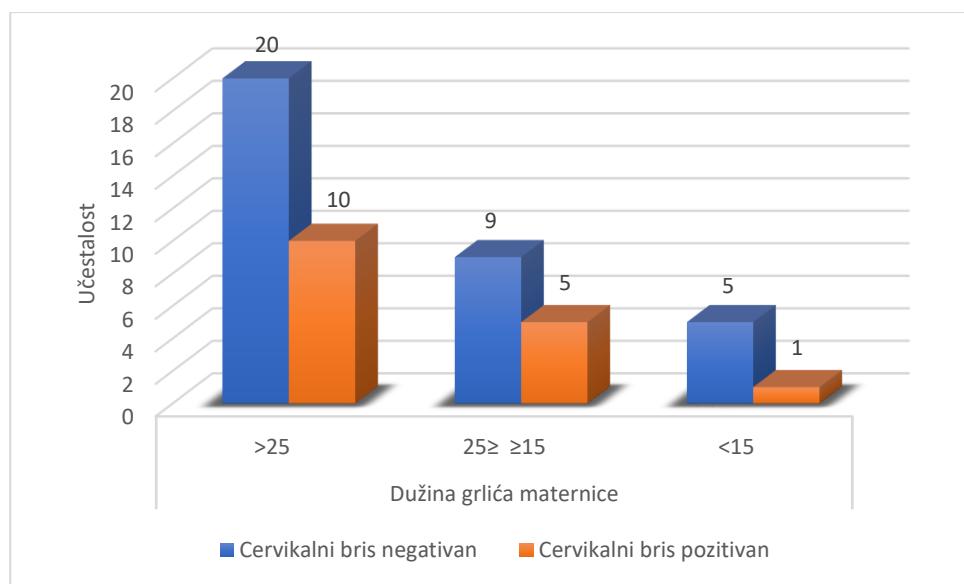


Slika 6 Korelacija dužine grlića i PAMg pozitivnih testova.

Fisher's Exact test ( $p=0,011$ ) je pokazao da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) zavisnost između dužine grlića maternice i ishoda PartuSure testa.

Trudnice koji su imale dužinu grlića maternice kraću od 15 cm su češće bili pozitivni na PartuSure test nego negativni. Kod trudnica čija je dužina grlića bila veća od 25 cm zastupljenije su bile trudnice sa negativnim rezultatima PartuSure testa.

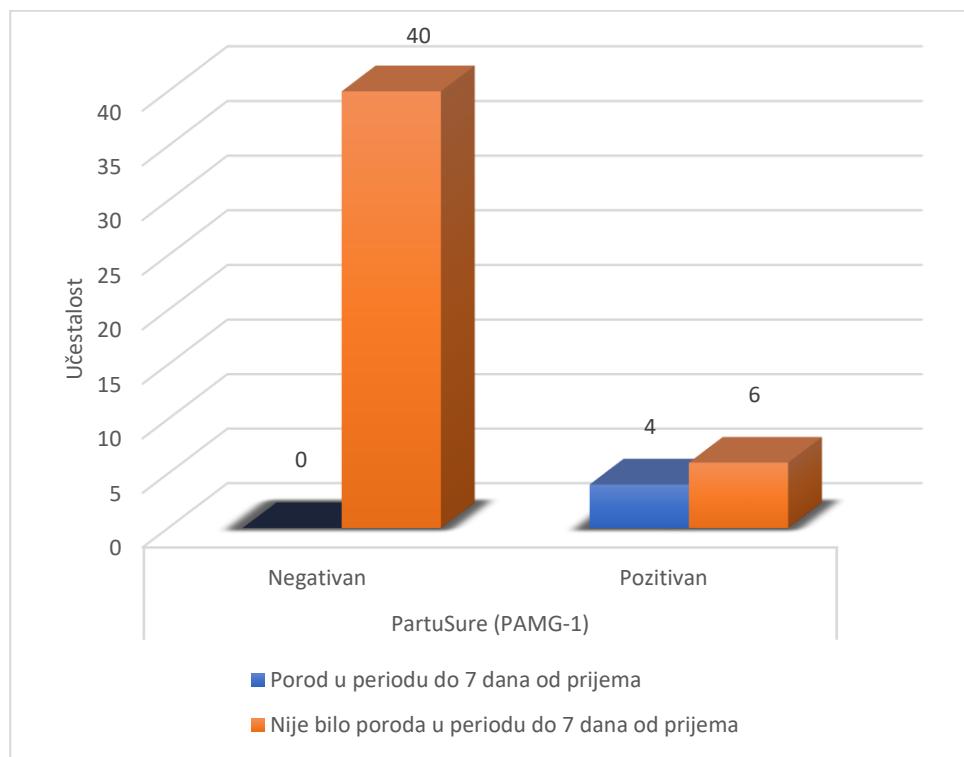
Kada se posmatra distribucija trudnica različitih dužina grlića maternice u odnosu na cervikalni bris (Slika 7), vidljivo je da odnos između trudnica sa pozitivnim i negativnim cervikalnim brisom ostao približno isti kroz sve grupe trudnica sa različitom dužinom grlića maternice.



Slika 7 Korelacija dužine grlića i pozitivne kulture cervikalnog brisa.

Na osnovu rezultata Fisher's Exact testa ( $p= 0,821$ ) došlo se do zaključka da nije postojala statistički ( $p>0,05$ ) značajna korelacija između dužine grlića i cervikalnog brisa.

Na slici 8 prikazana je distribucija trudnica koje su se porodile u periodu do 7 dana od prijema i trudnica koje se nisu porodile u periodu do 7 dana od prijema u odnosu na PartuSure test.



Slika 8 Broj prijevremeno porođenih do 7 dana kod trudnica sa pozitivnim PAMG1 testom.

Na osnovu rezultata Fisher's Exact testa ( $p=0,001$ ) dokazano je da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) povezanost poroda u periodu od 7 dana od prijema i rezultata PartuSure testa. Trudnice koji su se porodile u periodu do 7 dana od prijema bile su pozitivne na PartuSure test.

Kod trudnica koje su pripadale eksperimentalnoj grupi ustanovljen je dosta veći CRP u odnosu na trudnice koje su pripadale kontrolnoj grupi (Tabela 6).

Tabela 6 Srednja vrijednost CRP obe grupe

	<b>Grupa</b>	<b>N</b>	<b>Srednji rang</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>	<b>Mann-Whitney U</b>
<b>CRP</b>	eksperimentalna	25	29,80	10,59	17,89	U = 205,5; p = 0,037
	kontrolna	25	21,20	4,23	4,39	
	<b>Ukupno</b>	<b>50</b>		<b>7,41</b>	<b>13,28</b>	

Rezultati Mann-Whitney U testa su pokazali da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) razlika između eksperimentalne i kontrolne grupe u vrijednosti CRP-a, odnosno trudnice eksperimentalne grupe su imale veće vrijednosti CRP-a u odnosu na trudnice kontrolne grupe.

Kod trudnica obe grupe postojala je skoro podjednaka zastupljenost u broju osoba sa nivoom interleukina manjim od 1,5 odnosno vrijednosti u obe grupe nisu bile značajno povišene. (Tabela 7)

Tabela 7 Vrijednosti IL6 obe grupe.

		<b>Grupa</b>		<b>Ukupno</b>
		<b>Eksperimentalna</b>	<b>Kontrolna</b>	
<b>Interleukin 6</b>	<1,5	<b>N</b>	23	48
		<b>%</b>	92,0	100,0
	≥1,5	<b>N</b>	2	2
		<b>%</b>	8,0	0,0
<b>Ukupno</b>		<b>N</b>	25	50
		<b>%</b>	100,0	100,0
<b>Fisher's Exact Test</b>		p=0,490		

Fisher's Exact test je pokazao da nije postojala statistički značajna korelacija ( $p>0,05$ ) između interleukina 6 eksperimentalne i kontrolne grupe.

### 5.1. Statistički modeli

Binarnom linearnom regresijom ispitivano je više modela za predikciju prijevremenog poroda na osnovu parametara: PartuSure, CRP, cervikalni bris i dužina grlića maternice.

#### MODEL 1 PAMG1+grlić <15+CRP>15

Na osnovu binarne regresije došlo se do zaključka da je model za procjenu prijevremenog poroda statistički značajan ( $\chi^2=28,520$ ;  $p=0,000$ ) ( $p<0,05$ ). Hosmer and Lemeshow test ( $\chi^2=0,521$ ;  $p=0,998$ ) ( $p>0,05$ ) je pokazao da model opisuje vezu između prediktora i prijevremenog poroda.

Na osnovu testa „-2 Log Likelihood“ utvrđeno je da sve nezavisne varijable modela statistički značajno ( $p<0,05$ ) doprinose modelu odnosno procjeni prijevremenog poroda.

U tabeli 8 prestavljena je statistička značajnost „p“ koja ukazuje da li varijabla statistički značajno doprinosi modelu.

Tabela 8 Statistička značajnost uloge nezavisnih varijabli u modelu.

Varijable	Model Log Likelihood	-2 Log Likelihood	df	p
CRPplus15	-4,767	5,384	1	0,020
Duzina_grlica_mater	-8,579	13,007	1	0,000
PartuSure	-9,162	14,173	1	0,000

Tačnost modela u predikciji ishoda da se neće desiti prijevremeni porod je iznosila 100%. Za svih 16 trudnica koje se nisu porodile prije vremena predloženi model je na osnovu tri navedena parametra procjenio da kod ovih trudnica neće doći do prijevremenog modela. Kod žena koje su se porodile ranije model je u predikciji imao tačnost od 88,9% odnosno imao je samo jednu grešku gdje je model predvideo da neće doći do prijevremenog poroda, a empirijski je dokazano da je do poroda došlo (Tabela 9).

Tabela 9. Ocjena predikcije modela

Empiriski utvrđen			Predviđeni	Postotak tačnosti predikcije
	Prijevremeni porod			
	Ne	Da		
	<b>Ne</b>	16	0	100,0
Prijevremeni porod	<b>Da</b>	1	8	88,9
<b>Ukupni postotak tačnosti predikcije</b>			<b>96,0</b>	

U tabeli 10 je prikazana vrijednost beta koeficijenta za svaki parametar PartuSure(negativan), CRP>15 i konstantu. Beta koeficijenti predstavljaju koeficijente odnosno težine sa kojim parametri ulaze u regresionu jednačinu koja opisuje model.

Tabela 10. Vrijednosti beta koeficijenta multinominalne regresije

	B	Standardna greška	Exp(B)	95% C.I. za EXP(B)	
				Donja	Gornja
<b>PartuSure(negativan)</b>	-29,266	8018,508	0,000	0,000	,
<b>CRP&gt;15</b>	1,091	1,830	2,978	0,082	107,538
<b>Dužina grlića &gt;25</b>	-46,723	12485,814	0,000	0,000	,
<b>Konstanta</b>	17,476	8018,492	38866635,675		

## MODEL 2 PAMG1+grlić <15+CB

Na osnovu binarne regresije došlo se do zaključka da je model za procjenu prijevremenog poroda statistički značajan ( $\chi^2=23,136$ ;  $p=0,000$ ) ( $p<0,05$ ). Hosmer and Lemeshow test ( $\chi^2=0,000$ ;  $p=1,000$ ) ( $p>0,05$ ) je pokazao da model opisuje vezu između prediktora i prijevremenog poroda.

Na osnovu testa „-2 Log Likelihood“ utvrđeno je da varijable „dužina grlića materice“ i „PartuSure“ statistički značajno ( $p<0,05$ ) doprinose modelu odnosno procjeni prijevremenog

poroda, dok varijabla „cervikalni bris“ ne doprinosi statistički značajno ( $p=0,284>0,05$ ) i može se ukloniti iz posmatranog modela (Tabela 11).

Tabela 11 Statistička značajnost nezavisnih varijabli u modelu

Varijable	Model Log Likelihood	-2 Log Likelihood	df	p
Duzina_grlica_mater	-11,999	14,463	1	0,000
PartuSure	-10,965	12,395	1	0,000

Iz tabele 12 se vidi da je uspješnost predikcije modela bila 92,0%. Takođe, iz tabele se vidi da je model imao 100% uspješnu predikciju kada je u pitanju procjena koje od trudnica se neće ranije poroditi. Model je imao uspješnost od 77,8 u predikciji koje od trudnica će se ranije poroditi. Iz prikazanih performansi modela može se zaključiti da je prosječna tačnost modela iznosila 92,0%.

Tabela 12 Ocjena predikcije modela

Empiriski utvrđen	Predviđeni		Postotak tačnosti predikcije	
	Prijevremeni porod			
	Ne	Da		
Prijevremeni porod	Ne	16	100,0	
	Da	2	77,8	
<b>Ukupni postotak tačnosti predikcije</b>			<b>92,0</b>	

Vrijednost koeficijenata sa kojima promjenjive učestvuju u regresionoj jednačini data je u tabeli 13.

Tabela 13 Vrijednosti beta koeficijenta multinominalne regresije

B	Standardna greška	Exp(B)	95% C.I. za EXP(B)	
			Donja	Gornja
Dužina grlića <25	40,039	14748,944	$2,448 \cdot 10^{17}$	0,000 .
PartuSure (negativan)	-21,575	9782,463	0,000	0,000 .

### MODEL 3 CB+grlić<15+CRP>15

Na osnovu binarne regresije došlo se do zaključka da je model za procjenu prijevremenog poroda statistički značajan ( $\chi^2=10,741$ ;  $p=0,001$ ) ( $p<0,05$ ).

Na osnovu testa „-2 Log Likelihood“ utvrđeno je da samo nezavisna varijabla dužina grlića maternice statistički značajno ( $p<0,05$ ) doprinosi modelu odnosno procjeni prijevremenog poroda

Tabela 14 Statistička značajnost nezavisnih varijabli u modelu

Varijable	Model Log Likelihood	-2 Log Likelihood	df	p
Dužina_grlića_mater	-16,335	10,741	1	0,001

Iz tabele 15 se vidi da je prosječna uspješnost predikcije modela bila 72,0%. Model je kod procjene prijevremenog poroda imao tačnost od 100% dok je procjena izostanka prijevremenog poroda bila tačna u svega 53,6% slučajeva.

Tabela 15 Ocjena predikcije modela

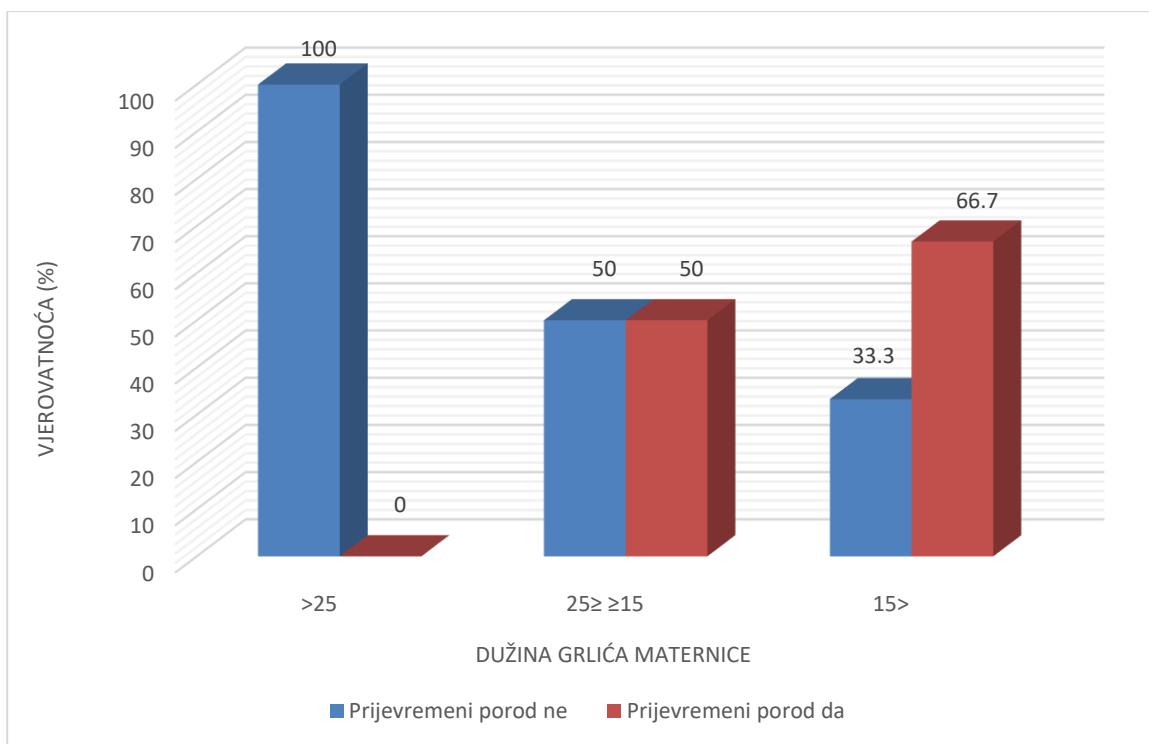
Empirski utvrđen	Predviđeni		Postotak tačnosti predikcije	
	Prijevremeni porod			
	Ne	Da		
Prijevremeni porod	Ne	9	7	
	Da	0	9	
<b>Ukupni postotak tačnosti predikcije</b>			<b>72,00</b>	

Vrijednosti koeficijenta sa kojim varijable učestvuju u regresionoj jednačini prikazane su u tabeli 16.

Tabela 16. Vrijednosti beta koeficijenta multinominalne regresije

	B	Standardna greška	Exp(B)	95% C.I. za EXP(B)	
				Donja	Gornja
Dužina grlića mater (<25)	21,454	13397,659	2,077*10 <sup>9</sup>	0,000	.
Constant	-21,203	13397,659	0,000		

Slika 9. prikazuje da se vjerovatnoća prijevremenog poroda povećava sa skraćenjem grlića maternice. Tako da ako dužina grlića padne ispod 25 mm a više od 15 mm dolazi do rasta vjerovatnoće prijevremenog poroda od 50%, a ako dužina grlića padne ispod 15 mm onda vjerovatnoća prijevremenog poroda raste još za 16,7%.



Slika 9 Vjerovatnoća prijevremenog poroda u zavisnosti od dužine grlića maternice

Rezultati Mann-Whitney U su pokazali da nije postojala statistički značajna razlika u broju bolnički dana između trudnica koji su se ranije porodili i trudnica kod kojih nije došlo do ranijeg poroda.

Trudnice koje se nisu ranije porodile su podjednako opterećivale bolnički sistem kao i trudnice koje su se ranije porodile, ako kao resurs posmatramo bolnički krevet (Tabela 17).

Provđena studija je pokazala da su trudnice kod kojih nije došlo do prijevremenog poroda provele više dana u bolnici od trudnica kod kojih je došlo do ranijeg poroda. Trudnice koje se nisu ranije porodile ukupno su provele 100 dana u bolnici ili 70,9% od ukupnog broja dana u bolnici na nivo eksperimentalne grupe, a trudnice koje su se ranije porodile provele su 41 dan u bolnici ili 29,1% od ukupnog broja dana u bolnici na nivo eksperimentalne grupe.

Iz tabele 17 može se vidjeti da je grupa trudnica koja se porodila u periodu do 7 dana od dana prijema, imala odnos broja trudnica koje su imale PAMG1 i dužinu grlića ispod 25 mm i onih koje nisu imale PAMG1 ili dužinu ispod 25 mm je bio obrnutu proporcionalan odnos koji je imala grupa trudnica koje se nisu porodile u periodu do 7 dana od dana prijema.

Tabela 17 Vjerovatnoća prijevremenog poroda unutar 7 dana kod trudnica PAMG1+, dužine grlića ispod 25 mm

		PAMG +, CL do 25		Ukupno
		Da	Ne	
	Da	N	3	1
		%	75,0	4,8
<b>Porod u periodu do 7 dana od prijema</b>	Ne	N	1	20
		%	25,0	95,2
<b>Ukupno</b>	Da	N	4	21
		%	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>
				25
				<b>100,0</b>

Na osnovu rezultata Fisher's Exact testa ( $p=0,007$ ) došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) korelacija između pozitivnog PAMG 1 testa i grlića maternice u dužini manjoj od 25 mm sa jedne strane i poroda u periodu do 7 dana od dana prijema sa druge strane. Iz tabele je vidljivo da se 75 % trudnica kod kojih je PAMG 1 test bio pozitivan i grlić kraći od 25 mm porodilo u periodu do 7 dana od prijema.

## 6. DISKUSIJA

U ovoj do sada prvoj studiji prema pregledu dosadašnje literature koja je upoređivala četiri nezavisna testa (UZV mjerjenje dužine grlića, placentalni alfa 1, IL6 te kulturu cervikalnog brisa ) u populaciji trudnica sa znakovima prijetećeg PP dužine grlića <15 mm, pozitivnim PAMG1, su statistički značajno povezani s rizikom PP < 37 nedelja, te ta dva pozitivna testa predstavljaju dodatne markere probira ove populacije i kao takvi bi mogli unaprijediti dosadašnju kliničku praksu procijene rizika PP ( 71-75).

U ovoj studiji tačka preloma dužine trudnoće predstavlja porod prije < 37. nedelje. Ukupna vjerovatnoća prijevremenog poroda je bila 36%, do 37. nedelje i 22,2% do 34. nedelje što je u skladu sa postojećom literaturom (41,42,48). Porod prije 35. nedelje obuhvata oko 30 % sveukupnih PP te nosi najveći rizik nastanka negativnih posljedica PP u smislu najveće stope novorođenačke smrtnosti te ranog i kasnog morbiditeta te nam je shodno tome ta populacija trudnica najinteresantnija za procijenu rizika.

Porod između 35-37. nedelje tj. granični ili blagi PP predstavlja najveću grupu PP u oko 70%. Međutim, neželjene posljedice PP su i najblaže, te se danas poboljšanom novorođenačkom njegom u razvijenim zemljama učestalost morbiditeta i mortaliteta u toj populaciji djece višestruko smanjila.

Praćenje dužine grlića kroz različite studije u poslednjih deset godina potvrđuje transvaginalni ultrazvuk kao modalitet „zlatnog standarda“ za prepoznavanje trudnica sa simptomima, ali i asimptomatskim, što je i najveći problem u predviđanju prijevremenog poroda. Mjerjenje dužine cerviksa zadovoljava sve kriterije dobrog testa probira: PP koji se procjenjuje cervikometrijom radi pravovremenog liječenja, a sama cervikometrija je sigurna, dobro prihvaćena od strane trudnica, neškodljiva, jeftina i lako dostupna metoda (88).

Također je dobro opisana i standardizirana metoda, a jedno od najznačajnijih prednosti u odnosu na ostale metode probira je i mala inter i intraopservacijska varijacija koja se kreće između 5-7% (97-101).

Važna osobina cervikometrije je otkrivanje bolesti ili stanja u asimptomatskoj fazi. Skraćenje dužine cerviksa i pregled unutrašnje osi može se jedino postići transvaginalnom sonografijom. Najranije promjene unutrašnje osi i njeno otvaranje se uvijek događaju u asimptomatskoj fazi, a tek kasnije dolazi do postupnog skraćenja dužine cerviksa i otvaranja i prohodnosti vanjske osi cerviksa koja se može palpirati pri bimanuelnom pregledu

(28,29,32,92,100).

U našoj studiji medijan dužine grlića je bio  $20,22 \pm 7,24$  mm i ukupnim rasponom od 7 do 47 mm. Pratili smo vjerovatnoću prijevremenog poroda kod dužina  $\leq 15$ , 15 do 25, te  $\geq 25$  mm. Fisher's egzaktnim testom dužinu grlića  $\leq 15$  mm imalo je 24% trudnica, dužinu 15 mm do 25mm 40 % trudnica, a  $\geq 25$  njih 36%.

Incidenca prijevremenog poroda rasla je sa skraćenjem grlića, tako da ako dužinu grlića mjerimo ispod 25 mm a više od 15 mm dolazi do rasta vjerovatnoće prijevremenog poroda od 50%, za dužinu grlića ispod 15 mm vjerovatnoća prijevremenog poroda raste još za 16,7%.

Zavisno od populacije koja se proučava i gestacijske dobi koja se procjenjuje, klinička granica određivanja "kratkog" CL-a kretala se u rasponu od 15 do 30 mm u postojećoj literaturi.

Moeun i saradnici pratili su dužinu grlića materice (transvaginalnim ultrazvukom) između 16. i 24. nedelje gestacije (87). Rizik od PP je obrnuto proporcionalan s dužinom grlića; oni sa najkraćim CL imaju najveći rizik od PP bez obzira na reproduktivnu anamnezu.

Pinton i saradnici 2017. prate upotrebu vaginalnog ultrazvuka i digitalnog pregleda u predviđanju prijevremenog porođaja kod žena u rizičnoj grupi (83). Cilj studije bio je procijeniti korisnost digitalnog pregleda uz ultrazvučno mjerjenje dužine grlića materice za predviđanje prijevremenog porođaja kod žena sa simptomima.

Ovo je bilo prospektivno kohortno istraživanje u Univerzitetskoj bolnici u Strasbourg, u periodu od januara 2013. do januara 2015. Sve uključene trudnice su hospitalizovane zbog simptoma prijevremenog porođaja između 23. i 34. nedelje gestacije. Primarna krajnja tačka istraživanja bio je prijevremeni porod prije 34. nedelje gestacije.

U studiju je bilo uključeno ukupno 395 žena. Stopa prijevremenog porođaja prije 34. nedelje iznosila je 13%. Konačni model uključivao je pet varijabli koje predviđaju prijevremeno rađanje: vizualizacija membrana na pregledu spekuluma (ILI 15,8, 95% CI 2,43-146), dužina ultrazvuka grlića materice (IL 0,82, 95% CI 0,75-0,89), znakovi upale (ILI 6,23, 95% CI 2,07-22,9), gestacijska dob prilikom prijema (IL 0,84, 95% CI 0,71-1,0) i prisustvo vaginalne infekcije (IL 4,28, 95% CI 1,52-12,7). Nijedan od cervikalnih parametara procjenjen digitalnim pregledom nije pružio dodatnu prediktivnu vrijednost prijevremenog porođaja. Istraživanje sugeriše da digitalni pregled ne doprinosi informacijama koje je dala vaginalna ultrazvučna procjena u predviđanju prijevremenog porođaja.

Nikolova 2015. upoređuje placentalni alfa1 sa fetalnim fibronektinom i dužinom grlića u prognozi predikcije porođaja kod trudnica sa simptomima prijevremenog poroda(102). Thain i saradnici su 2018. analizirali spontani prijevremeni porod i dužinu grlića kod trudnih azijskih žena (103). Cilj ove studije bio je utvrditi stopu spontanog prijevremenog porođaja i istražiti odnos između prijevremenog porođaja i dužine grlića materice u trudničkoj azijskoj populaciji. Dužina grlića materice mjerena je ultrazvukom tokom svake od 4 antenatalne posjete (posjeta 1: <14. nedelja, posjeta 2: 18-22. nedelje, posjeta 3: 28-32. nedelje i posjeta 4:> 34. nedelje) korišćenjem protokola Fetal Medicine Foundation.

Bila je značajno kraća dužina grlića materice u drugom (18. do 22. nedelje) i u trećem trimestru (28. do 32. nedelje) u grupi koja je rodila prijevremeno, u poređenju sa grupom koja je rodila u terminu ( $p = 0,028$  i  $p <0,001$  respektivno). U prvom trimestru (11. do 14. nedelja) nije bilo statistički značajne razlike u dužini grlića materice između dve grupe ( $p = 0,425$ ).

U periodu od 28. do 32. nedelje gestacije, granica od 2,49 cm ima osetljivost 54,8%, specifičnost 82,5%, negativnu prediktivnu vrednost 97,9% i pozitivnu prediktivnu vrednost od 11,1%. Dužina grlića materice je umereni prediktor prijevremenog rođenja sa dobrom negativnom prediktivnom vrijednošću i relativno dobrom specifičnošću.

U našoj studiji Fišer's egzaktnim testom došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna ( $p<0,05$ ) zavisnost između PartuSure testa i prijevremenog poroda. Trudnice sa negativnim PartuSure testom su imale višestruko manji broj prijevremenih poroda u odnosu na broj prijevremenih poroda kod trudnica kod kojih je PartuSure bio pozitivan. Broj pozitivnih trudnica koje su se porodile prije 37. nedelje sa pozitivnim testom bilo je 88%, 18,8% su imale prijevremeni porod sa negativnim PAMG1 testom. Unutar 7 dana od hospitalizacije porodilo se 16%

U našoj studiji prvi put se kombinacijom testova binarnom linearnom regresijom ispitivalo više modela za predikciju prijevremenog poroda na osnovu parametara: PartuSure, CRP, cerikvinalni bris i dužina grlića maternice. Model 1 (PAMG1+grlić<15+CRP) na osnovu binarne regresije došlo se do zaključka da je model za procjenu prijevremenog poroda statistički značajan ( $\chi^2=11,170$ ;  $p=0,004$ ) ( $p<0,05$ ).

Hosmer and Lemeshow test ( $\chi^2=0,000$ ;  $p=1,000$ ) ( $p>0,05$ ) je pokazao da model do opisuje vezu između prediktora i prijevremenog poroda. Na osnovu testa „-2 Log Likelihood“ utvrđeno je da samo nezavisna varijabla dužina grlića maternice statistički značajno

( $p<0,05$ ) doprinosi modelu odnosno procjeni prijevremenog poroda. Uspješnost predikcije ovog modela je 96%.

Model 2 (PAMg+CB+grlić<15) na osnovu binarne regresije došlo se do zaključka da je model za procjenu prijevremenog poroda statistički značajan ( $\chi^2=32,671$ ;  $p=0,000$ ) ( $p<0,05$ ). Hosmer and Lemeshow test ( $\chi^2=0,000$ ;  $p=1,000$ ) ( $p>0,05$ ) je pokazao da model opisuje vezu između prediktora i prijevremenog poroda. Uspješnost predikcije ovog modela je 92%.

Model 3( CB+grlić<15+CRP) na osnovu binarne regresije došlo se do zaključka da je model za procjenu prijevremenog poroda statistički značajan ( $\chi^2=11,170$ ;  $p=0,004$ ) ( $p<0,05$ ). Hosmer and Lemeshow test ( $\chi^2=0,000$ ;  $p=1,000$ ) ( $p>0,05$ ) je pokazao da model opisuje vezu između prediktora i prijevremenog poroda. Na osnovu testa „-2 Log Likelihood“ utvrđeno je da samo nezavisna varijabla dužina grlića maternice statistički značajno ( $p<0,05$ ) doprinosi modelu odnosno procjeni prijevremenog poroda. Uspješnost predikcije ovog modela je 72%.

Radan i saradnici pratili su trudnice između 24. i 36 + 6 nedelja gestacije (104). Uključili su žene sa i bez simptoma prijevremenog porođaja. Procenjivali su rezultate testa na alfa 1-makroglobulin u cervikovaginalnoj tečnosti u odnosu na tri različita intervala prezentacije do porođaja:  $\leq 2$ ,  $\leq 7$ ,  $\leq 14$  dana. Pored toga, pratili su placentalni alfa 1-makroglobulin u kombinaciji sa drugim prognostičkim faktorima kao što su ultrasonografska merenja dužine grlića materice.

U istraživanje je bilo uključeno 126 trudnica. Dobili su visoku specifičnost (97% -98%) i negativnu prediktivnu vrijednost (89% -97%) za placentni a-makroglobulin-1 u svim vremenskim intervalima. Alfa 1-makroglobulin u kombinaciji sa merenjima dužine grlića materice ( $\leq 15$  mm) u podgrupi žena koje su imale simptome prijevremenog porođaja ( $n = 63$ ) pokazao je visoke pozitivne prediktivne vrednosti (100%) za 7- i 14-dnevni intervali prezentacije do porođaja.

Di Fabrizio i saradnici pratili su djelotvornost PAMG-1 testa u cervikovaginalnim sekretima prikupljenim neposredno nakon transvaginalnog ultrazvuka kod žena s znacima i simptomima prijevremenog poroda, klinički netaknutim membranama i dužine grlića maternice između 15 i 30 mm za predviđanje skorašnjeg spontanog porođaja (u roku od 7 dana od ispitivanja), kao i porođaja  $<34$ . nedelje trudnoće (69). Izvođenje PAMG-1 testa na 79 žena s jednoplodnom trudnoćom koje su prijavile znakove i simptome koji ukazuju na PP i dužinu vrata maternice  $<30$  mm.

Rizik za predviđanje PP u roku od 7 dana od ispitivanja kod trudnica sa dužinom grlića

između 15-30 mm je 100%, a specifičnost 94%. Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) je 77%, a negativna prediktivna vrijednost (NPV) 100%. Za predviđanje poroda <34. nedelje gestacije osjetljivost je smanjena sa 100% na 67%, a specifičnost sa 94% na 89%, PPV je 55%, a NPV 93%.

Amylidi-Mohr ističe da s obzirom na patofiziološku heterogenost prijevremenog rođenja, jedan biomarker ne može pokazati tražene visoke negativne i pozitivne prediktivne vrijednosti (105). S kliničkog aspekta, anamneza, ultrazvučno mjerjenje dužine grlića maternice i ispitivanje placentnog alfa-mikroglobulina-1 (PAMG-1) iz cerviko-vaginalne sekrecije mogli bi dati dobre rezultate u procjeni rizične grupe.

Çekmez prati korisnost vaginalnog alfa mikroglobulina-1 (PAMG-1) kao prediktora prijevremenog porođaja u roku od 7 dana u trudnoći s rizikom prevremenog rođenja(106). Ova prospektivna studija provedena je kod trudnica sa rizikom od prijevremenog rođenja. Ispitani su i upoređeni nivoi vaginalnog PAMG-1 i fetalnog fibronektina (fFN) i mjerjenje transvaginalne dužine vrata maternice. U ovu studiju su uključena sedamdeset i dvije trudnice. Osjetljivost PAMG-1, fFN i CLM bila je 73,3, 73,6%, i 52,9%, dok su specifičnosti PAMG-1, fFN i CLM bile 92,9%, 94,3%, odnosno 90,9%. Pozitivne prediktivne vrijednosti PAMG-1, fFN i CLM bile su 73,3%, 82,3%, i 64,2%, a negativne prediktivne vrijednosti PAMG-1, fFN i CLM bile su 92,9%, 90,9%, odnosno 86,2%. Dijagnostička tačnost PAMG-1 slična je onoj fFN-a u pogledu prijevremenog otkrivanja poroda u roku od 7 dana.

Konoplyannikov u prospektivnoj studiji koja je uključila 137 trudnica u gestacijskoj dobi od 22-37. nedelja sa simptomima PB (107). Prisustvo PAMG-1 testa uz mjerjenje dužine grlića materice ultrazvukom. Cervikometrija kod žena sa dužinom grlića materice između 15 i 30 mm imala je pozitivnu prediktivnu vrijednost od samo 8,9% za PP u roku od 7 i 14 dana. PartoSure test kod žena sa dužinom grlića materice između 15 i 30 mm imao je pozitivnu prediktivnu vrednost za PP u roku od 7 do 14 dana od 63,6%. Korištenje kombinacije ultrazvučne cervikometrije i PAMG-1 ispitivanja kod žena sa simptomima PB i dužina grlića materice između 15 i 30 mm može omogućiti tačniju identifikaciju osoba sa visokim rizikom od PP u roku od 7 do 14 dana.

Kashanian je u prospektivnoj studiji pratilo PAMG-1 test, dužinu grlića i broj kontrakcija (108). Studija je pokazala veću stopu tačnosti za predviđanje porođaja u roku od  $\leq 48$  i  $\leq 7$  dana u poređenju sa dužinom grlića materice <25 mm i brojem kontrakcija. Takođe, test PAMG-1 imao je veći pozitivni koeficijent verovatnoće za porod  $\leq 37$ . nedelja. PPV za

porod unutar  $\leq 48$  h i  $\leq 7$  dana za PAMG-1 bio je veći od dužine grlića materice  $< 25$  mm i broja kontrakcija, međutim, NPV nije pokazao značajnu razliku.

## 7. ZAKLJUČCI

Incidenca prijevremenog poroda u eksperimentalnoj grupi, kod trudnica sa simptomima prijevremenog poroda, bila je 36%, dok kod trudnica kontrolne grupe, bez simptoma, nismo imali prijevremeni porod. Do 7 dana od hospitalizacije prijevremeno se porodilo 16% od cijele grupe. Od ukupnog broja prijevremeno porođenih 44,4,% se porodilo do 7 dana od prijema. Do 37. nedelje porodilo se 77,8 %, do 34. nedelje 22%. U eksperimentalnoj grupi imali smo 40 % trudnica sa pozitivnim testom na PAMG1.

Dužina grlića iznad 25mm u eksperimentalnoj grupi bila je kod 36% trudnica, dok je istih u kontrolnoj bilo 84%. Vjerovatnoća prijevremenog poroda prema dužini grlića raste od dužine od 15 do 25mm na 50%, a za dužinu ispod 15mm za još 16,7%. Kada je u pitanju korelacija dužine grića i pozitivnog PAMG 1 testa trudnice dužine grlića ispod 15mm 40 % su imale pozitivan test, samo 5 % je kod te dužine grlića test bio negativan.

U našem studijskom ispitivanju prvi put se koriste statički modeli kojima smo pokušali da korelacijom praćenih parametara dobijemo najbolji model po kojim bi mogli da prepoznamo trudnice koje će se poroditi prijevremeno.

Prvi model PAMG+grlić ispod 15mm+CRP, uspješnost predikcije bio je 96%.

Drugi model PAMG+CB+grlić ispod 15mm, uspješnost predikcije 92%

Treći model CB+grlić ispod 15 +CRP, uspješnost predikcije 72%

## 8. LITERATURA

1. Vogel JP. Global epidemiology of preterm birth. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018 Oct;52:3-12.
2. Rundell K, Panchal B. Preterm Labor: Prevention and Management. 2017 Mar 15;95(6):366-372
3. Ananth CV, Vintzileos AM. Epidemiology of preterm birth and its clinical subtypes. J Matern Fetal Neonatal Med. 2006;19:773-82.
4. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet. 2008;371:75-84.
5. Grgić O, Metode probira u dijagnostici prijevremenog poroda. 2010 - medlib.mef.h
6. Romero R et al. The preterm parturition syndrome. BJOG.2006;113:17-42.
7. Romero R et al. One syndrome, many causes. Science.2014;345
8. A Boyle. Preterm Birth: Inflammation, Fetal Injury and Treatment Strategies. J Reprod Immunol .2017 Feb;119:62-66
9. Kamath-Rayne. Antenatal Corticosteroids Beyond 34 Weeks Gestation: What Do We Do Now? Am J Obstet Gynecol. 2016 Oct;215(4):423-30
10. Shepherd, Antenatal and Intrapartum Interventions for Preventing Cerebral Palsy: An Overview of Cochrane Systematic Reviews Cochrane Database Syst Rev. 2017 Aug 8;8(8):CD012077.
11. Kenyhercz F et al. Psychomotor state of development of preterm children concerning chronic neonatal morbidities at the age of two years. Orv Hetil. 2020. PMID: 31984771
12. Brina DD et al. Twins and neurodevelopmental outcomes:the effect of IVF,fetal growth restriction and preterm birth. J Matern Fetal Neonatal Med.2019.PMID:29307249. Review.
13. Ville Y, Rozenberg P. Predictors of preterm birth. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018 Oct;52:23-32. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.05.002. Epub 2018 Jul 7.
14. Fuchs F et al. Multiple gestations and preterm birth. Semin Fetal Neonatal Med. 2016. PMID:26795885. Review.
15. Lee MS, Romero R, Park JW, Kim SM, Park CW, Korzeniewski S, Chaiworapongsa T, Yoon BH. The clinical significance of a positive Amnisure test (TM) in women with preterm labor. J Matern Fetal Neonatal Med. 2012 Sep;25(9):1690-8.

16. Reducing tobacco smoking and smoke exposure to prevent preterm birth and its complications.
17. Di Renzo et al. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal Medicine. *J Maternal Fetal Neonatal Med.* 2017. PMID:28629238
18. Vaginal bleeding in early pregnancy. In: Managing complications in pregnancy and childbirth. A Guide for midwives and doctors. World Health Organisation. 2003; Geneve: S7-S17.
19. Alberman E. Spontaneous Abortion: Diagnosis and Treatment. London: Spring-Verlag, 1992;9-20.
20. Regan L, Braude PR, Trembath P. Influence of past reproductive performance on risk of spontaneous abortion. *BMJ.* 1989 Aug 27;299(6698):541-5.
21. Ortiz Martinez RA et al. Relation Between Stress During Pregnancy and Spontaneous Preterm Birth. *Rev Colomb Psiquiatr.* 2016. PMID: 27132756
22. Wheeler S et al. Psychosocial Stress and Preterm Birth: The Impact of Parity and Race. *Matern Child Health J.* 2018. PMID: 29600473
23. Pandey M, Chauhan M, Awasthi S. Interplay of cytokines in preterm birth. *Indian J Med Res.* 2017 Sep;146(3):316-327. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_1624\_14
24. Haider BA et al. Multiplemicronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017.
25. Zhang Y et al. Maternal Dietary Nutrient Intake and Its Association with Preterm Birth: A Case control Study in Beijing. *Nutrients.* 2017. PMID:28257050
26. Grgic O, Matijevic R, Kuna K. Raised electrical uterine activity and shortened cervical length could predict preterm delivery in a low-risk population. *Arch Gynecol Obstet.* 2012 Jan;285(1):31-5. doi: 10.1007/s00404-011-1906-x. Epub 2011 Apr 22.
27. Matijević R, Grgić O, Vasilj O. Ritodrine in oral maintenance of tocolysis after active preterm labor: randomized controlled trial. *Croat Med J.* 2006 Feb;47(1):25-31.
28. Matijevic R, Grgic O, Vasilj O. Is sonographic assessment of cervical length better than digital examination in screening for preterm delivery in low risk population? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006;85(11): 1342-7.
29. Pinton A et al. Comparison of vaginal ultrasound and digital examination in predicting preterm delivery in women with threatened preterm labor:a cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2017 Apr;96(4):447-453

30. Committee on Practice Bulletins-Obstetrics TACoO, Gynecologists. Practice bulletin no. 130: prediction and prevention of preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2012;120(4):964–973. [PubMed] [Google Scholar]
31. J D Iams. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. *N Engl J Med* 1996 Feb 29;334(9):567-72. doi: 10.1056/NEJM199602293340904
32. Taipale et al. - Sonographic measurement of uterine cervix at 18-22 weeks' gestation and the risk of preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 1998 Dec;92(6):902-7. doi: 10.1016/s0029-7844(98)00346-9.
33. Heath et al. Cervical length at 23 weeks of gestation: the value of Shirodkar suture for the short cervix. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1998 Nov;12(5):318-22. doi: 10.1046/j.1469-0705.1998.12050318.x.
34. Hassan et al. A sonographic short cervix as the only clinical manifestation of intra-amniotic infection. *J Perinat Med* 2006;34(1):13-9. doi: 10.1515/JPM.2006.002.
35. Guzman et al. The significance of transvaginal ultrasonographic evaluation of the cervix in women treated with emergency cerclage. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Aug;175(2):471-6. doi: 10.1016/s0002-9378(96)70164-3.
36. Owen et al. Maternal-Fetal Medicine Units Network. Can shortened midtrimester cervical length predict very early spontaneous preterm birth? *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jul;191(1):298-303.
37. Tsoi et al. Ultrasound assessment of cervical length in threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003 Jun;21(6):552-5. doi: 10.1002/uog.131.
38. Rizzo et al. The value of fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions and of ultrasonographic examination of the uterine cervix in predicting premature delivery for patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Nov;175(5):1146-51.
39. Ness et al. Does knowledge of cervical length and fetal fibronectin affect management of women with threatened preterm labor? *Am J Obstet Gynecol.* A randomized trial 10.1016/s0002-9378(96)70020-0. 2007 Oct;197(4):426.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2007.07.017.
40. Palacio et al. The use of a variable cut-off value of cervical length in women admitted for preterm labor before and after 32 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007 Apr;29(4):421-6. doi: 10.1002/uog.3950.

41. Roh , Ji YI, Jung CH, Jeon GH, Chun S, Cho HJ. Comparison of cervical lengths using transabdominal and transvaginal sonography in midpregnancy. *J Ultrasound Med.* 2013;32(10): 1721–1728. [PubMed] [Google Scholar]
42. McIntosh J, Feltovich H, Berghella V, Manuck. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM). Electronic address: [pubs@smfm.org](mailto:pubs@smfm.org). The role of routine cervical length screening in selected high- and low-risk women for preterm birth prevention. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Sep;215(3):B2-7. doi: 10.1016/j.ajog.2016.04.027. Epub 2016 Apr 28.
43. Matijević R, Grgić O, Klobucar A. Diagnosis and therapy of cervical insufficiency. *Acta Med Croatica* 2003;57(4):287-94.
44. Roman A, Suhag A, Berghella V. Overview of Cervical Insufficiency: Diagnosis, Etiologies, and Risk Factors. *Clin Obstet Gynecol.* 2016 Jun;59(2):237-40. doi: 10.1097/GRF.0000000000000184.
45. Patton PE, Novy M. Reproductive potential of the anomalous uterus. *Seminars In Reproductive Endocrinology* 1988;6:217-233
46. Kelly S, Pollock M, Maas B, Lefebvre C, Manley J, Sciscione A. Early transvaginal ultrasonography versus early cerclage in women with an unclear history of incompetent cervix. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 May;184(6):1097-9.
47. Owen J, Hankins G, Iams JD, et al. Multicenter randomized trial of cerclage for preterm birth prevention in high-risk women with shortened midtrimester cervical length. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(4):375.e1–375.e8. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
48. Mesic L et al. Correlation between cervical infection and preterm labor. *Med Glas.* 2017 Feb 1;14(1):91-97
49. Perino A, Barba G, Cimino C, Costa P, Pignatone C, Scaglione G, Zangara C, Cittadini E, Marcenò R, Indovina A, et al. Immunological problems in the recurrent abortion syndrome. *Acta Eur Fertil.* 1989 Jul-Aug;20(4):199-202.
50. Goldenberg RL, Andrews WW, Faye-Petersen O, Cliver SP, Goepfert A, Hauth JC. The Alabama preterm birth project: placental histology in recurrent spontaneous and indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195:792 -6.

51. Rinaldi SF, Catalano RD, Wade J, Rossi AG, Norman JE. Decidual neutrophil infiltration is not required for preterm birth in a mouse model of infection-induced preterm labor. *J Immunol*. 2014 Mar 1;192(5):2315-25.
52. Sorokin Y et al. Umbilical cord serum interleukin-6, C-reactive protein, and myeloperoxidase concentrations at birth and association with neonatal morbidities and long-term neurodevelopmental outcomes. *Am J Perinatol* 2014 Sep;31(8):717-26.
53. Jung EY, Choi BY, Rhee J, Park J, Cho SH, Park KH. Relation between amniotic fluid infection or cytokine levels and hearing screen failure in infants at 32 wk gestation or less. *Epub* 2016 Feb;81(2):349-355
54. Prince AL et al. The placental membrane microbiome is altered among subject with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol*. 20016. PMID:26965447.
55. Palmstn K et al. Subclinical and clinical chorioamnionitis, fetal vasculitis and risk for preterm birth: A cohort study. *Placenta*. 2018. PMID: 29941174
56. Kacerovski M et al. Cervical microbiota in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PloS One*. 2015 May;10(5)
57. Adams Waldorf KM, Rubens CE, Gravett MG. Use of nonhuman primate models to investigate mechanisms of infection-associated preterm birth. *BJOG*. 2011 Jan; 118(2) : 136-.
58. Arenas Hernandez M et al .Effecter and Activated T Cells induce Preterm Labor That is Prevented by Treatment with Progesterone. *J Immunol*. 2019. PMID: 30918041
59. Cappelletti M et al. Inflammation and preterm birth. *J Leucol Biol*. 2016
60. Brabant G. Bacterial vaginosis and spontaneous preterm birth. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2016 Dec; 45(10):1247-1260. doi: 10.1016/j.jgyn.2016.09.014. *Epub* 2016 Oct 26.
61. Klebanoff MA, Brotman RM<sup>2</sup>. Treatment of bacterial vaginosis to prevent preterm birth. *Lancet*. 2018 Nov 17;392(10160):2141-2142. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32115-9. *Epub* 2018 Oct 12.
62. Gilman-Sachs A, Dambaeva S, Salazar Garcia MD, Hussein Y, Kwak-Kim J, Beaman K. Inflammation induced preterm labor and birth. *J Reprod Immunol*. 2018 Sep;129:53-58. doi: 10.1016/j.jri.2018.06.029. *Epub* 2018 Jun 30.

63. Bianchi-Jassir F, Seale AC et al. Preterm Birth Associated With Group B Streptococcus Maternal Colonization Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis*. 2017 Nov 6;65(suppl\_2):S133-S142. doi: 10.1093/cid/cix661.
64. Tsonis O, Gkrozou F, Harrison E, Stefanidis K, Vrachnis N, Paschopoulos M. Female genital tract microbiota affecting the risk of preterm birth: What do we know so far? A review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020 Feb;245:168-173. doi: 10.1016/j.ejogrb.2019.12.005. Epub 2019 Dec 13.
65. Colonna C, Steelman M. Amsel Criteria. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020-2019 Jul 1.
66. Goldenberg RL, Goepfert AR, Ramsey PS. Biochemical markers for the prediction of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192:S36-46.
67. Berghella V, Saccone G. Fetal fibronectin testing for prevention of preterm birth in singleton pregnancies with threatened preterm labor: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(4): 431–438. [PubMed] [Google Scholar]
68. Son M, Miller ES. Predicting preterm birth: Cervical length and fetal fibronectin. *Semin Perinatol*. 2017 Dec;41(8):445-451. doi: 10.1053/j.semperi.2017.08.002. Epub 2017 Sep 19. Di Fabrizio L,
69. Di Fabrizio Giardina I, Cetin I, Di Tommaso M, Ciavattini A, Locci M, Facchinetti F, Zonca M, Di Renzo GC. New methods for preterm birth prediction: the PAMG-1 test. *Minerva Ginecol*. 2018 Oct;70(5):635-640. doi: 10.23736/S0026-4784.18.04243-0. Epub 2018 May 31 Hadzi
70. Hadzi-Lega M, Markova AD, Stefanovic M, Tanturovski M. Correlation of cervical length, fetal fibronectin, phlGFBP-1, and cytokines in spontaneous preterm birth up to 14 days from sampling. *J Perinatal Med*. 2015 Sep;43(5):545-51
71. Nikolova T, Bayev O, Nikolova N, Di Renzo GC. Evaluation of a novel placental alpha microglobulin-1 (PAMG-1) test to predict spontaneous preterm delivery. *J Perinat Med*. 2014 Dec; 13:1-5.

72. Sukchaya K, Phupong V. A comparative study of positive rate of placental alpha-microglobulin-1 test in pre-term pregnant women with and without uterine contraction. *J Obstet Gynaecol*. 2013 Aug;33(6):566-8.
73. Ehsanipoor RM, Swank ML, Jwa SC, Wing DA, Tarabulsi G, Blakemore KJ. Placental alpha Microglobulin -1 in Vaginal Secretions of Women with Evidence of preterm Labor. *Am Perinatol*. 2016 Jan; 33(2):208-13
74. Mariona FG, Roura LC. The role of placental alpha microglobulin -1 amnisure in determining the status of fetal emmbranes ; its association with preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med*.2016 Mar;29(6):1016-20 74. Cousins et al. AmniSure Placental Alpha Microglobulin-1 Rapid Immunoassay versus Standard Diagnostic Methods for Detection of Rupture of Membranes. *American Journal of Perinatology*. September 2005;22(6):317-20
75. Hadzi-Lega, Markova AD, Stefanović M, Tanturovski M. Corelation of cervical length, fetal fibrinektin, phIGFBP-a, and cytokines in spontaneous preterm birth up to 14 days from sampling. *J Perinatal Med*. 2015 Sep; 43(5):545-51
76. Lee, S. E.; Park, J. S.; Norwitz, E. R.; Kim, K. W.; Park, H. S.; Jun, J. K. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstetrics and Gynecology*. 2007;109 (3): 634–40.
77. Gekmez et al. Use of cervicovaginal PAMG-1 protein as a predictor of delivery within seven days in pregnancies at risk of premature birth. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017;17: 246.
78. Kwek et al. Comparative analysis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), placental alpha-microglobulin-1 (PAMG-1) and nitrazine test to diagnose premature rupture of membranes in pregnancy. *J Perinat Med*. 2010 Nov;38(6):609-12. doi: 10.1515/jpm.2010.099. Epub 2010 Aug 13.
79. Ramsauer et al. The diagnosis of rupture of fetal membranes (ROM): a meta-analysis. *Journal of Perinatal Medicine*. 2012 Dec; Volume 41: Issue 3
80. Albayrak et al. Comparison of the diagnostic efficacy of the two rapid bedside immunoassays and combined clinical conventional diagnosis in prelabour rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* . 2011 Oct;158(2):179-82. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.04.041. Epub 2011 Jun 2.

81. Abdelazim et al. Placental alpha microglobulin-1 (AmniSure®) test for detection of premature rupture of fetal membranes. *Arch Gynecol Obstet.* 2012 Apr;285(4):985-9. doi: 10.1007/s0040481.
82. Marcellin et al. Comparison of two bedside tests performed on cervicovaginal fluid to diagnose premature rupture of membranes. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2011 Nov;40(7):651-6. doi: 10.1016/j.jgyn.2011.06.007. Epub 2011 Oct 17
83. Pinton A, Severac F, Meyer N, Akladios CY, Gaudineau A, Favre R, Langer B, Sananes N. A comparison of vaginal ultrasound and digital examination in predicting preterm delivery in women with threatened preterm labor: a cohort study. *2017 Apr;96(4):447-453.* doi: 10.1111/aogs.13071. Epub 2017 Jan 11.
84. Whittingham TA. WFUMB Safety Symposium on Echo-Contrast Agents: exposure from diagnostic ultrasound equipment relating to cavitation risk. *Ultrasound Med Biol.* 2007;33(2):214-23.
85. Abramowicz JS, Kossoff G, Marsal K, Ter Haar G; International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology Bioeffects and Safety Committee. Executive Board of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. Safety Statement, 2000 (reconfirmed 2003). International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (ISUOG). *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21(1):100–111. Fowlkes JB; Bioeffects Committee of the American Institute of Ultrasound in Medicine. American Institute of Ultrasound in Medicine consensus report on potential bioeffects of diagnostic ultrasound: executive summary. *J Ultrasound Med.* 2008;27(4):503-15.
86. Temming LA, Durst JK, Tuuli MG, et al. Universal cervical length screening: implementation and outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(4):523.e1–523.e8. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
87. Grgic O, Matijevic R, Vasilj O. Qualitative glandular cervical score as a potential new sonomorphological parameter in screening for preterm delivery. *Ultrasound Med Biol.* 2006 Mar;32(3):333-8.
88. Berghella V, Saccone G. Cervical assessment by ultrasound for preventing preterm delivery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 Sep 25;9:CD007235. doi: 10.1002/14651858.CD007235.pub4

89. Amstel R, Totten PA, Speigel CA et al. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983;74:14-22.
90. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29: 297-301.
91. Antonio MD, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis.* 1999; 180:1950-6.
92. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis.* 1996;174:1058-63.
93. Hoyme UB, Saling E. Efficient prematurity prevention is possible by pH-self measurement and immediate therapy of threatening ascending infection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;10;115(2):148-53.
94. Nyugen P, Rongwei F, Freeman M, Bougastos C, Klebanoff M, Guise JM. Evidence on the benefits and harms of screening and treating pregnant women who are asymptomatic for bacterial vaginosis: an update review for the US preventive service task force. *Ann Intern Med.* 2008;148:220-33.
95. Antonio MD, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis.* 1999; 180:1950-6.
96. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis.* 1996;174:1058-63.
97. Son M. et al. Predicting preterm birth: Cervical length and fetal fibronectin. *Semin Perinatol.* 2017. PMID: 28935263
98. Dutta RL, Economides DL. Patient acceptance of transvaginal sonography in the early pregnancy unit setting. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003; 22:503-7..
99. Owen J, Yost N, Berghella V et al. Mid-trimester endovaginal sonography in women at high risk for spontaneous preterm birth. *JAMA.* 2001; 286:1340-8.

100. Gomez R, Galasso M, Romero R et al. Ultrasonographic examination of the uterine cervix is better than cervical digital examination as a predictor of the likelihood of premature delivery in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 171(4): 956-64.
101. Burger M, Weber-Rossler T, Willmann M. Measurement of the pregnant cervix by transvaginal sonography: an interobserver study and new standards to improve the interobserver variability. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997;9:188-93.
102. Nikolova T, Bayev O, Nikolova N, Di Renzo GC. Comparison of a novel test for placental alpha microglobulin-1 with fetal fibronectin and cervical length measurement for the prediction of imminent spontaneous preterm delivery in patients with threatened preterm labor. *J Perinat Med.* 2015 Jan 6. [Epub ahead of print]
103. Thain S, Yeo GSH, Kwek K, Chern B, Tan KH. Spontaneous preterm birth and cervical length in a pregnant Asian population. *PLoS One.* 2020 Apr 13;15(4):e0230125. doi: 10.1371/journal.pone.0230125. eCollection 2020.
104. Radan AP, Aleksandra Polowy J, Heverhagen A, Simillion C, Baumann M, Raio L, Schleussner E, Mueller M, Surbek D. Cervico-vaginal placental  $\alpha$ -macroglobulin-1 combined with cervical length for the prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020 Mar;99(3):357-363. doi: 10.1111/aogs.13744. Epub 2019 Oct 28.
105. Amylidi-Mohr et al. Preterm birth screening. What does Really make Sense? *Praxis(Bern 1994).* 2019. PMID: 30621535
106. Gekmez Y et al. Use of cervicovaginal PAMG-1 protein as a predictor of delivery within seven days in pregnancies at risk of premature birth. *Pregnancy Childbirth.* 2017.
107. Konoplanyakov et al. Combination of placental alpha 1 microglobulin test and ultrasonic cervical length measurement to predict the time of preterm birth. *J Maternal Fetal Neonatal Med* 2020.
108. Kashanian M, Eshraghi N, Rahimi M, Sheikhansari N. Evaluation of placental alpha microglobulin-1(PAMG1) accuracy for prediction of preterm delivery in women with the symptoms of spontaneous preterm labor; a comparison with cervical length and number of contractions *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Feb 18:1-7. doi: 10.1080/14767058.2020.1728246. [Epub ahead of print]

## BIOGRAFIJA

**Arnela Cerić Banićević, rođena: 30.04.1970. godine, mjesto rođenja: Prijedor, RS, BiH**

- Osnovna škola "Mira Cikota" Prijedor 1984. godina
- Srednja Poljoprivredno tehnološko školski centar (veterinarski tehničar) Banjaluka 1988. godina
- Medicinski fakultet Banjaluka upisala 1988. godine, apsolvirala 1993. Godine
- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, gost student od 1993. do 1995.
- Diplomirala na Medicinskom fakultetu Sarajevo 1995. godine (prosječna ocjena 8,95)
- Specijalistički ispit: Ginekologija i akušerstvo 2005. godine
- Postdiplomski studij "Perinatologija", Sveučilište Zagreb, Medicinski fakultet 2000. godine
- Odbrana magistarske teze "Dužina vrata materice i cervikovaginalna infekcija u prognozi rizika za prijevremeni porod", mentor Prof dr Ratko Matijević, 2011. godine
- Radno mjesto: Klinika za ginekologiju i akušerstvo UKC RS od 2000, Odjeljenje Porodilište 2016.
- "Škola kolposkopije" Beograd 2006. Godine
- "Škola ultrazvuka u ginekologiji" Ian Donald Tuzla 2006. godine.
- "Osnovni kurs iz laparoskopije i histeroskopije" Sarajevo 2006. godine.
- "Napredni kurs iz laparoskopije i histeroskopije" Sarajevo 2007.godine.
- "Kurs ambulantne endoskopije po Betchociu" Sarajevo 2008. godine
- "3D/4D ultrazvuk u ginekologiji i akušerstvu" Beograd 2009. godine
- "3D/4D ultrazvuk u akušerstvu Tuzla 2013. godine
- Pasivno poznavanje engleskog jezika
- Član Komore doktora medicine Republike srpske
- Član UGOSCGRS

## Popis skraćenica

1. PP-prijevremeni porod
2. RDS-respiratorni distres
3. PROM-prijveremeno prsnuće plodovih ovoja
4. CRP-C reaktivni protein
5. COX-ciklooksigenaza
6. IL6-interleukin 6
7. TNF-tumor nekroza faktor
8. BV-bakterijska vaginoza
9. PAMG-1-placentarni alfa 1 mikroglobulin
10. PPV-pozitivna prediktivna vrijednost
11. NPV-negativna prediktivna vrijednost
12. UZV-ultrazvuk
13. TVS-transvaginalna sonografija
14. CL-dužina grlića

## Izjava 1

### IZJAVA O AUTORSTVU

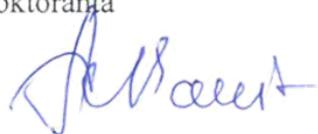
Izjavljujem  
da je doktorska disertacija

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da doktorska disertacija, u cijelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci, septembar, 2020.

Potpis doktoranta

Arnela Cerić Banićević



## Izjava 2

**Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom**

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom  
"KORELACIJA KVALITATIVNOG ALFA-1 MIKROGLOBULINA, VRIJEDNOSTI  
INTERLEUKINA 6 TE CERVIKOMETRIJE I CERVIKALNE INFEKCIJE KOD TRUDNICA SA  
SIMPTOMIMA PRIJEVREMENOG PORODA"

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

Doktorsku disertaciju sa svim prilozima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

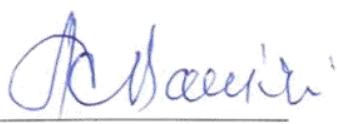
Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo
2. Autorstvo-nekomercijalno
3. Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade
- 4. Autorstvo - nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima**
5. Autorstvo - bez prerade
6. Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci, septembar 2020.

Potpis doktoranta

Arnela Cerić Banićević



### Izjava 3

#### Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora Arnela Cerić Banićević

Naslov rada KORELACIJA KVALITATIVNOG ALFA-1 MIKROGLOBULINA, VRIJEDNOSTI INTERLEUKINA 6 TE CERVIKOMETRIJE I CERVIKALNE INFEKCIJE KOD TRUDNICA SA SIMPTOMIMA PRIJEVREMENOG PORODA

Mentor Prof. Dr Vesna Ećim-Zlojutro

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predala za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

Potpis doktoranta

U Banjoj Luci, septembar 2020. godine

Arnela Cerić Banićević

