



XVII SIMPOZIJUM

UDRUŽENJA GINEKOLOGA I OPSTETRIČARA
SRBIJE, CRNE GORE I REPUBLIKE SRPSKE

Beograd, 18–19. septembar 2015.



SAVREMENI TRENDovi U GINEKOLOGIJI I AKUŠERSTVU

Urednik Prof. dr Aleksandar Stefanović

svoju antikoagulacijsku terapiju nakon porođaja.

Zaključci

1. Trombofilije mogu da uzrokuju komplikacije u trudnoći kao što su ponavljani pobačaji, IUGR, PIH, abrupcije, ali i teške komplikacij kod trudnica VTE i embolije.
2. Važno je testirati ruzične trudnice i sprovesti adekvatnu terapiju
3. Povezanost nasljedne trombofilije i uteroplacentarne tromboze koja vodi neželjenim ishodima trudnoće kakvi su gubitak ploda, preeklampsija, intrauterini zastoj rasta i abrupcija posteljice – kontroverzna je jer još uvijek nemamo definitivnu potvrdu dobiti koju donosi liječenje, kao i da su naša saznanja o trombofilijama još uvijek ograničena.

Literatura

1. McNamee K et al. Thrombophilia and early pregnancy loss. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2012; 26: 91-102.
2. Obstet Gynecol. 2011; 118:730-740
3. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Inherited thrombophilias in pregnancy. Washington (DC): American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG); 2011 Sep. 11 p. (ACOG practice bulletin; no. 124).
4. Lockwood CJ. Inherited Thrombophilias in Pregnant Patients: Detection et Treatment Paradigm. Obstet Gynecol 2002; 99: 333-341.
5. Bates SM. Management of Pregnant Women with Thrombophilia or a History of Venous Thromboembolism. Hemat 2011.

Prof. dr Slobodan Arsenijević Dr Olivera Milošević-Đorđević

**Rektor Univerziteta u Kragujevcu
Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu**

MIKRONUKLEUS TEST – MOGUĆNOST RANE DIJAGNOZE AKUTNIH PROMENA GENOMA

Lekar kliničar često je u situaciji da, primenjujući usvojene, a često nametnute protokole, prestaje da sumnja i kritički procenjuje terapijske procedure. Zaboravlja da treba pažljivo da proceni indikaciju za izbor i primenu medikamenta, a sve za dobro svog pacijenta. Utvrđivanje pojedinačnog i kombinovanog genotoksičnog efekta medikamenta moguće je i u sistemu in vitro, ali i u sistemu in vivo primenom Citokinezisblok mikronukleus testa, koji se po preporuci OECD koristi kao indikator oštećenja naslednog materijala (1, 2, 3).

Povećan broj mikronukleusa u limfocitima periferne krvi pacijentkinja pod određenom terapijom ukazuje na povećan rizik obolevanja, a može da uputi i na prevenciju bolesti, pa i malignoma (4).

Mikronukleus nastaje kao posledica hromozomske aberacije ili poremećaja funkcije deobnog vretena. Fragmenti hromozoma ili celi hromozomi oštećeni u centromernom regionu ne migriraju ka polovima jer gube orijentaciju u odnosu na nit deobnog vretena. Po završenoj deobi ne ulaze u sastav nukleusa, tako da u telofazi ćelijske deobe formiraju pojedinačne ili višestruke mikronukleuse. Jasno se uočavaju pod mikroskopom kao citolpazmatične hromatinske mase – mala jedarca.

Ako se frekvencija mikronukleusa povećava posle ordinirane terapije, to je siguran indikator egzogenog uticaja; ili je posledica slabe funkcije „repair“ sistema. U sistemu in vivo ove akutne promene u genomu analiziraju se najčešće u T – limfocitima periferne krvi.

Koristeći modifikovanu metodu preparacije hromozoma po Fenech-Morley gde se dodavanjem Citohalazina B kultiviranim ćelijama pre prve deobe blokira citokineza, dok deoba nukleusa teče normalno (5). Ćelije su završile samo jednu deobu, tako da su sposobne, ukoliko su pretrpele oštećenja, da produkuju mikronukleuse. Takve ćelije se lako prepoznaju na osnovu binuklearnog izgleda. Iz jednog uzorka moguće je analizirati više hiljada limfocita, pa je to objektivna slika oštećenja genoma.

Obzirom da je test vrlo osetljiv i da reaguje na niske doze standardnih i aneugenih agenasa, to ga čini vrlo pogodnim za rutinske toksikološke kontrole. U regularno postavljenoj studiji povećana frekvencija mikronukleusa u humanim limfocitima periferne krvi koristi se za brzu i preciznu informaciju o tome da li je supstanca koju ordiniramo genotoksična.

U dve kliničke studije rađene u ovim okvirima pokušali smo da utvrdimo da li neki često primenjivani terapijski protokoli dovode do akutnih oštećenja genoma.

Chlamidia trachomatis, mikronukleus test (CBNM), lečenje

Prospektivnom studijom na odabranom uzorku pacijenata ispitivali smo:

1. Efekte primene antibiotika iz grupe tetraciklina i iz grupe makrolida u lečenju Chlamidiae trachomatis;
2. Uticaj primene ovih antibiotika na promenu frekvencije mikronukleusa u limfocitima periferne krvi.

Ispitano je 40 pacijentkinja starijih od 20 godina kod kojih je direktnom imunofluorescencijom potvrđena infekcija ovom bakterijom. Pacijentkinje su podeljene u dve grupe, a po popunjavanju anketnih lista, statističkoj obradi i analizi dokazali smo homogenost između ove dve grupe; odnosno pacijentkinje u grupama su potpuno uporedive, pa je tako izbegnuta pristrasnost.

Svim pacijentkinjama, iz obe grupe, pre upotrebe antibiotika određen je broj mikronukleusa u limfocitima periferne krvi na 1000 analiziranih ćelija. Prva grupa pacijentkinja lečena je doksiciklinom u dozi od 100 mg/2x1 deset dana, a zatim istim antibiotikom u dozi od 1x1 sledećih deset dana. Drugoj grupi pacijentkinja ordiniran je azitromicin (4 kapsule od 250 mg, jednokratno). Odmah po završetku terapije svim pacijentkinjama iz obe grupe je ponovljen cervikalni bris na Chlamidiju trachomatis i ponovo je uzeta krv da se proverí da li je povećana frekvencija mikronukleusa.

Na osnovu rezultata studije zaključili smo da je doksiciklin u dužoj terapijskoj proceduri mnogo efikasniji u lečenju ove infekcije nego azitromicin u jednokratnoj primeni. Međutim, doksiciklin uslovljava i mnogo veću učestalost mikronukleusa odnosno strukturnih i numeričkih aberacija hromozoma (6).

U drugoj studiji *Kombinovana farmakoterapija (tokolitik, antiaritmik, antibiotik) mikronukleus, humani limfociti, in vivo*) pokušali smo da utvrdimo da li ovako kombinovana terapija izaziva povećanje frekvence mikronukleusa kod trudnica.

Studijom su obuhvaćene 32 fenotipski zdrave trudnice u II tromesečju, hospitalizovane zbog insuficijencije unutrašnjeg ušća materice, konzilijarno opredeljene za cerclage.

Pre hirurške intervencije uzimana je venepunkcijom periferna krv kod svake pacijentkinje da bi se utvrdila frekvencija spontano nastalih mikronukleusa. Po završetku hirurške intervencije, a po protokolu koji je 2007. godine važio na GAK – Kragujevac, svim pacijentkinjama ordinirana je ista kombinovana farmakoterapija:

- Ritodrin, 2x50 mg iv. tokom 3 dana uz istovremenu oralnu dozu od 3x40 mg dnevno. Oralna doza je ordinirana pacijentkinjama šest dana.
- Verapamil, 2x40 mg dnevno, šest dana.
- Eritromicin, 4x500 mg dnevno, šest dana.

Odmah po završenoj terapiji svim trudnicama iz periferne cirkulacije, po uobičajenoj proceduri uziman je uzorak krvi, da bi se utvrdio in vivo efekat ordinirane kombinovane terapije na frekvenciju mikronukleusa u humanim limfocitima.

Na osnovu dobijenih rezultata CBNM testa zaključujemo da je kombinovana farmakoterapija Ritodrinom, Verapamilom i Eritromicinom, u ukupnom trajanju od šest dana indukovala genotoksični efekat u limfocitima periferne krvi ispitivanih trudnica sa cervikalnom insuficijencijom. Dobijeni rezultati pokazuju značajan genotoksični i komutageni efekat ove terapije (7,8).

Prikazani rezultati posledica su stalnog preispitivanja u lečenju pacijenata. Jer doktrina i procedura u lečenju su paradigma; paradigma u jednom vremenu. A sama sumnja u paradigmu i njeno preispitivanje stvaraju uslove za novu paradigmu.

Literatura

1. Fenech M (2007) Cytokinesis – block micronucleus cytome assay, *Nature Protocols*, 2, 1084-1104.
2. Hollbald – Fidman K, Goldman SM: Screening for Chlamydia trachomatis. *Am J Prev Med*, 2003, 24(3); 287-292.
3. Fenech M (2009) A lifetime passion for micronucleus cytome assays – reflection from Down Under, *Mutation research*, 681, 111-117.
4. Balthershill JM, Burnett K and Bull S. (2008) Factors affecting the incidence of genotoxicity biomarkers in peripheral blood lymphocytes: impact on design of biomonitoring studies. *Mutagenesis*, 23, 423-437.
5. Fenech M. (1993) The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research*, 285, 35-44.
6. Dimitrijević A, Milošević-Đorđević O, Grujičić D and Arsenijević S. (2006) Micronucleus frequency in women with genital Chlamydia Trachomatis infection before and after therapy, *Mutation Research*, 19, 43-48.
7. Grujičić D, Milošević-Đorđević O, Arsenijević S, and Marković D. (2007) The effect of combined therapy with ritrodine, erythromycin and verapamil on the frequency of micronuclei in peripheral blood lymphocytes of pregnant women. *Clinical and experimental medicine*, 7, 11-15.
8. Grujičić D, Milošević-Đorđević O, Arsenijević S, and Marković D. (2008) Treatment of pregnant women with a betamimetic and verapamil increases the micronuclei frequency in umbilical cord blood lymphocytes. *Tohoku Journal Experimental Medicine*, 215, 363-371.

Prof. dr Željko Miković

Ginekološko akušerska klinika "Narodni Front"
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

SELECTIVE FETAL TERMINATION IN MONOCHORIONIC TWIN PREGNANCIES

Monochorionic (MC) twin pregnancies are unique because twins share the same placenta. In each MC placenta AA, VV or AV anastomoses occur, making the connection between the fetal circulations.

MC twins are uneventful in about 50 %, but in other half of MC twins several complications may occur. Selective fetal growth restriction may occur in 10-20 % of cases and is a result of unequal placental sharing. In extreme cases growth restricted fetus may die causing the death of the other twin. Up to 5 % of MC twins may have discordant structural anomalies. In 25 % of MC twins Twin-to-Twin Transfusion Syndrome (TTTS) occurs causing the death of the both twins in most severe cases. The most severe form of structural anomaly associated with TTTS is Twin-reversed arterial perfusion (TRAP).

In the cases of severe selective growth restriction, severe forms of TTTS (III/IV) when laser therapy or amniocentesis are usually unsuccessfully, TRAP and structural anomalies of one fetus selective fetal termination may be indicated.

In MC twins conventional techniques – intracardiac KCl injection - used for fetal termination are not acceptable, since the other fetus may be embolized by KCl or acute fetio-fetal hemorrhage after fetal death may occur causing fetal demise or CNS damage. Therefore, selective fetal termination in MC twins should be done by arresting both arterial and venous blood flow in the cord.

Selective fetocide in MC twins may be done in several ways:

- Umbilical cord embolization has been discouraged as survival rates were only 30%.
- Interstitial laser involves an ultrasound guided insertion of a 17-G needle into the fetal abdomen close to the viteline artery, intra-hepatic vein or the fetal pelvic vessels. Through this needle a 600 µm fiber is advanced to protrude up to 4 mm beyond the needle tip coagulating surrounding tissues until arrest of flow.
- Monopolar cord coagulation is similar to interstitial laser and may be used in early pregnancies only in TRAP pregnancies, but not in pregnancies with normal haemodynamics.
- Bipolar cord coagulation is the most effective technique in all the cases. It is performed through