

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY



Ocena wartości maksymalnej prędkości skurczowej
w tętnicy środkowej mózgu płodu w badaniu
ultrasonograficznym między 18. a 39. tygodniem
ciąży w polskiej populacji.

lek. Marek Chodkowski

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Preis
Klinika Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Gdańsk 2017

Pragnę serdecznie podziękować mojemu Promotorowi
Panu Profesorowi Krzysztofowi Preisowi
za opiekę naukową, wsparcie merytoryczne oraz życzliwe rady
w realizacji rozprawy doktorskiej

Serdecznie dziękuję również
Pani Profesor Małgorzacie Świątkowskiej-Freund
za wszechstronną pomoc podczas realizacji tej pracy

Szczególne podziękowania kieruję do mojej żony Kasi
za wyrozumiałość, motywację oraz wsparcie w realizacji celów

Rodzicom moim serdecznie dziękuję za wsparcie i trud wychowania

SPIS TREŚCI:

Wykaz stosowanych skrótów:.....	4
1. Wstęp.....	5
Wprowadzenie.....	5
Niedokrwistość płodu	5
Konflikt Serologiczny	10
Diagnostyka Konfliktu Serologicznego.....	13
a. Badania serologiczne	13
b. Amniopunkcja	14
c. Kordocenteza.....	16
d. Badanie ultrasonograficzne.....	17
e. Genotypowanie DNA.....	30
2. Cel pracy	31
3. Materiał	32
4. Metody.....	34
5. Wyniki	43
6. Dyskusja	78
7. Wnioski.....	97
8. Streszczenie	98
9. Piśmiennictwo	105

Wykaz stosowanych skrótów:

- ACC** - (ang. accuracy) dokładność
- AUC** - (ang. area under curve) pole pod krzywą
- DIC** - (ang. disseminated intravascular coagulation) Zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego
- DODK** - ciąża bliźniacza dwuowodniowa-dwukosmówkowa
- DOJK** - ciąża bliźniacza dwuowodniowa-jednokosmówkowa
- FN** - wyniki fałszywie negatywne
- FP** - wyniki fałszywie pozytywne
- Hb** - (ang. hemoglobin) hemoglobina
- HDFN** - (ang. haemolytic disease of the fetus and newborn) choroba hemolityczna płodu i noworodka
- Ht** - (ang. hematocrit) hematokryt
- IUGR** - (ang. Intrauterine Growth Restriction) wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu
- MCA** - (ang. middle cerebral artery) tętnica środkowa mózgu
- MoM** - (ang. multiple of the median) wielokrotność mediany
- NPV** - (ang. negative predictive value) wartość predykcyjna wyniku ujemnego
- PN** - wyniki prawdziwie negatywne
- PP** - wyniki prawdziwie pozytywne
- PPV** - (ang. positive predictive value) wartość predykcyjna wyniku dodatniego
- PSV** - (ang. peak systolic velocity) maksymalna prędkość skurczowa
- PTG** - Polskie Towarzystwo Ginekologiczne
- RBC** - (ang. red blood cells) erytrocyty
- ROC** - (ang. receiver operating characteristic curve) krzywa charakterystyki skuteczności percepcji
- SD** - (ang. Standard Deviation) odchylenie standardowe
- t.c.** - tydzień ciąży
- TRAP** - (ang. twin reversed arterial perfusion) zespół odwróconego kierunku przepływu krwi
- TTTS** - (ang. twin-to-twin transfusion syndrome) zespół przetoczenia krwi między płodami
- USG** - ultrasonografia

1. Wstęp

Wprowadzenie

Niedokrwistość płodu jest stosunkowo rzadkim problemem klinicznym, jednak często stanowi zagrożenie życia płodu, dlatego bardzo ważne jest wczesne rozpoznanie istniejącego zagrożenia i wdrożenie właściwego leczenia. Przed wprowadzeniem do medycyny perinatalnej ultrasonografii, jedynymi sposobami oceny niedokrwistości płodu były procedury inwazyjne. Współcześnie metoda badania maksymalnej prędkości skurczowej – (PSV ang. peak systolic velocity) w tętnicy środkowej mózgu (MCA – ang. middle cerebral artery) płodu, pozwala na nieinwazyjne diagnozowanie niedokrwistości. Badanie opiera się na silnej zależności pomiędzy stopniem nasilenia niedokrwistości płodu a prędkością przepływu krwi w naczyniach krążenia płodowego. Metoda ta umożliwia nieinwazyjną ocenę stopnia niedokrwistości płodu oraz selekcję ciężarnych, wymagających przeprowadzenia procedur inwazyjnych. Zastosowanie tej metody, pozwala na wcześniejsze wdrożenie odpowiedniego leczenia oraz umożliwia znaczną redukcję liczby procedur inwazyjnych.

W dostępnym piśmiennictwie kilku autorów skonstruowało prawidłowe wartości dla MCA-PSV, w zależności od wieku ciążowego [2,25,38,41,48,49,57,59,85,86]. Odnotowano jednak różnice pomiędzy wynikami poszczególnych autorów. Wysłano wniosek, że parametr MCA-PSV wykazuje zmienność populacyjną. Uznano za istotne przeprowadzenie badań w różnych populacjach, w celu określenia prawidłowych, lokalnych wartości MCA-PSV, aby umożliwić bardziej precyzyjne diagnozowanie niedokrwistości płodu [37]. Tak powstała idea porównania wyników badania przeprowadzonego na polskiej populacji ciężarnych z wynikami innych badaczy.

Niedokrwistość płodu

Niedokrwistość płodu definiuje się jako poziom hematokrytu lub stężenie hemoglobiny płodowej niższe, niż dwa odchylenia standardowe poniżej wartości należącej dla danego wieku ciążowego [24,29,76].

Przyczynami anemii płodu mogą być różne patologiczne czynniki pochodzenia immunologicznego, infekcyjnego, dziedzicznego lub inne [33,51]:

- Czynniki immunologiczne:
 - Alloimmunizacja – przeciwciała w układzie Rh
 - Alloimmunizacja – przeciwciała w innych układach grupowych
- Choroby infekcyjne:
 - parwowiroza, toksoplazmoza, cytomegalia, kiła
- Choroby dziedziczne:
 - choroba Niemann-Picka,
 - choroba Gauchera
 - niedokrwistość Fanconiego, niedokrwistość Blackfana-Diamonda
 - alfa-talasemia
 - niedobór dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej
- Inne czynniki:
 - Krwotok matczyno-płodowy
 - Nieimmunologiczny obrzęk płodu
 - Zespół przetoczenia krwi między płodami (TTTS)

Najczęstszą przyczyną niedokrwistości płodu jest choroba hemolityczna płodu i noworodka, jako następstwo konfliktu serologicznego w zakresie układu Rh, z alloimmunizacją matki Rh ujemnej, Rh dodatnimi krwinkami płodu. Powodami wytworzenia przeciwciał odpornościowych u ciężarnej może być transfuzja krwi, krwotok matczyno-płodowy związany z porodem, uraz, poronienie samoistne lub indukowane, ciąża pozamaciczna lub inwazyjne procedury położnicze.

Niedokrwistość płodu wiąże się z szeregiem poważnych konsekwencji, w szczególności niewydolnością krążenia, manifestującą się obrzękami i przesiekami do jam ciała a w fazie krytycznej – obrzękiem uogólnionym płodu, prowadzącym do obumarcia wewnątrzmacicznego.

W piśmiennictwie kilku autorów przedstawiło prawidłowe wartości wybranych parametrów morfologii krwi płodu. W publikacji Mari i wsp. zaprezentowano wartości referencyjne dla stężenia hemoglobiny płodu, w zależności od wieku ciążowego (Tabela 1) [49]. W wymienionej pracy

dokonano podziału na stopnie niedokrwistości płodu, stosując współczynnik wielokrotności mediany (ang. multiple of the median – MoM) stężenia hemoglobiny płodu. Kryteria klasyfikacji były następujące:

- Wartość współczynnika MoM $\leq 0,84$ – 0,65 – anemia łagodna
- Wartość współczynnika MoM $\leq 0,65$ – 0,55 – anemia umiarkowana
- Wartość współczynnika MoM $\leq 0,55$ – anemia ciężka

Tabela 1. Prawidłowe wartości mediany stężenia hemoglobiny płodu wraz z podziałem na stopień niedokrwistości wg Mari i wsp. [49].

tydzień ciąży	stężenie hemoglobiny płodu – [g/dl]			
	1,0 MoM (mediana) wartość prawidłowa	0,84 MoM anemia łagodna	0,65 MoM anemia umiarkowana	0,55 MoM anemia ciężka
18	10,6	8,9	6,9	5,8
19	10,9	9,1	7,1	6,0
20	11,1	9,3	7,2	6,1
21	11,4	9,5	7,4	6,2
22	11,6	9,7	7,5	6,4
23	11,8	9,9	7,6	6,5
24	12,0	10,0	7,8	6,6
25	12,1	10,2	7,9	6,7
26	12,3	10,3	8,0	6,8
27	12,4	10,4	8,1	6,8
28	12,6	10,6	8,2	6,9
29	12,7	10,7	8,3	7,0
30	12,8	10,8	8,3	7,1
31	13,0	10,9	8,4	7,1
32	13,1	11,0	8,5	7,2
33	13,2	11,1	8,6	7,2
34	13,3	11,1	8,6	7,3
35	13,4	11,2	8,7	7,4
36	13,5	11,3	8,7	7,4
37	13,5	11,3	8,8	7,5
38	13,6	11,4	8,9	7,5
39	13,7	11,5	8,9	7,5
40	13,8	11,6	9,0	7,6

W prawidłowo przebiegającej ciąży, wartości stężenia hemoglobiny, poziomu hematokrytu oraz liczby erytrocytów progresywnie wzrastają w okresie życia płodowego.

W pracach Nicolaidesa i wsp. zaprezentowano własne wyniki prawidłowych wartości stężenia hemoglobiny płodu (Tabela 2) [61]. Zastosowano także inne kryteria klasyfikacji niedokrwistość płodu:

- Deficyt hemoglobiny $\geq 2 - 4$ g/dl – anemia łagodna
- Deficyt hemoglobiny $\geq 4 - 6$ g/dl – anemia umiarkowana
- Deficyt hemoglobiny ≥ 6 g/dl – anemia ciężka

Tabela 2. Prawidłowe wartości średniego stężenia hemoglobiny płodu wraz z podziałem na stopień niedokrwistości wg Nicolaidesa [61].

tydzień ciąży	prawidłowe wartości średniego stężenia Hb płodu [g/dl]	deficyt Hb = 2 g/dl	deficyt Hb = 4 g/dl	deficyt Hb = 6 g/dl
		anemia łagodna	anemia umiarkowana	anemia ciężka
18	11,3	9,3	7,3	5,3
19	11,5	9,5	7,5	5,5
20	11,7	9,7	7,7	5,7
21	11,9	9,9	7,9	5,9
22	12,1	10,1	8,1	6,1
23	12,3	10,3	8,3	6,3
24	12,5	10,5	8,5	6,5
25	12,7	10,7	8,7	6,7
26	12,8	10,8	8,8	6,8
27	13,0	11,0	9,0	7,0
28	13,2	11,2	9,2	7,2
29	13,4	11,4	9,4	7,4
30	13,6	11,6	9,6	7,6
31	13,8	11,8	9,8	7,8
32	14,0	12,0	10,0	8,0
33	14,2	12,2	10,2	8,2
34	14,4	12,4	10,4	8,4

Prawidłowe wartości hematokrytu, stężenia hemoglobiny, liczby erytrocytów płodu, w populacji polskiej między 21. a 32. tygodniem ciąży opracowano w II Klinice Położnictwa i Ginekologii II Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie, na podstawie badań 62 próbek krwi płodów, w ciąży niepowikłanej chorobą hemolityczną [23]. Dane zostały przedstawione w tabeli 3.

Tabela 3. Średnie wartości hematokrytu, stężenia hemoglobiny, liczby erytrocytów w ciąży niepowikłanej chorobą hemolityczną płodu [23].

Tydzień Cięży	HEMATOKRYT [%]		HEMOGLOBINA [g/l]		ERYTROCYTY [mld/l]	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
21	33,38	3,04	11,50	1,01	2,79	0,30
22	36,86	4,85	12,44	0,90	2,91	0,34
23	37,57	4,84	12,44	0,90	2,94	0,41
24	38,71	4,27	13,11	0,66	3,17	0,48
25	39,18	4,48	13,14	0,90	3,10	0,30
26	39,90	4,16	13,06	0,81	3,16	0,35
27	39,82	4,74	13,21	1,08	3,38	0,38
28	40,50	5,26	13,26	1,26	3,53	0,67
29	42,56	4,86	13,61	1,36	3,70	0,67
30	43,70	4,69	13,60	1,04	3,73	0,62
31	43,73	4,92	13,45	1,24	3,83	0,69
32	44,91	4,12	14,08	0,99	4,01	0,59

Diagnostyka niedokrwistości płodu oparta jest na metodach nieinwazyjnych i inwazyjnych. Do metod nieinwazyjnych należy badanie ultrasonograficzne, pozwalające jedynie na pośrednią ocenę niedokrwistości płodu. Do metod inwazyjnych zaliczamy amniopunkcję (spektrofotometria płynu owodniowego) oraz kordocentezę, która jako jedyna pozwala na bezpośrednią ocenę krwi płodu.

Spośród wielu przyczyn anemii płodu, konflikt serologiczny i będąca jego następstwem choroba hemolityczna płodu i noworodka, był historycznie

pierwszą patologią ciąży, która spowodowała dynamiczny rozwój metod diagnostycznych i terapeutycznych niedokrwistości płodu. Przedstawiona w dalszej części rozprawy doktorskiej historia rozwoju metod diagnostycznych i terapeutycznych, na przykładzie tej patologii ciąży, demonstruje, jak wielki wkład wniosło wykorzystanie badania ultrasonograficznego w udoskonalenie opieki położniczej.

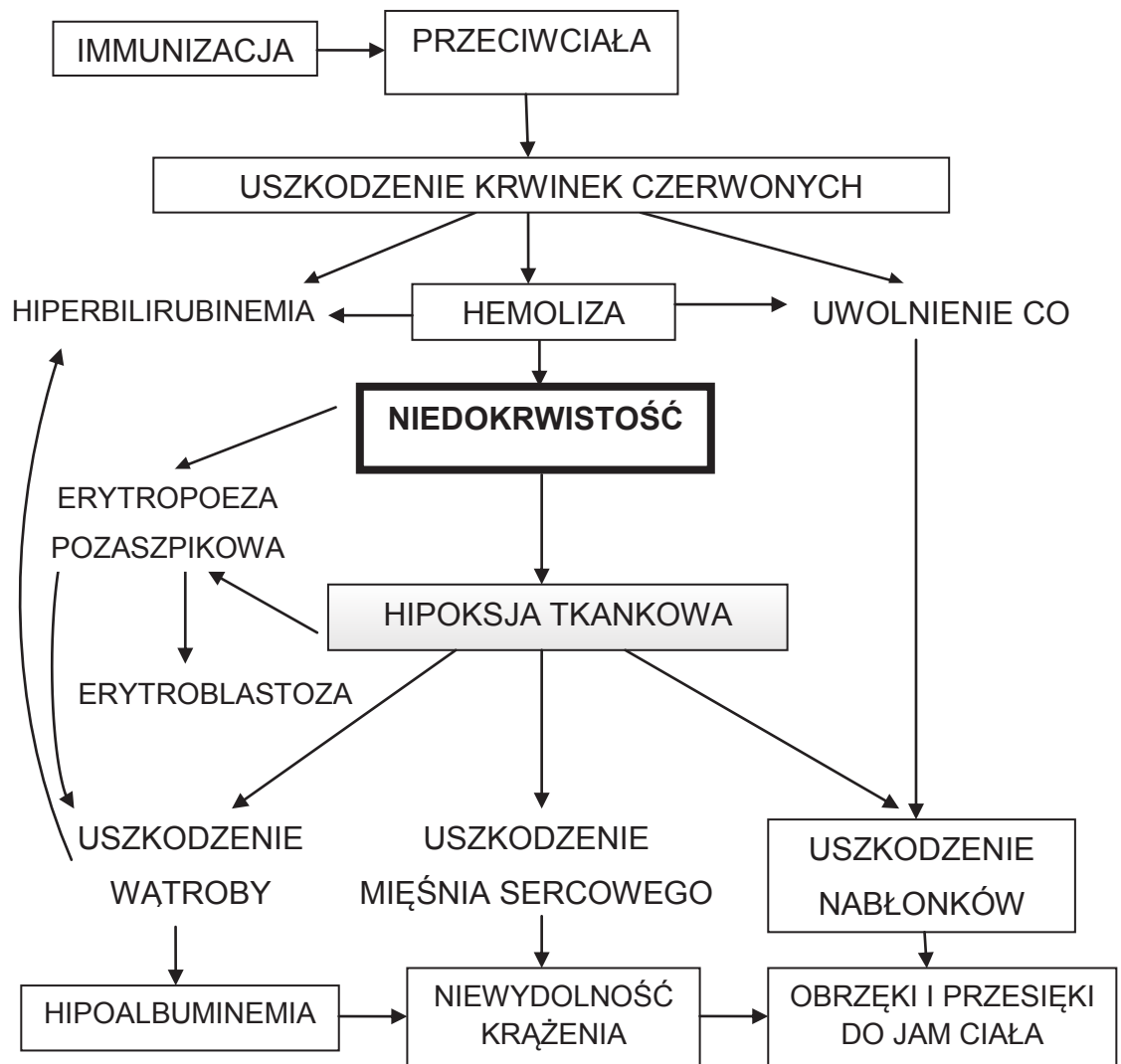
Konflikt Serologiczny

Konflikt serologiczny matczyno-płodowy to patologia ciąży, polegająca na niezgodności immunologicznej w zakresie antygenów pomiędzy ciężarną a płodem. Najczęściej spotykamy się z immunizacją antygenami czerwonych krwinek. W większości przypadków dotyczy to antygeny D, którego obecność u płodu jest przyczyną produkcji u ciężarnej Rh-ujemnej, przeciwciał skierowanych przeciwko antygenowi płodowemu. W następnym etapie przeciwciała przechodzą do krążenia płodowego, gdzie opłaszczają zawierające antygen docelowy krwinki czerwone, powodując ich rozpad (hemolizę). Jej następstwem jest postępująca niedokrwistość hemolityczna, prowadząca do przewlekłego niedotlenienia wewnątrzmacicznego, to z kolei powoduje uszkodzenie tkanek i narządów płodu, obrzęk uogólniony i prowadzi do obumarcia wewnątrzmacicznego.

Konflikt serologiczny matczyno-płodowy i będąca jego następstwem choroba hemolityczna płodu i noworodka (HDFN – ang. haemolytic disease of the fetus and newborn), chociaż przestały w ostatnich latach odgrywać dominującą rolę w perinatologii, nadal stanowią ważny problem kliniczny. Powszechne stosowanie immunoglobuliny anti-D w profilaktyce konfliktu serologicznego, przyczyniło się do zmniejszenia częstości występowania tego problemu, jednak nie wyeliminowało go w całości. Obecnie, dzięki wykorzystaniu najnowocześniejszych metod diagnostycznych i terapeutycznych, niezwykle rzadko stwierdza się ciężkie postaci choroby hemolitycznej, prowadzące do obrzęku uogólnionego lub zgonu wewnątrzmacicznego. Szacuje się, że immunizacja antygenami krwinek czerwonych i jej następstwa, stanowią obecnie powikłania około 0,3% wszystkich ciąż w krajach stosujących profilaktykę śródciążową i poporodową

[44,54]. Warto wspomnieć, że według danych z 1967 roku częstość tej patologii wynosiła ok. 4,5% wszystkich ciąż [69]. Ten spadek zawdzięczamy między innymi skutecznej immunoprofilaktyce, jednak całkowite wyeliminowanie konfliktu serologicznego jest na razie nieosiągalne.

Na rycinie 1 przedstawiony został patomechanizm choroby hemolitycznej płodu według Romualda Dębskiego.



Rycina 1. Etiopatogeneza choroby hemolitycznej płodu [24].

Przeważającą większość ciężkich postaci choroby hemolitycznej wywołuje konflikt w zakresie układu Rh. Pomimo, że konflikt anti-Rh jest traktowany jako synonim konfliktu anti-D, pozostałe antygeny z tego układu

(C,c,E,e) mogą również wywoływać chorobę hemolityczną. Ciężka, obrzękowa postać choroby, może być ponadto związana z konfliktami anty-K (Kell), -Fy (Duffy), -Jk, -Jk (Kidd), -M, -S, -s, -U (MnSs), -Di (Diego) [53]. Przy stałym spadku częstości występowania konfliktu serologicznego, spowodowanego immunizacją antygenem RhD, obserwuje się systematyczny wzrost innych, wciąż jeszcze rzadkich postaci konfliktu [55].

Historia rozpoczęcia badań nad zagadnieniem konfliktu serologicznego jest, w odróżnieniu od innych patologii ciąży stosunkowo krótka. Pierwsze doniesienia, mogące mieć związek z tą jednostką chorobową, pochodzą z 1878r., kiedy to opisano żółtiste zabarwienie płynu owodniowego [94]. W późniejszym czasie wysunięto podejrzenie, że objawy tej patologii mogą być spowodowane niezgodnością grupową pomiędzy matką a płodem. Przedstawiona hipoteza została zaprezentowana po raz pierwszy na I zjeździe Przyrodników i Lekarzy w Warszawie w 1924r. przez polskich badaczy Ludwika Hirszfelda i Henryka Zborowskiego. W roku 1940 Karl Landsteiner i Aleksander Wiener wykryli antygen Rh, nazwany później antygenem D z układu Rh. W 1941r. został opracowany przez Levina model etiopatogenetyczny choroby hemolitycznej. Dalszy postęp w diagnostyce tej jednostki chorobowej nastąpił w 1952r., kiedy to Bevis wykonał pierwszą amniopunkcję diagnostyczną, a rok później wykazał, że żółte zabarwienie płynu owodniowego jest wywołane przez barwniki pochodzące z rozpadu hemoglobiny [6,7]. W 1961r. powstała tabela prognostyczna, opracowana przez Liley'a [43], która została uzupełniona w 1978r. przez prof. Danutę Łozińską o podział strefy zagrożenia na podstrefy.

Pierwsze punkcje naczyń płodowej powierzchni łożyska wykonał C. Valenti w 1972r. [89,90]. Wykorzystanie ultrasonografii umożliwiło bezpośrednie nakłucie naczyń pępowinowego, czego dokonano w 1983r. (zespół pracujący pod kierunkiem dr Fernanda Daffosa - wykonano 66 przezskórnych punkcji pępowiny i aspiracji próbek krwi płodu, między 17. a 32. tygodniem ciąży [15]). Był to przełom, gdyż możliwa stała się bezpośrednia ocena morfologii krwi płodu. Jednak jako metoda inwazyjna wiązała się z powikłaniami. Ten sam zespół dr Fernanda Daffosa opublikował w 1985r. doniesienie o wykonaniu 606 kordocentez. Powikłaniami po zabiegu były: poród przedwczesny (5%), obumarcie wewnątrzmaciczne (1,1%), samoistne poronienie (0,8%) [16].

Kolejnym momentem przełomowym w diagnostyce choroby hemolitycznej było zastosowanie ultrasonografii, jako nieinwazyjnej metody w rozpoznawaniu niedokrwistości u płodu. Pierwsze doniesienia o wpływie anemii płodu na zwiększoną prędkość przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu opisali Vyas i Nicolaidis w 1990r. [92]. W 1995r. na podstawie badania przeprowadzonego na grupie 135 płodów w populacji amerykańskiej przez Mari i wsp., określono normy MCA-PSV, które aktualnie są najczęściej wykorzystywane w praktyce klinicznej [48]. Ten sam zespół w 2000r. opracował, aktualne do dzisiaj, zasady wykorzystania badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości u płodu [49]. Zastosowanie metody badania MCA-PSV pozwoliło na znaczne zredukowanie liczby procedur inwazyjnych, takich jak kordocenteza czy amniopunkcja (spektrofotometria płynu owodniowego), w diagnostyce konfliktu serologicznego [46].

Badanie MCA-PSV znalazło zastosowanie głównie w prowadzeniu ciąży z konfliktem serologicznym, chociaż jego przydatność została potwierdzona również w diagnozowaniu niedokrwistości płodu w przebiegu: zakażenia parwowirusem B19 [14,18], krwotoku maczyno-płodowego [81,95], nieimmunologicznego obrzęku płodu [35,63] oraz w zespole przetoczenia krwi między płodami (TTTS) [78].

Diagnostyka Konfliktu Serologicznego

a. Badania serologiczne

Pierwszym badaniem w diagnostyce konfliktu serologicznego jest badanie w surowicy ciężarnej obecności oraz miana przeciwciał przeciwytrocytarnych, w celu stwierdzenia czy w danym przypadku doszło do immunizacji i w jakim stopniu. Badanie to należy wykonać u wszystkich ciężarnych, niezależnie od grupy krwi i czynnika Rh. Umożliwia to wykrycie wszystkich immunizacji, nie tylko u pacjentek Rh ujemnych. Zgodnie ze standardami PTG (Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego), badanie poziomu przeciwciał odpornościowych powinno być zlecone podczas pierwszej wizyty w ciąży. W przypadku niewykrycia przeciwciał u ciężarnych z grupą krwi Rh ujemną, zaleca się powtórzenie badania na przełomie II i III trymestru ciąży oraz w okresie okołoporodowym. W przypadku wykrycia przeciwciał, kolejne

badania powtarza się co 4-6 tygodni, w celu oceny miana przeciwciał w surowicy pacjentki.

Stwierdzenie obecności przeciwciał w surowicy krwi ciężarnej jest wskazaniem do dalszej diagnostyki, mającej na celu odpowiedź na pytania – czy doszło do immunizacji płodu, czy występuje niedokrwistość u płodu oraz jaki jest jej stopień? Aktualnie standardem postępowania jest wykonanie badania ultrasonograficznego i w zależności od wyniku, rozważenie kordocentezy diagnostycznej. Amniopunkcja, obecnie praktycznie już niewykorzystywana w diagnostyce konfliktu serologicznego, była pierwszym badaniem, dzięki któremu można było ocenić zagrożenie płodu.

b. Amniopunkcja

Pierwszą opracowaną metodą diagnostyczną oceny stopnia niedokrwistości u płodu, w przebiegu konfliktu serologicznego, było wykonywanie spektrofotometrycznej oceny stężenia bilirubiny i jej pochodnych (powstałych w wyniku hemolizy krwinek) w płynie owodniowym, uzyskanym poprzez wykonanie amniopunkcji. Hemoliza krwinek prowadzi do uwolnienia dużej ilości hemoglobiny, która ulega przemianie do bilirubiny. Większość jej jest transportowana przez łożysko do krwi matki, w nieznaczny sposób wpływając na stężenie bilirubiny w surowicy kobiety ciężarnej. Część bilirubiny z surowicy krwi płodu ulega dyfuzji przez skórę, powierzchnię płodową łożyska i sznur pępowinowy do płynu owodniowego powodując jego żółtawe zabarwienie. Funkcją nasilenia hemolizy jest stężenie bilirubiny w surowicy. Od tego zależy nasilenie żółtego zabarwienia płynu owodniowego. Pośrednio zawartość bilirubinoidów w płynie owodniowym świadczy o szybkości rozpadu krwinek czerwonych płodu [24]. Ze względu na stosunkowo niskie stężenie bilirubinoidów w płynie owodniowym, najczęściej określa się je badaniem spektrofotometrycznym.

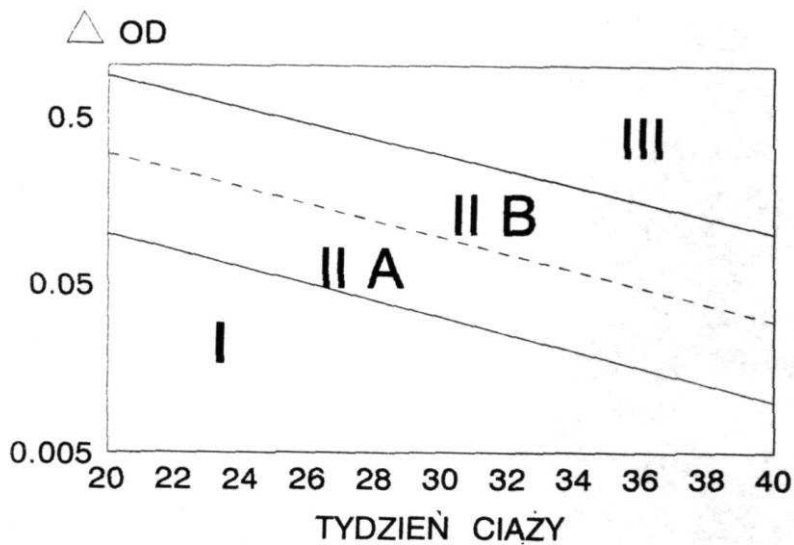
Do określenia zagrożenia płodu na podstawie stężenia bilirubinoidów w płynie owodniowym, najczęściej stosowana jest Skala Liley'a (opracowana przez sir Willama Liley'a w 1961r. [43]). Oryginalnie obejmowała ona okres od 28. do 40. tygodnia ciąży. W związku z przesunięciem w dół granicy czasowej rozpoczęcia diagnostyki i leczenia, wielu autorów rozszerzyło tę skalę do

20. tygodnia ciąży [53]. Metoda Liley'a polega na pomiarze gęstości optycznej płynu owodniowego przy użyciu fal o długości 450 nm, obliczeniu wskaźnika gęstości optycznej i naniesieniu uzyskanych wartości na tabele prognostyczne z zaznaczonymi strefami zagrożenia płodu. Wyróżniono 3 strefy zagrożenia (Rycina 2 - tabela prognostyczna Liley'a). Zakwalifikowanie wyniku do jednej ze stref ukierunkowuje dalsze postępowanie. Strefa najniższa stanowi o miernym zagrożeniu płodu przez konflikt serologiczny i możliwość rozwiązania ciąży w terminie. Strefa środkowa nakazuje powtórzenie badań w terminie 7-10 dniowym. Strefa górna jest wyrazem najwyższego zagrożenia płodu – stanowi o konieczności rozwiązania ciąży lub wdrożenia koniecznego leczenia [40].

Spektrofotometria płynu owodniowego, wykonywana poprzez amniopunkcję, pomimo, że w swoim czasie stanowiła dobrą metodę diagnostyki choroby hemolitycznej płodu, posiada wiele ograniczeń. Wadę tego typu badania stanowi inwazyjność, wiążąca się z: przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego, zakażeniem, obumarciem płodu, krwotokiem, narastaniem poziomu przeciwciał [64]. Ryzyko utraty ciąży wynosi 1% na procedurę a ryzyko krwotoku maczyno-płodowego wynosi 2,3-17% na procedurę [83,84]. Diagnostyka choroby hemolitycznej za pomocą oceny płynu owodniowego wymaga wykonywania wielokrotnych amniopunkcji, co może potęgować powikłania. Badanie to, tylko w sposób pośredni, prezentuje zaawansowanie choroby. Bazując wyłącznie na wywiadzie, badaniu serologicznym i ocenie płynu owodniowego, istnieje możliwość wywołania porodu przedwczesnego w 32.-34. tygodniu ciąży przy niewielkim zagrożeniu lub nawet braku zagrożenia ciąży konfliktem serologicznym, np. w przypadkach z płodami Rh-ujemnymi [53].

Spektrofotometria płynu owodniowego jest już praktycznie metodą tylko historyczną i nie pełni roli diagnostycznej w nowoczesnym postępowaniu w przypadku choroby hemolitycznej płodu [10].

TABELA LILEY'A



Rycina 2. Tabela prognostyczna Liley'a [53]

c. Kordocenteza

Obecnie amniopunkcja, jako metoda pośredniej oceny zagrożenia płodu, została prawie zupełnie wyparta przez punkcję naczynia pępowinowego, która pozwala na bezpośrednią ocenę krwi płodu i stanowi najbardziej precyzyjną metodę diagnostyczną w chorobie hemolitycznej płodu. W próbce krwi płodowej, pobranej metodą kordocentezy, wykonuje się badanie morfologii krwi oraz istnieje możliwość wykonania innych badań, takich jak:

- ocena grupy głównej krwi (ABO), czynnika Rh, obecność innych antygenów erytrocytarnych,
- bezpośredni odczyn antyglobulinowy, oceniający opłaszczenie krwinek przez przeciwciała.

Stwierdzenie w próbce krwi płodu antygeny wrażliwego na przeciwciała krążące w surowicy matki oraz dodatniego bezpośredniego odczynu antyglobulinowego jest jednoznacznym rozpoznaniem choroby hemolitycznej płodu.

Kordocenteza wiąże się z ryzykiem poważnych powikłań, takich jak: zakażenie, krwawienie, bradykardia płodu, przedwczesne odpływanie płynu owodniowego oraz śmierć płodu. Ryzyko utraty ciąży wynosi co najmniej 1% na

procedurę [15]. Ponadto, kordocenteza tak, jak i amniopunkcja, mogą powodować nasilenie choroby hemolitycznej poprzez wywołanie krwawienia płodowo-matczynego.

W pracy Sainio i wsp. podsumowującej 10 letni okres diagnostyki i terapii choroby hemolitycznej płodu i noworodka w Finlandii, stwierdzono następujący procent powikłań po zabiegach transfuzji dopłodowej [73]:

- utrata ciąży 1,2% na procedurę oraz 3,8% na ciążę
- ciężka bradykardia płodu wymagająca natychmiastowego cięcia cesarskiego (na procedurę) 3,2%
- ryzyko infekcji, przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, spontanicznego porodu przedwczesnego (poniżej 32. tygodnia ciąży) 8,7% (na ciążę)

Kordocenteza jako zabieg inwazyjny i mogący nasilić niedokrwistość u płodu, powinien być ograniczony do sytuacji, kiedy istnieje silne podejrzenie ciężkiej niedokrwistości płodu [76].

d. Badanie ultrasonograficzne

Współczesna diagnostyka prenatalna choroby hemolitycznej płodu opiera się w głównej mierze na badaniu dopplerowskim. Wykorzystanie metody badania maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu, umożliwiło nieinwazyjną diagnostykę niedokrwistości u płodu [1,20,26,45,56,87]. Metoda ta stała się standardem diagnostyki ciąż powikłanych konfliktem serologicznym oraz doprowadziła do ponad 70% redukcji procedur inwazyjnych, takich jak: kordocenteza czy amniopunkcja (spektrofotometria płynu owodniowego), w diagnostyce niedokrwistości płodu [46].

Podstawy teoretyczne wpływu niedokrwistości na krążenie płodu zostały opracowane w wyniku badań na zwierzętach [28,30,91]. W przypadku anemii płodu, spadek poziomu hematokrytu prowadzi do zmniejszenia lepkości krwi oraz zaburzeń uwalniania tlenu do tkanek. Zmniejszenie lepkości krwi, jak wynika z prawa Hagena-Poiseuille'a, przy stałej średnicy naczynia, prowadzi do wzrostu wielkości przepływu krwi przez naczynie. Jednym z mechanizmów

kompensacyjnych hipoksemii jest zwiększenie rzutu serca i wzrost przepływu krwi przez mózg, serce, nadnercza. Wymienione mechanizmy sprawiają, że krążenie płodu staje się hiperdynamiczne, co znajduje odzwierciedlenie we wzroście maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu. W ten sposób monitorując szybkość przepływu krwi w naczyniu, w badaniu ultrasonograficznym, można uniknąć inwazyjnych procedur oceny niedokrwistości u płodu [49].

Prawo Hagena-Poiseuille'a opisane jest wzorem:

$$Q = \frac{dV}{dt} = \frac{\pi \Delta p R^4}{8 \eta L}$$

gdzie:

Q - objętościowe natężenie przepływu [m^3/s],
dV/dt – objętość, pochodna objętości względem czasu
 Δp - spadek ciśnienia [Pa],
R - promień naczynia [m],
 η - współczynnik dynamicznej lepkości cieczy [Pa·s],
L - długość naczynia [m].

Absolutną zaletą badania ultrasonograficznego jest jego nieinwazyjność. Bezpieczeństwo stosowania ultradźwięków w położnictwie zostało poddane przeglądowi systematycznemu przez WHO (ang. World Health Organization) w 2009r. [88]. Po analizie przeszło 60 publikacji, nie stwierdzono negatywnych skutków stosowania ultradźwięków w diagnostyce położniczej.

Powstały liczne prace, w których poszukiwano najlepszego, ultrasonograficznego wykładnika niedokrwistości płodu. Prace najczęściej dotyczyły badania przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu, tętnicy i żyły pępowinowej, aorcie zstępującej, tętnicy śledzionowej a także innych parametrów ultrasonograficznych, jak powiększenie śledziony czy wątroby.

Wiele parametrów ultrasonograficznych nie koreluje ze stopniem niedokrwistości. W 1988 roku Nicolaides i wsp. opublikowali wyniki pomiarów kilku parametrów (grubość łożyska, średnica zewnątrz- i wewnątrzwątrobowego odcinka żyły pępowinowej, obwód brzucha i głowy płodu, stosunek obwodu głowy do brzucha płodu, objętość płynu wewnątrzotrzewnowego płodu) w 50

przypadkach ciąż z chorobą hemolityczną płodu i 410 przypadkach prawidłowych ciąż [62]. Stwierdzono, że przy nieobecności obrzęku płodu, żaden z tych parametrów nie miał wpływu na ocenę zaawansowania niedokrwistości płodu.

Dopiero wykorzystanie metody badania dopplerowskiego w ultrasonografii, umożliwiło ocenę stopnia niedokrwistości płodu. W 1990 roku Nicolaides i wsp. wskazali na możliwość wykorzystania badania średniej prędkości przepływu krwi w aorcie płodu do oceny niedokrwistości, wykazując korelację pomiędzy wzrostem średniej prędkości krwi w aorcie a deficytem hemoglobiny płodu [60].

Badanie przepływu krwi w naczyniach pępowinowych okazało się nieskuteczne w diagnostyce niedokrwistości płodu. Według Legartha i wsp. po analizie 49 kordocentez w 1994 roku, poprzedzonych badaniami dopplerowskimi tętnicy pępowinowej, wykazano brak korelacji pomiędzy indeksem oporu i pulsacji a wartością hematokrytu płodu [42]. Badania Gungora i wsp. z 1996 roku również nie wykazały korelacji między wartością hematokrytu płodu a parametrami przepływu krwi w tętnicy pępowinowej [32].

Dukler i wsp. w 2003 roku przedstawili wyniki badania przeprowadzonego na grupie płodów z alloimmunizacją, mającego na celu porównania, który z badanych parametrów ultrasonograficznych jest najlepszy w diagnozowaniu niedokrwistości płodu [22]. Za najlepszy test uznano pomiar MCA-PSV (czułość badania wyniosła 100%). Wyniki dla kolejnych parametrów były następujące: szczytowa prędkość przepływu krwi w wewnątrzwątrobowym odcinku żyły pępowinowej (czułość 83%), obwód śledziony (czułość 66%), wymiar podłużny wątroby (czułość 33%).

W pojedynczych pracach opisuje się również inne ultrasonograficzne wskaźniki przydatne w diagnostyce niedokrwistości płodu. W pracy Bahado-Singh i wsp. uznano wzrost PSV w tętnicy śledzionowej za bardzo czuły wykładnik niedokrwistości płodu [3]. W pracach Cabral i wsp. przedstawiono możliwości wykorzystania wskaźnika sercowo-udowego (cardiofemoral index – CFI) jako markera niedokrwistości płodu [11,12].

Przedmiotem badań naukowych, jest również poszukiwanie innych parametrów, które razem z oceną MCA-PSV mogą zwiększyć dokładność diagnostyki niedokrwistości płodu. W pracy Paresa i wsp. analizowano

połączenie metody badania MCA-PSV wraz z oceną średniej prędkości w części piersiowej aorty płodu (DTA-MV ang. descending thoracic aorta mean velocity) [68]. Oddzielnie metody MCA-PSV oraz DTA-MV charakteryzowały się czułością badania odpowiednio 100% i 95,7%, specyficznością 65% i 100%, dokładnością 92,2% i 96,7%. Połączenie badania obu naczyń, przyczyniło się do wzrostu całkowitej dokładności badania do 98,6%.

Dopplerowskie badanie MCA-PSV stanowi obecnie „złoty standard” w diagnostyce niedokrwistości płodu [48,54,70,76,97]. Charakteryzuje się wysoką czułością i specyficznością. Ponadto, jest ono nieszkodliwe dla płodu a technika badania jest stosunkowo prosta, szybka, powtarzalna, cechuje się niską zmiennością między badaniami wykonanymi przez tego samego lub kilku badaczy (intra- and interobserver variability).

W badaniu Mari i wsp. [49], przeprowadzonym na płodach z grupy ryzyka wystąpienia niedokrwistości, określono zasady wykorzystania badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu. W pracy zastosowano współczynnik wielokrotności mediany (MoM – multiple of the median) maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu dla danego wieku ciążowego, w celu oceny stopnia niedokrwistości.

Wartość współczynnika MoM MCA-PSV uzyskuje się dzieląc wynik pomiaru MCA-PSV przez medianę (wartość środkową) dla danego tygodnia ciąży. Tabela prezentująca wartości MCA-PSV dla danego tygodnia ciąży, uzyskane w badaniu Mari i wsp., została zamieszczona w dalszej części przedstawionej pracy. W tabeli 4 zaprezentowano punkty odcięcia, określone przez Mari i wsp., klasyfikujące stopień niedokrwistości, według współczynnika MoM MCA-PSV oraz współczynnika MoM stężenia hemoglobiny płodu:

Tabela 4. Klasyfikacja anemii płodu i punkty odcięcia MoM MCA-PSV oraz MoM stężenia hemoglobiny płodu wg Mari i wsp.[49]

Klasyfikacja anemii płodu:	Punkt odcięcia wielokrotności mediany MCA – PSV [MoM]	Punkt odcięcia wielokrotności mediany stężenia hemoglobiny [MoM]
Łagodna (mild)	1,29	0,84
Umiarkowana (moderate)	1,50	0,65
Ciężka (severe)	1,55	0,55

W przedstawionej pracy Mari i wsp. wykazano, że badanie charakteryzowało się 100% czułością z 12% odsetkiem wyników fałszywie pozytywnych, w diagnozowaniu anemii umiarkowanej i ciężkiej (przy założeniu punktu odcięcia 1,50 MoM MCA-PSV).

W kolejnych publikacjach udowodniono, że badanie MCA-PSV posiada wysoką czułość i specyficzność w diagnozowaniu niedokrwistości u płodu. W przeglądzie systematycznym Pretlove i wsp. z metaanalizą na dużej liczbie płodów wykazano, że badanie charakteryzowało się 75,5% czułością i 90,8% specyficznością (przy założeniu punktu odcięcia 1,50 mediany dla wieku ciążowego w rozpoznawaniu ciężkiej niedokrwistości u płodu – stężenie hemoglobiny $<0,55\text{MoM}$) [70]. W wielośrodkowym badaniu Zimmermann i wsp., przeprowadzonym na grupie 124 ciężarnych, wykazano czułość badania wynoszącą 88% przy specyficzności 87% (przy założeniu punktu odcięcia 1,50 mediany dla wieku ciążowego w diagnozowaniu niedokrwistości płodu umiarkowanej i ciężkiej – stężenie hemoglobiny $<0,65\text{MoM}$) [97].

Korelacja pomiędzy spadkiem stężenia hemoglobiny płodu a wzrostem MCA-PSV rośnie wraz z nasileniem niedokrwistości [50]. Przy wykorzystaniu tej metody nie można zróżnicować płodów z prawidłowym stężeniem hemoglobiny oraz z łagodną niedokrwistością [97].

Zmiany w badaniu ultrasonograficznym, takie jak wzrost MCA-PSV nie są jedynymi jakie zachodzą w chorobie hemolitycznej płodu. Manifestacja tego schorzenia u płodu jest wielonarządowa a wraz ze wzrostem stopnia niedokrwistości pojawiają się kolejne zmiany w tym badaniu. Sekwencja

rejestrowanych zmian nie jest stała, chociaż przeważnie pojawia się w niżej wymienionej kolejności [24,67]:

- 1. Hiperplacentoza – grubość łożyska > 4,5cm
- 2. Splenomegalia
- 3. Hepatomegalia
- 4. Poszerzenie żyły pępowinowej – w III trymestrze przekracza 10mm
- 5. Kardiomegalia – pole przekroju serca > 1/3 pola klatki piersiowej
- 6. Przesięk do jamy otrzewnowej
- 7. Obrzęk tkanki podskórnej
- 8. Przesięk do jam opłucnowych
- 9. Przesięk do jamy osierdziowej

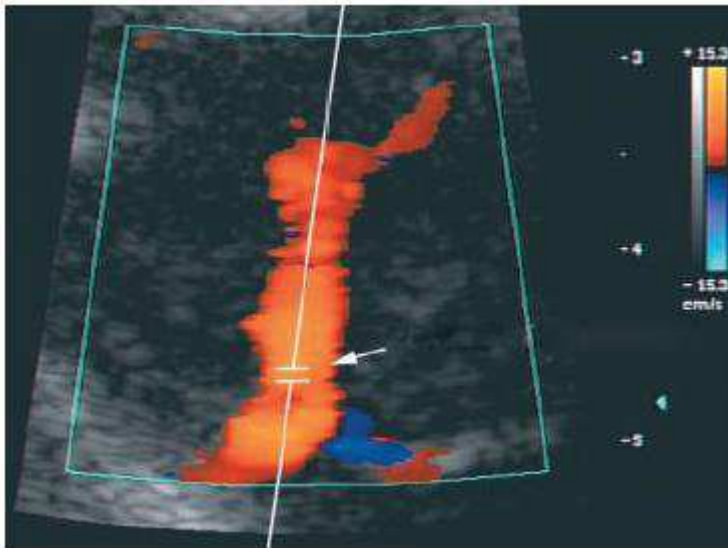
Zaawansowana, obrzękowa postać choroby hemolitycznej płodu daje bardzo charakterystyczny obraz ultrasonograficzny (obrzęk płodu uwidacznia się przy stężeniu hemoglobiny poniżej 5g/dl i poziomie hematokrytu poniżej 15%) [66]. Natomiast, w postaciach o niższym stopniu zaawansowania, opisane powyżej zmiany mogą być niewidoczne lub trudne do zobrazowania. Dlatego w tych przypadkach, do właściwego rozpoznania, pomiar MCA-PSV może jako jedyny wskazywać na istniejącą patologię. Z tego powodu w piśmiennictwie zwraca się szczególną uwagę na prawidłowy sposób wykonywania badania MCA-PSV.

Zasady wykonywania pomiaru MCA-PSV [51]:

1. Uzyskanie przekroju strzałkowego mózgowia, z uwidocznieniem wzgórz i jamy przegrody przeźroczystej, podczas okresu spoczynku płodu.
2. Uwidocznienie koła tętniczego Willisa, przy pomocy opcji kolorowego dopplera oraz zlokalizowanie tętnicy środkowej mózgu.
3. Cała długość MCA powinna być widoczna.
4. Powiększenie obszaru MCA, w taki sposób aby naczynie zajmowało więcej niż 50% obrazu.
5. Bramkę dopplerowską należy ustawić blisko (1-2 mm) odejścia MCA od koła tętniczego Willisa, centralnie w naczyniu.

6. Kąt pomiędzy wiązką ultradźwięków a kierunkiem przepływu krwi w naczyniu powinien być możliwie najbliższy 0° , bez użycia korekcji kąta insonacji.
7. Uwidacznia się spektrum przepływu krwi i dokonuje się pomiaru PSV (maksymalnej prędkości skurczowej).

Przestrzeganie wszystkich wymienionych zasad wiąże się z najmniejszą liczbą błędów oraz charakteryzuje się najniższą zmiennością między badaniami wykonywanymi przez tego samego lub kilku badaczy (intra- and interobserver variability) [47].



Rycina 3. Właściwy pomiar MCA-PSV. Bramka dopplerowska (strzałka) jest umieszczona centralnie w naczyniu, blisko odejścia tętnicy środkowej mózgu od tętnicy szyjnej wewnętrznej [46].

Pomiar MCA-PSV należy powtórzyć 3-krotnie a do dalszego postępowania klinicznego wykorzystać najwyższy uzyskany wynik. Wymagany czas na tę procedurę powinien wynosić około 5-10 minut. Płód powinien być w stanie spoczynku (nie obserwuje się ruchów oddechowych ani ruchów ciała), z powodu potencjalnego wpływu tych czynników na wynik pomiaru MCA-PSV [51].

Wpływ na fałszywie wysokie wartości MCA-PSV może mieć aktywność płodu. W pracy Sallouta i wsp. wykazano, że w okresie aktywności płodu

obserwowano istotnie podwyższone wartości PSV w porównaniu z okresem spoczynku [74].

Podczas wykonywania badania dopplerowskiego mózgowego układu krążenia należy unikać jakiegokolwiek ucisku głowicy ultrasonograficznej, gdyż może to spowodować w konsekwencji zwiększenie ciśnienia wewnątrzczaszkowego, co wpływa na podwyższenie parametrów PSV, PI oraz RI w tętnicy środkowej mózgu płodu [80].

Przedmiotem badań naukowych był też wpływ podstawowej akcji serca płodu na wartość MCA-PSV. W pracy Swartza i wsp. wykazano odwrotną zależność między akcją serca płodu a MCA-PSV [82]. W pracy wykonano 514 pomiarów akcji serca płodu oraz MCA-PSV u 66 płodów, przed i po stymulacji wibroakustycznej. Stwierdzono wzrost akcji serca płodu po zastosowaniu stymulacji wibroakustycznej, po 27. tygodniu ciąży, a także wykazano istotne statystycznie obniżenie wartości MCA-PSV. Wysłunięto wniosek, że spontaniczny wzrost akcji serca płodu może mieć wpływ na fałszywie negatywny wynik diagnostyki niedokrwistości płodu przy zastosowaniu metody MCA-PSV.

W piśmiennictwie podkreśla się, że badanie MCA-PSV należy wykonywać tak, aby wiązka ultradźwięków padała pod kątem zbliżonym do 0° w stosunku do badanego naczynia [46]. Jednak w praktyce klinicznej nie zawsze można osiągnąć takie warunki badania. Chociaż zaleca się aby używać regulacji kąta insonacji tylko wtedy, gdy nie można tego uniknąć, to w pracy Ruma i wsp. wykazano, że użycie korekcji kąta insonacji, przy kącie padania ultradźwięków wynoszącym 30°, nie wpływało istotnie statystycznie na wynik pomiaru MCA-PSV, w porównaniu do kąta wiązki ultradźwięków wynoszącego 0° [72].

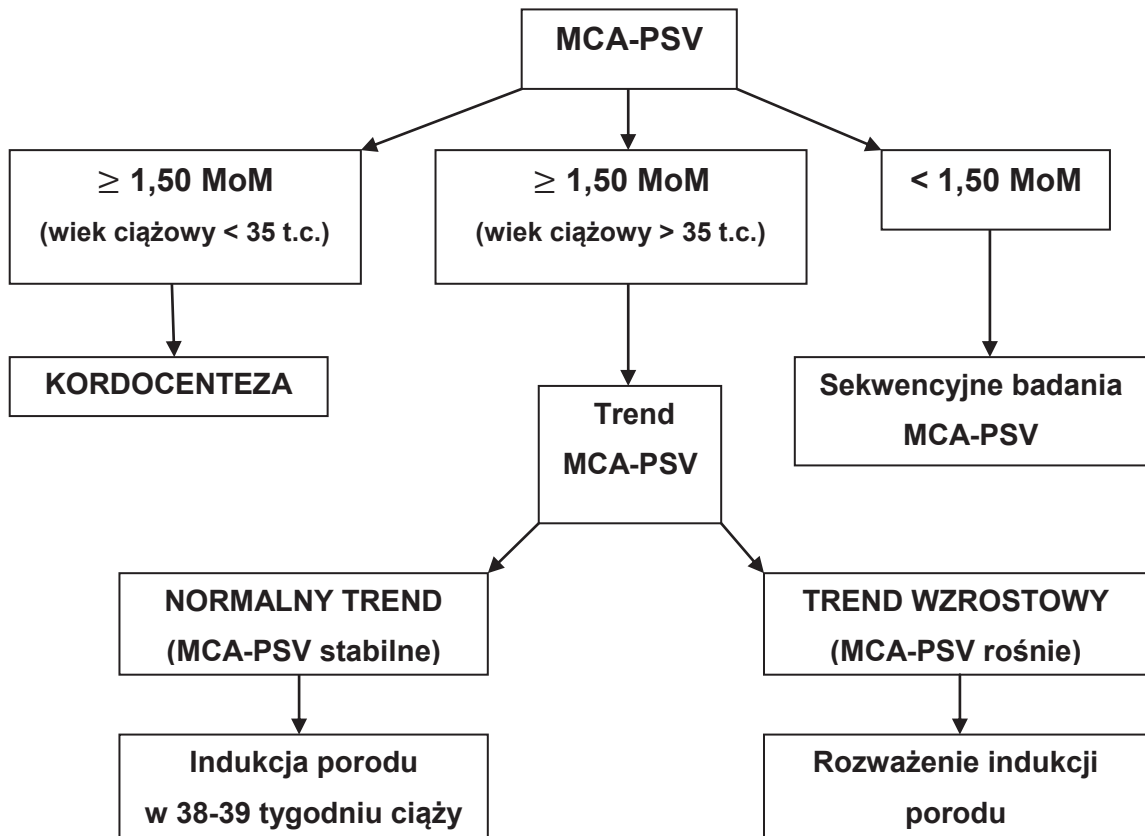
Wyniki badań wskazują, że każdy segment MCA, z wyjątkiem obszaru w pobliżu jej rozdzielenia na gałęzie terminalne, może być obrazowany z dobrymi wynikami [46,75]. Należy również pamiętać, że MCA może występować w wariacie podwójnym (double MCA) oraz może posiadać liczne odnogi [46].

W 2015r. opublikowano rekomendacje towarzystwa medycyny matczyno-płodowej (SMFM – Society for Maternal-Fetal Medicine) dotyczące zaleceń

postępowania w przypadku ciężarnych z grupy ryzyka niedokrwistości płodu [51]. Wydano następujące rekomendacje:

1. Zaleca się stosowanie badania MCA-PSV, jako podstawową technikę wykrywania niedokrwistości płodu (siła zaleceń 1B).
2. Nie zaleca się rutynowego stosowania spektrofotometrycznej oceny płynu owodniowego w diagnostyce niedokrwistości płodu (siła zaleceń 1B).
3. Zaleca się, aby ocena MCA-PSV była zarezerwowana dla płodów z grupy ryzyka niedokrwistości (siła zaleceń 1B).
4. Właściwa technika pomiaru MCA-PSV obejmuje ocenę tętnicy środkowej mózgu w pobliżu jej początkowego odcinka, ogranicza to przeszacowanie pomiaru MCA-PSV. Używanie regulacji kąta insonacji dozwolone jest tylko wtedy, gdy nie można tego uniknąć (siła zaleceń – dobra praktyka).
5. Gdy płód należy do grupy ryzyka ciężkiej niedokrwistości ($MCA-PSV > 1,50$ MoM lub występuje obrzęk płodu), zaleca się wykonanie kordocentezy diagnostycznej, z oceną morfologii krwi płodu oraz zaleca się jednoczesne przygotowanie do transfuzji wewnątrzmacicznej, chyba że ciężarna jest w takim wieku ciążowym, w którym ryzyko związane z porodem jest mniejsze, niż ryzyko związane z procedurą medyczną (siła zaleceń 1B).
6. Gdy płód należy do grupy ryzyka ciężkiej niedokrwistości zaleca się skierowanie ciężarnej do ośrodka trzeciego stopnia referencyjności lub ośrodka z doświadczeniem w inwazyjnej terapii płodu (siła zaleceń 1C).
7. Sugeruje się, aby ocena MCA-PSV była stosowana rutynowo do ustalenia czasu drugiej transfuzji u płodów z niedokrwistością. Alternatywnie, jeśli hematokryt po transfuzji jest znany lub może być oszacowany, ustalenie czasu następnej transfuzji można obliczyć przy uwzględnieniu oczekiwanego spadku hematokrytu. Ustalenie czasu kolejnych transfuzji (trzecia i kolejne), powinno być zindywidualizowane a nie ustalone na podstawie wartości MCA-PSV (siła zaleceń 2C).
8. Sugeruje się, aby cięższe z grupy ryzyka niedokrwistości płodu, rozwiązywać między 37. a 38. tygodniem ciąży, chyba że pojawią się wskazania medyczne przed tym terminem (siła zaleceń 2C).

Na rycinie 4 przedstawiono schemat postępowania w chorobie hemolitycznej płodu, w zależności od wyniku MCA-PSV, według rekomendacji towarzystwa medycyny matczyno-płodowej (SMFM) [51].



Rycina 4. Algorytm postępowania w chorobie hemolitycznej płodu w zależności od wyniku pomiaru MCA-PSV [51].

Według najnowszych rekomendacji, gdy wiek ciąży wynosi poniżej 35. tygodnia ciąży oraz wartość MCA-PSV jest równa lub przekroczy poziom 1,50MoM dla danego wieku ciążowego, wskazane jest wykonanie kordocentezy. Gdy ciążarna jest powyżej 35. tygodnia ciąży oraz wartość MCA-PSV jest równa lub przekroczy poziom 1,50MoM dla danego wieku ciążowego, wskazana jest obserwacja trendu wartości MCA-PSV. W przypadku stabilnych wartości MCA-PSV, wskazana jest indukcja porodu między 38. a 39. tygodniem ciąży. Kiedy obserwowane wartości MCA-PSV wykazują tendencję wzrostową należy rozważyć indukcję porodu. W przypadku gdy wartość MCA-PSV wynosi poniżej 1,50MoM dla danego wieku ciążowego, nie ma wskazań do diagnostyki inwazyjnej. Wskazane są natomiast sekwencyjne badania wartości MCA-PSV.

Według rekomendacji, częstość wykonywania kontrolnych pomiarów MCA-PSV zależy od wywiadu położniczego, wieku ciążowego i wyniku wskaźnika MoM MCA-PSV. Wyłączny nadzór ultrasonograficzny powinien być zastrzeżony do czasu, kiedy nie ma technicznej możliwości wykonania kordocentezy (zwykle do 18.-20. t.c.). Po 24. tygodniu ciąży, wykonuje się rutynowo pomiary MCA-PSV w odstępach tygodniowych lub częściej, w zależności od wartości MoM MCA-PSV lub stwierdzeniu innych nieprawidłowości ultrasonograficznych, sugerujących wystąpienie niedokrwistości płodu [4,51].

Wpływ dokonanej transfuzji dopłodowej na parametr MCA-PSV płodu.

Dokonanie transfuzji dopłodowej wywołuje zmiany we właściwościach fizycznych krwi płodu, ponieważ zostaje ona w dużej mierze zastąpiona przez krew osoby dorosłej. Po wykonaniu więcej niż dwóch transfuzji dopłodowych, erytrocyty osób dorosłych w całości zastępują erytrocyty typu płodowego [93].

Erytrocyty płodu zawierają hemoglobinę typu płodowego, która charakteryzuje się wyższym powinowactwem do tlenu i wysyca się nim przy niższym ciśnieniu parcjalnym. Dzięki temu w warunkach tlenowych łożyska bardzo silnie wiąże tlen, ponieważ dochodzi do wysycenia się nim przy niższych stężeniach. W porównaniu z erytrocytami płodu, erytrocyty osoby dorosłej mają mniejszą wielkość oraz zwiększoną skłonność do agregacji. Ponadto, w warunkach krążenia płodowego, erytrocyty dorosłych mają zmniejszoną całkowitą zdolność do wiązania tlenu oraz zmniejszoną zdolność dostarczania tlenu do tkanek w porównaniu do krwinek płodowych [34]. Wymienione cechy fizyczne sprawiają, że po dokonaniu transfuzji dopłodowej, pomimo wyrównania niedokrwistości, ze względu na obecność erytrocytów typu dorosłego, właściwości hemodynamiczne krążenia płodowego mogą nie ulegać normalizacji. Wartości MCA-PSV mogą być podwyższone, jako wyraz kompensacji spowodowanej zmniejszonym uwalnianiem tlenu z krwi do tkanek. Z tego powodu, w piśmiennictwie podjęto próbę wyznaczenia optymalnego punktu odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV, w przypadkach płodów, które zostały poddane transfuzji wewnątrzmacicznej. W pracy Detti i wsp. wykazano, że przy ustalaniu wskazań do drugiej transfuzji wewnątrzmacicznej należy

przyjąć punkt odcięcia 1,69 MoM MCA-PSV dla rozpoznania ciężkiej anemii płodu [21].

Część badań dotyczyła także próby ustalenia skuteczności metody badania MCA-PSV, po dokonanej transfuzji dopłodowej. W publikacji Scheier i wsp. stwierdzono, że badanie MCA-PSV jest mniej precyzyjne w przewidywaniu ciężkiej niedokrwistości u płodów, u których wykonano już transfuzję dopłodową (37% wyników fałszywie pozytywnych) a metoda okazała się nieskuteczna w przewidywaniu ciężkiej anemii u płodów, u których wykonano wcześniej 2 transfuzje dopłodowe (90% wyników fałszywie pozytywnych), w porównaniu do 14% wyników fałszywie pozytywnych u płodów u których nie wykonywano jeszcze transfuzji dopłodowej [77]. Natomiast w pracy Mari i wsp. wykazano, że badanie MCA-PSV (przy zastosowaniu punktu odcięcia 1,50MoM) charakteryzowało się dobrą korelacją ($R^2 = 0,43$; $p < 0,001$) ze stężeniem hemoglobiny płodu, również po 2 wcześniejszych transfuzjach dopłodowych [52]. W badaniu Hermann i wsp. wykazano korelację ($R^2 = 0,254$; $p < 0,01$) badania MCA-PSV (przy zastosowaniu punktu odcięcia 1,50MoM) ze stężeniem hemoglobiny płodu, także po ≥ 3 transfuzjach dopłodowych [34].

W pracach naukowych badano również wpływ wykonania transfuzji dopłodowej, na wynik pomiaru MCA-PSV bezpośrednio po zabiegu. Stefos i wsp. wykonywali pomiary MCA-PSV tuż przed i po transfuzji wewnątrzmacicznej. W pracy stwierdzono, że po dokonaniu transfuzji i wyrównaniu niedokrwistości u płodu, wartość MCA-PSV ulega normalizacji [79]. Ten fakt potwierdzono również w pracy Yalinkaya i wsp. [96]. Jako przyczynę zmniejszenia wartości MCA-PSV tuż po transfuzji, wskazuje się wzrost oporu w krążeniu mózgowym płodu jako wynik zwiększenia całkowitego stężenia tlenu we krwi płodu. Ponadto, transfuzja krwi powoduje wzrost lepkości krwi, powodujący wzrost obciążenia następczego (ang. afterload), co skutkuje zmniejszeniem objętości wyrzutowej oraz pojemności minutowej serca. W efekcie tych zmian obserwuje się spadek MCA-PSV.

Możliwości wykorzystania metody badania MCA-PSV w ciąży bliźniaczej.

W literaturze przedstawiono również możliwości wykorzystania badania MCA-PSV w ciąży bliźniaczej. W pracy Klaritisha i wsp. na podstawie badań

w grupie 50 ciężarnych w ciąży bliźniaczej dwuowodniowej-jednokosmówkowej (DOJK) stwierdzono, że pomiędzy 18. a 37. tygodniem ciąży wartości referencyjne MCA-PSV płodu dla ciąży pojedynczej mogą być użyte do diagnostyki niedokrwistości płodów w ciąży bliźniaczej DOJK [39]. Podobne wnioski wysunięto w pracy Dashe i wsp., przeprowadzonym w grupie 48 ciężarnych w ciąży bliźniaczej, między 28. a 32. tygodniem ciąży [17]. Stwierdzono, że wartości MCA-PSV w badanej grupie nie różniły się od tych zaprezentowanych dla ciąży pojedynczej przez zespół Mari i wsp. [49]. Nie stwierdzono również istotnej różnicy pomiędzy pomiarami MCA-PSV w parze bliźniąt oraz pomiędzy płodami w ciąży bliźniaczej dwuowodniowej-dwukosmówkowej (DODK) oraz dwuowodniowej-jednokosmówkowej.

Inne wnioski zaprezentowano w pracy Mulcahy i wsp. na podstawie badań w grupie 618 ciężarnych w ciąży bliźniaczej stwierdzono, że wartości MCA-PSV w ciąży bliźniaczej są niższe, niż w ciąży pojedynczej. Ponadto stwierdzono, że wyniki pomiarów MCA-PSV w grupie ciąż DODK i DOJK prezentują podobne wartości, co sugeruje, że w tych przypadkach można przyjąć jeden zakres prawidłowych wartości MCA-PSV [58].

Wykazano również przydatność badania MCA-PSV w diagnozowaniu nagłej niedokrwistości płodu, po obumarciu jednego z płodów w zespole przetoczenia krwi między płodami (TTTS) [78].

Porównanie metody badania MCA-PSV z amniopunkcją w diagnostyce niedokrwistości w przebiegu choroby hemolitycznej płodu.

Od czasu wprowadzenia do praktyki klinicznej metody badania MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości, powstały prace dotyczące porównania tej nowej metody z poprzednio wykorzystywaną - spektrofotometrią płynu owodniowego.

W pracy Oepkes i wsp. z 2006r. stwierdzono na podstawie analizy przeprowadzonej na grupie 165 płodów, że badanie MCA-PSV charakteryzuje się większą czułością (88% vs 76%), specyficznością (82% vs 77%) oraz dokładnością (85% vs 76%) diagnozowania, w stosunku do spektrofotometrycznej oceny płynu owodniowego. Uznano badanie dopplerowskie za metodę preferowaną w porównaniu z badaniem płynu owodniowego [65].

W pracy Garabediana i wsp. z 2015r. podjęto próbę ustalenia, czy zastosowanie badania MCA-PSV przynosi inne korzyści, niż zmniejszenie liczby procedur inwazyjnych w przypadkach ciąży powikłanych chorobą hemolityczną płodu. Porównano ze sobą dwa okresy czasu. Pierwszy okres od 1999r. do 2006r. (39 pacjentek) gdy stosowano w praktyce klinicznej spektrofotometryczną ocenę płynu owodniowego oraz drugi okres od 2006r. do 2013r. (38 pacjentek) gdy stosowano w praktyce klinicznej badanie MCA-PSV. Współczynnik przeżycia płodów w pierwszym okresie czasu wynosił 34/39 (86,8%), podczas gdy w drugim okresie czasu 38/38 (100%). Obrzęk uogólniony płodu, po rozpoczęciu leczenia niedokrwistości transfuzjami wewnątrzmacicznymi, w pierwszym okresie czasu stwierdzono w 5 przypadkach (12,8%), natomiast w drugim okresie czasu nie stwierdzono żadnego takiego przypadku [31].

Reasumując, w porównaniu do spektrofotometrycznej oceny płynu owodniowego, metoda badania MCA-PSV płodu charakteryzuje się większą mocą diagnostyczną, przyczynia się do zmniejszenia śmiertelności oraz ryzyka obrzęku uogólnionego płodu w przebiegu choroby hemolitycznej.

e. Genotypowanie DNA

Najnowocześniejszą metodą, stosowaną w prowadzeniu ciąży z podejrzeniem konfliktu serologicznego jest genotypowanie DNA. Dzięki ogromnemu postępowi biologii molekularnej, w ostatnich latach opracowano metodę oznaczenia podstawowych antygenów układu Rh płodu na podstawie badania rozpuszczalnego DNA pochodzenia płodowego (ang. cell-free fetal DNA – cffDNA), który izoluje się z surowicy ciążarnej kobiety [8]. Jest to badanie zupełnie nieinwazyjne dla płodu i pozwala na ocenę obecności antygeny RhD płodu już na wczesnym etapie ciąży. Wykrywanie antygeny RhD płodu cechuje się dużą czułością (97,2%) oraz specyficznością (96,8%) [9].

Wiedza, że płód jest Rh-ujemny, w przypadku stwierdzenia w surowicy krwi matki nawet wysokiego miana przeciwciał, umożliwia odstąpienie od procedur inwazyjnych, gdyż istnieje pewność, że problem choroby hemolitycznej w aktualnej ciąży nie wystąpi.

2. Cel pracy

Realizację celu pracy postanowiono oprzeć na rozwiązaniu następujących problemów:

1. Określenie prawidłowych wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w badaniu ultrasonograficznym pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży dla polskiej populacji ciężarnych.
2. Ustalenie czy wyniki uzyskane w populacji polskiej różnią się od wyników uzyskanych przez innych badaczy, w innych populacjach.
3. Ocena przydatności pomiarów maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w diagnostyce niedokrwistości płodu.
4. Określenie czy zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV charakteryzuje się większą skutecznością w diagnostyce niedokrwistości płodu, niż normy powszechnie obowiązujące.

3. Materiał

Analizie retrospektywnej poddano 1017 wyników badań ultrasonograficznych płodów, przeprowadzonych w polskiej populacji białych ciężarnych. Po szczegółowej analizie danych, do określenia prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w polskiej populacji zakwalifikowano ostatecznie wyniki 280 ciężarnych między 18. a 39. tygodniem ciąży pojedynczej, z potwierdzonym prawidłowym przebiegiem ciąży oraz z potwierdzonym prawidłowym stanem zdrowia noworodka. Rozkład liczbowy i procentowy ciężarnych, w zależności od wieku ciążowego, które zostały zakwalifikowane do ostatecznej analizy, przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Rozkład liczbowy i procentowy ciężarnych zakwalifikowanych do analizy w zależności od wieku ciążowego.

Tydzień ciąży	Liczba ciężarnych	Procent ciężarnych (%)	Procent ciężarnych – suma (%)
18	5	1,8	1,8
19	10	3,6	5,4
20	24	8,6	13,9
21	25	8,9	22,9
22	25	8,9	31,8
23	14	5,0	36,8
24	13	4,6	41,4
25	14	5,0	46,4
26	4	1,4	47,9
27	2	0,7	48,6
28	13	4,6	53,2
29	10	3,6	56,8
30	18	6,4	63,2
31	17	6,1	69,3
32	18	6,4	75,7
33	12	4,3	80,0
34	10	3,6	83,6
35	8	2,9	86,4
36	6	2,1	88,6
37	14	5,0	93,6
38	14	5,0	98,6
39	4	1,4	100,0
SUMA	280		

W kolejnym etapie pracy, mającym na celu ocenę przydatności pomiarów maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w diagnostyce niedokrwistości, analizie poddano grupę 24 ciężarnych, u których zachodziła konieczność wykonania kordocentezy diagnostycznej lub leczniczej. W każdym przypadku oznaczono morfologię krwi płodu po zabiegu oraz wykonano badanie przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu z oceną MCA-PSV przed zabiegiem. Przedstawiona grupa składała się z 20 płodów z ciąży pojedynczej oraz 4 płodów z ciąży bliźniaczej dwuowodniowej-jednokosmówkowej. Ciężarne były hospitalizowane w Klinice Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z powodu podejrzenia niedokrwistości płodu, w przebiegu różnych patologii ciąży (Tabela 6).

Zgoda komisji bioetycznej nie była wymagana do przeprowadzenia pracy, gdyż praca w całości miała charakter badania retrospektywnego.

Tabela 6. Charakterystyka grupy ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy.

Rozpoznanie:	Liczba przypadków:
Konflikt serologiczny	9
Obrzęk uogólniony płodu	6
Hipotrofia płodu	3
Zespół TTTS	3
Zespół TRAP	1
Wielowadzie	1
Obserwacja w kierunku niedokrwistości płodu	1
SUMA	24

4. Metody

Prezentowana praca doktorska została podzielona na 4 etapy:

- I. Pierwszy etap pracy miał na celu ustalenie prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji ciężarnych i składał się z 3 części.
Część 1 – Analiza retrospektywna wyników badań ultrasonograficznych ciężarnych populacji polskiej, u których wykonano badanie maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu.
Część 2 – Szczegółowa weryfikacja badanej grupy ciężarnych a następnie noworodków oraz wyselekcjonowanie przypadków o prawidłowym przebiegu ciąży z potwierdzonym prawidłowym stanem zdrowia noworodka.
Część 3 – Określenie, na podstawie uzyskanych ostatecznie danych, prawidłowych wartości MCA-PSV płodu, w polskiej populacji ciężarnych.
- II. Analiza dostępnego piśmiennictwa, na temat prawidłowych wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w różnych populacjach.
- III. Analiza retrospektywna grupy ciężarnych, poddanych zabiegowi kordocentezy diagnostycznej lub terapeutycznej.
- IV. Zestawienie danych z poprzednich etapów, w celu określenia czy zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV charakteryzuje się większą skutecznością w diagnostyce niedokrwistości płodu, niż normy MCA-PSV określone przez innych autorów, w różnych populacjach. Określenie przydatności badania MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości.

ETAP I:

CZEŚĆ 1. Badanie ultrasonograficzne ciężarnych.

W pierwszej części badania do analizy retrospektywnej uwzględniono 1017 wyników badań ultrasonograficznych wykonanych między 17. a 42. tygodniem ciąży pojedynczej, uzyskanych podczas rutynowych wizyt lekarskich. Wszystkie badania zostały przeprowadzone zgodnie ze standardami Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, przy użyciu aparatu USG Medison Accuvix XQ. Badania zostały wykonane ambulatoryjnie, w przychodni lekarskiej w Gdańsku. Badania ultrasonograficzne zostały wykonane przez dwóch doświadczonych lekarzy – kierownika i zastępcę kierownika Kliniki Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Wyniki badań zawierały następujące dane:

- Wymiar dwuciemienny (ang. biparietal diameter – BPD)
- Obwód głowy (ang. Head circumference – HC)
- Obwód brzucha (ang. Abdominal circumference – AC)
- Długość kości udowej (ang. femur length – FL)
- Parametry przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu – maksymalna prędkość skurczowa (ang. peak systolic velocity – PSV), indeks pulsacji (ang. pulsatility index – PI), indeks oporu (ang. resistance index – RI)
- Parametry przepływu krwi w tętnicy pępowinowej: indeks pulsacji – PI, indeks oporu – RI
- Szacowana masa płodu na podstawie badania USG (ang. estimated fetal weight – EFW)
- Szacowany wiek ciążowy na podstawie badania USG
- Wiek ciążowy w chwili badania – ustalony na podstawie daty ostatniej miesiączki, zweryfikowany badaniem długości ciemieniowo – siedzeniowej (crown-rump length – CRL) z pierwszego trymestru ciąży

Warunki badania maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu:

- Przy użyciu techniki kolorowego dopplera uwidaczniano koło tętnicze Willisa w przekroju poprzecznym główki płodu.
- Bramkę dopplerowską umieszczano w początkowym odcinku tętnicy środkowej mózgu, tuż za odejściem od tętnicy szyjnej wewnętrznej.
- Kąt pomiaru był możliwie zbliżony do 0 stopni.
- Otrzymywano charakterystyczne widmo fali przepływu krwi w MCA i wykonywano pomiar PSV.

CZEŚĆ 2. Ustalenie przebiegu ciąży, porodu i stanu urodzeniowego noworodków z badanej grupy.

W związku ze specyfiką niniejszej pracy (badania pomiarów MCA-PSV zostały wykonane w trybie ambulatoryjnym, analiza danych retrospektywna), aby móc uzyskać szczegółowy dostęp do informacji na temat dalszego przebiegu ciąży, porodu i stanu zdrowia noworodka, konieczne było uzyskanie dostępu do historii choroby ciężarnych i noworodków podczas pobytu w szpitalu. Jednak autor pracy nie posiadał informacji na temat miejsca hospitalizacji i porodu poszczególnych pacjentek. Postanowiono, na podstawie danych osobowych ciężarnych, odnaleźć w archiwach szpitali w województwie pomorskim, historie choroby pacjentek i noworodków. Uzyskano zgodę dyrekcji poszczególnych szpitali lub ordynatorów oddziałów, w których hospitalizowane były pacjentki i noworodki na dostęp do dokumentacji medycznej w archiwum. Dane zebrano z następujących szpitali: Klinika Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Oddział Położnictwa i Ginekologii Szpitala im. M. Kopernika w Gdańsku oraz Oddział Położnictwa i Ginekologii Szpitala Specjalistycznego im. F. Ceynowy w Wejherowie. Nie uzyskano dostępu do danych pacjentek hospitalizowanych w Szpitalu Specjalistycznym im. św. Wojciecha w Gdańsku oraz w Szpitalu Morskim im. PCK w Gdyni, tracąc w ten sposób znaczną liczbę pacjentek z badanej grupy.

Do dalszej analizy zakwalifikowano grupę 404 ciężarnych wraz z noworodkami, w której udało się uzyskać niezbędną dokumentację medyczną.

Następnie w każdym przypadku szczegółowo prześledzono przebieg ciąży, porodu i stanu zdrowia noworodka.

Dokumentację medyczną, na podstawie której dokonano analizy przebiegu ciąży i stanu urodzeniowego noworodka, stanowiły szpitalne historie choroby pacjentek oraz noworodków. W każdym przypadku w historii choroby dostępne były następujące dane: rozpoznanie wstępne i ostateczne, wywiad ogólnolekarski z uwzględnieniem przebiegu aktualnej ciąży oraz poprzednich ciąż, opis przebiegu porodu lub opis cięcia cesarskiego ze wskazaniem do operacyjnego ukończenia porodu, wynik badania lekarskiego noworodka podczas pobytu w szpitalu (z uwzględnieniem skali Apgar), pomiary noworodka, wyniki badań laboratoryjnych noworodka. W części przypadków dokumentacja medyczna zawierała badania ultrasonograficzne noworodków lub ciężarnych podczas pobytu w szpitalu. Wszystkie uzyskane dane posłużyły do weryfikacji grupy badanej.

Na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej, dokładnej analizie poddano badaną grupę ciężarnych i zawężono przypadki do grupy o wyłącznie potwierdzonym prawidłowym przebiegu ciąży. W przypadku stwierdzenia nieprawidłowości, wynik pomiaru MCA-PSV płodu z pierwszej części badania nie był uwzględniany do ostatecznej analizy. Analizie poddano również dostępną dokumentację medyczną noworodków. W przypadku stwierdzenia nieprawidłowości u dziecka, wynik badania MCA-PSV płodu wykonany w trakcie ciąży, nie był uwzględniany do ostatecznej analizy. Poniżej przedstawiono kryteria kwalifikacji ciężarnych do dalszej analizy.

Z analizowanej grupy 404 ciężarnych wraz z noworodkami, wykluczono pacjentki ze stwierdzonymi nieprawidłowościami:

- z rozpoznaniem cukrzycy
- z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego
- porody zakończone przed 37. tygodniem ciąży

Wykluczono także noworodki, u których stwierdzono:

- wady wrodzone
- cechy infekcji wrodzonej
- noworodki o urodzeniowej masie ciała poniżej 2500g
- noworodki z punktacją w skali Apgar w 1. minucie poniżej 7 punktów

Badanie morfologii krwi zostało wykonane u 48,6% noworodków po porodzie i w żadnym przypadku nie stwierdzono niedokrwistości. Każdy noworodek podczas pobytu w szpitalu, był poddawany standardowym badaniom lekarskim, w których nie stwierdzono zaburzeń, więc wydaje się mało prawdopodobne by u któregoś z pozostałych 51,4% noworodków występowała niedokrwistość.

Z powodu braku danych, w pracy nie analizowano liczby ciężarnych palących papierosy, jednak można uznać, że takich ciężarnych było niewiele.

W przypadku stwierdzenia powyższych kryteriów wykluczających u matki lub u noworodka, wynik pomiaru MCA-PSV z pierwszej części I etapu pracy nie był uwzględniany do dalszej analizy.

W przypadku ciężarnych, które miały wykonane badanie MCA-PSV więcej niż jeden raz, wybierano jeden wynik badania, wykonany w późniejszym etapie ciąży.

Po uwzględnieniu kryteriów wykluczających oraz po wyselekcjonowaniu przypadków, w których badanie MCA-PSV było wykonane pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży (ilość przypadków poniżej 18. i powyżej 39. tygodnia ciąży była zbyt mała), do ostatecznej analizy włączono 280 wyników badań MCA-PSV (u 280 ciężarnych).

Wszystkie ciężarne zakwalifikowane do ostatecznej analizy, urodziły się na terytorium Polski, były rasy białej, mieszkały na terenie województwa pomorskiego.

CZEŚĆ 3. Określenie prawidłowych wartości MCA-PSV płodu, w badaniu ultrasonograficznym w polskiej populacji ciężarnych.

W badanej grupie 280 ciężarnych, przy pomocy oprogramowania statystycznego, dokonano obliczenia wartości percentylowych MCA-PSV dla każdego tygodnia ciąży oddzielnie. Następnie wyznaczono za pomocą funkcji regresji wykładniczej i liniowej medianę oraz 5 i 95 percentyl. Obliczone należne wartości mediany MCA-PSV, dla poszczególnych tygodni ciąży (od 18. do 39. tygodnia ciąży), stanowią prawidłowe wartości MCA-PSV dla płodów w populacji polskiej. Dane przedstawiono w postaci modelu wykładniczego oraz liniowego. Oba modele regresji porównano ze sobą na dwóch etapach.

- 1) Po pierwsze, na etapie dopasowania modelu regresji do danych mediany pomiarów MCA-PSV dla danego tygodnia ciąży, w badanej grupie 280 ciężarnych. Na tym etapie wykorzystano współczynnik determinacji R^2 , będący miarą jakości dopasowania modelu regresji do danych wyjściowych.
- 2) Po drugie, na etapie analizy mocy diagnostycznej badania MCA-PSV płodu w rozpoznawaniu niedokrwistości, przy zastosowaniu obu modeli prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w polskiej populacji ciężarnych oraz przy zastosowaniu norm MCA-PSV innych autorów.

ETAP II: Analiza dostępnego piśmiennictwa na temat wyników pomiarów MCA-PSV w różnych populacjach.

Do analizy dostępnego piśmiennictwa na temat wyników pomiarów MCA-PSV w różnych populacjach użyto wyszukiwarki bazy PubMed oraz Web of Science. Porównano nomogramy w populacji amerykańskiej, szwajcarskiej, norweskiej, brazylijskiej, azjatyckiej oraz polskiej uzyskanej w I etapie przedstawionej pracy doktorskiej. Wyniki pomiarów MCA-PSV w różnych populacjach zestawiono w formie wykresów graficznych i tabel.

ETAP III: Analiza retrospektywna grupy ciężarnych, poddanych zabiegowi kordocentezy diagnostycznej lub terapeutycznej.

W trzecim etapie pracy, analizie retrospektywnej poddano grupę 24 ciężarnych, hospitalizowanych w Klinice Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, z podejrzeniem niedokrwistości płodu, w przebiegu różnych zaburzeń. Analizowana grupa została wyselekcjonowana ze wszystkich zabiegów kordocentezy przeprowadzonych w Klinice Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego do XI 2014r.

Kryteria kwalifikacji ciężarnych do analizy:

- Wykonane zostało badanie MCA-PSV płodu przed zabiegiem (w dniu zabiegu lub najpóźniej 1 dzień przed zabiegiem)
- Wykonane zostało badanie morfologii krwi płodu i dostępny jest wynik badania
- Ciężarna była poddana zabiegowi kordocentezy po raz pierwszy, w przebiegu aktualnej ciąży

Na podstawie dokonanej kwalifikacji wyselekcjonowano 24 ciężarne do dalszej analizy. Dane z historii choroby zostały wprowadzone do bazy danych w programie Microsoft Excel. Uzyskany materiał posłużył w kolejnym etapie pracy do określenia przydatności pomiarów MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu.

ETAP IV: Określenie przydatności pomiarów MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości. Określenie wpływu zastosowania lokalnej polskiej normy MCA-PSV na skuteczność diagnostyki niedokrwistości płodu, w porównaniu do zastosowania norm określonych przez innych autorów.

Na tym etapie pracy, dane z trzeciego etapu, posłużyły do obliczenia wartości wskaźników prognostycznych (czułości, specyficzności, dokładności, wartości predykcyjnej dodatniej, wartości predykcyjnej ujemnej) badania MCA-

PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu. Wykonano także obliczenia korelacji pomiędzy parametrami morfologii krwi płodu (poziom hemoglobiny, wartość hematokrytu, liczba erytrocytów) a wskaźnikami MoM MCA-PSV płodu. Do obliczeń zastosowano normy MCA-PSV płodu, skonstruowane przez różnych autorów oraz opracowane na podstawie materiału własnego prawidłowe wartości MCA-PSV w populacji polskiej.

Analiza statystyczna wyników

Uzyskane w toku pracy dane gromadzono w arkuszu kalkulacyjnym Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corp, Redmond, WA, USA).

Krzywe prawidłowych wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu zostały utworzone dla ciąż o przebiegu prawidłowym, z oznaczeniem modelu regresji wykładniczej i liniowej przy wykorzystaniu pakietu oprogramowania statystycznego STATISTICA 12 (data analysis software system, version 12) z licencją dla Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Do oceny mocy diagnostycznej badania MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości przeprowadzono analizę ROC (ang. receiver operating characteristic) wykorzystując zestaw medyczny program STATISTICA 12. Do analizy włączono również wartości pola pod krzywą ROC - AUC (ang. area under the curve). Wartość statystyki $p \leq 0,05$ przyjęto za istotność statystyczną.

Do oceny korelacji pomiędzy parametrami morfologii krwi płodu a wskaźnikami MoM MCA-PSV płodu, wykorzystano współczynnik korelacji Spearmana.

Tabela 7. Definicja wskaźników prognostycznych oceniających przydatność pomiarów MCA-PSV płodu, w diagnostyce niedokrwistości.

Wynik testu (MCA-PSV ≥1,50 MoM)	Istotna niedokrwistość płodu (umiarkowana lub ciężka)	
	obecna	nieobecna
pozytywny	PP	FP
negatywny	FN	PN

↓ Czulość ↓ Specyficzność

→ Wartość predykcyjna dodatnia
 → Wartość predykcyjna ujemna

PP – wynik prawdziwie pozytywny

FP – wynik fałszywie pozytywny

FN – wynik fałszywie negatywny

PN – wynik prawdziwie negatywny

$$\text{Czułość} = \frac{PP}{PP+FN}$$

$$\text{Specyficzność} = \frac{PN}{PN+FP}$$

$$\text{Dokładność (ang. accuracy - ACC)} = \frac{PP+PN}{PP+PN+FP+FN}$$

$$\text{Wartość predykcyjna dodatnia (PPV)} = \frac{PP}{PP+FP}$$

$$\text{Wartość predykcyjna ujemna (NPV)} = \frac{PN}{PN+FN}$$

Czułość jest to procent prawdziwie pozytywnych wyników w grupie płodów z istotną niedokrwistością.

Specyficzność jest to procent prawdziwie negatywnych wyników w grupie płodów, u których nie występuje istotna niedokrwistość.

Dokładność jest to procent wyników prawdziwie pozytywnych i prawdziwie negatywnych w grupie wszystkich diagnozowanych płodów.

Wartość predykcyjna dodatnia jest to procent prawdziwie pozytywnych wyników w grupie wszystkich wyników pozytywnych. Prawdopodobieństwo niedokrwistości płodu przy pozytywnym wyniku testu.

Wartość predykcyjna ujemna jest to procent prawdziwie negatywnych wyników w grupie wszystkich wyników negatywnych. Prawdopodobieństwo braku obecności istotnej niedokrwistości płodu przy negatywnym wyniku testu.

5. Wyniki

1. Określenie prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w badaniu ultrasonograficznym pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży w polskiej populacji ciężarnych.

W Tabeli 8 przedstawiono charakterystykę wyników badania MCA-PSV płodu w grupie ostatecznie zakwalifikowanych 280 ciężarnych, pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży.

Tabela 8. Charakterystyka wyników badania MCA-PSV płodu w grupie ostatecznie zakwalifikowanych 280 ciężarnych, pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży.

Wiek ciążowy (tydzień ciąży)	Liczba ciężarnych	MCA-PSV płodu [cm/s]		
		Średnia	Mediana	Odchylenie standardowe
18	5	21,4	21,6	4,2
19	10	24,0	21,6	6,6
20	24	24,3	24,2	5,8
21	25	26,7	25,5	6,0
22	25	27,9	27,4	5,6
23	14	26,6	26,9	5,1
24	13	26,8	26,9	7,0
25	14	30,0	28,8	8,3
26	4	32,2	33,5	10,8
27	2	29,2	29,2	8,9
28	13	38,2	37,6	8,1
29	10	36,1	38,4	7,2
30	18	40,0	39,3	9,6
31	17	43,1	40,8	9,5
32	18	50,8	52,3	10,9
33	12	49,5	48,0	8,8
34	10	51,3	49,0	14,5
35	8	50,6	45,3	15,5
36	6	56,1	54,3	7,3
37	14	54,2	54,5	11,5
38	14	62,9	61,1	12,1
39	4	65,7	69,4	16,0
SUMA	280			

Wiek ciężarnych mieścił się w przedziale od 17. do 44. roku życia (średnia wieku 29,98 lat). Poród w tej grupie odbył się między 37. a 42. tygodniem ciąży (średnio w 39,67 t.c.). Pozostała charakterystyka analizowanej grupy ciężarnych i noworodków została przedstawiona w tabelach 9 i 10.

Tabela 9. Sposób zakończenia ciąży w analizowanej grupie 280 ciężarnych.

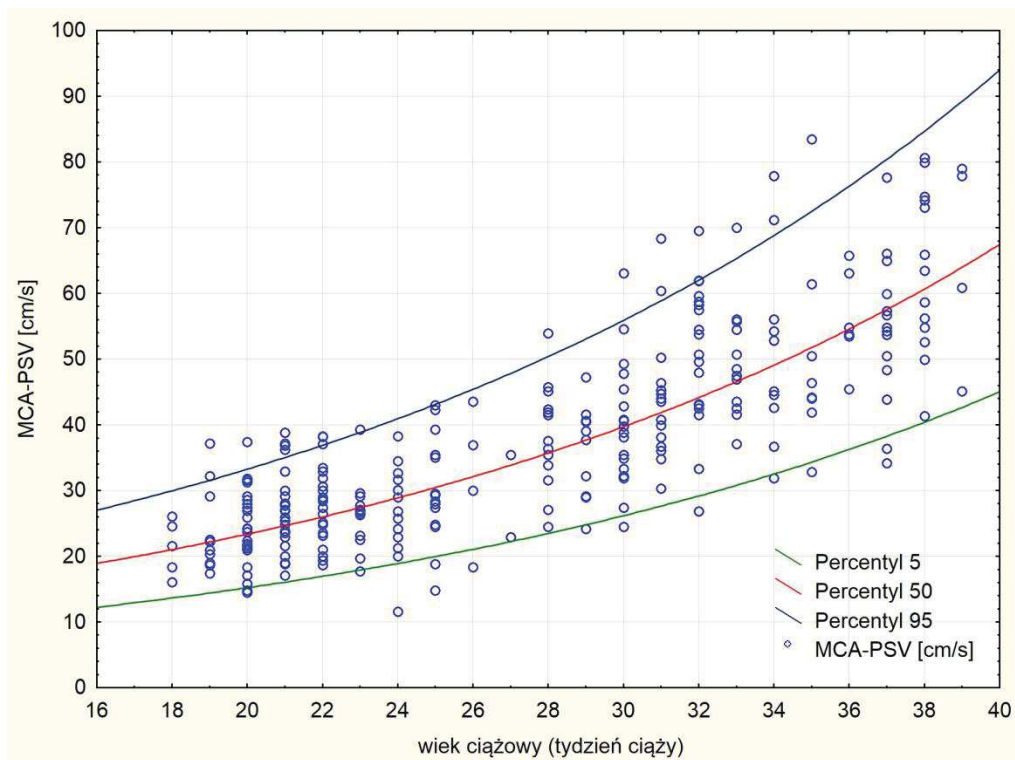
Odsetek cięć cesarskich	26,80%
Odsetek porodów drogami natury	73,20%

Tabela 10. Charakterystyka noworodków z badanej grupy 280 ciężarnych.

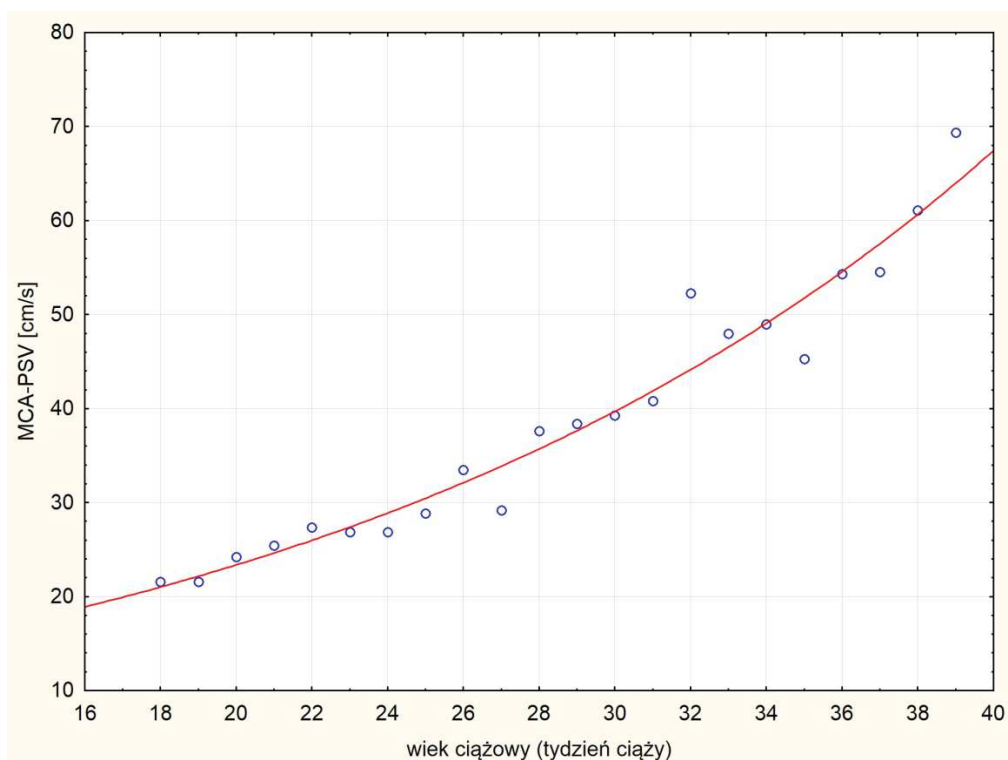
Noworodki z oznaczoną morfologią krwi po porodzie	48,6% przypadków
Stężenie Hb noworodka po urodzeniu (średnia)	18,0 g/dl (14,8-23,3 g/dl)
Waga noworodka (średnia)	3478,4 g
Długość noworodka (średnia)	55,27 cm
Punktacja wg skali Apgar w 1' (średnia punktacji)	9,51 pkt
Noworodki - płeć żeńska	44,72%
Noworodki - płeć męska	55,27%

Na podstawie wyników pomiarów ultrasonograficznych MCA-PSV płodu, w grupie ostatecznie zakwalifikowanych do analizy 280 ciężarnych, stworzono wykresy rozrzutu pomiarów MCA-PSV dla danego wieku ciążowego oraz wyznaczono linie regresji dla 5, 50 i 95 percentyla wartości MCA-PSV, dla modelu wykładniczego (Rycina 5) oraz modelu liniowego (Rycina 7).

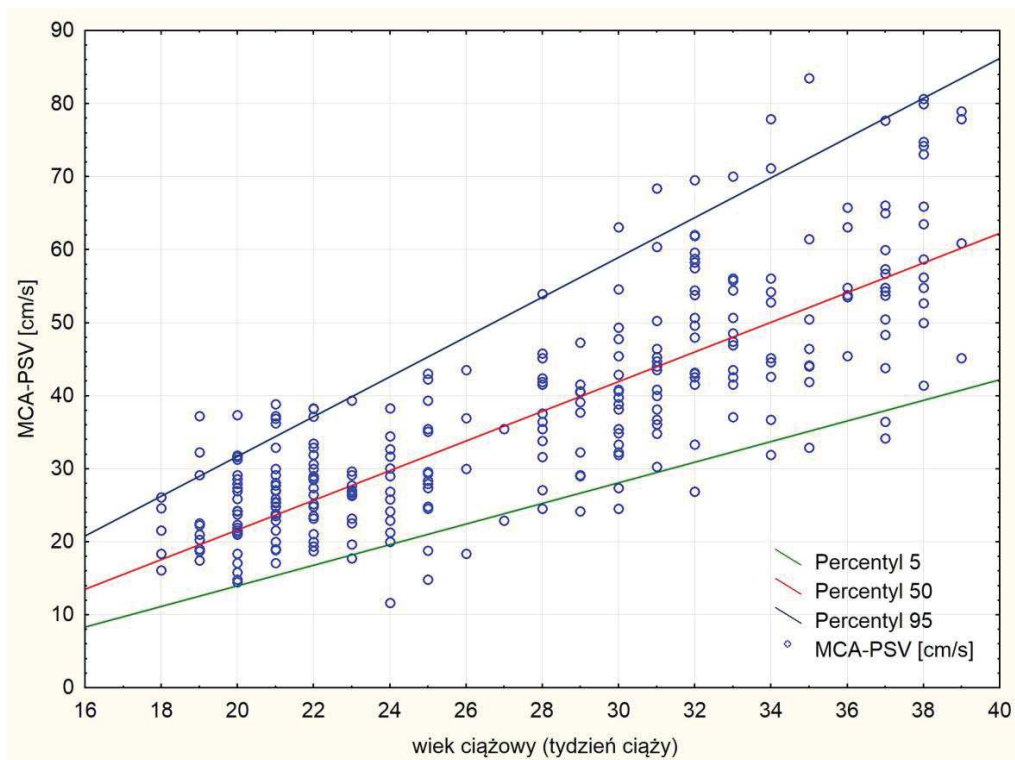
Wykresy rozrzutu mediany pomiarów MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego, wraz z oznaczeniem linii regresji wykładniczej oraz regresji liniowej, przedstawiono odpowiednio na rycinach 6 i 8.



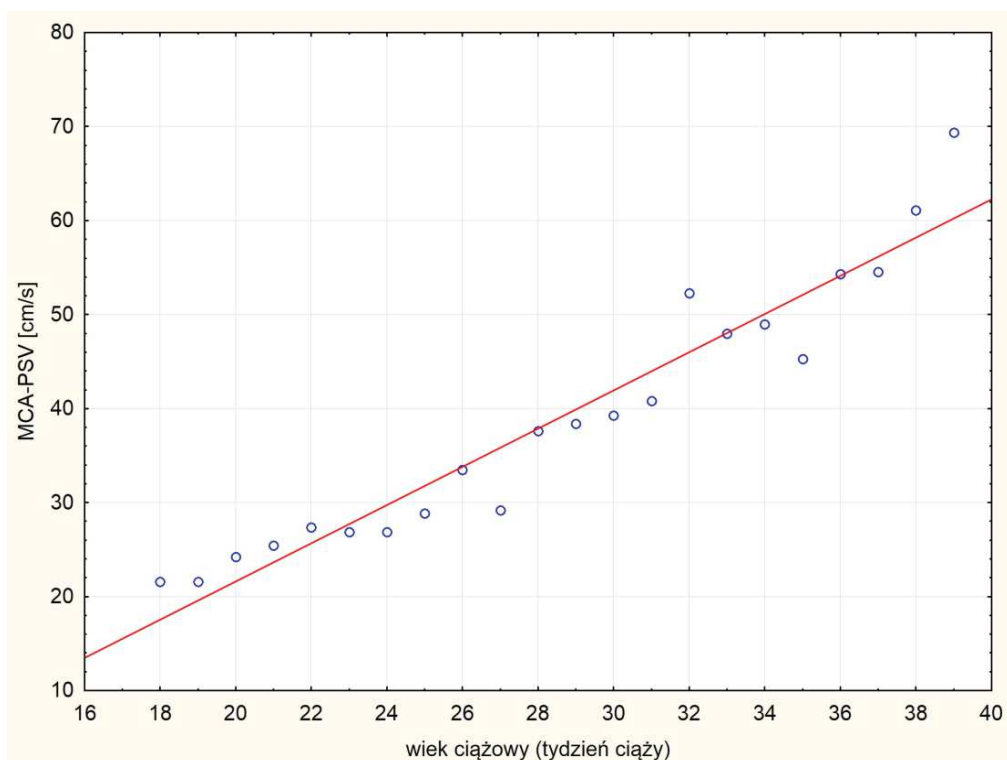
Rycina 5. Wykres rozrzutu pomiarów MCA-PSV płodu w populacji polskiej, z dopasowanymi liniami regresji wykładniczej, odpowiadającym 5, 50 i 95 percentylowi.



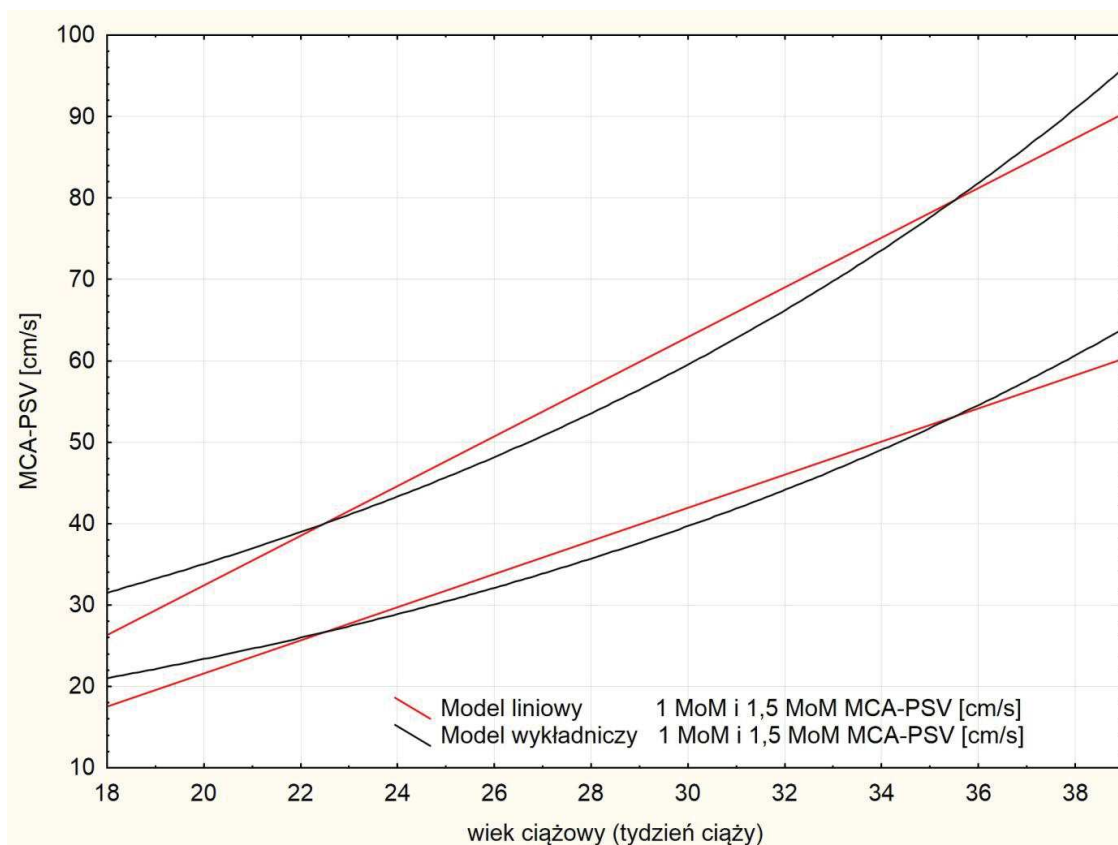
Rycina 6. Wykres rozrzutu mediany pomiarów MCA-PSV płodu w populacji polskiej, dla danego wieku ciążowego, z wyznaczoną regresją wykładniczą opisaną wzorem: $y = 8,0932e0,053x$, ($R^2 = 0,9614$).



Rycina 7. Wykres rozrzutu pomiarów MCA-PSV płodu w populacji polskiej, z dopasowanymi liniami regresji liniowej, odpowiadającym 5, 50 i 95 percentylowi.



Rycina 8. Wykres rozrzutu mediany pomiarów MCA-PSV płodu w populacji polskiej, dla danego wieku ciążowego, z wyznaczoną regresją liniową opisaną wzorem: $y = -19,0547 + 2,0328 \cdot x$, ($R^2 = 0,925$).



Rycina 9. Porównanie wykresu wartości mediany i 1,5 wartości mediany MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego, przy zastosowaniu regresji wykładniczej i liniowej, w polskiej populacji.

Przy użyciu oprogramowania STATISTICA, uzyskano odpowiednie wzory, opisujące przebieg linii regresji dla danych mediany pomiarów MCA-PSV płodu, dla danego tygodnia ciąży (Tabela 11).

Tabela 11. Wzory opisujące dwa modele regresji dla danych mediany pomiarów MCA-PSV płodu, dla danego tygodnia ciąży. (y- MCA-PSV [cm/s], x- tydzień ciąży).

Rodzaj regresji:	Wzór opisujący regresję	Współczynnik determinacji R^2
Wykładnicza	$y = 8,0932e0,053x$	$R^2 = 0,9614$
Liniowa	$y = -19,0547+2,0328*x$	$R^2 = 0,925$

Współczynnik determinacji R^2 opisany w tabeli 11, jest miarą jakości dopasowania modelu regresji do danych mediany pomiarów MCA-PSV płodu, w poszczególnych tygodniach ciąży. Współczynnik determinacji dla regresji wykładniczej wykazuje wyższą wartość, niż w przypadku regresji liniowej.

Na podstawie wyliczeń, ze wzorów opisujących odpowiedni model regresji, w tabeli 12 przedstawiono wartości mediany i 1,5 wartości mediany MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego. Przedstawione w tabeli dane mediany MCA-PSV, w postaci modelu wykładniczego i liniowego, stanowią modele prawidłowych wartości MCA-PSV płodu, w polskiej populacji ciężarnych, które zostaną wykorzystane w dalszej części pracy doktorskiej do oceny przydatności pomiarów MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu.

Tabela 12. Wartości mediany i 1,5 wartości mediany MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego, przy zastosowaniu regresji wykładniczej i liniowej, w polskiej populacji.

wiek ciążowy (tydzień ciąży)	Mediana MCA-PSV (model wykładniczy) [cm/s]	1,50 MoM MCA-PSV (model wykładniczy) [cm/s]	wiek ciążowy (tydzień ciąży)	Mediana MCA-PSV (model liniowy) [cm/s]	1,50 MoM MCA-PSV (model liniowy) [cm/s]
18	21,01	31,52	18	17,54	26,30
19	22,15	33,23	19	19,57	29,35
20	23,36	35,04	20	21,60	32,40
21	24,63	36,95	21	23,63	35,45
22	25,97	38,96	22	25,67	38,50
23	27,39	41,08	23	27,70	41,55
24	28,88	43,31	24	29,73	44,60
25	30,45	45,67	25	31,77	47,65
26	32,11	48,16	26	33,80	50,70
27	33,85	50,78	27	35,83	53,75
28	35,70	53,54	28	37,86	56,80
29	37,64	56,46	29	39,90	59,84
30	39,69	59,53	30	41,93	62,89
31	41,85	62,77	31	43,96	65,94
32	44,12	66,19	32	45,99	68,99
33	46,53	69,79	33	48,03	72,04
34	49,06	73,59	34	50,06	75,09
35	51,73	77,59	35	52,09	78,14
36	54,54	81,82	36	54,13	81,19
37	57,51	86,27	37	56,16	84,24
38	60,64	90,97	38	58,19	87,29
39	63,95	95,92	39	60,22	90,34

2. Wyniki analizy dostępnego piśmiennictwa dotyczącego pomiarów MCA-PSV w różnych populacjach.

Kolejny element pracy zakładał analizę dostępnego piśmiennictwa na temat wyników pomiarów MCA-PSV płodu w różnych populacjach oraz porównanie uzyskanych wyników własnych z wynikami innych autorów. Uzyskane dane zebrano w formie tabeli (Tabela 13), oraz wykresów porównawczych (Rycina 10 i 11).

Do analizy porównawczej otrzymanych w pracy wartości wykorzystano dane następujących autorów:

- wg Mari i wsp. [48, 49] – dane z USA/ 135 ciężarnych
- wg Kurmanavicius i wsp. [41] – dane ze Szwajcarii/ 331 ciężarnych
- wg Ebbing i wsp. [25] – dane z Norwegii/ 161 ciężarnych – 566 pomiarów
- wg Nardoza i wsp. [59] – dane z Brazylii/ 143 ciężarne
- wg Tan i wsp. [85] – dane z Singapuru – norma azjatycka/ 329 ciężarnych
- wg Andrei i wsp. [2] – dane z Rumunii/ 342 ciężarne

Wszystkie przedstawione powyżej prace były badaniami typu cross-sectional (jeden pomiar MCA-PSV u jednego płodu) z wyjątkiem pracy Ebbing, która była badaniem typu longitudinal (kilka pomiarów MCA-PSV u jednego płodu).

Badanie prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji ciężarnych przeprowadzono w grupie 280 płodów. Jak wcześniej wspomniano, obecnie powszechnie wykorzystywanymi w praktyce klinicznej wartościami referencyjnymi MCA-PSV płodu, są te dostępne na stronie internetowej www.perinatology.com. Normy te zostały określone przez Mari i wsp. w populacji amerykańskiej, która jest populacją wielonarodowościową, w grupie jedynie 135 ciężarnych a więc ponad dwukrotnie mniejszej, niż w przedstawionej pracy. Dane przedstawione powyżej obrazują jakiej wielkości były grupy ciężarnych, które zostały włączone do ustalenia prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w różnych populacjach. W przedstawionej pracy, zakwalifikowana do ostatecznej analizy grupa ciężarnych, nie odbiegała znacząco od liczebności grup innych autorów podejmujących ten sam temat, w innych populacjach.

Tabela 13. Wartości mediany MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego, w różnych populacjach, łącznie z wynikami badania własnego. Wyniki własne zaprezentowano w postaci modelu wykładniczego i liniowego.

wiek ciążowy (tydzień ciąży)	MCA-PSV [cm/s] – wartość mediany według normy z danej populacji							
	POLSKA		USA	SZWAJCARIA	NORWEGIA	BRAZYLIA	AZJA	RUMUNIA
	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	Mari	Kurmanavicius	Ebbing	Nardozza	Tan	Andrei
18	21,01	17,54	23,21				21,60	
19	22,15	19,57	24,31	19,70			23,10	
20	23,36	21,60	25,47	21,80			24,60	
21	24,63	23,63	26,68	23,90	24,09		26,10	
22	25,97	25,67	27,95	26,00	25,69		27,60	
23	27,39	27,70	29,27	28,20	27,41	35,44	29,10	
24	28,88	29,73	30,66	30,30	29,25	35,48	30,60	
25	30,45	31,77	32,12	32,40	31,19	35,81	32,10	32,05
26	32,11	33,80	33,65	34,60	33,22	36,45	33,60	33,11
27	33,85	35,83	35,24	36,70	35,34	37,43	35,10	35,19
28	35,70	37,86	36,92	38,80	37,52	38,77	36,70	37,19
29	37,64	39,90	38,67	40,90	39,74	40,49	38,20	38,74
30	39,69	41,93	40,51	43,10	41,98	42,61	39,70	40,05
31	41,85	43,96	42,43	45,20	44,19	45,16	41,20	42,13
32	44,12	45,99	44,45	47,30	46,34	48,17	42,70	44,87
33	46,53	48,03	46,56	49,50	48,39	51,65	44,20	46,59
34	49,06	50,06	48,77	51,60	50,29	55,63	45,70	48,25
35	51,73	52,09	51,09	53,70	51,99	60,13	47,20	50,35
36	54,54	54,13	53,52	55,80	53,43		48,70	52,15
37	57,51	56,16	56,06	58,00	54,56		50,20	54,80
38	60,64	58,19	58,72	60,10	55,34		51,70	57,40
39	63,95	60,22	61,51	62,20	55,70		53,20	60,45
40			64,43	64,40			54,70	62,05

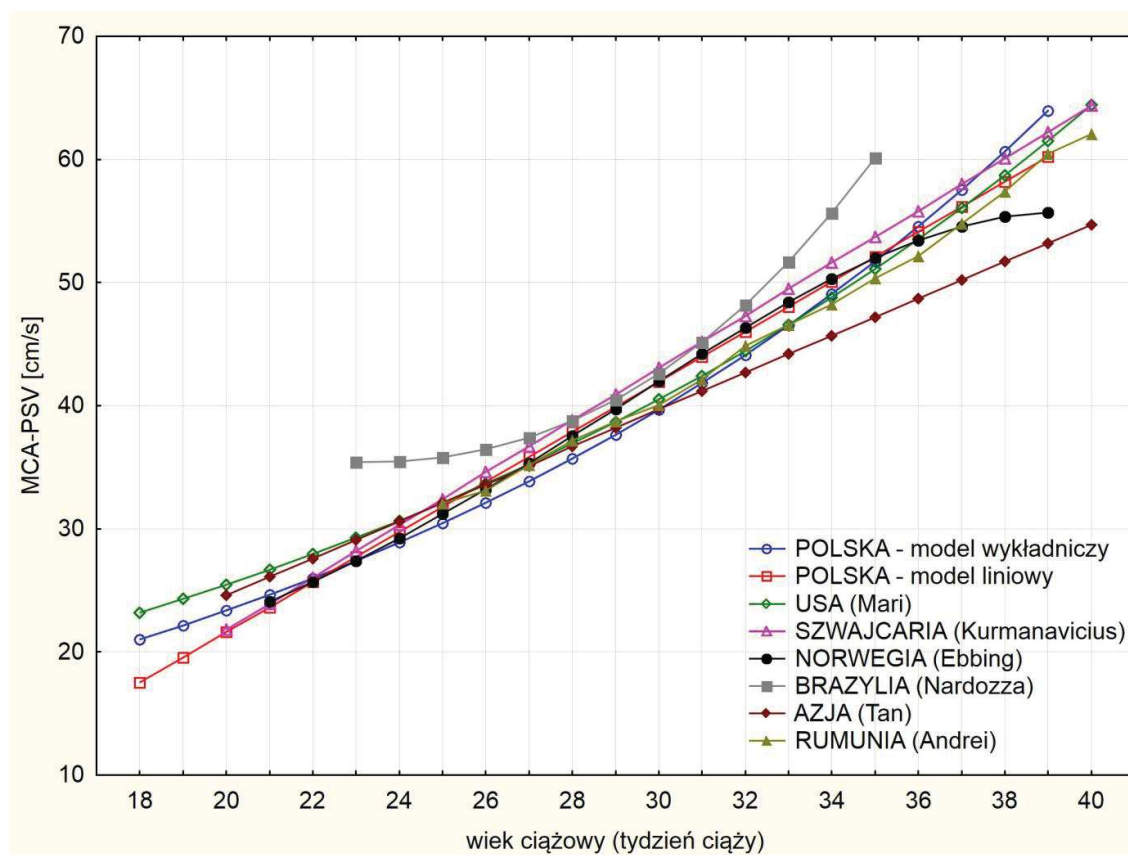
Z zaprezentowanych danych (Tabela 13) najwyższe wartości mediany MCA-PSV uzyskał Nardozza [59] w populacji brazylijskiej. Wartości mediany MCA-PSV w tej populacji znacząco odbiegają od innych, zwłaszcza poniżej 27. tygodnia i powyżej 32. tygodnia ciąży. Wartości mediany w przedstawionych populacjach są bardzo zbliżone do siebie między 27. a 31. tygodniem ciąży.

Wartości mediany MCA-PSV w populacji azjatyckiej [85], powyżej 31. tygodnia ciąży, są najniższe ze wszystkich zebranych w tabeli.

Wartości uzyskane w przedstawionej pracy dla populacji polskiej, przy zastosowaniu regresji wykładniczej, prezentują najbardziej zbliżone wartości do tych uzyskanych przez Mari i wsp. [48,49]. W porównaniu do norm uzyskanych przez wspomniany wcześniej zespół, wartości PSV w MCA płodu w polskiej populacji ciężarnych do 33. tygodnia ciąży są jednak nieco niższe, natomiast powyżej 33. tygodnia ciąży, wartości te są nieco wyższe.

Wartości uzyskane w przedstawionej pracy dla populacji polskiej, przy zastosowaniu liniowego modelu regresji, prezentują najbardziej zbliżone wartości do tych uzyskanych przez Kurmanaviciusa [41]. Jednak w porównaniu do wyników wspomnianego autora, wyniki modelu liniowego dla populacji polskiej są nieco niższe.

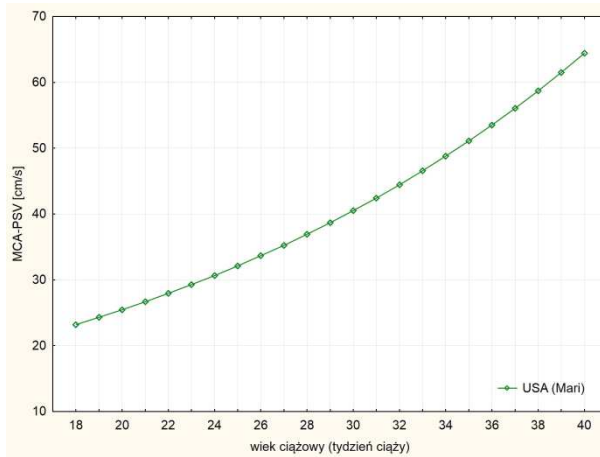
Na rycinie 10 przedstawiono nałożone na siebie wykresy nomogramów MCA-PSV w różnych populacjach.



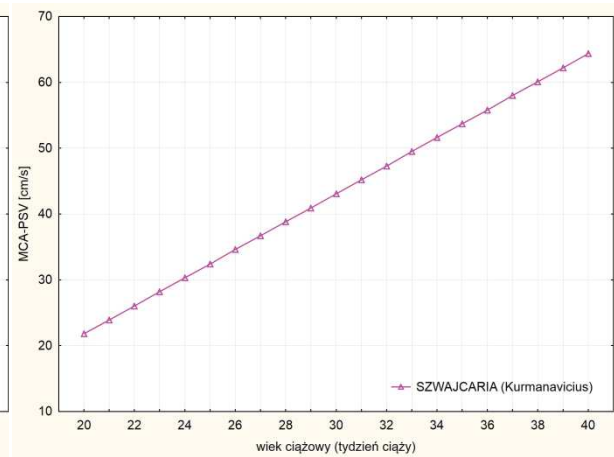
Rycina 10. Porównanie nomogramów MCA-PSV w różnych populacjach, wraz z wynikami badania własnego dla populacji polskiej.

Na rycinie 11 przedstawiono poszczególne nomogramy MCA-PSV z analizowanych w pracy wartości referencyjnych maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu, określonych w różnych populacjach.

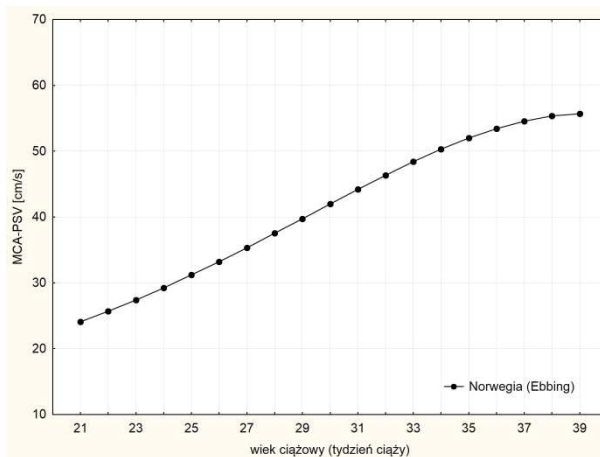
USA (Mari)



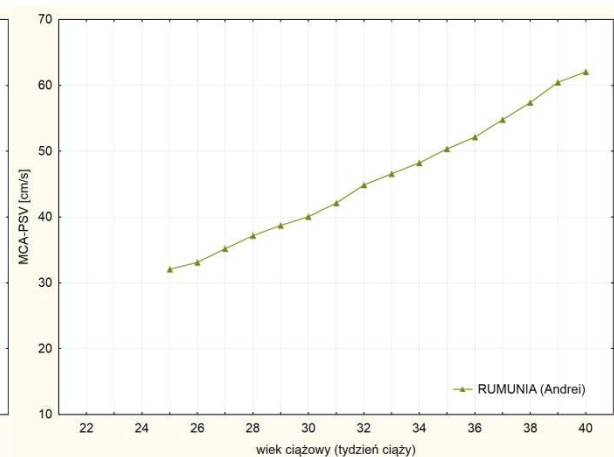
Szwajcaria (Kurmanavicius)



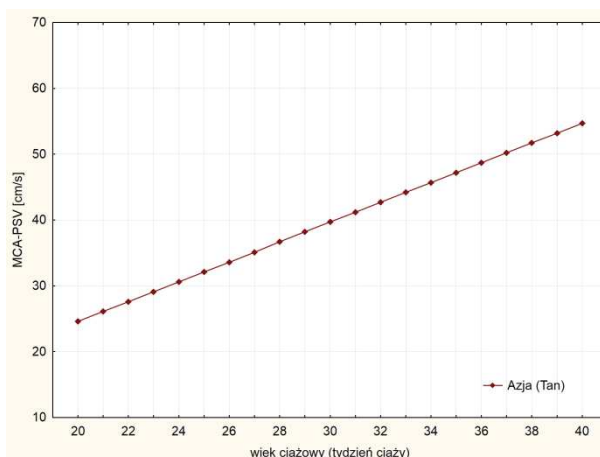
Norwegia (Ebbing)



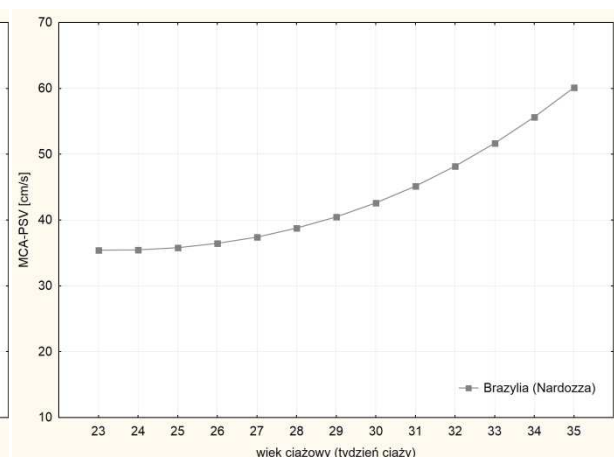
Rumunia (Andrei)



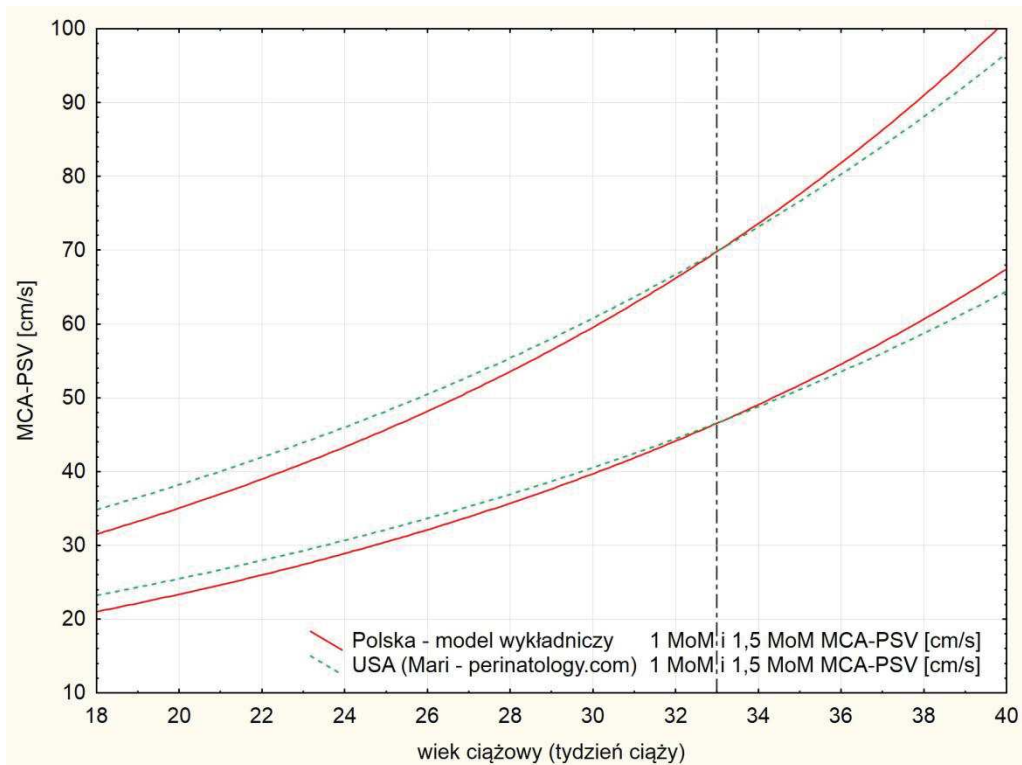
Azja (Tan)



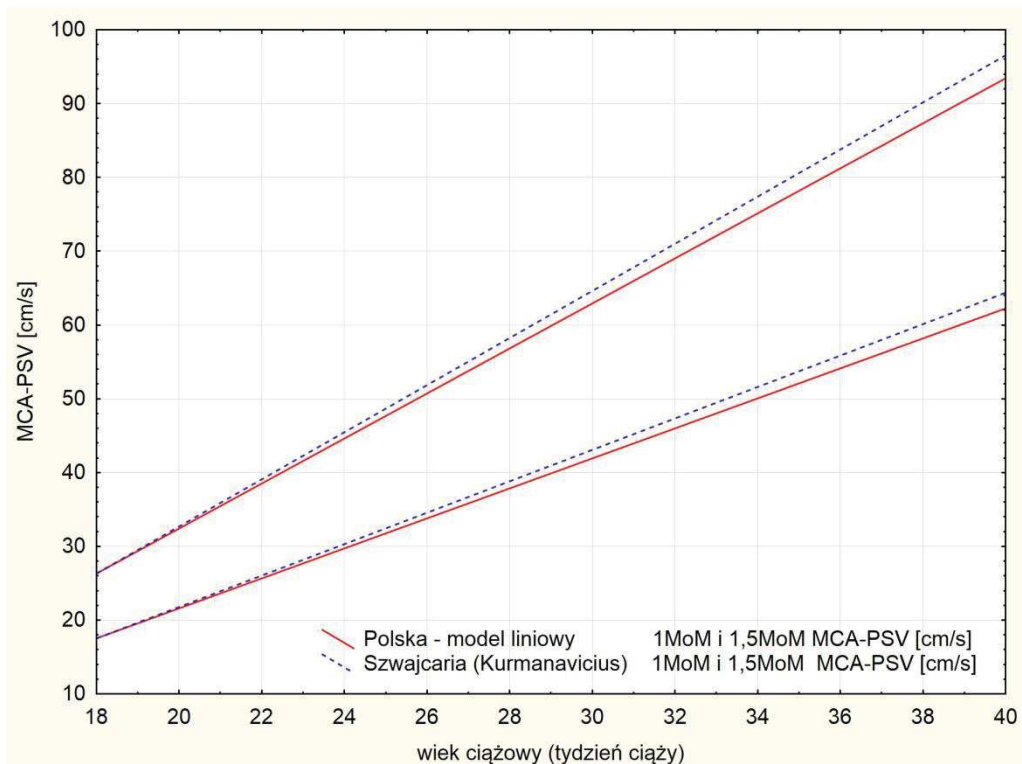
Brazylia (Nardoza)



Rycina 11. Zestawienie nomogramów MCA-PSV określonych w różnych populacjach.



Rycina 12. Wykres wartości mediany i 1,5 wartości mediany MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego, według normy Mari i wsp. [48,49] w porównaniu do wartości uzyskanych w populacji polskiej, przy zastosowaniu regresji wykładniczej.



Rycina 13. Wykres wartości mediany i 1,5 wartości mediany MCA-PSV płodu dla danego wieku ciążowego, według normy Kurmanaviciusa [41] w porównaniu do wartości uzyskanych w populacji polskiej, przy zastosowaniu regresji liniowej.

3. Wyniki retrospektywnej analizy grupy ciężarnych, poddanych zabiegowi kordocentezy diagnostycznej lub terapeutycznej.

W kolejnym etapie pracy, retrospektywnej analizie poddano grupę 24 ciężarnych, z grupy ryzyka niedokrwistości płodu, hospitalizowanych w Klinice Położnictwa Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W badanej grupie została wykonana kordocenteza diagnostyczna lub terapeutyczna, z oceną morfologii krwi płodu. W postępowaniu klinicznym, przy ocenie wskazań do transfuzji dopłodowej kierowano się wynikiem pomiaru MCA-PSV, na podstawie którego obliczano wskaźnik MoM, przy zastosowaniu normy MCA-PSV powszechnie obowiązującej Mari [49]. Skrócone opisy poszczególnych przypadków zamieszczono poniżej.

Opisy przypadków:

Przypadek 1: Pacjentka lat 26, w ciąży II, tydzień 20. Hospitalizowana z powodu obrzęku uogólnionego płodu i niewydolności serca płodu. Ze względu na wysokie wartości MCA-PSV (2,32MoM) i potwierdzoną ciężką niedokrwistość płodu, wykonano trzykrotnie transfuzje dopłodowe. W trakcie leczenia stwierdzono obumarcie płodu w 22. tygodniu ciąży.

Przypadek 2: Pacjentka lat 26, w ciąży VII, tydzień 18. Hospitalizowana z powodu ciężkiego konfliktu serologicznego. Ze względu na wysokie wartości MCA-PSV (2,02MoM) i potwierdzoną ciężką niedokrwistość płodu wykonano trzykrotnie transfuzje dopłodowe, bez powikłań. Pacjentka hospitalizowana ponownie w 25. tygodniu ciąży, z powodu niedokrwistości płodu. Przeprowadzono kordocentezę leczniczą. W trakcie zabiegu doszło tamponady żyły pępowinowej i obumarcia płodu.

Przypadek 3: Pacjentka lat 31, w ciąży II, tydzień 27. Hospitalizowana z powodu nieimmunologicznego obrzęku płodu. Stwierdzono wysokie wartości MCA-PSV (3,46 MoM). Ze względu na ciężką niedokrwistość płodu, wykonano trzykrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. Pacjentka hospitalizowana powtórnie w 34. tygodniu ciąży, z powodu podejrzenia anemii płodu. W trakcie hospitalizacji stwierdzono przedwczesne odpływanie płynu owodniowego. Ciążę

rozwiązano cięciem cesarskim w 34. tygodniu ciąży. Zgon noworodka po 7 godzinach życia. W badaniu sekcyjnym obrzęk uogólniony.

Przypadek 4: Pacjentka lat 31, w ciąży IV, tydzień 28. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego. Stwierdzono wysokie wartości MCA-PSV (1,96 MoM). Ze względu na ciężką niedokrwistość płodu, wykonano dwukrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. W trakcie hospitalizacji stwierdzono przedwczesne odpływanie płynu owodniowego. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 28. tygodniu ciąży. Po porodzie wykonano dwukrotnie transfuzję wymienną u noworodka. Dziecko wypisane do domu, po 8 tygodniach hospitalizacji, w stanie ogólnym dobrym.

Przypadek 5: Pacjentka lat 34, w ciąży II, tydzień 30. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego z obrzękiem uogólnionym płodu. Wartości MCA-PSV były wysokie (2,27MoM). Ze względu na ciężką niedokrwistość płodu, wykonano dwukrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w trakcie 32. tygodnia ciąży ze względu na zagrażającą zamartwicę płodu. Zgon noworodka w 1 dobie życia z powodu niewydolności krążenia oraz zespołu DIC.

Przypadek 6: Pacjentka lat 34, w ciąży II, tydzień 31. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego. Stwierdzono graniczne wartości MCA-PSV (1,48MoM) oraz wysokie miano przeciwciał anty RhD (1:64) oraz anty RhC (1:16). Ze względu na potwierdzoną ciężką niedokrwistość płodu, wykonano czterokrotnie transfuzję dopłodową, przetaczając w sumie 223ml krwi, bez powikłań. Pacjentka hospitalizowana ponownie w 35. tygodniu ciąży, z powodu niedokrwistości płodu i narastającego miana przeciwciał. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim. Noworodek urodzony w stanie ogólnym dobrym. W 11 dobie życia wykonano transfuzję krwi. Wypisany w 14 dobie życia, w stanie ogólnym dobrym.

Przypadek 7: Pacjentka lat 25, w ciąży IV, tydzień 28. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego z obrzękiem uogólnionym płodu. Stwierdzono graniczne wartości MCA-PSV (1,44MoM) oraz wysokie miano przeciwciał anty RhD (1:512). Potwierdzono ciężką niedokrwistość płodu,

wykonano pięciokrotnie transfuzję dopłodową do 32. t.c., przetaczając w sumie 165ml krwi, bez powikłań. W kontrolnym badaniu USG – prawidłowe wartości MCA-PSV. W 35. t.c, wykonano diagnostyczną kordocentezę – stwierdzono ciężką anemię płodu. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim. Po porodzie wykonano dwukrotnie transfuzję wymienną u noworodka. Dziecko wypisane do domu, w 9 dobie życia, w stanie ogólnym dobrym.

Przypadek 8: Pacjentka lat 39, w ciąży IV – bliźniaczej DOJK, tydzień 20. Hospitalizowana z powodu zespołu TRAP (ang. twin reversed arterial perfusion, zespół odwróconego kierunku przepływu krwi). Stwierdzono wysokie wartości MCA-PSV płodu I (2,47MoM). Ze względu na ciężką niedokrwistość płodu, wykonano jednokrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. W kontrolnym badaniu USG – prawidłowe wartości MCA-PSV. Pacjentka wypisana w 2 dobie po zabiegu, z ciążą żywą. Brak danych na temat dalszych losów ciąży.

Przypadek 9: Pacjentka lat 40, w ciąży I - bliźniaczej DOJK, tydzień 22., z rozpoznaniem zespołem TTTS (ang. twin to twin transfusion syndrome, zespół przetoczenia krwi między płodami) (stan po SLPCV w 17. t.c. (ang. selective laser photocoagulation of communicating vessels, laserowa fotokoagulacja naczyń łączących), przyjęta celem diagnostyki. Stwierdzono wysokie wartości MCA-PSV płodu dawcy (1,93MoM). Ze względu na ciężką niedokrwistość płodu dawcy, wykonano czterokrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. Wykonano ponowny zabieg SLPCV w 24. tygodniu ciąży. Stwierdzono obumarcie wewnątrzmaciczne płodu dawcy w trakcie 26. tygodnia ciąży.

Przypadek 10: Pacjentka lat 34, w ciąży I - bliźniaczej DOJK, tydzień 22., z rozpoznaniem zespołem TTTS, hospitalizowana celem leczenia metodą SLPCV. Przed zabiegiem doszło do obumarcia płodu dawcy. Stwierdzono wysokie wartości MCA-PSV biorcy (2,33MoM). Ze względu na wtórną niedokrwistość płodu biorcy, wykonano jednokrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. W kontrolnym badaniu USG – prawidłowe wartości MCA-PSV. Pacjentka wypisana w 1 dobie po zabiegu, z ciążą żywą. Brak danych na temat dalszych losów ciąży.

Przypadek 11: Pacjentka lat 30, w ciąży II, hospitalizowana kilkakrotnie z powodu konfliktu serologicznego. I hospitalizacja – w 29. t.c, miano p/ciał anti-RhD 1:32, w badaniu USG bez odchyień od normy, prawidłowe wartości MCA-PSV. II hospitalizacja – w 32. t.c, miano p/ciał anti-RhD 1:256, w badaniu USG bez odchyień od normy, prawidłowe wartości MCA-PSV. III hospitalizacja - tydzień 34., miano p/ciał anti Rh-D 1:512, w badaniu USG graniczne wartości MCA-PSV (1,44 MoM). Wykonano kordocentezę diagnostyczną, stwierdzono umiarkowaną niedokrwistość płodu. Ciążę zakończono cięciem cesarskim w 35. tygodniu ciąży. Noworodek wypisany do domu w stanie ogólnym dobrym w 13 dobie życia, w trakcie hospitalizacji, z powodu niedokrwistości, wykonano dwukrotnie transfuzję wymienną.

Przypadek 12: Pacjentka lat 26, w ciąży III, tydzień 27. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego. Stwierdzono wysokie wartości MCA-PSV (1,70MoM). Ze względu na niedokrwistość płodu, wykonano trzykrotnie transfuzję dopłodową, bez powikłań. W kontrolnym badaniu USG – prawidłowe wartości MCA-PSV. Pacjentka wypisana do domu w trakcie 30. tygodnia ciąży, z ciążą żywą. Brak danych na temat dalszych losów ciąży.

Przypadek 13: Pacjentka lat 28, w ciąży I, tydzień 31. Hospitalizowana z powodu słabszego odczuwania ruchów płodu. W badaniu USG stwierdzono graniczne wartości MCA-PSV (1,53MoM). Ze względu na podejrzenie niedokrwistości płodu, wykonano kordocentezę diagnostyczną. Stwierdzono łagodną niedokrwistość płodu, bez wskazań do transfuzji krwi. Pacjentka hospitalizowana powtórnie w 34. tygodniu ciąży – na podstawie pomiaru MCA-PSV nie stwierdzono wskazań do wykonania kordocentezy. Poród drogami natury w 38. tygodniu ciąży, pomiary MCA-PSV przed porodem prawidłowe. Stężenie Hb noworodka po porodzie -15,3 g/dl. Noworodek wypisany do domu w stanie ogólnym dobrym.

Przypadek 14: Pacjentka lat 26, w ciąży IV, tydzień 28. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego. Stwierdzono graniczne wartości MCA-PSV (1,44MoM). Ze względu na podejrzenie niedokrwistość płodu, wykonano kordocentezę diagnostyczną. Stwierdzono łagodną niedokrwistość płodu, bez wskazań do transfuzji krwi. Hospitalizowana powtórnie w 32. i 35. tygodniu

ciąży – na podstawie pomiarów MCA-PSV rozpoznano łagodną anemię płodu, bez wskazań do transfuzji. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 35. tygodniu ciąży. Stężenie Hb noworodka po porodzie -11,5 g/dl. Noworodek wypisany do domu w stanie ogólnym dobrym w 11 dobie życia.

Przypadek 15: Pacjentka lat 41, w ciąży IV - bliźniaczej DOJK, tydzień 29. Hospitalizowana z powodu późnego zespołu TTTS. W trakcie hospitalizacji doszło do obumarcia płodu dawcy. Stwierdzono cechy niewydolności krążenia biorcy, kardiomegalię oraz wysokie wartości MCA-PSV (1,95MoM). Ze względu na podejrzenie niedokrwistości płodu wykonano kordocentezę diagnostyczno-leczniczą. Wynik morfologii krwi pępowinowej wskazywał niedokrwistość łagodną. W kontrolnym badaniu USG – prawidłowe wartości MCA-PSV. Pacjentka wypisana z ciążą żywą. Brak danych na temat dalszych losów ciąży.

Przypadek 16: Pacjentka lat 30, w ciąży II, tydzień 27. Hospitalizowana z powodu nieimmunologicznego obrzęku płodu, tachykardii płodu, wielowodzia. Ze względu na graniczne wartości MCA-PSV (1,36MoM) i podejrzenie niedokrwistości płodu, wykonano kordocentezę diagnostyczno-leczniczą. Wynik morfologii krwi pępowinowej odpowiadał łagodnej anemii. Wykonano amnioredukcję. W trakcie hospitalizacji wyzwoiliła się czynność skurczowa. Poród drogami natury w 30. tygodniu ciąży. Noworodek przeniesiony do oddziału chirurgii dziecięcej z powodu smółkowego zapalenia jelit i podejrzenia perforacji przewodu pokarmowego.

Przypadek 17: Pacjentka lat 36, w ciąży IV, tydzień 25. Hospitalizowana z powodu konfliktu serologicznego. Miano p/ciał anty-RhD 1:32, w badaniu USG monitorowano trend MCA-PSV – obserwowano wartości graniczne, nie stwierdzono wskazań do kordocentezy. W 27. t.c. stwierdzono wzrost wartości MCA-PSV do 1,56MoM, pacjentka została zakwalifikowana do pierwszej kordocentezy diagnostyczno-leczniczej. Wynik morfologii krwi płodu nie potwierdził niedokrwistości – stężenie Hb wynosiło 10,6g/dl. W trakcie kilku kolejnych hospitalizacji, wobec narastającej niedokrwistości płodu wykonano w sumie 6 transfuzji dopłodowych przetaczając w sumie 249ml krwi. Obserwowano wzrastający trend MCA-PSV po transfuzjach i wzrost miana p/ciał anty-RhD do 1:64 w 37. tygodniu ciąży. Poród indukowany drogami

natury w 37. tygodniu ciąży. Noworodek urodzony w stanie ogólnym dobrym. W trakcie pobytu na oddziale patologii noworodka wykonano dwukrotnie transfuzję wymienną. Wypisany w 7 dobie życia w stanie ogólnym dobrym.

Przypadek 18: Pacjentka lat 24, w ciąży I, tydzień 31. Hospitalizowana z powodu obrzęku uogólnionego i podejrzenia wady płodu. Przeprowadzono diagnostykę inwazyjną – amniopunkcję, kordocentezę i wykonano panel badań diagnostycznych w tym badanie morfologii krwi płodu, nie stwierdzając anemii płodu. W trakcie hospitalizacji stwierdzono przedwczesne odpływanie płynu owodniowego. Poród drogami natury w 32. tygodniu ciąży. Zgon noworodka po 11 godzinach życia z powodu niewydolności krążeniowo-oddechowej. Odstąpiono od badania sekcyjnego. Wynik morfologii krwi noworodka po urodzeniu prawidłowy.

Przypadek 19: Pacjentka lat 25, w ciąży III, tydzień 29. Hospitalizowana, z powodu nieimmunologicznego obrzęku płodu, niewydolności krążenia u płodu. Wykonano kordocentezę diagnostyczną. W badaniu morfologii krwi płodu, nie stwierdzono anemii. W trakcie hospitalizacji stwierdzono przedwczesne odpływanie płynu owodniowego i rozpoczynającą się czynność skurczową. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 32. tygodniu ciąży. Zgon noworodka po 14 godzinach życia z powodu niewydolności krążenia i niewydolności oddechowej.

Przypadek 20: Pacjentka lat 26, w ciąży III, tydzień 28. Hospitalizowana, z powodu obrzęku uogólnionego płodu. Wykonano kordocentezę diagnostyczną. W badaniu morfologii krwi płodu, nie stwierdzono anemii. Powtórna hospitalizacja w 30. tygodniu ciąży. Stwierdzono infekcję Parwowirusem B19. W trakcie hospitalizacji założono shunty do jam opłucnowych, wykonano amnioredukcję. Poród drogami natury w 35. tygodniu ciąży. Zgon noworodka w 2 godzinie życia z powodu niewydolności krążeniowo-oddechowej.

Przypadek 21: Pacjentka lat 19, w ciąży I, tydzień 30. Hospitalizowana z powodu zespołu wad wrodzonych płodu. W trakcie diagnostyki stwierdzono hipotrofię płodu, przełożenie trzewi, rozszczep wargi górnej. Wykonano

kordocentezę diagnostyczną. W badaniu morfologii krwi płodu nie stwierdzono anemii. Kariotyp płodu prawidłowy. Poród drogami natury w 38. tygodniu ciąży. Potwierdzono wady noworodka, zdiagnozowane wcześniej w badaniach prenatalnych. Wynik morfologii krwi noworodka po urodzeniu prawidłowy.

Przypadek 22: Pacjentka lat 29, w ciąży I, tydzień 29. Hospitalizowana celem diagnostyki hipotrofii płodu. W trakcie hospitalizacji potwierdzono hipotrofię płodu, stwierdzono skrócenie kości długich, wodogłowie. Wykonano kordocentezę diagnostyczną. Kariotyp płodu prawidłowy. W badaniu morfologii krwi płodu, nie stwierdzono anemii. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 37. tygodniu ciąży. Brak danych na temat noworodka.

Przypadek 23: Pacjentka lat 22, w ciąży I, tydzień 29. Hospitalizowana celem diagnostyki hipotrofii płodu. W trakcie hospitalizacji potwierdzono wewnątrzmaciczne ograniczenie wzrastania płodu. Wykonano kordocentezę diagnostyczną. Kariotyp płodu prawidłowy. W badaniu morfologii krwi płodu, nie stwierdzono anemii. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 31. tygodniu ciąży. Noworodek z niską masą urodzeniową. Wynik morfologii krwi noworodka po urodzeniu prawidłowy. Noworodka wypisano w 58 dniu życia, w stanie ogólnym dobrym, ze stałym przyrostem masy ciała.

Przypadek 24: Pacjentka lat 28, w ciąży I, tydzień 29. Hospitalizowana z powodu podejrzenia mnogich wad płodu. W trakcie hospitalizacji stwierdzono wielowodzie, atrezję dwunastnicy, tetralogię Fallota. Wykonano kordocentezę diagnostyczną. Kariotyp płodu prawidłowy. W badaniu morfologii krwi płodu, nie stwierdzono anemii. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 37. tygodniu ciąży. Stwierdzono wady noworodka, takie jak w badaniach prenatalnych. Wynik morfologii krwi noworodka po urodzeniu prawidłowy.

Podsumowanie charakterystyki 24 przypadków ciężarnych, umieszczono w tabeli 14. Przypadki zostały uszeregowane według stopnia nasilenia niedokrwistości płodu (od najbardziej zanemizowanych, do przypadków, u których nie stwierdzono niedokrwistości). Wyznacznikiem niedokrwistości płodu był obliczony wskaźnik MoM stężenia Hb płodu, według Mari i wsp. [49].

W tabeli 15 przedstawiono wyniki pomiaru MCA-PSV płodu przed zabiegiem kordocentezy. Na podstawie wyniku MCA-PSV płodu, dla każdego przypadku dokonano obliczenia wskaźnika MoM MCA-PSV, przy przyjęciu norm MCA-PSV wg różnych autorów, w podanych populacjach (przedstawionych w tabeli 13). Uwzględniono również wyniki dla populacji polskiej uzyskane w pierwszym etapie prezentowanej rozprawy doktorskiej. Obliczenia wykonano za pomocą wzoru:

$$\text{wskaźnik MoM MCA – PSV} = \frac{\text{wynik pomiaru MCA – PSV płodu}}{\text{mediana MCA – PSV wg normy danego autora, dla danego t.c}}$$

W tabeli 16, dla poszczególnych przypadków z badanej grupy, wskazano należną wartość mediany stężenia Hb płodu (wg Mari i wsp. [49]), dla danego tygodnia ciąży. Następnie obliczono wartość wskaźnika MoM stężenia Hb płodu, na podstawie wyniku morfologii krwi płodu, uzyskanej z punkcji naczynia pępowinowego. Obliczenia wykonano za pomocą wzoru:

$$\text{wskaźnik MoM stężenia Hb płodu} = \frac{\text{wynik stężenia Hb płodu}}{\text{mediana stężenia Hb płodu (wg Mari), dla danego t.c}}$$

Wszystkie przypadki zostały zaszeregowane do odpowiedniej grupy, wg klasyfikacji Mari i wsp. [49]:

- anemia ciężka (wskaźnik MoM stężenia Hb płodu <0,55)
- anemia umiarkowana (wskaźnik MoM stężenia Hb płodu między 0,55 a 0,65)
- anemia łagodna (wskaźnik MoM stężenia Hb płodu między 0,65 a 0,84)
- anemia nieobecna (wskaźnik MoM stężenia Hb płodu >0,84)

Za istotną klinicznie niedokrwistość płodu przyjęto anemię umiarkowaną i ciężką. W grupie znalazło się 12 przypadków płodów z istotną niedokrwistością (umiarkowaną lub ciężką) oraz 12 przypadków płodów bez istotnej niedokrwistości (anemia łagodna bądź nieobecna).

Tabela 14. Zestawienie przypadków ciężarnych, z grupy ryzyka niedokrwistości płodu, poddanych zabiegowi kordocentezy.

Rozpoznanie	Obrzęk płodu	Przeciwciała anty Rh(D) w surowicy [miano]	Przeciwciała anty Rh(C) w surowicy [miano]	Tydzień ciąży	MCA-PSV płodu [cm/s]	Wyniki morfologii krwi płodu, uzyskane z punkcji naczyńia pępowinowego.			Wskaźnik MoM stężenia Hb płodu, wg Mari [49]
						Hb [g/dl]	RBC [mln]	Ht [%]	
Obrzęk uogólniony płodu	TAK	Nieobecne	Nieobecne	20	59,10	1,60	0,40	4,70	0,14
Konflikt serologiczny	NIE	1:256	1:1	18	47,00	2,30	0,50	7,00	0,22
Obrzęk uogólniony płodu	TAK	Nieobecne	Nieobecne	27	122,00	3,30	0,70	8,00	0,27
Konflikt serologiczny	TAK	1:16	1:1	28	72,50	4,10	0,70	13,00	0,33
Konflikt serologiczny	TAK	1:32	1:8	30	92,00	4,20	0,80	14,00	0,33
Konflikt serologiczny	NIE	1:64	1:16	31	63,00	4,30	1,10	14,00	0,33
Konflikt serologiczny	TAK	1:512	1:2	28	53,00	4,70	1,06	15,50	0,37
Zespół TRAP	NIE	Nieobecne	Nieobecne	20	63,00	4,40	1,09	15,90	0,40
Zespół TTTS	NIE	Nieobecne	Nieobecne	22	54,00	6,50	1,78	18,20	0,56
Zespół TTTS	TAK	Nieobecne	Nieobecne	22	65,00	6,80	1,50	21,50	0,59
Konflikt serologiczny	NIE	1:512	1:2	34	70,10	7,80	1,99	24,40	0,59
Konflikt serologiczny	NIE	1:128	1:8	27	60,00	7,30	1,83	23,80	0,59
Obs. w kierunku niedokrwistości płodu	NIE	Nieobecne	Nieobecne	31	65,00	9,60	2,54	27,60	0,74
Konflikt serologiczny	NIE	1:64	Nieobecne	28	53,00	9,60	2,50	28,00	0,76
Zespół TTTS	NIE	Nieobecne	Nieobecne	30	79,00	10,10	2,42	28,80	0,79
Obrzęk uogólniony płodu	TAK	Nieobecne	Nieobecne	27	48,00	10,20	2,70	28,00	0,82
Konflikt serologiczny	NIE	1:32	Nieobecne	27	55,00	10,60	2,60	31,00	0,85
Obrzęk uogólniony płodu	TAK	Nieobecne	Nieobecne	31	60,18	11,80	3,00	34,00	0,91
Obrzęk uogólniony płodu	TAK	Nieobecne	Nieobecne	30	53,70	12,30	2,77	36,50	0,96
Obrzęk uogólniony płodu	TAK	Nieobecne	Nieobecne	28	53,00	12,40	3,78	36,10	0,98
Hipotrofia płodu	NIE	Nieobecne	Nieobecne	30	43,57	14,70		45,10	1,15
Hipotrofia płodu	NIE	Nieobecne	Nieobecne	32	60,00	15,50	3,92	44,60	1,18
Hipotrofia płodu	NIE	Nieobecne	Nieobecne	29	55,32	15,10	3,47	42,10	1,19
Wielowadzie	NIE	Nieobecne	Nieobecne	34	56,62	16,40		50,10	1,23

Tabela 15. Wyniki pomiaru MCA-PSV płodu, w grupie ciężarnych poddanych kordocentezie. Dla każdego przypadku, dla odpowiedniego tygodnia ciąży, podano wartość mediany MCA-PSV wg różnych autorów oraz przedstawiono obliczony wskaźnik MoM MCA-PSV.

Lp.	Tydzień ciąży	Wynik pomiaru MCA-PSV płodu [cm/s]	POLSKA		POLSKA		USA		SZWAJCARIA		NORWEGIA		BRAZYLIA		AZJA		RUMUNIA	
			Prezentowana praca (model wykładniczy)		Prezentowana praca (model liniowy)		Mari (perinatology.com)		Kurmanavicius		Ebbing		Nardoza		Tan		Andrei	
			mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV	mediana MCA-PSV [cm/s]	wsk. MoM MCA-PSV
1	20	59,10	23,36	2,53	21,60	2,74	25,47	2,32	21,80	2,71					24,60	2,40		
2	18	47,00	21,01	2,24	17,54	2,68	23,21	2,02							21,60	2,18		
3	27	122,00	33,85	3,60	35,83	3,40	35,24	3,46	36,70	3,32	35,34	3,45	37,43	3,26	35,10	3,48	35,19	3,47
4	28	72,50	35,70	2,03	37,86	1,91	36,92	1,96	38,80	1,87	37,52	1,93	38,77	1,87	36,70	1,98	37,19	1,95
5	30	92,00	39,69	2,32	41,93	2,19	40,51	2,27	43,10	2,13	41,98	2,19	42,61	2,16	39,70	2,32	40,05	2,30
6	31	63,00	41,85	1,51	43,96	1,43	42,43	1,48	45,20	1,39	44,19	1,43	45,16	1,40	41,20	1,53	42,13	1,50
7	28	53,00	35,70	1,48	37,86	1,40	36,92	1,44	38,80	1,37	37,52	1,41	38,77	1,37	36,70	1,44	37,19	1,43
8	20	63,00	23,36	2,70	21,60	2,92	25,47	2,47	21,80	2,89					24,60	2,56		
9	22	54,00	25,97	2,08	25,67	2,10	27,95	1,93	26,00	2,08	25,69	2,10			27,60	1,96		
10	22	65,00	25,97	2,50	25,67	2,53	27,95	2,33	26,00	2,50	25,69	2,53			27,60	2,36		
11	34	70,10	49,06	1,43	50,06	1,40	48,77	1,44	51,60	1,36	50,29	1,39	55,63	1,26	45,70	1,53	48,25	1,45
12	27	60,00	33,85	1,77	35,83	1,67	35,24	1,70	36,70	1,63	35,34	1,70	37,43	1,60	35,10	1,71	35,19	1,71
13	31	65,00	41,85	1,55	43,96	1,48	42,43	1,53	45,20	1,44	44,19	1,47	45,16	1,44	41,20	1,58	42,13	1,54
14	28	53,00	35,70	1,48	37,86	1,40	36,92	1,44	38,80	1,37	37,52	1,41	38,77	1,37	36,70	1,44	37,19	1,43
15	30	79,00	39,69	1,99	41,93	1,88	40,51	1,95	43,10	1,83	41,98	1,88	42,61	1,85	39,70	1,99	40,05	1,97
16	27	48,00	33,85	1,42	35,83	1,34	35,24	1,36	36,70	1,31	35,34	1,36	37,43	1,28	35,10	1,37	35,19	1,36
17	27	55,00	33,85	1,62	35,83	1,54	35,24	1,56	36,70	1,50	35,34	1,56	37,43	1,47	35,10	1,57	35,19	1,56
18	31	60,18	41,85	1,44	43,96	1,37	42,43	1,42	45,20	1,33	44,19	1,36	45,16	1,33	41,20	1,46	42,13	1,43
19	30	53,70	39,69	1,35	41,93	1,28	40,51	1,33	43,10	1,25	41,98	1,28	42,61	1,26	39,70	1,35	40,05	1,34
20	28	53,00	35,70	1,48	37,86	1,40	36,92	1,44	38,80	1,37	37,52	1,41	38,77	1,37	36,70	1,44	37,19	1,43
21	30	43,57	39,69	1,10	41,93	1,04	40,51	1,08	43,10	1,01	41,98	1,04	42,61	1,02	39,70	1,10	40,05	1,09
22	32	60,00	44,12	1,36	45,99	1,30	44,45	1,35	47,30	1,27	46,34	1,29	48,17	1,25	42,70	1,41	44,87	1,34
23	29	55,32	37,64	1,47	39,90	1,39	38,67	1,43	40,90	1,35	39,74	1,39	40,49	1,37	38,20	1,45	38,74	1,43
24	34	56,62	49,06	1,15	50,06	1,13	48,77	1,16	51,60	1,10	50,29	1,13	55,63	1,02	45,70	1,24	48,25	1,17

Tabela 16. Wyniki morfologii krwi płodu, uzyskane z punkcji naczynia pępowinowego, w zestawieniu z obliczonym wskaźnikiem MoM stężenia Hb płodu i klasyfikacją anemii według Mari i wsp. [49].

Lp.	Tydzień ciąży	Wyniki morfologii krwi płodu, uzyskane z punkcji naczynia pępowinowego.			Należna wartość mediany stężenia Hb płodu, dla danego tygodnia ciąży, wg Mari i wsp. [49]	Wskaźnik MoM stężenia Hb płodu, wg Mari i wsp. [49]	Klasyfikacja anemii płodu wg Mari i wsp. [49]
		Hb [g/dl]	RBC [mln]	Ht [%]			
1	20	1,60	0,40	4,70	11,10	0,14	Ciężka
2	18	2,30	0,50	7,00	10,60	0,22	Ciężka
3	27	3,30	0,70	8,00	12,40	0,27	Ciężka
4	28	4,10	0,70	13,00	12,60	0,33	Ciężka
5	30	4,20	0,80	14,00	12,80	0,33	Ciężka
6	31	4,30	1,10	14,00	13,00	0,33	Ciężka
7	28	4,70	1,06	15,50	12,60	0,37	Ciężka
8	20	4,40	1,09	15,90	11,10	0,40	Ciężka
9	22	6,50	1,78	18,20	11,60	0,56	Umiarkowana
10	22	6,80	1,50	21,50	11,60	0,59	Umiarkowana
11	34	7,80	1,99	24,40	13,30	0,59	Umiarkowana
12	27	7,30	1,83	23,80	12,40	0,59	Umiarkowana
13	31	9,60	2,54	27,60	13,00	0,74	Łagodna
14	28	9,60	2,50	28,00	12,60	0,76	Łagodna
15	30	10,10	2,42	28,80	12,80	0,79	Łagodna
16	27	10,20	2,70	28,00	12,40	0,82	Łagodna
17	27	10,60	2,60	31,00	12,40	0,85	Nieobecna
18	31	11,80	3,00	34,00	13,00	0,91	Nieobecna
19	30	12,30	2,77	36,50	12,80	0,96	Nieobecna
20	28	12,40	3,78	36,10	12,60	0,98	Nieobecna
21	30	14,70		45,10	12,80	1,15	Nieobecna
22	32	15,50	3,92	44,60	13,10	1,18	Nieobecna
23	29	15,10	3,47	42,10	12,70	1,19	Nieobecna
24	34	16,40		50,10	13,30	1,23	Nieobecna

4. Określenie przydatności pomiarów MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości. Określenie wpływu zastosowania lokalnej polskiej normy MCA-PSV na skuteczność diagnostyki niedokrwistości płodu, w porównaniu do zastosowania norm określonych przez innych autorów.

Do określenia przydatności pomiarów MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości, wykorzystano metody zastosowane przez Mari i wsp. [49]. Zgodnie z założeniami wspomnianego autora, wartości powyżej 1,50MoM MCA-PSV płodu przemawiają za istotną niedokrwistością (umiarkowaną lub ciężką), podczas gdy wartości poniżej 1,50 MoM przemawiają za nieobecnością niedokrwistości lub łagodną niedokrwistością płodu.

W tabeli 17 i 18 przedstawiono wyniki obliczeń wskaźników prognostycznych: czułości, specyficzności, dokładności, wartości predykcyjnej dodatniej i ujemnej metody badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu. Punkty odcięcia dla wyniku testu diagnostycznego były następujące:

Wynik:

- prawdziwie pozytywny (PP): MCA-PSV $\geq 1,5$ MoM i istotna anemia płodu.
- fałszywie pozytywny (FP): MCA-PSV $\geq 1,5$ MoM i nieobecność istotnej anemii płodu.
- prawdziwie negatywny (PN): MCA-PSV $< 1,5$ MoM i nieobecność istotnej anemii płodu
- fałszywie negatywny (FN): MCA-PSV $< 1,5$ MoM i istotna anemia płodu.

Wyniki wskaźników prognostycznych, oceniających przydatność pomiarów MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu, przedstawiono przy przyjęciu wartości prawidłowych (norm) MCA-PSV określonych w różnych populacjach, przez różnych autorów oraz dla populacji polskiej przy zastosowaniu wartości prawidłowych MCA-PSV określonych w pierwszym etapie przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Tabela 17. Wyniki wskaźników prognostycznych, przy zastosowaniu wartości prawidłowych MCA-PSV określonych przez różnych autorów - cz.1

Lp.	Tydzień ciąży	Wskaźnik MoM stężenia Hb płodu, wg Mari i wsp.	Istotna anemia płodu wg Mari (umiarkowana lub ciężka)	Wartość MoM MCA-PSV dla poszczególnych przypadków, przy zastosowaniu normy MCA-PSV danego autora oraz wynik testu diagnostycznego							
				POLSKA		POLSKA		USA		SZWAJCARIA	
				Prezentowana praca (model wykładniczy)		Prezentowana praca (model liniowy)		Mari (perinatology.com)		Kurmanavicius	
				MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU	MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU	MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU	MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU
1	20	0,14	TAK	2,53	PP	2,74	PP	2,32	PP	2,71	PP
2	18	0,22	TAK	2,24	PP	2,68	PP	2,02	PP		
3	27	0,27	TAK	3,60	PP	3,40	PP	3,46	PP	3,32	PP
4	28	0,33	TAK	2,03	PP	1,91	PP	1,96	PP	1,87	PP
5	30	0,33	TAK	2,32	PP	2,19	PP	2,27	PP	2,13	PP
6	31	0,33	TAK	1,51	PP	1,43	FN	1,48	FN	1,39	FN
7	28	0,37	TAK	1,48	FN	1,40	FN	1,44	FN	1,37	FN
8	20	0,40	TAK	2,70	PP	2,92	PP	2,47	PP	2,89	PP
9	22	0,56	TAK	2,08	PP	2,10	PP	1,93	PP	2,08	PP
10	22	0,59	TAK	2,50	PP	2,53	PP	2,33	PP	2,50	PP
11	34	0,59	TAK	1,43	FN	1,40	FN	1,44	FN	1,36	FN
12	27	0,59	TAK	1,77	PP	1,67	PP	1,70	PP	1,63	PP
13	31	0,74	NIE	1,55	FP	1,48	PN	1,53	FP	1,44	PN
14	28	0,76	NIE	1,48	PN	1,40	PN	1,44	PN	1,37	PN
15	30	0,79	NIE	1,99	FP	1,88	FP	1,95	FP	1,83	FP
16	27	0,82	NIE	1,42	PN	1,34	PN	1,36	PN	1,31	PN
17	27	0,85	NIE	1,62	FP	1,54	FP	1,56	FP	1,50	FP
18	31	0,91	NIE	1,44	PN	1,37	PN	1,42	PN	1,33	PN
19	30	0,96	NIE	1,35	PN	1,28	PN	1,33	PN	1,25	PN
20	28	0,98	NIE	1,48	PN	1,40	PN	1,44	PN	1,37	PN
21	30	1,15	NIE	1,10	PN	1,04	PN	1,08	PN	1,01	PN
22	32	1,18	NIE	1,36	PN	1,30	PN	1,35	PN	1,27	PN
23	29	1,19	NIE	1,47	PN	1,39	PN	1,43	PN	1,35	PN
24	34	1,23	NIE	1,15	PN	1,13	PN	1,16	PN	1,10	PN

WYNIKI	prawdziwie pozytywne	PP	10	9	9	8
	falszywie negatywne	FN	2	3	3	3
falszywie pozytywne	FP	3	2	3	2	
prawdziwie negatywne	PN	9	10	9	10	
Czułość testu [%]		83,33	75,00	75,00	72,73	
Specyficzność testu [%]		75,00	83,33	75,00	83,33	
Dokładność testu [%]		79,17	79,17	75,00	78,26	
PPV [%]		81,82	76,92	75,00	76,92	
NPV [%]		76,92	81,82	75,00	80,00	

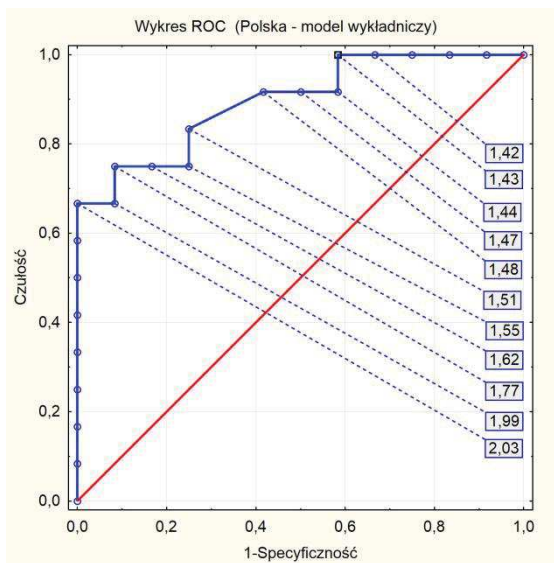
Tabela 18. Wyniki wskaźników prognostycznych, przy zastosowaniu wartości prawidłowych MCA-PSV określonych przez różnych autorów - cz.2

Lp.	Tydzień ciąży	Wskaźnik MoM stężenia Hb płodu, wg Mari i wsp.	Istotna anemia płodu wg Mari (umiarkowana lub ciężka)	Wartość MoM MCA-PSV dla poszczególnych przypadków, przy zastosowaniu normy MCA-PSV danego autora oraz wynik testu diagnostycznego							
				NORWEGIA		BRAZYLIA		AZJA		RUMUNIA	
				Ebbing		Nardozza		Tan		Andrei	
				MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU	MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU	MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU	MoM MCA-PSV	WYNIK TESTU
1	20	0,14	TAK					2,40	PP		
2	18	0,22	TAK					2,18	PP		
3	27	0,27	TAK	3,45	PP	3,26	PP	3,48	PP	3,47	PP
4	28	0,33	TAK	1,93	PP	1,87	PP	1,98	PP	1,95	PP
5	30	0,33	TAK	2,19	PP	2,16	PP	2,32	PP	2,30	PP
6	31	0,33	TAK	1,43	FN	1,40	FN	1,53	PP	1,50	PP
7	28	0,37	TAK	1,41	FN	1,37	FN	1,44	FN	1,43	FN
8	20	0,40	TAK					2,56	PP		
9	22	0,56	TAK	2,10	PP			1,96	PP		
10	22	0,59	TAK	2,53	PP			2,36	PP		
11	34	0,59	TAK	1,39	FN	1,26	FN	1,53	PP	1,45	FN
12	27	0,59	TAK	1,70	PP	1,60	PP	1,71	PP	1,71	PP
13	31	0,74	NIE	1,47	PN	1,44	PN	1,58	FP	1,54	FP
14	28	0,76	NIE	1,41	PN	1,37	PN	1,44	PN	1,43	PN
15	30	0,79	NIE	1,88	FP	1,85	FP	1,99	FP	1,97	FP
16	27	0,82	NIE	1,36	PN	1,28	PN	1,37	PN	1,36	PN
17	27	0,85	NIE	1,56	FP	1,47	PN	1,57	FP	1,56	FP
18	31	0,91	NIE	1,36	PN	1,33	PN	1,46	PN	1,43	PN
19	30	0,96	NIE	1,28	PN	1,26	PN	1,35	PN	1,34	PN
20	28	0,98	NIE	1,41	PN	1,37	PN	1,44	PN	1,43	PN
21	30	1,15	NIE	1,04	PN	1,02	PN	1,10	PN	1,09	PN
22	32	1,18	NIE	1,29	PN	1,25	PN	1,41	PN	1,34	PN
23	29	1,19	NIE	1,39	PN	1,37	PN	1,45	PN	1,43	PN
24	34	1,23	NIE	1,13	PN	1,02	PN	1,24	PN	1,17	PN

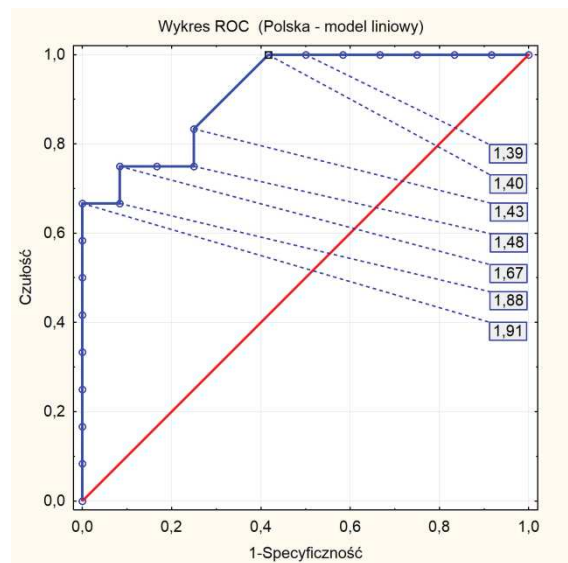
WYNIKI	prawdziwie pozytywne	PP	6	4	11	5
	falszywie negatywne	FN	3	3	1	2
falszywie pozytywne	FP	2	1	3	3	
prawdziwie negatywne	PN	10	11	9	9	
Czułość testu [%]		66,67	57,14	91,67	71,43	
Specyficzność testu [%]		83,33	91,67	75,00	75,00	
Dokładność testu [%]		76,19	78,95	83,33	73,68	
PPV [%]		76,92	78,57	90,00	81,82	
NPV [%]		75,00	80,00	78,57	62,50	

Analiza krzywych ROC

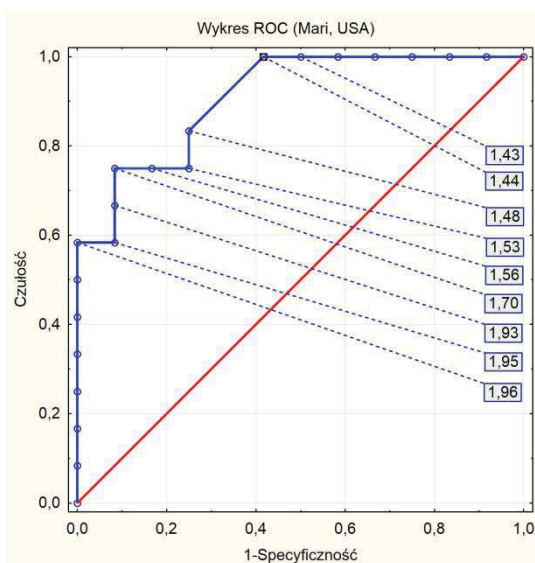
W celu określenia optymalnego punktu odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV w diagnozowaniu istotnej niedokrwistości płodu, wykonano analizę krzywych ROC. Na rycinach 14-21 przedstawiono krzywe ROC, wyznaczone dla przypadków z grupy 24 ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy. Poszczególne krzywe ROC zostały wyznaczone dla wskaźnika MoM MCA-PSV, obliczonego każdorazowo przy przyjęciu innej normy MCA-PSV wg wymienionych autorów (podanych w nawiasach). Dla każdej krzywej oznaczono również punkt odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV charakteryzujący się 100% czułością badania.



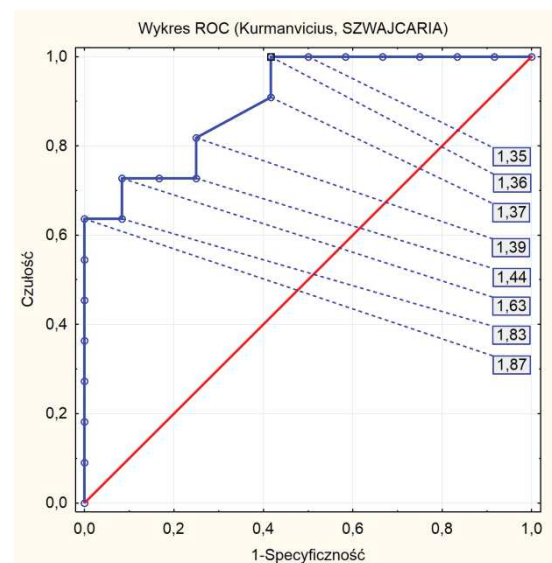
Rycina 14. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Prezentowana praca – model wykładniczy, Polska)



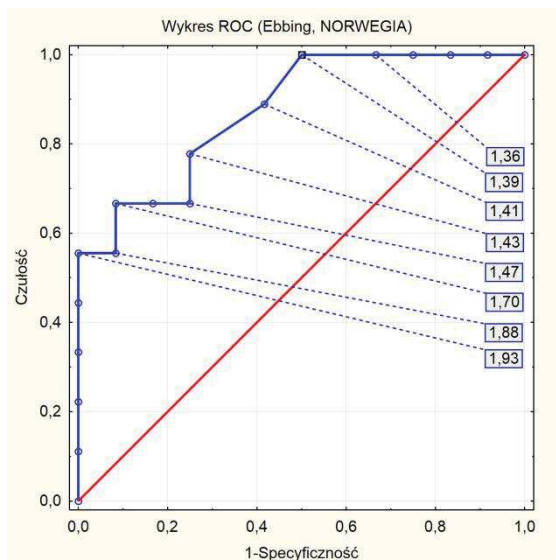
Rycina 15. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Prezentowana praca – model liniowy, Polska)



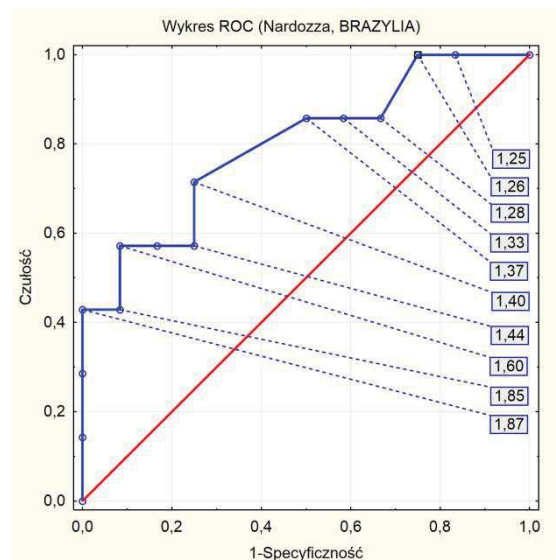
Rycina 16. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Mari, USA)



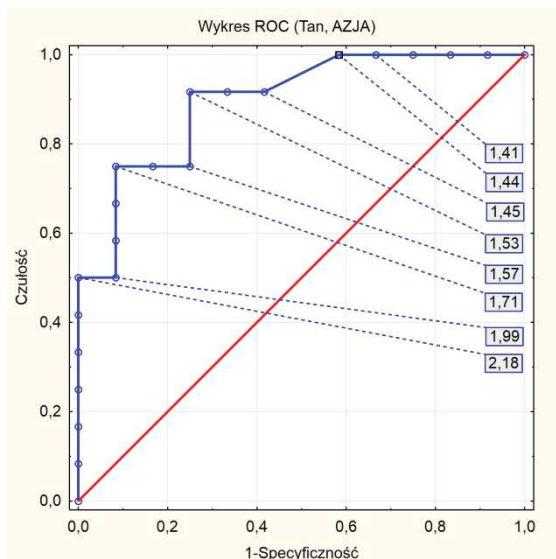
Rycina 17. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Kurmanavicius, Szwajcaria)



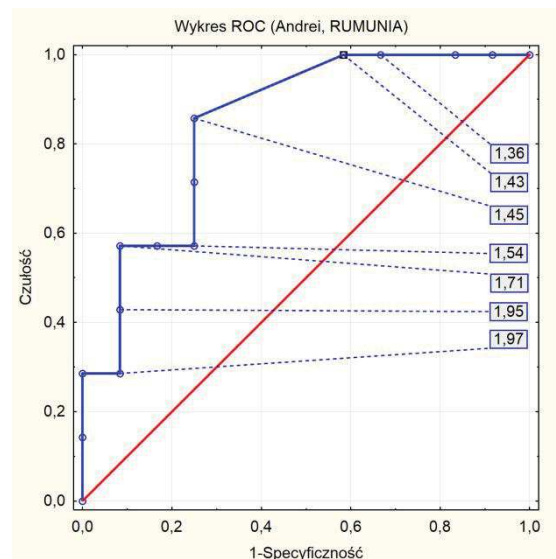
Rycina 18. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Ebbing, Norwegia)



Rycina 19. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Nardozza, Brazylia)



Rycina 20. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Tan, Azja)



Rycina 21. Krzywa ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV (Andrei, Rumunia)

W tabeli 19 i 20 przedstawiono szczegółowe wyniki analizy krzywych ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV, w zależności od przyjęcia normy MCA-PSV wg danego autora. W tabeli dla każdego punktu odcięcia MoM MCA-PSV podano wartość czułości, specyficzności i dokładności badania.

Tabela 19. Wyniki analizy krzywych ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV - cz.1

Prezentowana praca (model wykładniczy)						Prezentowana praca (model liniowy)						USA (Mari) perinatology.com						SZWAJCARIA (Kurmanavicius)					
Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP	Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP	Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP	Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP
3,60	8,33	100	54,17	11	0	3,40	8,33	100	54,17	11	0	3,46	8,33	100	54,17	11	0	3,32	9,09	100	56,52	10	0
2,70	16,67	100	58,33	10	0	2,92	16,67	100	58,33	10	0	2,47	16,67	100	58,33	10	0	2,89	18,18	100	60,87	9	0
2,53	25,00	100	62,50	9	0	2,74	25,00	100	62,50	9	0	2,33	25,00	100	62,50	9	0	2,71	27,27	100	65,22	8	0
2,50	33,33	100	66,67	8	0	2,68	33,33	100	66,67	8	0	2,32	33,33	100	66,67	8	0	2,50	36,36	100	69,57	7	0
2,32	41,67	100	70,83	7	0	2,53	41,67	100	70,83	7	0	2,27	41,67	100	70,83	7	0	2,13	45,45	100	73,91	6	0
2,24	50,00	100	75,00	6	0	2,19	50,00	100	75,00	6	0	2,02	50,00	100	75,00	6	0	2,08	54,55	100	78,26	5	0
2,08	58,33	100	79,17	5	0	2,10	58,33	100	79,17	5	0	1,96	58,33	100	79,17	5	0	1,87	63,64	100	82,61	4	0
2,03	66,67	100	83,33	4	0	1,91	66,67	100	83,33	4	0	1,95	58,33	91,67	75,00	5	1	1,83	63,64	91,67	78,26	4	1
1,99	66,67	91,67	79,17	4	1	1,88	66,67	91,67	79,17	4	1	1,93	66,67	91,67	79,17	4	1	1,63	72,73	91,67	82,61	3	1
1,77	75,00	91,67	83,33	3	1	1,67	75,00	91,67	83,33	3	1	1,70	75,00	91,67	83,33	3	1	1,50	72,73	83,33	78,26	3	2
1,62	75,00	83,33	79,17	3	2	1,54	75,00	83,33	79,17	3	2	1,56	75,00	83,33	79,17	3	2	1,44	72,73	75,00	73,91	3	3
1,55	75,00	75,00	75,00	3	3	1,48	75,00	75,00	75,00	3	3	1,53	75,00	75,00	75,00	3	3	1,39	81,82	75,00	78,26	2	3
1,51	83,33	75,00	79,17	2	3	1,43	83,33	75,00	79,17	2	3	1,48	83,33	75,00	79,17	2	3	1,37	90,91	58,33	73,91	1	5
1,48	91,67	58,33	75,00	1	5	1,40	100	58,33	79,17	0	5	1,44	100	58,33	79,17	0	5	1,36	100	58,33	78,26	0	5
1,47	91,67	50,00	70,83	1	6	1,39	100	50,00	75,00	0	6	1,43	100	50,00	75,00	0	6	1,35	100	50,00	73,91	0	6
1,44	91,67	41,67	66,67	1	7	1,37	100	41,67	70,83	0	7	1,42	100	41,67	70,83	0	7	1,33	100	41,67	69,57	0	7
1,43	100	41,67	70,83	0	7	1,34	100	33,33	66,67	0	8	1,36	100	33,33	66,67	0	8	1,31	100	33,33	65,22	0	8
1,42	100	33,33	66,67	0	8	1,30	100	25,00	62,50	0	9	1,35	100	25,00	62,50	0	9	1,27	100	25,00	60,87	0	9
1,36	100	25,00	62,50	0	9	1,28	100	16,67	58,33	0	10	1,33	100	16,67	58,33	0	10	1,25	100	16,67	56,52	0	10
1,35	100	16,67	58,33	0	10	1,13	100	8,33	54,17	0	11	1,16	100	8,33	54,17	0	11	1,10	100	8,33	52,17	0	11
1,15	100	8,33	54,17	0	11	1,04	100	0,00	50,00	0	12	1,08	100	0,00	50,00	0	12	1,01	100	0,00	47,83	0	12
1,10	100	0,00	50,00	0	12																		

Tabela 20. Wyniki analizy krzywych ROC dla wskaźnika MoM MCA-PSV - cz.2

NORWEGIA (Ebbing)						BRAZYLIA (Nardozza)						AZJA (Tan)						RUMUNIA (Andrei)					
Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP	Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP	Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP	Punkt odcięcia [MoM]	Czułość [%]	Specyficzność [%]	Dokładność [%]	Wyniki FN	Wyniki FP
3,45	11,11	100	61,90	8	0	3,26	14,29	100	68,42	6	0	3,48	8,33	100	54,17	11	0	3,47	14,29	100	68,42	6	0
2,53	22,22	100	66,67	7	0	2,16	28,57	100	73,68	5	0	2,56	16,67	100	58,33	10	0	2,30	28,57	100	73,68	5	0
2,19	33,33	100	71,43	6	0	1,87	42,86	100	78,95	4	0	2,40	25,00	100	62,50	9	0	1,97	28,57	91,67	68,42	5	1
2,10	44,44	100	76,19	5	0	1,85	42,86	91,67	73,68	4	1	2,36	33,33	100	66,67	8	0	1,95	42,86	91,67	73,68	4	1
1,93	55,56	100	80,95	4	0	1,60	57,14	91,67	78,95	3	1	2,32	41,67	100	70,83	7	0	1,71	57,14	91,67	78,95	3	1
1,88	55,56	91,67	76,19	4	1	1,47	57,14	83,33	73,68	3	2	2,18	50,00	100	75,00	6	0	1,56	57,14	83,33	73,68	3	2
1,70	66,67	91,67	80,95	3	1	1,44	57,14	75,00	68,42	3	3	1,99	50,00	91,67	70,83	6	1	1,54	57,14	75,00	68,42	3	3
1,56	66,67	83,33	76,19	3	2	1,40	71,43	75,00	73,68	2	3	1,98	58,33	91,67	75,00	5	1	1,50	71,43	75,00	73,68	2	3
1,47	66,67	75,00	71,43	3	3	1,37	85,71	50,00	63,16	1	6	1,96	66,67	91,67	79,17	4	1	1,45	85,71	75,00	78,95	1	3
1,43	77,78	75,00	76,19	2	3	1,33	85,71	41,67	57,89	1	7	1,71	75,00	91,67	83,33	3	1	1,43	100	41,67	63,16	0	7
1,41	88,89	58,33	71,43	1	5	1,28	85,71	33,33	52,63	1	8	1,58	75,00	83,33	79,17	3	2	1,36	100	33,33	57,89	0	8
1,39	100	50,00	71,43	0	6	1,26	100	25,00	52,63	0	9	1,57	75,00	75,00	75,00	3	3	1,34	100	16,67	47,37	0	10
1,36	100	33,33	61,90	0	8	1,25	100	16,67	47,37	0	10	1,53	91,67	75,00	83,33	1	3	1,17	100	8,33	42,11	0	11
1,29	100	25,00	57,14	0	9	1,02	100	0,00	36,84	0	12	1,46	91,67	66,67	79,17	1	4	1,09	100	0,00	36,84	0	12
1,28	100	16,67	52,38	0	10							1,45	91,67	58,33	75,00	1	5						
1,13	100	8,33	47,62	0	11							1,44	100	41,67	70,83	0	7						
1,04	100	0,00	42,86	0	12							1,41	100	33,33	66,67	0	8						
												1,37	100	25,00	62,50	0	9						
												1,35	100	16,67	58,33	0	10						
												1,24	100	8,33	54,17	0	11						
												1,10	100	0,00	50,00	0	12						

Na podstawie danych uzyskanych z analizy krzywych ROC, dla każdej z analizowanych norm MCA-PSV wyznaczono optymalny punkt odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV. Jako optymalny punkt odcięcia określono taki punkt, który charakteryzuje się jak najwyższą czułością badania przy możliwie wysokim poziomie specyficzności:

- dla modelu wykładniczego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej, optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,51MoM (czułość - 83,33%, specyficzność - 75%) - dwa wyniki FN, trzy wyniki FP.
- dla modelu liniowego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej, optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,43MoM (czułość - 83,33%, specyficzność - 75%) - dwa wyniki FN, trzy wyniki FP
- dla normy MCA-PSV wg Mari i wsp., optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,48MoM (czułość - 83,33%, specyficzność - 75%) - dwa wyniki FN, trzy wyniki FP.
- dla normy MCA-PSV wg Kurmanaviciusa i wsp., optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,39MoM (czułość - 81,82%, specyficzność - 75%) - dwa wyniki FN, trzy wyniki FP.
- dla normy MCA-PSV wg Ebbing i wsp., optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,43MoM (czułość - 77,78%, specyficzność - 75%) - dwa wyniki FN, trzy wyniki FP.
- dla normy MCA-PSV wg Nardozzy i wsp., optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,40MoM (czułość - 71,43%, specyficzność - 75%) - dwa wyniki FN, trzy wyniki FP.
- dla normy MCA-PSV azjatyckiej wg Tan i wsp., optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,53MoM (czułość - 91,67%, specyficzność - 75%) - jeden wynik FN, trzy wyniki FP.
- dla normy MCA-PSV wg Andrei i wsp., optymalnym punktem odcięcia jest punkt 1,45MoM (czułość - 85,71%, specyficzność - 75%) - jeden wynik FN, trzy wyniki FP.

W tabeli 21 przedstawiono wartość pola powierzchni pod każdą wyznaczoną krzywą ROC (AUC ang. area under the curve), wraz z 95% przedziałem ufności oraz poziom istotności statystycznej wyników.

Tabela 21. Wyniki analizy krzywych ROC - wartość pola pod krzywą ROC (AUC) wraz z 95% przedziałem ufności (CI, confidence interval) oraz poziomem istotności statystycznej (wartość p).

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari) perinatology.com	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardoza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
AUC	0,896	0,917	0,910	0,902	0,875	0,798	0,896	0,845
95% CI	0,770-1,0	0,810-1,0	0,798-1,0	0,780-1,0	0,727-1,0	0,580-1,0	0,771-1,0	0,669-1,0
p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0073	0,0000	0,0001

Parametr AUC określa moc diagnostyczną badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu. Im wyższa wartość AUC, tym większa moc diagnostyczna testu. Maksymalna wartość AUC wynosi 1 i oznacza idealny rodzaj testu diagnostycznego. Wartości AUC powyżej 0,7 sygnalizują satysfakcjonującą jakość, wartości powyżej 0,8 dobrą jakość a wartości powyżej 0,9 bardzo dobrą jakość testu diagnostycznego.

Podczas analizy krzywych ROC, dokonano również oceny, czy pola powierzchni pod krzywymi ROC (uzyskane przy zastosowaniu norm MCA-PSV różnych autorów, w różnych populacjach), różnią się od siebie w sposób istotny statystycznie (Tabela 22). W żadnym przypadku nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami AUC ($p > 0,05$).

Tabela 22. Wyniki oceny statystycznej istotności różnic pól powierzchni pod krzywymi ROC (wartość p), wyznaczonymi dla wskaźnika MoM MCA-PSV, przy zastosowaniu norm MCA-PSV różnych autorów.

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari) perinatology.com	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
Prezentowana praca (model wykładniczy)	x	0,364	0,593	0,818	0,970	0,711	1,000	0,933
Prezentowana praca (model liniowy)	0,364	x	0,480	0,754	0,745	0,612	0,407	0,805
USA (Mari) perinatology.com	0,593	0,480	x	0,924	0,826	0,614	0,519	0,808
SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	0,818	0,754	0,924	x	0,844	0,650	0,846	0,852
NORWEGIA (Ebbing)	0,970	0,745	0,826	0,844	x	0,664	0,973	0,943
BRAZYLIA (Nardozza)	0,711	0,612	0,614	0,650	0,664	X	0,749	0,622
AZJA (Tan)	1,000	0,407	0,519	0,846	0,973	0,749	x	0,924
RUMUNIA (Andrei)	0,933	0,805	0,808	0,852	0,943	0,622	0,924	x

W tabeli 23 przedstawiono zestawienie punktów odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV z przeprowadzonej analizy krzywych ROC, charakteryzujących się 100% czułością badania przy najwyższej specyficzności.

Tabela 23. Zestawienie punktów odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV z analizy krzywych ROC, charakteryzujących się 100% czułością badania.

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari) perinatology.com	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
Punkt odcięcia MoM MCA-PSV	1,43	1,40	1,44	1,36	1,39	1,26	1,44	1,43
Czułość [%]	100	100	100	100	100	100	100	100
Specyficzność [%]	41,67	58,33	58,33	58,33	50,00	25,00	41,67	41,67
Dokładność [%]	70,83	79,17	79,17	78,26	71,43	52,63	70,83	63,16
Wyniki FN	0	0	0	0	0	0	0	0
Wyniki FP	7	5	5	5	6	9	7	7

W pracy poddano także analizie, jaki wpływ na wyniki mocy diagnostycznej badania MCA-PSV, ma przyjęcie różnych kryteriów rozpoznawania niedokrwistości płodu. W tabeli 24 przedstawiono wyniki analizy mocy diagnostycznej badania MCA-PSV, przy przyjęciu stałego punktu odcięcia MCA-PSV $\geq 1,50$ MoM oraz drugiego zmiennego punktu odcięcia w zależności od wyznaczników niedokrwistości płodu. Za piśmiennictwem zastosowano następujący drugi punkt odcięcia:

- stężenie Hb $\leq 0,55$ MoM wg Mari
- stężenie Hb $\leq 0,65$ MoM wg Mari lub deficyt Hb ≥ 5 g/dl wg Nicolaidesa (oba punkty odcięcia charakteryzowały się takimi samymi wynikami mocy diagnostycznej testu)
- stężenie Hb $\leq 0,84$ MoM wg Mari lub bezwzględny poziom Ht $\leq 30\%$ (oba punkty odcięcia charakteryzowały się takimi samymi wynikami mocy diagnostycznej testu)
- deficyt Hb ≥ 4 g/dl wg Nicolaidesa

Wyniki opracowano na podstawie analizy materiału 24 ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy.

Tabela 24. Wyniki analizy mocy diagnostycznej badania MCA-PSV w zależności od przyjęcia kryterium rozpoznawania niedokrwistości płodu. Zastosowano stały punkt odcięcia dla MCA-PSV $\geq 1,50$ MoM oraz różne punkty odcięcia w zależności od wyznacznika niedokrwistości płodu.

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari)	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
--	---	---------------------------------------	---------------	-------------------------------	----------------------	------------------------	---------------	---------------------

PUNKT ODCIĘCIA: stężenie Hb $\leq 0,55$ MoM

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari)	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
Czułość [%]	87,50	75,00	75,00	71,43	60,00	60,00	87,50	80,00
Specyficzność [%]	62,50	68,75	62,50	68,75	68,75	85,71	56,25	71,43
Dokładność [%]	70,83	70,83	66,67	69,57	66,67	78,95	66,67	73,68
Wyniki FN	1	2	2	2	2	2	1	1
Wyniki FP	6	5	6	5	5	2	7	4

PUNKT ODCIĘCIA: stężenie Hb $\leq 0,65$ MoM lub deficyt Hb $\geq 5g/dl$

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari)	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
Czułość [%]	83,33	75,00	75,00	72,73	66,67	57,14	91,67	71,43
Specyficzność [%]	75,00	83,33	75,00	83,33	83,33	91,67	75,00	75,00
Dokładność [%]	79,17	79,17	75,00	78,26	76,19	78,95	83,33	73,68
Wyniki FN	2	3	3	3	3	3	1	2
Wyniki FP	3	2	3	2	2	1	3	3

PUNKT ODCIĘCIA: Hb $\leq 0,84$ MoM lub bezwzględny poziom Ht $\leq 30\%$

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari)	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
Czułość [%]	75,00	62,50	68,75	60,00	53,85	45,45	80,00	63,64
Specyficzność [%]	87,50	87,50	87,50	87,50	87,50	100,00	87,50	87,50
Dokładność [%]	79,17	70,83	75,00	69,57	66,67	68,42	82,61	73,68
Wyniki FN	4	6	5	6	6	6	3	4
Wyniki FP	1	1	1	1	1	0	1	1

PUNKT ODCIĘCIA: deficyt Hb $\geq 4g/dl$

	Prezentowana praca (model wykładniczy)	Prezentowana praca (model liniowy)	USA (Mari)	SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	NORWEGIA (Ebbing)	BRAZYLIA (Nardozza)	AZJA (Tan)	RUMUNIA (Andrei)
Czułość [%]	84,62	69,23	76,92	66,67	60,00	50,00	92,31	75,00
Specyficzność [%]	81,82	81,82	81,82	90,91	81,82	90,91	81,82	81,82
Dokładność [%]	83,33	75,00	79,17	78,26	71,43	73,68	87,50	78,95
Wyniki FN	2	4	3	4	4	4	1	2
Wyniki FP	2	2	2	1	2	1	2	2

ANALIZA KORELACJI:

W badanej grupie 24 ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy, wykonano analizę korelacji Spearmana pomiędzy wskaźnikami MoM MCA-PSV płodu (obliczonymi przy wykorzystaniu norm MCA-PSV wg różnych autorów) a bezwzględными parametrami morfologii krwi płodu: stężenie Hb, liczba RBC, poziom Ht (Tabela 25). Wykazano statystycznie istotną zależność ($p < 0,05$) pomiędzy wszystkimi zaprezentowanymi danymi. W większości przypadków wykazano wyższą korelację pomiędzy wskaźnikiem MoM MCA-PSV a bezwzględnym stężeniem hemoglobiny, niż poziomem hematokrytu. W każdym przypadku najniższą korelacją charakteryzowała się liczba RBC. Spośród przedstawionych w tabeli wskaźników MoM MCA-PSV, najwyższą wartość współczynnika korelacji dla każdego z analizowanych parametrów morfologii krwi płodu, uzyskano gdy za wartości prawidłowe MCA-PSV przyjęto model liniowy wyników dla populacji polskiej.

Tabela 25. Wyniki współczynników korelacji pomiędzy wskaźnikami MoM MCA-PSV (przy przyjęciu norm MCA-PSV wg różnych autorów) a bezwzględnymi parametrami morfologii krwi płodu. R – współczynnik korelacji Spearmana, p – poziom istotności statystycznej, N – liczba przypadków.

Parametr morfologii krwi płodu MoM MCA-PSV wg danego autora	Hb			RBC			Ht		
	R	p	N	R	p	N	R	p	N
POLSKA - Prezentowana praca (regresja wykładnicza)	-0,8178	0,0000	24	-0,7826	0,0000	22	-0,8076	0,0000	24
POLSKA - Prezentowana praca (regresja liniowa)	-0,8461	0,0000	24	-0,8165	0,0000	22	-0,8346	0,0000	24
USA (Mari) perinatology.com	-0,8279	0,0000	24	-0,8001	0,0000	22	-0,8150	0,0000	24
SZWAJCARIA (Kurmanavicius)	-0,8276	0,0000	23	-0,7935	0,0000	21	-0,8164	0,0000	23
NORWEGIA (Ebbing)	-0,8007	0,0000	21	-0,7631	0,0001	19	-0,8016	0,0000	21
BRAZYLIA (Nardoza)	-0,7657	0,0001	19	-0,7105	0,0014	17	-0,7634	0,0001	19
AZJA (Tan)	-0,7891	0,0000	24	-0,7509	0,0001	22	-0,7749	0,0000	24
RUMUNIA (Andrei)	-0,7560	0,0002	19	-0,7093	0,0014	17	-0,7564	0,0002	19

6. Dyskusja

Na przestrzeni ostatnich kilku dekad dokonał się ogromny postęp w możliwościach diagnostycznych i terapeutycznych w położnictwie. Ten skok byłby niemożliwy gdyby nie dynamiczny rozwój ultrasonografii. Dzięki wykorzystaniu tej metody obrazowania, zarówno diagnostyka prenatalna jak i leczenie wewnątrzmaciczne niedokrwistości płodu zostały zrewolucjonizowane. Zastosowanie w tej patologii ciąży badania ultrasonograficznego, pozwala na wcześniejsze rozpoznanie istniejącego zagrożenia oraz umożliwia znaczną redukcję liczby procedur inwazyjnych, co istotnie zmniejsza niebezpieczeństwo powikłań.

Porównując wyniki badań MCA-PSV płodu w różnych populacjach, stwierdzono, że parametr ten wykazuje zmienność populacyjną [36]. Czynniki klimatyczne, rasowe, warunki życia, sposób odżywiania się, stres oraz różne inne uwarunkowania, mogą przyczyniać się do występowania różnic pomiędzy poszczególnymi populacjami. Krzywe referencyjne dla MCA-PSV płodu zostały opracowane w różnych populacjach [2,25,41,59,85], natomiast w praktyce klinicznej powszechnie wykorzystuje się normę MCA-PSV, opracowaną przez Mari i wsp. [48,49].

W przedstawionej pracy doktorskiej podjęto próbę określenia prawidłowych wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w polskiej populacji ciężarnych. Jest to pierwsze badanie tego typu. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat przeprowadzenia podobnego badania w populacji polskiej a także wśród populacji słowiańskiej.

W literaturze podkreśla się, że metoda badania MCA-PSV, po 35. tygodniu ciąży posiada dużo mniejszą skuteczność w przewidywaniu niedokrwistości płodu [97]. W przedstawionej rozprawie doktorskiej, w grupie pacjentek poddanych zabiegowi kordocentezy, wiek ciążowy mieścił się w przedziale od 18. do 34. tygodnia ciąży, co stanowi okres ciąży w którym badanie MCA-PSV charakteryzuje się największą skutecznością diagnostyki niedokrwistości u płodu.

Analizując piśmiennictwo dotyczące prawidłowych wartości MCA-PSV płodu, można zauważyć, że opublikowane krzywe referencyjne dla MCA-PSV

w różnych populacjach różnią się od siebie nie tylko wartościami, ale i kształtem (wykładniczym, liniowym, wielomianu). W poprzednim rozdziale rozprawy doktorskiej przedstawiono nomogramy dla MCA-PSV, określone w sześciu różnych populacjach. Wykres normy powszechnie wykorzystywanej klinicznie (wg Mari i wsp.) ma kształt wykładniczy, podobnie jak nomogram opracowany w populacji brazylijskiej. Nomogram w populacji norweskiej ma kształt wielomianu. Nomogramy w populacji szwajcarskiej, azjatyckiej mają przebieg liniowy.

Przedstawione w rozprawie prawidłowe wartości MCA-PSV płodu w polskiej populacji ciężarnych, zostały opracowane przy zastosowaniu dwóch modeli - wykładniczego oraz liniowego. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że model wykładniczy w lepszy sposób opisuje dane mediany pomiarów MCA-PSV, dla danego tygodnia ciąży niż model liniowy ($R^2 = 0,9614$ vs $0,925$). W celu określenia, który z opracowanych modeli wartości prawidłowych MCA-PSV w populacji polskiej, cechuje się większą mocą diagnostyczną w rozpoznawaniu niedokrwistości płodu, przeprowadzono dalsze analizy. Równocześnie zbadano wpływ zastosowania norm MCA-PSV określonych przez innych autorów.

W części pracy doktorskiej, poświęconej określeniu przydatności pomiarów MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości zweryfikowano, zastosowanie której z norm MCA-PSV, wiąże się z największą czułością i specyficznnością rozpoznawania istotnej anemii płodu. Punkty odcięcia były zgodne z pracą Mari i wsp.[49] i zostały opisane szczegółowo w rozdziale wyniki. Obliczenia czułości i specyficznności badania uzyskano, analizując grupę 24 ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy, z potwierdzonym wynikiem morfologii krwi płodu z punkcji naczynia pępowinowego. Po wykonaniu analizy stwierdzono, że wyniki wskaźników prognostycznych, w zależności od zastosowanej normy MCA-PSV wg różnych autorów, kształtują się w dosyć szerokim zakresie (czułość testu 57,14%-91,67%, specyficznność testu 75%-91,67%).

W pracy Bartha i wsp. również podjęto próbę ustalenia, jaki wpływ na rezultaty diagnostyki niedokrwistości płodu, ma przyjęcie różnych wartości referencyjnych MCA-PSV, zaproponowanych przez 8 różnych autorów [5]. Dokonano analizy danych 60 ciężarnych, z grupy ryzyka niedokrwistości płodu.

Odnotowano wyraźne różnice między wynikami czułości testu (zakres 7,14%-91,78%) oraz wynikami specyficzności (zakres 31,25%-96,88%), w zależności od przyjętej normy MCA-PSV. Najlepsze wyniki mocy diagnostycznej badania osiągnięto przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Mari i wsp. Czułość badania MCA-PSV wyniosła 81,54%, natomiast specyficzność 67,86%, dla przypadków poniżej 35. tygodnia ciąży.

Dyskusję może budzić pytanie, czy w przypadku diagnostyki niedokrwistości płodu, przy wykorzystaniu metody pomiaru MCA-PSV, korzystniejsze jest uzyskanie mniejszej liczby wyników fałszywie negatywnych czy też fałszywie pozytywnych? Aby odpowiedzieć na to pytanie, należy najpierw omówić, co może oznaczać potencjalny wynik fałszywie negatywny lub fałszywie pozytywny. Wynik fałszywie negatywny oznacza, że występuje istotna anemia płodu, czyli taka, przy której niezbędna jest terapia transfuzją krwi a wynik pomiaru MCA-PSV ($<1,50$ MoM) nie wskazuje na konieczność wykonania nakłucia naczynia pępowinowego. Grozi to opóźnieniem terapii płodu, co może skutkować obumarciem ciąży. Tak więc, każdy wynik fałszywie negatywny, może wiązać się z najpoważniejszymi konsekwencjami. Natomiast wynik fałszywie pozytywny oznacza, że nie występuje istotna anemia płodu a wynik pomiaru MCA-PSV ($\geq 1,50$ MoM) wskazuje na konieczność wykonania kordocentezy. Wykonanie nakłucia naczynia pępowinowego w przypadku, gdy wynik morfologii krwi płodu jest prawidłowy, może skutkować powikłaniami przeprowadzonego zabiegu a te są stosunkowo rzadkie. Podsumowując, w przypadku metody badania MCA-PSV płodu, w diagnostyce niedokrwistości, liczba wyników fałszywie negatywnych, powinna być możliwie najmniejsza (oczekuje się maksymalnej czułości badania).

W analizowanej grupie 24 ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy, przy przyjęciu punktów odcięcia wg Mari i wsp., najmniej wyników fałszywie negatywnych (jeden wynik), uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV azjatyckiej. Po dwa wyniki fałszywie negatywne uzyskano przy zastosowaniu modelu wykładniczego wyników dla populacji polskiej oraz rumuńskiej normy MCA-PSV. Po trzy wyniki fałszywie negatywne, uzyskano przy zastosowaniu norm MCA-PSV z pozostałych, uwzględnionych do analizy populacji.

W analizowanej grupie ciężarnych, najmniej wyników fałszywie pozytywnych uzyskano przy zastosowaniu brazylijskiej normy MCA-PSV (jeden wynik). Po dwa wyniki fałszywie pozytywne uzyskano przy zastosowaniu norweskiej i szwajcarskiej normy MCA-PSV oraz modelu liniowego wyników dla populacji polskiej. Po trzy wyniki fałszywie pozytywne, uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV powszechnie obowiązującej Mari i wsp., normy azjatyckiej, normy rumuńskiej oraz modelu wykładniczego wyników dla populacji polskiej.

Najwyższy wynik czułości badania, przy tylko jednym wyniku fałszywie negatywnym, uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Tan (azjatyckiej). Wysoka czułość badania przy zastosowaniu tej normy, wiąże się z tym, że określone w tej populacji nomogramy MCA-PSV charakteryzują się najniższymi wartościami MCA-PSV po 31. tygodniu ciąży. W związku z tym, we wspomnianym okresie ciąży, punkt odcięcia 1,50MoM MCA-PSV charakteryzuje się niższą wartością, niż w pozostałych populacjach i rozpoznanie istotnej anemii płodu może nastąpić przy niższych wartościach MCA-PSV, ale z ryzykiem większej liczby wyników fałszywie pozytywnych. Jednak na podstawie przedstawionych w pracy danych z grupy 24 kordocentez, liczba wyników fałszywie pozytywnych, przy zastosowaniu normy azjatyckiej, pozostała na takim samym poziomie jak przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Mari i wsp. (trzy wyniki FP).

Najwyższy wynik specyficzności badania, przy jednym wyniku fałszywie pozytywnym uzyskano przy wykorzystaniu normy MCA-PSV opracowanej w Brazylii [59]. Wysoka specyficzność badania przy zastosowaniu tej normy wynika z tego, że określony w tej populacji nomogram MCA-PSV, charakteryzuje się najwyższymi wartościami MCA-PSV poniżej 27. tygodnia i powyżej 32. tygodnia ciąży. W związku z tym, w tym okresie ciąży, punkt odcięcia 1,50MoM MCA-PSV charakteryzuje się wyższą wartością, niż w pozostałych populacjach i wykluczenie istotnej anemii płodu może nastąpić przy wyższych wartościach MCA-PSV, ale z ryzykiem większej liczby wyników fałszywie negatywnych, co skutkuje mniejszą czułością badania. Na podstawie przedstawionych w pracy danych z 24 kordocentez, liczba wyników fałszywie negatywnych, przy zastosowaniu brazylijskiej normy MCA-PSV, pozostała na

takim samym poziomie jak przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Marii wsp. (trzy wyniki FN).

Podsumowując, dla danych z grupy 24 kordocentez, w przypadku zastosowania modelu wykładniczego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej, uzyskano jeden wynik fałszywie negatywny mniej niż gdy zastosowano normę MCA-PSV wg Mari i wsp. (powszechnie stosowaną). Przekłada się to na lepszy wynik czułości badania, przy takiej samej liczbie wyników fałszywie pozytywnych. Jedynie zastosowanie normy MCA-PSV wg Tan (azjatyckiej), wiąże się z lepszym wynikiem czułości badania, niż zastosowanie modelu wykładniczego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej z przedstawionej pracy.

W przypadku zastosowania modelu liniowego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej, uzyskano jeden wynik fałszywie pozytywny mniej, niż gdy zastosowano normę MCA-PSV wg Mari i wsp. Przekłada się to na lepszy wynik specyficzności badania, przy takiej samej liczbie wyników fałszywie negatywnych. Jedynie zastosowanie normy MCA-PSV dla populacji brazylijskiej, wiąże się z lepszym wynikiem specyficzności badania niż zastosowanie modelu liniowego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej z przedstawionej pracy.

Warto zwrócić uwagę, że przy analizie wartości diagnostycznej badania MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości, w zależności od przyjęcia normy MCA-PSV z danej populacji, wszystkie wyniki fałszywie negatywne i fałszywie pozytywne dotyczą 6 przypadków z grupy 24 kordocentez. W pozostałych przypadkach, nie pojawiły się trudności diagnostyczne i w każdym przypadku istotna niedokrwistość lub nieobecność istotnej niedokrwistości płodu, została właściwie zróżnicowana za pomocą punktu odcięcia 1,50MoM MCA-PSV, niezależnie od przyjętej normy MCA-PSV. Trudności diagnostyczne pojawiały się w przypadkach nr 6, 7, 11 – wyniki fałszywie negatywne oraz w przypadkach nr 13, 15, 17 – wyniki fałszywie pozytywne. Opis tych przypadków może wyjaśnić, dlaczego mogły one zostać niewłaściwie zakwalifikowane a także wyjaśnić, dlaczego badanie MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości posiada wyższą wartość diagnostyczną, niż wynika to z danych liczbowych.

Omówienie przypadków ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy.

W przypadku nr 6, wynik testu diagnostycznego prawdziwie pozytywny, został osiągnięty tylko, gdy zastosowano model wykładniczy wyników MCA-PSV dla populacji polskiej oraz normy MCA-PSV wg Tan (azjatycka) i wg Andrei (rumuńska). Przy zastosowaniu pozostałych norm, wynik badania MCA-PSV wynosi poniżej 1,50MoM, co przekłada się na wynik fałszywie negatywny. W postępowaniu diagnostycznym w szpitalu, kierowano się normą MCA-PSV wg Mari i wsp. (dotyczy to wszystkich opisanych przypadków, dlatego w poniższych opisach, w nawiasach kwadratowych podano wyniki wskaźnika MoM przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Mari i wsp.). W tym przypadku pomimo, że wartość wskaźnika MoM była graniczna (=1,48), to poziom przeciwciał anti-RhD był wysoki (1:64) oraz dodatkowo występowały przeciwciała anti-RhC, co było podstawą do wykonania kordocentezy. Morfologia krwi płodu potwierdziła ciężką niedokrwistość.

W przypadku nr 7, wynik testu diagnostycznego jest fałszywie negatywny, przy zastosowaniu normy ze wszystkich analizowanych populacji. Pomimo, że wartość wskaźnika MoM była graniczna (=1,44), to istniał obrzęk płodu oraz poziom przeciwciał anti-RhD był bardzo wysoki (1:512), dodatkowo występowały przeciwciała anti-RhC, co było podstawą do wykonania kordocentezy. Morfologia krwi płodu potwierdziła ciężką niedokrwistość.

W przypadku nr 11, wynik testu diagnostycznego prawdziwie pozytywny, został osiągnięty tylko przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Tan (azjatyckiej). Przy zastosowaniu pozostałych norm, wynik badania MCA-PSV wynosi poniżej 1,50MoM. W postępowaniu diagnostycznym, zgodnie ze standardem kontrolowano miano przeciwciał odpornościowych oraz wykonywano regularnie pomiary MCA-PSV. W trakcie 4 tygodniowej obserwacji, stwierdzono narastanie miana przeciwciał (anti-RhD 1:512) oraz obserwowany trend MCA-PSV wykazał nagły wzrost do granicznych wartości (1,44MoM). Wykonano kordocentezę i stwierdzono niedokrwistość średniego stopnia.

Opis tych trzech szczególnych przypadków obrazuje, że w praktyce klinicznej, wykonanie nakłucia naczynia pępowinowego wykonuje się także przy granicznych wartościach wskaźnika MCA-PSV, gdy istnieją dodatkowe

przesłanki sugerujące możliwość występowania niedokrwistości płodu. Pomimo, że wynik czułości badania, dla normy powszechnie stosowanej - wg Mari i wsp., w badanej grupie wynosi 75%, to przy uwzględnieniu całości obrazu klinicznego, razem z pomiarami MCA-PSV, można stwierdzić, że we wszystkich zaprezentowanych przypadkach istotna niedokrwistość płodu została zdiagnozowana we właściwy sposób. W pracy Sainio i wsp., stwierdzono, że ustalenie wskazań do kordocentezy jedynie na podstawie wyniku pomiaru $MCA-PSV \geq 1,50MoM$ oraz nieuwzględnienie całości obrazu klinicznego (poziomu przeciwciał odpornościowych, wywiadu położniczego, trendu MCA-PSV), wiąże się ze wzrostem liczby przypadków fałszywie negatywnych [73].

W przypadku nr 13, wynik testu diagnostycznego prawdziwie negatywny, został osiągnięty przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Kurmanaviciusa, Nardozy, Ebbing oraz modelu liniowego wyników dla populacji polskiej. Przy zastosowaniu pozostałych norm, wynik badania MCA-PSV wynosi powyżej 1,50MoM, co przekłada się na wynik fałszywie pozytywny. Analiza przypadku pokazuje, że wynik pomiaru MCA-PSV sugerował istnienie istotnej niedokrwistości płodu, wymagającej przeprowadzenia kordocentezy. Wynik morfologii krwi płodu z punkcji naczynia pępowinowego wskazywał na istnienie anemii (poziom Hb 9,60 g/dl – wskaźnik MoM stężenia Hb = 0,74), ale tylko lekkiego stopnia wg Mari i wsp., bez wskazań do transfuzji dopłodowej. Zatem w tym przypadku, według założeń Mari i wsp., powinno się oczekiwać wynik $MCA-PSV < 1,50MoM$. Niemniej warto zwrócić uwagę na fakt, że według norm hemoglobiny płodu według Nicolaidesa, uzyskany w tym przypadku wynik, jest równy deficytowi $Hb < 4$ g/dl dla danego wieku ciążowego, co świadczy o umiarkowanej niedokrwistości płodu, wymagającej przeprowadzenia kordocentezy. Dalsza analiza przypadku pokazuje, że morfologia krwi płodu po porodzie była prawidłowa, noworodek był w stanie dobrym, zatem można stwierdzić, że w trakcie ciąży nie istniała konieczność wykonania transfuzji wewnątrzpłodowej.

W przypadku nr 15, wynik testu diagnostycznego jest fałszywie pozytywny, przy zastosowaniu normy MCA-PSV ze wszystkich analizowanych populacji. Wartość wskaźnika MoM MCA-PSV była wysoka (=1,95), co sugerowało ciężką niedokrwistość, chociaż ostatecznie na podstawie wyniku

morfologii krwi stwierdzono łagodną niedokrwistość. Jednak jest to przypadek szczególny. Była to ciąża bliźniacza z rozpoznaniem późnym zespołem TTTS, gdzie doszło do obumarcia płodu dawcy a u płodu biorcy stwierdzono cechy niewydolności krążenia i kardiomegalię. W przypadku niewydolności krążenia, dochodzi do redystrybucji krwi do krążenia mózgowego jako efekt oszczędzania mózgu (ang. „brain sparing effect”) i obserwuje się wysokie wartości MCA-PSV pomimo, że niedokrwistość u płodu może nie występować. W takim wypadku wysokie wartości MCA-PSV świadczą raczej o złym stanie ogólnym płodu. Niemniej w tym przypadku, wobec realnego zagrożenia niedokrwistością płodu, w celu jej wykluczenia należało wykonać kordocentezę.

W przypadku nr 17, wynik testu diagnostycznego prawdziwie negatywny, został osiągnięty tylko przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Nardozy. Przy zastosowaniu pozostałych norm, wynik badania MCA-PSV wynosi powyżej 1,50MoM, co przekłada się na wynik fałszywie pozytywny. Analiza przypadku pokazuje, że wynik pomiaru MCA-PSV (=1,56MoM) sugerował obecność istotnej niedokrwistości płodu, jednak nie potwierdził tego wynik morfologii krwi uzyskany z punkcji naczynia pępowinowego (poziom Hb 10,60 g/dl - wskaźnik MoM stężenia Hb = 0,85). Jednakże w tym przypadku, wobec istnienia konfliktu serologicznego i narastającej niedokrwistości płodu w trakcie dalszych hospitalizacji, do chwili ukończenia ciąży wykonano wielokrotnie transfuzję dopłodową. Pomimo, że przy zastosowaniu większości z analizowanych norm MCA-PSV, wynik testu diagnostycznego był fałszywie pozytywny podczas pierwszej kordocentezy, to w tym przypadku, w trakcie dalszej obserwacji rozwinęła się choroba hemolityczna płodu.

W omówionych powyżej trzech przypadkach ciężarnych, na podstawie danych liczbowych (wyniku pomiaru MCA-PSV oraz stężenia hemoglobiny płodu), wynik testu diagnostycznego był fałszywie pozytywny przy zastosowaniu większości z analizowanych norm MCA-PSV. Jednak analiza przypadków pokazuje, że były to przypadki szczególne i można uznać, że wynik pomiaru MCA-PSV we właściwy sposób sugerował istnienie zagrożenia i należało wykonać nakłucie naczynia pępowinowego celem potwierdzenia morfologii krwi płodu. Niemniej należy stwierdzić, że wzrost MCA-PSV może być spowodowany również innymi czynnikami niż niedokrwistość płodu, co ma wpływ na zmniejszenie specyficzności tego badania.

Wybór optymalnego punktu odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV

Kwestia wyboru właściwego punktu odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV, w diagnostyce niedokrwistości płodu, stanowiła cel badania wielu autorów. W pracy Kariny Engel i wsp. wysunięto wniosek, że należy rozważyć przyjęcie niższej wartości wskaźnika MoM MCA-PSV (1,215) niż powszechnie przyjęta (1,50) w diagnostyce niedokrwistości płodu (definiowanej jako stężenie $Hb \leq 12g/dl$), co wiązało się ze 100% czułością i 72% specyficznnością badania [27]. Badanie Özgüra Derena sugeruje, że przyjęcie punktu odcięcia MCA-PSV $\geq 1,35MoM$ wiąże się ze 100% czułością badania, przy 18% wyników fałszywie pozytywnych w diagnozowaniu niedokrwistości płodu (przy założeniu punktu odcięcia stężenia $Hb \leq 0,60MoM$) [19]. Carbonne i wsp. stwierdzili, że przyjęcie punktu odcięcia MCA-PSV $\geq 1,50MoM$, wiązało się z 86,7% czułością badania, przy 12,2% wyników fałszywie pozytywnych w diagnostyce ciężkiej niedokrwistości płodu (definiowanej jako $Hb < 0,55MoM$) [13]. Przegląd systematyczny Pretlove i wsp., jest zbiorem wyników 25 publikacji na temat wartości diagnostycznej badania dopplerowskiego w rozpoznawaniu niedokrwistości płodu [70]. Spośród wszystkich analizowanych publikacji, najczęściej wykorzystywanymi punktami odcięcia były wartości 1,50MoM MCA-PSV oraz 0,55MoM stężenia Hb płodu.

W przedstawionej pracy doktorskiej, również podjęto próbę znalezienia najlepszego punktu odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu. Nasuwa się więc pytanie, jaki punkt odcięcia byłby najkorzystniejszy? W piśmiennictwie podkreśla się, że najlepszym punktem odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV w diagnostyce istotnej niedokrwistości płodu, byłby taki punkt, który charakteryzowałby się 100% czułością badania, przy możliwie wysokiej specyficznności. Daje to wykonującemu pomiar MCA-PSV pewność, że każdy przypadek z istotną niedokrwistością płodu, zostanie prawidłowo zdiagnozowany. W przywołanej poprzednio pracy Mari i wsp. wykazano, że badanie MCA-PSV przy punkcie odcięcia 1,50 MoM MCA-PSV, charakteryzowało się 100% czułością z 12% odsetkiem wyników fałszywie pozytywnych w diagnozowaniu niedokrwistości płodu (definiowanej jako stężenie $Hb < 0,65 MoM$ wg Mari i wsp.) [49].

W celu określenia optymalnego punktu odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV, na podstawie materiału własnego, przeprowadzono analizę krzywych ROC. Uzyskano tabele prezentujące potencjalne punkty odcięcia w diagnostyce niedokrwistości płodu (definiowanej jako stężenie Hb<0,65MoM wg Mari i wsp.). Analizę przeprowadzono przyjmując wartości referencyjne MCA-PSV różnych autorów.

Na podstawie analizy materiału własnego stwierdza się, że osiągnięcie 100% czułości badania, wiąże się ze znacznym spadkiem specyficzności (najwyższy wynik specyficzności wynoszący 58,33%, przy pięciu wynikach FP, uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV wg Mari i wsp., modelu liniowego wyników dla populacji polskiej oraz normy Kurmanaviciusa – tabela 23). Jak wcześniej wspomniano, w praktyce klinicznej uzyskanie 100% czułości tego badania jest bardzo pożądane. Dlatego, pomimo stosunkowo niskiej specyficzności, wiedza na temat punktu odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV, charakteryzującego się nieobecnością wyników fałszywie negatywnych, jest bardzo cenna. Warto podkreślić, że w przypadku zastosowania normy MCA-PSV wg Mari i wsp., niewielkie obniżenie punktu odcięcia do poziomu 1,44MoM, charakteryzuje się 100% czułością badania. Przy zastosowaniu wyników własnych dla populacji polskiej 100 % czułość badania uzyskano przy punkcie odcięcia 1,43MoM - model wykładniczy oraz przy 1,40MoM - model liniowy.

W wielu publikacjach, autorom również nie udało się uzyskać 100% czułości badania MCA-PSV przy punkcie odcięcia 1,50MoM. W pracy Bartha i wsp. stwierdzono, że punkt odcięcia wskaźnika MoM MCA-PSV charakteryzujący się 100% czułością badania, udaje się uzyskać dopiero przy niskich wartościach specyficzności, dlatego teoretycznie optymalnym punktem odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV, byłby taki punkt, który charakteryzowałby się możliwie najwyższą czułością i specyficznością [5]. Należy jednak pamiętać, że metoda badania MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości, w założeniu powinna charakteryzować się jak najwyższą czułością, dlatego niekorzystne jest zwiększenie specyficzności kosztem spadku czułości badania.

W nawiązaniu do wymienionej pracy Bartha i wsp., na podstawie materiału własnego, wyznaczono optymalny punkt odcięcia wskaźnika MoM

MCA-PSV, oddzielnie dla każdej z analizowanych norm MCA-PSV wg różnych autorów. Na podstawie wyników, można stwierdzić, że dla każdej z analizowanych norm MCA-PSV, uzyskano inny optymalny punkt odcięcia dla wskaźnika MoM. Ponadto zakres uzyskanych wartości jest stosunkowo szeroki (1,39–1,53MoM). Spośród wszystkich poddanych analizie norm MCA-PSV, najlepsze właściwości diagnostyczne (jeden wyniki FN, trzy wyniki FP), uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV azjatyckiej wg Tan oraz rumuńskiej wg Andrei. Na podstawie wyników własnych, można stwierdzić, że przyjęcie punktu odcięcia MCA-PSV na poziomie 1,48MoM, w przypadku wykorzystywanej powszechnie w postępowaniu klinicznym normy Mari i wsp., może wiązać się z lepszymi rezultatami diagnostycznymi, niż zastosowanie punktu 1,50MoM. Pomimo to, wyniki czułości i specyficzności badania, przy obniżeniu punktu odcięcia do 1,48MoM w przypadku normy Mari i wsp., pozostają na takim samym poziomie, co przy punkcie odcięcia 1,51MoM i zastosowaniu modelu wykładniczego prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji lub 1,43MoM i zastosowaniu modelu liniowego. Na podstawie analizy materiału własnego stwierdza się, że przyjęcie za piśmiennictwem niższej wartości punktu odcięcia dla MCA-PSV niż 1,48MoM (w przypadku normy MCA-PSV wg Mari i wsp.), nie wiąże się lepszą wartością diagnostyczną.

Reasumując, na podstawie przeprowadzonej analizy udowodniono, że 100% czułość badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu, udaje się uzyskać dopiero przy niskich wartościach specyficzności. Dlatego wydaje się, że optymalnym punktem odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV jest taki punkt, który charakteryzuje się możliwie najwyższą czułością i specyficznością.

Na podstawie analizy krzywych ROC, oprócz uzyskania proponowanych punktów odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV, otrzymano również parametr powierzchni pola pod krzywą ROC (AUC). Analiza pola pod krzywą ROC, prezentuje, że zarówno model wykładniczy jak i liniowy prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji, charakteryzują się bardzo dobrymi właściwościami diagnostycznymi w przewidywaniu niedokrwistości płodu. Najwyższą wartość AUC, spośród wszystkich analizowanych populacji, uzyskano przy zastosowaniu modelu liniowego wyników dla populacji polskiej (0,917). Nieco niższe wartości AUC uzyskano dla normy powszechnie

stosowanej Mari i wsp. (0,910) oraz normy szwajcarskiej Kurmanaviciusa (0,902). Wartość AUC dla modelu wykładniczego wyników dla populacji polskiej, wykazała identyczny wynik, co dla normy azjatyckiej (0,896). Najniższą wartość AUC uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV określonej w populacji brazylijskiej (0,798) oraz rumuńskiej (0,845). Wszystkie wyniki AUC wskazują, że każda z przedstawionych norm MCA-PSV, z różnych populacji, może być potencjalnie zastosowana do diagnostyki niedokrwistości płodu. W zacytowanej wcześniej pracy Bartha i wsp. w analizowanej grupie ciężarnych, najwyższą wartość AUC = 0,810 uzyskano przy zastosowaniu normy MCA-PSV powszechnie obowiązującej Mari i wsp. [5].

W przedstawionej pracy doktorskiej, analiza pola powierzchni pod krzywymi ROC nie wykazała istnienia statystycznie istotnej różnicy pomiędzy poszczególnymi wartościami AUC ($p > 0,05$). W pracy Bartha i wsp. również stwierdzono, że wartość pola powierzchni pod krzywymi ROC, w przypadku zastosowania różnych wartości referencyjnych MCA-PSV, nie różniła się istotnie statystycznie [5]. Niemniej, zarówno w przedstawionej pracy doktorskiej, jak i w cytowanej pracy Bartha i wsp. zastosowanie różnych wartości referencyjnych MCA-PSV miało duży wpływ na wyniki czułości i specyficzności badania.

Wybór optymalnego punktu odcięcia w zależności od stopnia nasilenia niedokrwistości płodu.

Dotychczas w pracy przedstawiono kwestię wyboru właściwego punktu odcięcia dla wskaźnika MoM MCA-PSV w diagnostyce istotnej niedokrwistości płodu (definiowanej jako stężenie $Hb \leq 0,65$ MoM wg Mari i wsp.). W piśmiennictwie porusza się także temat wyboru optymalnego punktu odcięcia, w zależności od stopnia nasilenia niedokrwistości płodu. W publikacjach spotyka się następujące punkty odcięcia w zależności od stopnia nasilenia niedokrwistości płodu:

- stężenie Hb płodu poniżej 0,84 MoM; 0,65 MoM; 0,60 MoM; 0,55 MoM wartości należnej dla danego wieku ciążowego wg Mari i wsp.
- deficyt stężenia Hb płodu powyżej 2 g/dl, 4 g/dl, 5 g/dl, 6 g/dl wartości należnej dla danego wieku ciążowego wg Nicolaidesa

- bezwzględne stężenie Hb płodu poniżej 12g/dl
- bezwzględny poziom Ht płodu poniżej 30%.

W pracy Reisa i wsp. porównano przyjęcie różnych kryteriów rozpoznania ciężkiej anemii płodu (stężenie Hb < 0,55 MoM, deficyt Hb \geq 5g/dl, deficyt Hb >7g/dl) na wyniki okołoporodowe płodów z alloimmunizacją (śmiertelność okołoporodowa, obrzęk płodu, kwasica płodu) [71]. Wysłano wniosek, że punkt odcięcia deficytu Hb \geq 5g/dl jest najlepszym kryterium rozróżniającym płody ze złym wynikiem okołoporodowym.

W kolejnym etapie pracy, poddano analizie kwestię, jaki wpływ na wartość diagnostyczną badania MCA-PSV ma przyjęcie różnych punktów odcięcia, w zależności od stopnia nasilenia niedokrwistości płodu. Do analizy zastosowano stały punkt odcięcia 1,50MoM MCA-PSV oraz różne punkty odcięcia, w zależności od kryteriów niedokrwistości płodu, zaproponowanych w piśmiennictwie.

Powstaje jednak pytanie, jaki stopień niedokrwistości płodu, powinien być wykryty za pomocą badania MCA-PSV. Wydaje się, że punkt odcięcia stężenia Hb \leq 0,65 MoM, zaproponowany przez Mari i wsp., jest optymalny, gdyż pozwala na wykrycie anemii umiarkowanej i ciężkiej, które kwalifikują się do leczenia. Natomiast przypadki łagodnej niedokrwistości płodu, nie wymagają leczenia transfuzją wewnątrzmaciczną. W piśmiennictwie zastosowano również punkt odcięcia deficytu stężenia Hb płodu powyżej 5 g/dl wartości należnej dla danego wieku ciążowego wg Nicolaidesa. W analizowanym materiale punkty odcięcia Hb \leq 0,65 MoM i deficyt Hb \geq 5g/dl, charakteryzowały się takimi samymi wynikami diagnostycznymi badania.

Należy przypuszczać, że przyjęcie punktu odcięcia, który pozwalałby na rozpoznanie tylko ciężkiej anemii płodu, będzie wiązać się ze wzrostem czułości badania. Jednak w analizowanym materiale, zastosowanie punktu odcięcia dla stężenia Hb płodu \leq 0,55 MoM (oraz drugiego punktu odcięcia równego 1,50MoM MCA-PSV), wiązało się z niewielkim wzrostem czułości badania, jedynie przy zastosowaniu modelu wykładniczego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej oraz normy MCA-PSV wg Andrei (Tabela 24). W przypadku zastosowania norm MCA-PSV z pozostałych populacji, wyniki czułości pozostały na podobnym poziomie lub uległy zmniejszeniu, natomiast

specyficzność badania w przypadku wszystkich poddanych analizie populacji uległa zmniejszeniu. Reasumując, w analizowanej grupie 24 płodów, obniżenie punktu odcięcia dla stężenia Hb płodu, tak aby badanie MCA-PSV wykrywało tylko przypadki ciężkiej anemii, nie zwiększyło dokładności badania w żadnym przypadku a udało się uzyskać jedynie niewielki wzrost czułości badania tylko w dwóch przypadkach.

Przyjęcie punktu odcięcia, który pozwalałby na rozpoznanie również łagodnej anemii, wydaje się nie mieć większego znaczenia klinicznego, ponieważ niedokrwistość lekkiego stopnia nie wymaga leczenia. W analizowanym materiale przyjęcie punktu odcięcia równego 0,84MoM Hb (oraz drugiego punktu odcięcia równego 1,50MoM MCA-PSV), wiązało się ze spadkiem czułości badania ale z dużym wzrostem specyficzności przy zastosowaniu norm MCA-PSV wszystkich populacji. Oznacza to, że co prawda punkt odcięcia 1,50MoM MCA-PSV odznacza się gorszą zdolnością do równoczesnego rozpoznania łagodnej anemii, jednak z dużym prawdopodobieństwem pozwala na wykluczenie przypadków u których stężenie hemoglobiny jest prawidłowe. W analizowanym materiale punkty odcięcia dla stężenia $Hb \leq 0,65\text{MoM}$ oraz poziom $Ht \leq 30\%$, charakteryzowały się takimi samymi wynikami diagnostycznymi badania.

Kolejnym elementem analizy było użycie za piśmiennictwem innego proponowanego punktu odcięcia (deficyt stężenia Hb płodu $\geq 4\text{g/dl}$ wartości należącej dla danego wieku ciążowego wg Nicolaidesa), który również pozwala na wykrycie przypadków niedokrwistości umiarkowanej i ciężkiej. Przyjęcie innego kryterium definicji anemii umiarkowanej i ciężkiej przy jednoczesnym zastosowaniu innego modelu prawidłowych wartości hemoglobiny płodu (wg Nicolaidesa), spowodowało uzyskanie odmiennych wyników czułości i specyficzności badania MCA-PSV w stosunku do przyjęcia kryteriów wg Mari i wsp. (stężenie $Hb \leq 0,65\text{MoM}$). W przypadku zastosowania modelu wykładniczego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej, uzyskano wzrost czułości badania (do 84,62%) oraz specyficzności (do 81,82%) – Tabela 24. W przypadku zastosowania norm MCA-PSV wg Mari i wsp., Tan i wsp. oraz Andrei i wsp. również uzyskano lepsze wyniki mocy diagnostycznej testu, uzyskując wzrost czułości i specyficzności badania. W przypadku zastosowania modelu liniowego wyników MCA-PSV dla populacji polskiej, normy MCA-PSV

Kurmanaviciusa, Ebbing, Nardozzy uzyskano spadek czułości badania. Na podstawie wyników własnych, wydaje się, że zastosowanie kryterium istotnej niedokrwistości płodu wg Nicolaidesa (deficyt Hb płodu $\geq 4\text{g/dl}$ wartości należącej dla danego wieku ciążowego), może w części przypadków poprawić moc diagnostyczną badania MCA-PSV. Jednak ze względu na małą liczebność grupy własnej, potwierdzenie tego faktu, wymaga przeprowadzenia badań wieloośrodkowych.

Omówienie analizy korelacji

W ostatnim etapie pracy, na podstawie wyników pomiarów MCA-PSV płodów w grupie 24 ciężarnych poddanych zabiegowi kordocentezy oraz wyników morfologii krwi z punkcji naczynia pępowinowego, dokonano analizy korelacji pomiędzy obliczonymi wskaźnikami MoM MCA-PSV (przy przyjęciu norm MCA-PSV wg różnych autorów) a bezwzględnymi parametrami morfologii krwi płodu (Hb, RBC, Ht). Badanie miało na celu określenie, zastosowanie którego modelu prawidłowych wartości MCA-PSV charakteryzuje się najwyższą korelacją z parametrami morfologii krwi płodu oraz określenie, który z parametrów morfologii krwi płodu cechuje się najwyższą korelacją ze wskaźnikiem MoM MCA-PSV. Wykazano istotną statystycznie korelację pomiędzy wszystkimi analizowanymi parametrami morfologii krwi płodu (Hb, RBC, Ht) a wszystkimi analizowanymi wskaźnikami MoM MCA-PSV, niezależnie od przyjętej normy MCA-PSV. Wyniki potwierdzają, że każda z przedstawionych norm MCA-PSV z różnych populacji, może być potencjalnie użyta do oceny stopnia niedokrwistości płodu. W piśmiennictwie wskazuje się, że parametrem morfologii krwi płodu, który charakteryzuje się najwyższą korelacją ze wskaźnikiem MoM MCA-PSV jest stężenie hemoglobiny. Na podstawie wyników własnych, w większości przypadków najwyższą korelacją spośród parametrów morfologii krwi płodu (Hb, RBC, Ht), charakteryzowało się stężenie hemoglobiny, co potwierdza dane z piśmiennictwa. Najwyższą wartość współczynnika korelacji dla stężenia hemoglobiny płodu uzyskano, gdy za wartości prawidłowe MCA-PSV przyjęto model liniowy wyników dla populacji polskiej (współczynnik Spearmana: $R=-0,8461$). Gdy za wartości prawidłowe MCA-PSV przyjęto model wykładniczy wyników dla populacji polskiej współczynnik korelacji Spearmana wyniósł

$R=-0,8178$, który stanowi czwarty wynik spośród analizowanych modeli prawidłowych wartości MCA-PSV. Gdy za wartości prawidłowe MCA-PSV przyjęto model wg Mari i wsp. oraz Kurmanaviciusa i wsp., uzyskano zbliżone wyniki współczynnika korelacji Spearmana, odpowiednio $R=-0,8279$ i $R=-0,8276$, co stanowi drugi i trzeci wynik spośród analizowanych modeli prawidłowych wartości MCA-PSV.

Reasumując, na podstawie uzyskanych danych stwierdza się, że zastosowanie obu opracowanych modeli prawidłowych wartości MCA-PSV w populacji polskiej, charakteryzuje się bardzo wysoką korelacją pomiędzy wskaźnikiem MoM MCA-PSV a parametrami morfologii krwi płodu. Ponadto, zastosowanie modelu liniowego wyników MCA-PSV w polskiej populacji charakteryzuje się najwyższymi wartościami współczynnika korelacji, spośród wszystkich analizowanych norm MCA-PSV.

PODSUMOWANIE

Pierwszym celem przedstawionej rozprawy doktorskiej było określenie prawidłowych wartości MCA-PSV, w badaniu ultrasonograficznym, w polskiej populacji ciężarnych. Wyniki opracowano w postaci dwóch modeli – uzyskanych poprzez zastosowanie regresji wykładniczej oraz liniowej. Aby określić, który z uzyskanych modeli wartości prawidłowych MCA-PSV jest bardziej przydatny w diagnozowaniu niedokrwistości płodu, przeprowadzono analizę danych w grupie 24 ciężarnych, z grupy ryzyka niedokrwistości płodu, poddanych zabiegowi kordocentezy. Jednak na podstawie analizy danych w tej grupie, trudno jest jednoznacznie określić, który z przedstawionych modeli jest bardziej przydatny w diagnostyce niedokrwistości płodu. Dlatego, w rozprawie doktorskiej opisano dwa modele prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w polskiej populacji ciężarnych a dla ostatecznego potwierdzenia, który model charakteryzuje się korzystniejszymi właściwościami diagnostycznymi, należałoby przeprowadzić polskie, wieloośrodkowe badanie na płodach z grupy ryzyka niedokrwistości. Poniżej przedstawiono porównanie, mające na celu podsumowanie obu modeli prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji, na podstawie całości zebranego materiału:

- Współczynnik R^2 , określający dopasowanie modelu regresji do danych wyjściowych mediany MCA-PSV płodu, dla danego tygodnia ciąży,

w przypadku modelu wykładniczego wykazuje wyższą wartość, niż w przypadku modelu liniowego (0,9614 vs 0,925).

- W diagnostyce niedokrwistości płodu, przy założeniu punktów odcięcia wg Mari i wsp. (1,50MoM MCA-PSV oraz 0,65MoM stężenia Hb), oba modele charakteryzują się takimi samymi wynikami dokładności testu. Jednak model wykładniczy cechuje się korzystniejszym stosunkiem czułości do specyficzności.
- Model liniowy charakteryzuje się wyższą wartością pola pod krzywą ROC (AUC) w stosunku do modelu wykładniczego (0,917 vs 0,896).
- W przypadku punktów odcięcia MoM MCA-PSV, charakteryzujących się 100% czułością badania, model liniowy charakteryzuje się wyższą specyficznością w stosunku do modelu wykładniczego.
- Model liniowy cechuje się wyższymi wartościami współczynników korelacji pomiędzy parametrami morfologii krwi płodu a wskaźnikiem MoM MCA-PSV w stosunku do modelu wykładniczego.

Drugim celem rozprawy doktorskiej było ustalenie, czy wyniki MCA-PSV płodu uzyskane w polskiej populacji ciężarnych, różnią się od wyników uzyskanych przez innych badaczy, w innych populacjach. W realizacji tego celu, stworzono tabele oraz wykresy graficzne porównujące wyniki własne, z wynikami innych autorów. Potwierdzono występowanie różnic pomiędzy wynikami poszczególnych autorów. Stwierdzono, że nomogram dla MCA-PSV płodów w populacji brazylijskiej wg Nardozzy, w największym stopniu różni się od pozostałych nomogramów. Nomogram dla MCA-PSV płodów w populacji azjatyckiej wg Tan, cechuje się najniższymi wartościami od 31. tygodnia ciąży. Prawidłowe wartości MCA-PSV płodów w populacji polskiej, zaprezentowane w postaci dwóch modeli, nie odbiegają znacząco od danych uzyskanych w pozostałych poddanych analizie populacji.

Kolejny cel pracy zakładał ocenę przydatności pomiarów MCA-PSV płodu w przewidywaniu niedokrwistości. Analiza materiału własnego, pod postacią danych 24 płodów z grupy ryzyka niedokrwistości, wykazała, że badanie MCA-PSV charakteryzuje się wysoką czułością i specyficznością w diagnostyce anemii płodu.

Stwierdzono również, że uzyskane wyniki mocy diagnostycznej badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu różniły się, w zależności od przyjęcia normy MCA-PSV z różnych populacji, co potwierdza dane z piśmiennictwa.

Ostatnim celem przedstawionej rozprawy doktorskiej, było określenie, czy zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV płodu, charakteryzuje się większą skutecznością w diagnozowaniu niedokrwistości, niż normy powszechnie obowiązujące. Ten cel został zrealizowany poprzez analizę wyników mocy diagnostycznej testu, pola pod krzywą ROC oraz współczynników korelacji danych. Poniżej przedstawiono porównanie zastosowania do diagnostyki niedokrwistości płodu opracowanych prawidłowych wartości MCA-PSV w populacji polskiej w stosunku do zastosowania normy MCA-PSV powszechnie stosowanej, opracowanej przez Mari i wsp. [49] i określonej jako „złoty standard” w diagnostyce niedokrwistości płodu:

- W diagnostyce niedokrwistości płodu, przy założeniu punktów odcięcia wg Mari i wsp. (1,50 MoM MCA-PSV oraz 0,65 MoM stężenia Hb), zastosowanie obu modeli prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji, wiązało się z większą dokładnością badania, w stosunku do normy Mari i wsp. (79,17% vs 75%). Zastosowanie modelu wykładniczego wiązało się z wyższą czułością badania w stosunku do zastosowania normy MCA-PSV wg Mari i wsp. (83,33% vs 75%) przy takim samym poziomie specyficzności (75%). Zastosowanie modelu liniowego wiązało się z wyższą specyficznością badania w stosunku do zastosowania normy MCA-PSV wg Mari i wsp. (83,33% vs 75%) przy takim samym poziomie czułości (75%).
- Model liniowy prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji charakteryzuje się wyższą wartością pola pod krzywą ROC (AUC) w stosunku do normy Mari i wsp. (0,917 vs 0,910). Zastosowanie modelu wykładniczego charakteryzowało się niższą wartością pola pod krzywą ROC (0,896).
- W przypadku punktów odcięcia MoM MCA-PSV, charakteryzujących się 100% czułością badania, model liniowy charakteryzuje się taką samą specyficznością badania w stosunku do normy Mari i wsp. (58,33%), przy

niższej specyficzności badania gdy zastosowano model wykładniczy (41,67%).

- Zastosowanie modelu liniowego prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji ciężarnych, wiązało się z wyższymi wartościami współczynników korelacji pomiędzy wskaźnikiem MoM MCA-PSV a parametrami morfologii krwi płodu (Hb, RBC, Ht), w stosunku do normy Mari i wsp. Zastosowanie modelu wykładniczego charakteryzowało się niższymi wartościami współczynników korelacji.

W pracy podjęto także próbę ustalenia właściwych punktów odcięcia w diagnostyce niedokrwistości płodu, przy użyciu badania MCA-PSV. Na podstawie wyników własnych, można stwierdzić, że przyjęcie punktu odcięcia MCA-PSV na poziomie 1,48MoM, w przypadku wykorzystywanej powszechnie w postępowaniu klinicznym normy Mari i wsp., może wiązać się z lepszymi rezultatami diagnostycznymi, niż zastosowanie punktu 1,50MoM.

Podsumowując, niniejsza praca jest jednym z badań, która miała na celu opracowanie krzywej referencyjnej MCA-PSV płodów w populacji polskiej. Chociaż w celu potwierdzenia tezy o przewadze zastosowania lokalnej polskiej normy MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu, konieczne jest przeprowadzenia badań wielośrodkowych na terenie Polski, to na podstawie zgromadzonego materiału, stwierdza się istnienie korzystnych argumentów do poparcia tej tezy.

7. Wnioski

1. Opracowano prawidłowe wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w badaniu ultrasonograficznym pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży w polskiej populacji ciężarnych.
2. Badanie MCA-PSV płodu jest przydatnym narzędziem w diagnostyce niedokrwistości płodu i charakteryzuje się dużą mocą diagnostyczną.
3. Stwierdza się występowanie różnic, pomiędzy opracowanymi prawidłowymi wartościami MCA-PSV płodu w polskiej populacji ciężarnych a wynikami innych badaczy, w różnych populacjach.
4. Zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV może wiązać się z większą skutecznością diagnostyki niedokrwistości płodu, w stosunku do normy wg Mari (powszechnie wykorzystywanej klinicznie), jednak potwierdzenie tej tezy wymaga przeprowadzenia badań wieloośrodkowych na terenie Polski.
5. Konieczne są dalsze projekty badawcze, mające na celu ustalenie, który model (wykładniczy czy liniowy) prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w polskiej populacji, charakteryzuje się korzystniejszymi właściwościami diagnostycznymi.

8. Streszczenie

Wstęp

Wykorzystanie badania maksymalnej prędkości skurczowej (peak systolic velocity – PSV), w tętnicy środkowej mózgu (middle cerebral artery – MCA) płodu, umożliwiło nieinwazyjną diagnostykę niedokrwistości. W założeniach tej metody, w przypadku anemii płodu, wartość hematokrytu ulega zmniejszeniu, gęstość krwi maleje, co powoduje, że prędkość przepływu krwi w naczyniach rośnie. W ten sposób monitorując szybkość przepływu krwi w naczyniu, w badaniu ultrasonograficznym, można uniknąć inwazyjnych procedur oceny niedokrwistości płodu. W dostępnej literaturze sygnalizuje się istnienie rozbieżności pomiędzy różnymi populacjami w zakresie prawidłowych wartości MCA-PSV płodu. Tak powstała idea porównania wyników badania przeprowadzonego na polskiej populacji ciężarnych z wynikami innych badaczy w różnych populacjach.

Celem niniejszej pracy było:

1. Określenie prawidłowych wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w badaniu ultrasonograficznym pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży w polskiej populacji ciężarnych.
2. Ustalenie czy wyniki uzyskane w populacji polskiej różnią się od wyników uzyskanych przez innych badaczy, w innych populacjach.
3. Ocena przydatności pomiarów maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w diagnostyce niedokrwistości płodu.
4. Określenie czy zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV charakteryzuje się większą skutecznością w diagnostyce niedokrwistości płodu, niż normy powszechnie obowiązujące.

Materiał i metodyka

Analizie retrospektywnej poddano 1017 wyników, uzyskanych podczas rutynowych badań ultrasonograficznych w polskiej populacji białych ciężarnych. Badania zostały wykonane między 17. a 42. tygodniem ciąży pojedynczej, zgodnie ze standardami Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Pomiar przepływu krwi w tętnicy środkowej mózgu płodu zostały wykonane zgodnie z obowiązującymi zasadami, przez dwóch doświadczonych lekarzy. W celu

oceny dalszego przebiegu ciąży, porodu i stanu urodzeniowego noworodka, odszukano historie choroby badanych pacjentek oraz noworodków. Dalszej analizie poddano grupę 404 pacjentek wraz z noworodkami (gdzie dokumentacja medyczna była dostępna). Z analizowanej grupy wykluczono pacjentki z grupy wysokiego ryzyka – z rozpoznaniem cukrzycy, nadciśnienia tętniczego oraz porody zakończone przed 37. tygodniem ciąży. Wykluczono także noworodki, u których stwierdzono wady wrodzone, cechy infekcji wrodzonej oraz noworodki o urodzeniowej masie ciała poniżej 2500g, z punktacją w skali Apgar w 1. minucie poniżej 7 punktów. Po uwzględnieniu kryteriów wykluczających i po wybraniu przypadków między 18. a 39. tygodniem ciąży (ilość przypadków poniżej 18. i powyżej 39. tygodnia ciąży była zbyt mała), ostatecznej analizie poddano 280 wyników badań ultrasonograficznych (u 280 pacjentek). W oparciu o pakiet statystyczny, uzyskane dane posłużyły do opracowania prawidłowych wartości MCA-PSV płodu, w polskiej populacji ciężarnych.

Do oceny mocy diagnostycznej badania MCA-PSV w diagnostyce niedokrwistości płodu, włączono grupę 24 ciężarnych, poddanych zabiegowi kordocentezy.

Wyniki

Na podstawie uzyskanych danych, stworzono wykresy oraz tabele prawidłowych wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w badaniu ultrasonograficznym pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży w polskiej populacji ciężarnych. Wyniki sporządzono w postaci dwóch modeli, uzyskanych poprzez zastosowanie regresji wykładniczej oraz liniowej.

Stwierdzono różnice pomiędzy opracowanymi prawidłowymi wartościami MCA-PSV płodu w polskiej populacji, a wynikami innych autorów, w innych populacjach. Wartości opracowane dla populacji polskiej, przy zastosowaniu regresji wykładniczej, są najbardziej zbliżone do tych uzyskanych przez Mari i wsp., jednak do 33. tygodnia ciąży wartości opracowane dla polskiej populacji są nieco niższe, natomiast powyżej 33. tygodnia ciąży, wartości te są nieco wyższe w stosunku do normy MCA-PSV wg Mari i wsp. Wartości opracowane dla populacji polskiej, przy zastosowaniu regresji liniowej, prezentują najbardziej zbliżone wartości do tych uzyskanych przez Kurmanaviciusa, jednak wartości

opracowane dla polskiej populacji są nieco niższe, w stosunku do normy MCA-PSV wg Kurmanaviciusa. Ponadto odnotowano, że nomogramy MCA-PSV opracowane przez różnych autorów, różnią się między sobą nie tylko wartościami ale również kształtem.

Zbadana została przydatność pomiarów MCA-PSV płodu w diagnostyce niedokrwistości płodu. Zależnie od zastosowanej normy MCA-PSV wg różnych autorów uzyskano następujące wyniki wskaźników prognostycznych: czułość 57,14-91,67%, specyficzność 75-91,67%, dokładność 73,68-83,33%, wartość predykcyjna wyniku dodatniego 75-90%, wartość predykcyjna wyniku ujemnego 62,50-81,82%.

Analizując czy zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV charakteryzuje się większą skutecznością w diagnostyce niedokrwistości płodu, niż normy powszechnie obowiązujące, uzyskano następujące wyniki:

- Zastosowanie obu modeli prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji, wiązało się z większą dokładnością badania, w stosunku do normy MCA-PSV wg Mari i wsp. (79,17% vs 75%).
- Model liniowy prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji charakteryzował się wyższą wartością pola pod krzywą ROC (AUC) w stosunku do normy MCA-PSV wg Mari i wsp. (0,917 vs 0,910).
- Zastosowanie modelu liniowego prawidłowych wartości MCA-PSV w polskiej populacji ciężarnych, wiązało się z wyższymi wartościami współczynników korelacji pomiędzy wskaźnikiem MoM MCA-PSV a parametrami morfologii krwi płodu w stosunku do zastosowania normy MCA-PSV wg Mari i wsp.

Wnioski

1. Opracowano prawidłowe wartości maksymalnej prędkości skurczowej w tętnicy środkowej mózgu płodu w badaniu ultrasonograficznym pomiędzy 18. a 39. tygodniem ciąży w polskiej populacji ciężarnych.
2. Badanie MCA-PSV płodu jest przydatnym narzędziem w diagnostyce niedokrwistości płodu i charakteryzuje się dużą mocą diagnostyczną.
3. Stwierdza się występowanie różnic, pomiędzy opracowanymi prawidłowymi wartościami MCA-PSV płodu w polskiej populacji ciężarnych a wynikami innych badaczy, w różnych populacjach.

4. Zastosowanie lokalnej polskiej normy MCA-PSV może wiązać się z większą skutecznością diagnostyki niedokrwistości płodu, w stosunku do normy wg Mari i wsp. (powszechnie wykorzystywanej klinicznie). Potwierdzenie tej tezy wymaga jednak przeprowadzenia badań wielośrodkowych na terenie Polski.
5. Konieczne są dalsze projekty badawcze, mające na celu ustalenie, który model (wykładniczy czy liniowy) prawidłowych wartości MCA-PSV płodu w polskiej populacji, charakteryzuje się korzystniejszymi właściwościami diagnostycznymi.

Abstract

Introduction

The use of the middle cerebral artery peak systolic velocity (MCA-PSV) parameter enabled non-invasive diagnosis of fetal anemia. This method is based on the fact that in the case of fetal anemia, when the hematocrit value is decreased, the increase of blood flow velocity is observed. In this way, by monitoring the blood flow velocity in the vessel, in the ultrasound examination, we can avoid invasive procedures for assessment of fetal anemia. The available literature indicates that there are differences among various populations in normal values of MCA-PSV. The idea of this study was to compare the results of MCA-PSV examination performed on fetuses in Polish population with the results of other researchers in different populations.

The aim of this study was to:

1. Establish the normal values of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery between 18 and 39 weeks of gestation in the Polish population.
2. Compare the received results with values published by other authors, for different populations, seeking the discrepancies between them.
3. Evaluate the usefulness of measuring the peak systolic velocity in the middle cerebral artery of the fetus in the prediction of fetal anemia.
4. Determine whether the use of the local Polish reference ranges of MCA-PSV has greater efficacy in the diagnosis of fetal anemia, than those generally used.

Material and methods

Based on the 1017 routine ultrasound examinations within the Polish population of white pregnant women, the retrospective analysis was conducted. The examinations were performed between 17 and 42 weeks of single gestation, in accordance with the standards of Polish Gynecological Society. Measurements of the blood flow in the middle cerebral artery of the fetus were completed in accordance with the applicable standards, by two experienced physicians. In order to assess the progress of pregnancy, labor and the neonatal state, the medical documentation of examined women and neonates

was collected. Further analysis was performed involving a group of 404 pregnant women, for whom the medical documentation was available. The exclusion criteria from the group included chronic medical illnesses like diabetes mellitus, hypertension as well as deliveries before 37 weeks of gestation. Neonates with congenital malformations, congenital infections, those with birth weight below 2500g as well as with Apgar score at 1 minute less than 7 points were also excluded from the further study. Considering the exclusion criteria and selecting cases between 18 and 39 weeks' gestation, the group of 280 ultrasound examinations (performed on 280 pregnant women) was selected for the final analysis. The statistical software was used to analyze the obtained data and to evaluate the normal values of fetal MCA-PSV in Polish population.

The assessment of the diagnostic value of the MCA-PSV parameter in the diagnosis of fetal anemia, was analyzed in a group of 24 pregnant women undergoing cordocentesis.

Results

Basing on the obtained data, charts and tables of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity normal values between 18 and 39 weeks of gestation in Polish population were constructed. The results were presented in linear and exponential regression model.

Differences in normal values of MCA-PSV in the Polish population compared with other nations' have been observed. The exponential model of Polish MCA-PSV normal values was most similar to Mari et al. model, however Polish MCA-PSV values below 33 weeks' gestation were slightly lower, while values above 33 weeks' gestation were slightly higher than MCA-PSV values developed by Mari et al. The linear model of Polish MCA-PSV normal values was most similar to Kurmanavicius model, however Polish MCA-PSV values were slightly lower than MCA-PSV values developed by Kurmanavicius. It was also noticed, that nomograms of fetal MCA-PSV developed by various authors, differ not only by values but also by shape.

The analysis of diagnostic power of the fetal MCA-PSV measurement in the diagnosis of fetal anemia was performed. Depending which author's normal values of MCA-PSV were used, the following results were obtained: sensitivity

57,14-91,67%, specificity 75-91,67%, accuracy 73,68-83,33%, positive predictive value 75-90%, negative predictive value 62,50-81,82%.

The analysis whether the use of the local Polish MCA-PSV normal values has greater efficiency in the diagnosis of fetal anemia, than those generally used, revealed the following results:

- The use of both models of Polish MCA-PSV normal values was associated with greater test accuracy than the Mari et al. values, (79.17% vs. 75%).
- The linear model of Polish MCA-PSV normal values was associated with higher value of area under the ROC curve (AUC) comparing to the Mari et al. values (0.917 vs. 0.910).
- The use of a linear model of Polish MCA-PSV normal values was associated with higher values of correlation coefficient between the MCA-PSV MoM (multiple of the median) and fetal complete blood count (CBC) parameters (Hb, Ht, RBC), comparing to the Mari et al. values.

Conclusions

1. Normal values of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity between 18 and 39 weeks of gestation in Polish population were constructed.
2. The middle cerebral artery peak systolic velocity measurement in fetuses at risk for anemia indicates the usefulness and high diagnostic power in the diagnosis of fetal anemia.
3. Discrepancies in normal values of MCA-PSV in the Polish population compared with other nations' normal values has been observed.
4. The use of local Polish MCA-PSV normal values may be associated with greater efficiency in the diagnosis of fetal anemia, than use of Mari et al. values which are commonly used in clinical practice. However, confirmation of this thesis requires a multi-center researches in Poland.
5. It would be advisable to conduct further research projects in order to determine which model of Polish MCA-PSV normal values (exponential or linear), is associated with higher diagnostic power.

9. Piśmiennictwo

1. Alshimmiri MM, Hamoud MS, Al-Saleh EA, Mujaibel KY, Al-Harmi JA, Thalib L (2003) Prediction of fetal anemia by middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by rhesus isoimmunization. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* 23:536-540
2. Andrei C, Vladareanu R (2012) The value of reference ranges for middle cerebral artery peak systolic velocity in the management of rhesus alloimmunized pregnancies. *Madica* 7:14-19
3. Bahado-Singh R, Oz U, Deren O, Kovanchi E, Hsu CD, Copel MJ, Mari G (2000) Splenic artery Doppler peak systolic velocity predicts severe fetal anemia in rhesus disease. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 182:1222-1226
4. Bartha JL, Abdel-Fattah SA, Hunter A, Denbow M, Kyle P, Soothill PW (2006) Optimal interval between middle cerebral artery velocity measurements when monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunization. *Fetal Diagnosis and Therapy* 21:22-25
5. Bartha JL, Illanes S, Abdel-Fattah S, Hunter A, Denbow M, Soothill PW (2005) Comparison of different reference values of fetal blood flow velocity in the middle cerebral artery for predicting fetal anemia. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 25:335-340
6. Bevis DC (1952) The antenatal prediction of haemolytic disease of the newborn. *Lancet (London, England)* 1:395-398
7. Bevis DCA (1953) THE COMPOSITION OF LIQUOR AMNII IN HAEMOLYTIC DISEASE OF THE NEWBORN. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Empire* 60:244-251
8. Bills VL, Soothill PW (2014) Fetal blood grouping using cell free DNA - An improved service for RhD negative pregnant women. *Transfusion and Apheresis Science* 50:148-153
9. Bombard AT, Akolekar R, Farkas DH, VanAgtmael AL, Aquino F, Oeth P, Nicolaidis KH (2011) Fetal RHD genotype detection from circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma in non-sensitized RhD negative women. *Prenatal Diagnosis* 31:802-808
10. Brennand J, Cameron A (2008) Fetal anaemia: diagnosis and management. *Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology* 22:15-29
11. Cabral ACV, Reis MN, Leite HV, Lage EM, Ferreira ALP, Melo IG (2008) Cardiofemoral index as an ultrasound marker of fetal anemia in isoimmunized pregnancy. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 100:60-64
12. Cabral ACV, Reis ZSN, Apocalypse IG, Osanan GC, Lage EM, Leite HV (2010) Combined use of the cardiofemoral index and middle cerebral artery Doppler velocimetry for the prediction of fetal anemia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 111:205-208

13. Carbonne B, Castaigne-Meary V, Cynober E, Gougeul-Tesniere V, Cortey A, Soulie JC, Larsen M, Meraud B, Ansquer Y, Milliez J, Brossard Y (2008) Use of peak systolic velocity in the middle cerebral artery in the management of fetal anemia due to fetomaternal alloimmunization. *Journal De Gynecologie Obstetrique Et Biologie De La Reproduction* 37:163-169
14. Cosmi E, Mari G, Delle Chiaie L, Detti L, Akiyama M, Murphy J, Stefos T, Ferguson JE, Hunter D, Hsu CD, Abuhamad A, Bahado-Singh R (2002) Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia resulting from parvovirus infection. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 187:1290-1293
15. Daffos F, Capellapavlovsky M, Forestier F (1983) FETAL BLOOD-SAMPLING VIA THE UMBILICAL-CORD USING A NEEDLE GUIDED BY ULTRASOUND - REPORT OF 66 CASES. *Prenatal Diagnosis* 3:271-277
16. Daffos F, Capellapavlovsky M, Forestier F (1985) FETAL BLOOD-SAMPLING DURING PREGNANCY WITH USE OF A NEEDLE GUIDED BY ULTRASOUND - A STUDY OF 606 CONSECUTIVE CASES. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 153:655-660
17. Dashe JS, Ramus RM, Santos-Ramos R, McIntire DD, Twickler DM (2007) Middle cerebral artery peak systolic velocity in monochorionic and dichorionic twin pregnancies. *Journal of Ultrasound in Medicine* 26:195-200
18. Delle Chiaie L, Buck G, Grab D, Terinde R (2001) Prediction of fetal anemia with Doppler measurement of the middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by maternal blood group alloimmunization or parvovirus B19 infection. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 18:232-236
19. Deren O, Onderoglu L (2002) The value of middle cerebral artery systolic velocity for initial and subsequent management in fetal anemia. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology* 101:26-30
20. Detti L, Mari G, Akiyama M, Cosmi E, Moise KJ, Stefor T, Conaway M, Deter R (2002) Longitudinal assessment of the middle cerebral artery peak systolic velocity in healthy fetuses and in fetuses at risk for anemia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 187:937-939
21. Detti L, Oz U, Guney I, Ferguson JE, Bahado-Singh RO, Mari G, Collaborative Grp Doppler A (2001) Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 185:1048-1051
22. Dukler D, Oepkes D, Seaward G, Windrim R, Ryan G (2003) Noninvasive tests to predict fetal anemia: A study comparing Doppler and ultrasound parameters. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 188:1310-1314
23. Dębski R (1990) Punkcja naczyń pępowinowych w diagnostyce i leczeniu konfliktu serologicznego. Warszawa : Dział Wydawnictw Akademii Medycznej, 1990.
24. Dębski R (2010) Konflikt Serologiczny. In: Ciąża wysokiego ryzyka. Poznań : Ośrodek Wydawnictw Naukowych, 2010. Wyd. 3 uaktualnione i rozsz., pp 329-347

25. Ebbing C, Rasmussen S, Kiserud T (2007) Middle cerebral artery blood flow velocities and pulsatility index and the cerebroplacental pulsatility ratio: longitudinal reference ranges and terms for serial measurements. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 30:287-296
26. El. Shourbagy S, Elsakhawy M (2012) Prediction of fetal anemia by middle cerebral artery Doppler. *Middle East Fertility Society Journal* 17:275-282
27. Engel K, Kwiatek M, Klosowska M, Bilar M, Konefal H, Orzinska A, Ronin-Walknowska E (2009) Estimation of diagnostic value of the middle cerebral artery peak systolic velocity in prediction of fetal anemia in pregnancies complicated by alloimmunisation. *Ginekologia polska* 80:740-743
28. Fan FC, Chen RY, Schuessler GB, Chien S (1980) Effects of hematocrit variations on regional hemodynamics and oxygen transport in the dog. *The American journal of physiology* 238:H545-522
29. Forestier F, Daffos F, Catherine N, Renard M, Andreux JP (1991) Developmental hematopoiesis in normal human fetal blood. *Blood* 77:2360-2363
30. Fumia FD, Edelstone DI, Holzman IR (1984) BLOOD-FLOW AND OXYGEN DELIVERY TO FETAL ORGANS AS FUNCTIONS OF FETAL HEMATOCRIT. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 150:274-282
31. Garabedian C, Vaast P, Behal H, Coulon C, Duahamel A, Thomas D, Rakza T, Subtil D, Houfflin-Debargue V (2015) Management of severe fetal anemia by Doppler measurement of middle cerebral artery: are there other benefits than reducing invasive procedures? *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 192:27-30
32. Gungor M, Ekici E, Kuscu E, Arslan S, Danisman N, Gokmen O (1996) The effect of intravascular transfusion for severely anemic fetuses on umbilical artery doppler flow velocity waveforms. *Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica* 75:711-714
33. Harrington K, Fayyad A (2002) Prediction of fetal anaemia. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 14:177-185
34. Hermann M, Poissonnier MH, Grange G (2014) Cerebral Doppler velocimetry to predict fetal anemia after more than three intravenous fetal exchange transfusions. *Transfusion* 54:2968-2973
35. Hernandez-Andrade E, Scheier M, Dezerega V, Carmo A, Nicolaidis KH (2004) Fetal middle cerebral artery peak systolic velocity in the investigation of non-immune hydrops. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 23:442-445
36. Kachewar SG (2013) Non-invasive diagnosis of fetal anemia: Multicentric nationwide input for a worldwide output. *Diagnostic Prenatal* 24:141-147
37. Kachewar SG, Gandage SG, Kulkarni DS (2011) Fetal middle cerebral artery peak systolic velocities in a local Indian scenario. *Japanese Journal of Radiology* 29:725-729

38. Kachewar SG, Gandage SG, Pawar HJ (2012) A prospective cross-sectional study of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity in a normal obstetric population attending an Indian Medical College. *Japanese Journal of Radiology* 30:575-581
39. Klaritsch P, Deprest J, Van Mieghem T, Gucciardo L, Done E, Jani J, Lewi P, Rasmussen S, Lewi L (2009) Reference ranges for middle cerebral artery peak systolic velocity in monochorionic diamniotic twins: a longitudinal study. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 34:149-154
40. Kotzbach R (1995) Konflikt serologiczny w zakresie czynnika Rh : uwarunkowania, diagnostyka, postępowanie lecznicze. Bydgoszcz : Akademia Medyczna, 1995.
41. Kurmanavicius J, Streicher A, Wright EM, Wisser J, Muller R, Royston P, Huch R, Huch A, Zimmermann R (2001) Reference values of fetal peak systolic blood flow velocity in the middle cerebral artery at 19-40 weeks of gestation. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 17:50-53
42. Legarth J, Lingman G, Stangenberg M, Rahman F (1994) UMBILICAL ARTERY DOPPLER FLOW-VELOCITY WAVE-FORMS IN RHESUS-ISOIMMUNIZED FETUSES BEFORE AND AFTER FETAL BLOOD-SAMPLING OR TRANSFUSION. *Journal of Clinical Ultrasound* 22:43-47
43. Liley AW (1961) Liquor amni analysis in the management of the pregnancy complicated by resus sensitization. *American journal of obstetrics and gynecology* 82:1359-1370
44. Liumbruno GM, D'Alessandro A, Rea F, Piccinini V, Catalano L, Calizzani G, Pupella S, Grazzini G (2010) The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of maternal-foetal anti-Rh(D) alloimmunisation. *Blood Transfusion* 8:8-16
45. Mari G (2005) Middle cerebral artery peak systolic velocity - Is it the standard of care for the diagnosis of fetal anemia? *Journal of Ultrasound in Medicine* 24:697-702
46. Mari G (2005) Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 25:323-330
47. Mari G, Abuhamad AZ, Cosmi E, Segata M, Altaye M, Akiyama M (2005) Middle cerebral artery peak systolic velocity - Technique and variability. *Journal of Ultrasound in Medicine* 24:425-430
48. Mari G, Adrignolo A, Abuhamad AZ, Pirhonen J, Jones DC, Ludomirsky A, Copel JA (1995) DIAGNOSIS OF FETAL ANEMIA WITH DOPPLER ULTRASOUND IN THE PREGNANCY COMPLICATED BY MATERNAL BLOOD-GROUP IMMUNIZATION. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 5:400-405
49. Mari G, Collaborative Grp Doppler A (2000) Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *New England Journal of Medicine* 342:9-14
50. Mari G, Detti L, Oz U, Zimmerman R, Duerig P, Stefos T (2002) Original research: Accurate prediction of fetal hemoglobin by Doppler ultrasonography. *Obstetrics & Gynecology* 99:589-593

51. Mari G, Norton ME, Stone J, Berghella V, Sciscione AC, Tate D, Schenone MH, Soc Maternal-Fetal M (2015) Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Clinical Guideline #8: The fetus at risk for anemia-diagnosis and management. American Journal of Obstetrics and Gynecology 212:697-710
52. Mari G, Zimmermann R, Moise KJ, Deter RL (2005) Correlation between middle cerebral artery peak systolic velocity and fetal hemoglobin after 2 previous intrauterine transfusions. American Journal of Obstetrics and Gynecology 193:1117-1120
53. Marianowski L, Dębski R (1994) Konflikt serologiczny : prenatalna diagnostyka i terapia. Warszawa : Split Trading, 1994.
54. Moise KJ (2002) Management of rhesus alloimmunization in pregnancy (vol 100, pg 600, 2002). Obstetrics and Gynecology 100:833-833
55. Moise KJ (2008) Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization. Seminars in Fetal & Neonatal Medicine 13:207-214
56. Moise KJ, Jr. (2008) The usefulness of middle cerebral artery Doppler assessment in the treatment of the fetus at risk for anemia. American Journal of Obstetrics and Gynecology 198
57. Morales-Rosello J, Khalil A, Morlando M, Hervas-Marin D, Perales-Marin A (2015) Doppler reference values of the fetal vertebral and middle cerebral arteries, at 19-41 weeks gestation. Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine 28:338-343
58. Mulcahy C, McAuliffe FM, Breathnach F, Geary M, Daly S, Higgins J, Hunter A, Morrison J, Burke G, Higgins S, Dicker P, Mahony R, Tully E, Malone F (2014) Umbilical and fetal middle cerebral artery Doppler reference ranges in a twin population followed longitudinally from 24 to 38 weeks' gestation. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology 44:461-467
59. Nardoza LMM, Araujo Junior E, Simioni C, Camano L, Moron AF (2008) Intervalos de referência do pico de velocidade sistólica da artéria cerebral média fetal na população brasileira. Radiologia Brasileira 41:385-389
60. Nicolaidis KH, Bilardo CM, Campbell S (1990) PREDICTION OF FETAL ANEMIA BY MEASUREMENT OF THE MEAN BLOOD VELOCITY IN THE FETAL AORTA. American Journal of Obstetrics and Gynecology 162:209-212
61. Nicolaidis KH, Clewell WH, Mibashan RS, Soothill PW, Rodeck CH, Campbell S (1988) FETAL HEMOGLOBIN MEASUREMENT IN THE ASSESSMENT OF RED-CELL ISOIMMUNIZATION. Lancet 1:1073-1075
62. Nicolaidis KH, Fontanarosa M, Gabbe SG, Rodeck CH (1988) FAILURE OF ULTRASONOGRAPHIC PARAMETERS TO PREDICT THE SEVERITY OF FETAL ANEMIA IN RHESUS ISOIMMUNIZATION. American Journal of Obstetrics and Gynecology 158:920-926
63. Norton ME, Chauhan SP, Dashe JS, Soc Maternal Fetal M (2015) Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Clinical Guideline #7: nonimmune hydrops fetalis. American Journal of Obstetrics and Gynecology 212:127-139

64. Oepkes D (2000) Invasive versus non-invasive testing in red-cell alloimmunized pregnancies. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology* 92:83-89
65. Oepkes D, Seaward PG, Vandenbussche F, Windrim R, Kingdom J, Beyene J, Kanhai HHH, Ohlsson A, Ryan G, Grp DS (2006) Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *New England Journal of Medicine* 355:156-164
66. Oepkes D, van Scheltema PA (2007) Intrauterine fetal transfusions in the management of fetal anemia and fetal thrombocytopenia. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 12:432-438
67. Papantoniou N, Sifakis S, Antsaklis A (2013) Therapeutic management of fetal anemia: review of standard practice and alternative treatment options. *Journal of Perinatal Medicine* 41:71-82
68. Pares D, Chinen PA, Camano L, Moron AF, Torloni MR (2008) Prediction of fetal anemia by Doppler of the middle cerebral artery and descending thoracic aorta. *Archives Of Gynecology And Obstetrics* 278:27-31
69. Polesky HF (1967) Blood group antibodies in prenatal sera. Results of screening 43,000 individuals. *Minnesota medicine* 50:601-603
70. Pretlove SJ, Fox CE, Khan KS, Kilby MD (2009) Noninvasive methods of detecting fetal anaemia: a systematic review and meta-analysis. *Bjog-an International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 116:1558-1567
71. Reis ZSN, Osanan GC, Coelho TLR, Rezende CADL, Leite HV, Cabral ACV (2013) Diagnosis of severe fetal anemia based on perinatal outcomes: a comparative analysis of the current reference values. *Anemia* 2013:351258
72. Ruma MS, Swartz AE, Kim E, Herring AH, Menard MK, Moise KJ, Jr. (2009) Angle correction can be used to measure peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery. *American journal of obstetrics and gynecology* 200:397.e391-393
73. Sainio S, Nupponen I, Kuosmanen M, Aitokallio-Tallberg A, Ekholm E, Halmesmaki E, Orden MR, Palo P, Raudaskoski T, Tekay A, Tuimala J, Uotila J, Stefanovic V (2015) Diagnosis and treatment of severe hemolytic disease of the fetus and newborn: a 10-year nationwide retrospective study. *Acta Obstetrica Et Gynecologica Scandinavica* 94:383-390
74. Sallout BI, Fung KFK, Wen SW, Medd LM, Walker MC (2004) The effect of fetal behavioral states on middle cerebral artery peak systolic velocity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 191:1283-1287
75. Salvi S, Badade A, Khatal K, Bhide A (2015) Reliability of Doppler Assessment of the Middle Cerebral Artery in the Near and Far Fields in Healthy and Anemic Fetuses. *Journal of Ultrasound in Medicine* 34:2037-2042
76. Scheier M, Hernandez-Andrade E, Carmo A, Dezerega V, Nicolaidis KH (2004) Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 23:432-436

77. Scheier M, Hernandez-Andrade E, Fonseca EB, Nicolaides KH (2006) Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 195:1550-1556
78. Senat MV, Loizeau S, Couderc S, Bernard JP, Ville Y (2003) The value of middle cerebral artery peak systolic velocity in the diagnosis of fetal anemia after intrauterine death of one monochorionic twin. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 189:1320-1324
79. Stefos T, Cosmi E, Detti L, Mari G (2002) Correction of fetal anemia on the middle cerebral artery peak Systolic velocity. *Obstetrics and Gynecology* 99:211-215
80. Su YM, Lv GR, Chen XK, Li SH, Lin HT (2010) Ultrasound probe pressure but not maternal Valsalva maneuver alters Doppler parameters during fetal middle cerebral artery Doppler ultrasonography. *Prenatal Diagnosis* 30:1192-1197
81. Sueters M, Arabin B, Oepkes D (2003) Doppler sonography for predicting fetal anemia caused by massive fetomaternal hemorrhage. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 22:186-189
82. Swartz AE, Ruma MS, Kim E, Herring AH, Menard MK, Moise KJ (2009) The Effect of Fetal Heart Rate on the Peak Systolic Velocity of the Fetal Middle Cerebral Artery. *Obstetrics and Gynecology* 113:1225-1229
83. Tabor A, Bang J, Norgaardpedersen B (1987) FETOMATERNAL HEMORRHAGE ASSOCIATED WITH GENETIC AMNIOCENTESIS - RESULTS OF A RANDOMIZED TRIAL. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 94:528-534
84. Tabor A, Madsen M, Obel EB, Philip J, Bang J, Norgaardpedersen B (1986) RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF GENETIC AMNIOCENTESIS IN 4606 LOW-RISK WOMEN. *Lancet* 1:1287-1293
85. Tan KBL, Fook-Chong SMC, Lee SL, Tan LK (2009) Foetal peak systolic velocity in the middle cerebral artery: an Asian reference range. *Singapore Medical Journal* 50:584-586
86. Tarzamni MK, Nezami N, Sobhani N, Eshraghi N, Tarzamni M, Talebi Y (2008) Nomograms of Iranian fetal middle cerebral artery Doppler waveforms and uniformity of their pattern with other populations' nomograms. *BMC pregnancy and childbirth* 8:50-50
87. Teixeira JMA, Duncan K, Letsky E, Fisk NM (2000) Middle cerebral artery peak systolic velocity in the prediction of fetal anemia. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 15:205-208
88. Torloni MR, Vedmedovska N, Merialdi M, Betran AP, Allen T, Gonzalez R, Platt LD, Grp IWFGS (2009) Safety of ultrasonography in pregnancy: WHO systematic review of the literature and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 33:599-608
89. Valenti C (1972) ENDOAMNIOSCOPY AND FETAL BIOPSY - NEW TECHNIQUE. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 114:561-&

90. Valenti C (1973) ANTENATAL DETECTION OF HEMOGLOBINOPATHIES - PRELIMINARY REPORT. American Journal of Obstetrics and Gynecology 115:851-853
91. Vanamerongen MR, Fouron JC, Bard H, Leguennec JC, Prosmanne J (1981) OXYGENATION IN ANEMIC NEWBORN LAMBS WITH HIGH OR LOW OXYGEN-AFFINITY RED-CELLS. Pediatric Research 15:1500-1503
92. Vyas S, Nicolaidis KH, Campbell S (1990) DOPPLER EXAMINATION OF THE MIDDLE CEREBRAL-ARTERY IN ANEMIC FETUSES. American Journal of Obstetrics and Gynecology 162:1066-1068
93. Welch R, Rampling MW, Anwar A, Talbert DG, Rodeck CH (1994) CHANGES IN HEMORHEOLOGY WITH FETAL INTRAVASCULAR TRANSFUSION. American Journal of Obstetrics and Gynecology 170:726-732
94. Wielgoś M (2003) Konflikt serologiczny matczyno- płodowy oraz choroba hemolityczna w wyniku immunizacji antygenami innymi niż RhD. Warszawa : Akademia Medyczna, 2003., pp 7-14
95. Wong G, Levine D (2005) Increased Systolic peak velocity in fetal middle cerebral artery blood flow shown by Doppler sonography in acute fetomaternal hemorrhage. Journal of Ultrasound in Medicine 24:243-246
96. Yalinkaya A, Evsen MS, Celik Y, Sak ME, Soydinc HE, Taner MZ (2012) Intrauterine blood transfusion in immune hydrops fetalis, corrects middle cerebral artery Doppler velocimetry very quickly. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences 12:37-40
97. Zimmermann R, Durig P, Carpenter RJ, Mari G (2002) Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. Bjog-an International Journal of Obstetrics and Gynaecology 109:746-752