

Retrospektive Analyse der NT-proBNP-Konzentration und Parameter des Hämogramms vor und während serieller intrauteriner Transfusionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Pauline Siebers

aus Bergisch Gladbach

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Gembruch
2. Gutachterin: Prof. Dr. Maria Wittmann

Tag der Mündlichen Prüfung: 21.03.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Pränatale Medizin
Direktor: Prof. Dr. Ulrich Gembruch

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung.....	7
1.1. Krankheitsbilder	7
1.2. Diagnostik der Anämie	9
1.3. N-terminales pro-brain-Typ natriuretisches Peptid	10
1.4. Retikulozyten.....	11
1.5. Thrombozyten	12
1.6. Fragestellung	13
2. Material und Methoden.....	14
2.1. Datenerfassung des Patientenkollektivs	14
2.1.1. Diagnosestellung	15
2.1.2. Invasive Eingriffe	16
2.1.3. Blutanalysen.....	18
2.2. Statistische Auswertung.....	18
3. Ergebnisse	20
3.1. Beschreibung des Kollektivs	20
3.1.2. Subjekte mit der Diagnose Hydrops fetalis.....	25
3.1.3. MOM-MCA-PSV-Werte und MOM-HB-Werte im Gruppenvergleich vor und während der IUT- Therapie	26
3.2. Die NT-proBNP-Konzentration im Gruppenvergleich	26
3.2.1. Die NT-proBNP-Konzentration im Verlauf der IUT-Therapie	30
3.3. Die relative Retikulozytenzahl im Gruppenvergleich	32
3.4.1. Die absolute Retikulozytenzahl Verlauf der IUT-Therapie	38
3.5. Der Retikulozytenproduktionsindex im Gruppenvergleich	40

3.5.1.	Der Retikulozytenproduktionsindex im Verlauf der IUT-Therapie.....	41
3.6.	Die Thrombozyten-Konzentration im Gruppenvergleich.....	43
3.6.1.	Thrombozytenkonzentration im Verlauf der IUT-Therapie.....	46
4.	Diskussion	48
4.1.	Die NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut	48
4.1.1.	Die NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut im Verlauf der IUT-Therapie...	53
4.1.2.	Verwendung von NT-proBNP im Fetalblut als kardialer Marker	54
4.2.	Retikulozyten-Konzentrationen im Fetalblut.....	55
4.2.1.	Verwendung der Retikulozyten-Konzentration zur Bewertung der Erythropoese-Qualität.....	59
4.3.	Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut	59
4.3.1.	Behandlung der Thrombozytopenie unter einer IUT-Therapie	62
5.	Zusammenfassung	64
6.	Abbildungsverzeichnis.....	66
7.	Tabellenverzeichnis.....	69

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
ANOVA	Varianzanalyse (<i>ANalysis Of VAriance</i>)
AR	Absolute Retikulozytenzahl
AV	Atrioventrikulär
BNP	B-Typ natriuretisches Peptid (<i>Brain Natriuretic Peptid</i>)
BMI	Body-Mass-Index
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECLIA	Elektrochemilumineszenzimmunoassay
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EPO	Erythropoetin
GA	Gestationsalter
Hb	Hämoglobin
IUT	Intrauterine Transfusion
IUGR	Intrauterine Wachstumsretardierung (<i>Intrauterine Growth Restriction</i>)
KI	Konfidenzintervall
MCA	Arteria cerebri media (<i>Middle Cerebral Artery</i>)
MOM	Multiple of Median
NT-proBNP	N-terminales pro-brain-Typ natriuretisches Peptid (<i>N-terminal pro-B-type natriuretic peptide</i>)
OG	Obergrenze
PCR	Polymerasekettenreaktion
PSV	Systolischer Spitzenfluss (<i>Peak Systolic Velocity</i>)
PVB19	Parvovirus B19
Rh. Ink.	Rhesusinkompatibilität
RPI	Retikulozyten Produktionsindex
RR	Relative Retikulozytenzahl
SSW	Schwangerschaftswoche
Std.	Standard
SG	Schätzwert

Tab.
UG

Tabelle
Untergrenze

1. Einleitung

Für die fetale Anämie ist die sonographisch gesteuerte perkutane intrauterine intravaskuläre Transfusion (IUT) in die Nabelvene die etablierte Therapieform. Bei der häufigsten Ursache transfusionspflichtiger Anämien, der Blutgruppeninkompatibilität, liegt die Überlebensrate dieser Therapie aktuell bei durchschnittlich 95 % (Zwiers et al. 2017b, S. 340). Bei der zweithäufigsten Ursache, der Parvovirus B19-Infektion (PVB19), liegt die Überlebensrate in erfahrenen Zentren bei bis zu 84 % (Kosian et al. 2022). Neben den in der heutigen Zeit seltenen akuten Komplikationen im Rahmen der Therapie, haben die Anämien erhebliche Auswirkungen auf die fetale Entwicklung und führen zu tiefgreifenden Störungen der Blutbildung, Blutgerinnung und des kardiovaskulären Systems. Auch tiefgreifende Veränderungen im Sinne eines fetalen Remodelings sind möglich. Die genauen Auswirkungen schwerer Anämien und deren Therapie auf den fetalen Mechanismus sind nicht vollends erforscht. Ziel weiterer Studien (so auch dieser Arbeit) ist es, die Auswirkungen der Krankheitsbilder und der intrauterinen intravaskulären Transfusionen auf die Blutbildungen und das kardiovaskuläre System zu eruieren (Siebers et al. 2023).

Die Steuerung der IUT-Therapie richtete sich bislang vor allem nach (doppler-) sonographischen Untersuchungsergebnissen und Bestimmung der Hämoglobin-Konzentration. Ein neuer Ansatz ist die zusätzliche Verwendung eines Markers aus der kardialen Ischämiediagnostik, dem N-terminalen pro-brain-Typ natriuretischen Peptid (NT-proBNP). Dabei fehlen jedoch etablierte Referenzwerte in der Fetalzeit, da die Fallzahlen der Studien bislang limitiert sind. Weiterhin wurde der Einsatz dieses Markers nicht für die unterschiedlichen Ursachen der fetalen Anämie untersucht. Durch die hohe Anzahl invasiver fetaler Eingriffe am Universitätsklinikum Bonn bot sich die Möglichkeit, eine große Stichprobenzahl fetaler Blutentnahmen im Rahmen invasiver fetaler Eingriffe zu analysieren. Im Folgenden werden die Krankheitsbilder und Blutparameter, welche im Fokus dieser Arbeit standen, erläutert.

1.1. Krankheitsbilder

Die Ursachen der fetalen Anämie sind vielfältig. Die häufigste (immunologische) Ursache ist die Rhesusinkompatibilität. Durch eine Sensibilisierung Rhesus-negativer Mütter mit

fetalen Rhesus-positiven Erythrozyten entsteht eine fetomaternale Blutgruppenunverträglichkeit. Maternale Ig-G-Antikörper heften sich nach plazentarem Transfer an die fetalen Erythrozyten und führen über das fetale retikuloendotheliale System zu einem Abbau dieser Zellen (Abbasi et al. 2017; Gembruch 2013; Gottschalk und Gembruch 2017). Kompensatorisch kommt es zu einer gesteigerten Produktion der Erythrozyten (Erythropoese) mit erhöhten Anteilen von erythropoiden Vorläuferzellen im Blut (Retikulozytose). Obwohl eine effektive Prophylaxe mittels passiver Immunisierung der Schwangeren besteht, treten vor allem in Entwicklungsländern, aber auch in Deutschland noch Krankheitsfälle mit schwerwiegenden Folgen auf (Ferreira et al. 2009).

Eine weitere Form der fetomaternalen Blutgruppenunverträglichkeit ist die Kellinkompatibilität, welche 10 % der transfusionspflichtigen Anämien ausmacht (Gottschalk und Gembruch 2017). Die maternalen Antikörper heften sich bei dieser Inkompatibilität nach plazentarem Transfer nicht nur an das Kell-Antigen auf den Erythrozyten, sondern ebenfalls an erythropoide Vorläuferzellen. Dadurch kommt es im Gegensatz zu der Rhesusinkompatibilität nicht zu einem Anstieg der Retikulozyten-Konzentrationen, sondern zu einem Abfall dieser und somit zu einer aplastischen Anämie (Weiner und Widness 1995).

Die zweithäufigste (nicht immunologische) Ursache der fetalen Anämie ist eine Infektion mit dem Parvovirus B19 (PVB19-Infektion), einem einzelsträngigen DNA-Virus. Die plazentare Transmissionsrate liegt bei etwa 33 % bei einer Erstinfektion. Über P-Oberflächenproteine bindet sich das Virus an fetale Erythrozyten, erythropoiden und thrombotischen Vorläuferzellen sowie an Herzzellen. Dies führt zu einer aplastischen Anämie, vermehrten Thrombozytopenien und häufig zu einer Herzmuskelentzündung (Gottschalk und Gembruch 2017; Hellmund et al. 2018). Die genaue Pathophysiologie und die Auswirkungen der genannten Krankheitsbilder auf den fetalen Organismus sind Teil der aktuellen Forschung (Siebers et al. 2023).

Unabhängig von der Ursache der fetalen Anämie kann sich bei niedrigen Hämoglobin-Konzentrationen ein Hydrops fetalis entwickeln. Bei einer fetalen Anämie kommt es hierbei zunächst meist zum Auftreten eines Aszites und einem Hautödem, Perikard- und Pleurarergüsse folgen, ebenso wie Polyhydramnie und Plazentomegalie (Hydrops placentae); ferner imponieren eine fetale Hepatosplenomegalie und eine Kardiomegalie bei biventrikulärer exzentrischer Hypertrophie (Gottschalk und Gembruch 2017). Die Diagnose eines Hydrops fetalis wird gestellt, wenn in mindestens zwei Kompartimenten

Flüssigkeitsansammlungen vorliegen, wovon mindestens ein fetales Kompartiment betroffen ist (Merz et al., 2012b). Ursache des Hydrops fetalis ist eine kardiale Dekompensation bzw. Herzinsuffizienz im Sinne eines high cardiac output failure mit nachfolgender Dysregulation der fetalen Flüssigkeitskompartimente; bei der Rhesusinkompatibilität wird als zusätzlicher Faktor auch eine hepatische Kongestion infolge der ausgeprägten extramedullären Erythropoese diskutiert. Anämie Feten, die einen Hydrops fetalis entwickeln, zeigen trotz Therapie eine geringere Überlebensrate als nicht-hydropische Feten (Lindenburg et al. 2014; van Kamp et al. 2001, S. 668). Die immer noch hohe Letalität dieses Krankheitsbildes zeigt die Wichtigkeit auf, die zugrundeliegende Pathophysiologie zu verstehen, um zukünftig einem Auftreten mit geeigneten Therapiemaßnahmen vorzubeugen.

1.2. Diagnostik der Anämie

Die fetale Anämie ist eine schwerwiegende Erkrankung. Sie ist definiert durch eine pathologisch niedrige Konzentration an Hämoglobin (Hb), dem sauerstoff-transportierenden Protein der roten Blutkörperchen (Erythrozyten) (Prefumo et al. 2019). Die Konzentration wird im Rahmen einer Nabelvenenpunktion bestimmt und aufgrund einer positiven Korrelation mit einem steigendem Gestationsalter (GA) anschließend in Multiple-Of-Median-Werte (MOM-Wert) umgerechnet. Ab einem MOM-Hb von $< 0,84$ liegt eine fetale (therapiepflichtige) Anämie vor (Abbasi et al. 2017). Neben dieser invasiven Diagnostik kann die fetale Anämie nicht invasiv mittels (dopplersonographischen) Ultraschalls diagnostiziert werden. Der wichtigste dopplersonographische Parameter ist die systolische Spitzenflussgeschwindigkeit (Peak Systolic Velocity = PSV) in der Arteria Cerebri Media (MCA). Durch eine verminderte Hb-Konzentration kommt es zu einer herabgesetzten Blutviskosität und zu einem gesteigerten Herzzeit- und Schlagvolumen, um die Sauerstoffversorgung der Organe zu gewährleisten. Dies führt zum Anstieg der fetalen Blutflussgeschwindigkeiten, so auch in der MCA. Durch den physiologischen Anstieg der MCA-PSV-Werte mit dem GA werden auch diese Werte als MOM-Werte angegeben. Die Sensitivität zur Detektion einer moderaten und schweren Anämie liegt bei MOM-MCA-PSV-Werten von $> 1,5$ bei bis zu 100 % (Giancarlo 2000; Gottschalk und Gembruch 2017). Durch die im Rahmen einer IUT-Therapie transfundierten adulten Erythrozyten, die eine geringere Viskosität aufweisen, nimmt die Genauigkeit der MCA-PSV zur Diagnostik einer Anämie

ab; bei der zweiten und dritten Transfusion liegen die MOM-Grenzwerte höher und nach der dritten Transfusion ist die MCA-PSV zur Therapiesteuerung nicht mehr geeignet. Dann wird bei einer Alloimmunanämie der nächste Transfusionszeitpunkt über den täglichen Hb-Abfall von 0,3 – 0,4 g/dl kalkuliert (Detti et al. 2001; Mari et al. 2015; Scheier et al. 2004; Scheier et al. 2006).

In dieser Arbeit werden die NT-proBNP-Konzentration, die Retikulozyten-Konzentrationen sowie die Thrombozyten-Konzentration als mögliche zusätzliche Parameter zur Therapiesteuerung der intrauterinen intravaskulären Transfusionen evaluiert.

1.3. N-terminales pro-brain-Typ natriuretisches Peptid

Das brain-Typ natriuretische Peptid (BNP) ist Teil des natriuretischen Peptid-Systems, welches im menschlichen Körper mittels Diurese, Vasodilatation, Steuerung des Sympathikustonus und Natriurese an der Regulation des Plasmavolumens beteiligt ist. BNP wird als Prä-Pro-Hormon in den Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) der Herzkammern synthetisiert. Synthese-Stimulus ist eine kardiale Wanddehnung. Durch eine erste Abspaltung von Aminosäuren des BNPs entsteht das Prohormon Pro-BNP. Eine weitere Spaltung führt zur Bildung des aktiven Hormons BNP und des inaktiven Fragments N-terminales pro-brain-Typ natriuretischen Peptids (NT-proBNP), welches im Blut mit einer Halbwertszeit von 120 Minuten messbar ist (Cameron und Ellmers 2003; Federico 2010; Merz und Gembruch 2014).

Bei erwachsenen Patienten ist NT-proBNP bereits ein etablierter Marker für ischämisch verursachte kardiale Schäden (Hill et al. 2014). Für Neugeborene und Kinder gibt es ebenfalls zahlreiche Studien, welche Referenzwerte der NT-proBNP-Konzentration abhängig vom Kindesalter etablieren und eine erhöhte Konzentration als Marker für kardiale Belastungen beweisen (Fortunato et al. 2006; Nir et al. 2009; Schwachtgen et al. 2005). Im fetalen Organismus sind die Aufgaben von BNP nicht vollends erforscht. Neben der Morphogenese verschiedener Organsysteme, darunter des kardiovaskulären Systems, scheint es ebenfalls an der Regulation des Plasmavolumens beteiligt zu sein (Cameron und Ellmers 2003; Merz und Gembruch 2014). In der Pränatal-Medizin gibt es wenige Studien, welche physiologische Konzentrationen dieses Parameters im Fetalblut erheben (Fortunato et al. 2006; Merz et al. 2010; Siebers et al. 2023; Walther et al. 2001). Einige

Arbeiten zeigen eine positive Korrelation zwischen der fetalen Herzbelastung unter verschiedenen Krankheitsbildern und einer hohen NT-proBNP-Konzentration (Leufgen et al. 2017; Luterek et al. 2011; Merz et al. 2014; Miyoshi et al. 2021; Siebers et al. 2023; Yadav et al. 2019) . Andere Studien zur NT-proBNP-Konzentration bei Feten mit einer PVB19-Infektion liegen nicht vor.

1.4. Retikulozyten

Im adulten Menschen findet die Blutbildung (Erythropoese) im Knochenmark statt. Die fetale Erythropoese unterteilt sich in drei Phasen. In der mesoblastischen Phase findet die Erythropoese im Dottersack statt (0. - 9. Schwangerschaftswoche (SSW)). Es folgt die hepatische Phase, in welcher die Erythropoese in der Leber erfolgt (10. – 24. SSW). Von der 24. SSW bis zum Ende der Schwangerschaft ereignet sie die Blutbildung im Knochenmark (myeloische Phase). Die Erythropoese umfasst alle Reifungsschritte von pluripotenten Vorläuferzellen bis zu den Erythrozyten. Das wichtigste Zytokin zur Steuerung ist das Glykoprotein-Hormon Erythropoetin (EPO). Dieses wird bei einer verminderten Sauerstoffsättigung im Blut (Hypoxie) vorwiegend in der Niere gebildet und induziert über Rezeptoren auf den erythropoiden Vorläuferzellen die Zell-Differenzierung. Der Retikulozyt ist die direkte Vorläuferzelle des Erythrozyten und enthält Zellorganellen und Ribonukleinsäure-Komplexe. Nach dem „Auswandern“ aus dem Produktionsort ins periphere Blut durchlaufen die Zellen hier die letzte Reifungsstufe zum Erythrozyten, indem die restlichen Zellorganellen abgestoßen werden (Pierre 2002; Piva et al. 2015; Tsiftoglou et al. 2009; Winterhalter 1975). Die Menge der Retikulozyten im Blut kann durch die absolute Retikulozytenzahl (AR), die relative Retikulozytenzahl (RR) und durch den Retikulozytenproduktionsindex (RPI) beurteilt werden.

Die absolute Retikulozytenzahl spiegelt die Anzahl der im peripheren Blut vorhandenen Retikulozyten wider. Die Zahl ist unabhängig von der Erythrozyten-Konzentration im Blut. Bei Vorliegen einer Anämie sind erhöhte Werte möglich (Retikulozytose) (Gressner und Arndt 2019, S. 2062).

Die relative Retikulozytenzahl beschreibt das Verhältnis der Retikulozyten zu den reifen Erythrozyten. Dieser Wert ist abhängig von der Anzahl der Erythrozyten bezogen auf die Volumeneinheit des Blutes und von der Anzahl der Retikulozyten in diesem Blutvolumen.

Ein niedriger Wert bei gleichzeitig niedriger Hb-Konzentration deutet auf eine zu schwache Erythropoese hin. Ein erhöhter Wert ist bei Vorliegen einer Anämie und funktionierender Erythropoese physiologisch (Gressner und Arndt 2019, S. 2062; Pierre 2002).

Der Retikulozytenproduktionsindex beschreibt, wie auch der Retikulozytenindex, die Retikulozytenzahl in Anpassung an den Hämatokrit (Hkt) und darüber hinaus die Lebenszeit der Retikulozyten im peripheren Blut (shift) (Gressner und Arndt 2019, S. 2062; Pierre 2002). Bei einer starken Hypoxie und niedrigen Hkt-Werten werden die Retikulozyten früher ins Blut freigesetzt und verbringen dort eine längere Zeit der Reifung. Folglich befinden sich mehr unreife Retikulozyten-Vorstufen länger im peripheren Blut und die Erythropoese kann trotz hoher absoluter Retikulozytenzahl und relativer Retikulozytenzahl nicht ausreichend sein. Durch die Verwendung des RPIs wird verhindert, dass durch den gesteigerten Shift vom Knochenmark ins periphere Blut eine adäquate Erythropoese suggeriert wird. Bei einem niedrigen RPI und bestehender Anämie liegt eine hypoproliferative Störung und eine ineffektive Erythropoese vor. Ein hoher RPI zeigt bei vorliegender Anämie eine adäquate Erythropoese an (Gressner und Arndt 2019; Pierre 2002; Piva et al. 2015). Fetale Referenzwerte liegen für diesen Parameter nicht vor.

1.5. Thrombozyten

Die Thrombozyten sind ein essentieller Teil der Blutstillung (Hämostase). Sie entstehen ebenfalls im Knochenmark aus pluripotenten Vorläuferzellen. Wichtigster Wachstumsfaktor ist das Hormon Thrombopoetin (TPO). Dieses bindet über TPO-Rezeptoren an den Megakaryoblasten. Durch Zelldifferenzierung entstehen Megakaryozyten, aus welchen die Thrombozyten mittels Zytoplasma-Abschnürungen gebildet werden (Kaushansky 2015; Schulze und Shivdasani 2005). Eine niedrige Thrombozyten-Konzentration (Thrombozytopenie) kann durch eine Störung der Thrombozyten Bildung oder durch einen vermehrten Abbau der Thrombozyten entstehen. Thrombozytopenien führen zu Blutgerinnungsstörungen. Eine erhöhte Thrombozyten-Konzentration (Thrombozytose) tritt physiologisch nach einem akuten Blutverlust auf (Holinstat 2017).

Bei Feten mit schweren Anämien durch eine Rhesusinkompatibilität kommt es durch die gesteigerte Erythropoese zu einer Verdrängung der thrombopoetischen Vorläuferzellen und somit zu einer verminderten Thrombopoese. Bei diesen Feten treten vor allem bei Vorliegen eines Hydrops fetalis dadurch vermehrt Thrombozytopenien auf. Die Inzidenz

wird in der Literatur mit rund 30 % angegeben (van den Akker et al. 2008; van den Hof und Nicolaidis 1990).

Feten mit schweren Anämien durch eine PVB19-Infektion entwickeln ebenfalls vermehrt Thrombozytopenien. Diese treten bei konsekutivem Hydrops fetalis in 29 – 64 % der Fälle auf. Als Ursache wird bei diesem Krankheitsbild die Zerstörung der thrombotischen Vorläuferzellen, den Megakaryozyten, durch das Virus angenommen (Haan et al. 2008).

1.6. Fragestellung

Diese Arbeit basiert auf der Publikation von Siebers et al. (2023). Ein Ziel war es, Referenzwerte der NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut zu etablieren. Hierfür wurde eine mögliche Korrelation zwischen der NT-proBNP-Konzentration und dem steigendem Gestationsalter untersucht und an das Schwangerschaftsalter angepasste Referenzwerte berechnet. Zum anderen wurden pathologische Abweichung der NT-proBNP-Konzentration sowie des Blutbildes (RR, AR, RPI, TH) bei Vorliegen einer fetalen Anämie vor und während einer IUT-Therapie herausgearbeitet. Für diese Analyse wurden erstmals die an das Gestationsalter angepassten Referenzwerte verwendet, um die Zuverlässigkeit zur Detektion von pathologischen Abweichungen zu erhöhen. Zudem wurde erstmalig der Retikulozytenproduktionsindex im Fetalblut betrachtet und die Verwendung als Marker zur Beurteilung der fetalen Erythropoese-Qualität diskutiert. Der Fokus lag auf den Analysen der häufigsten Anämie-Ursachen, der Rhesusinkompatibilität und der Parvovirus B19-Infektion, einschließlich der Veränderungen durch die Ausbildung eines Hydrops fetalis. Insbesondere die NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut bei Vorliegen einer Parvovirus B19-Infektion vor und im Verlauf einer IUT-Therapie wurde bislang nicht untersucht. Hypothese war, dass die PVB19-assoziierte Myokarditis mit einer erhöhten NT-proBNP-Konzentration einherging. Insgesamt diente diese Arbeit dem besseren Verständnis der Pathophysiologie der fetalen Anämie und der Therapie-Auswirkungen auf das fetale Herz-Kreislauf-System, inklusive der fetalen Erythropoese und Blutstillung. Das Verständnis dieser Mechanismen war in der Zusammenschau der (sonographischen) Untersuchungsergebnisse Grundlage für die Bewertung des fetalen Gesundheitszustandes und für mögliche Verbesserungen der Therapiesteuerung zur Vermeidung kardialer Komplikationen sowie Blutgerinnungs- und Blutbildungsstörungen.

2. Material und Methoden

2.1. Datenerfassung des Patientenkollektivs

Teile der hier vorliegenden Studie wurden von Siebers et al. (2023) publiziert. Die nachfolgende Methodik deckt sich aus diesem Grunde mit der in diesem Paper beschriebenen Vorgehensweise (Siebers et al. 2023). Zur Vollständigkeit wird die Methodik nachfolgend erläutert.

Bei dieser Studie handelt es sich um eine retrospektive Datenanalyse, welche in der Abteilung für Geburtshilfe und Pränatale Medizin der Universitätsklinik Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. U. Gembruch) durchgeführt wurde. Für die Probandengruppe (Subjekte) wurden sonographische Untersuchungsergebnisse und Labordaten von 183 Feten herangezogen, welche eine oder mehrere IUTs aufgrund einer diagnostizierten Anämie am Universitätsklinikum Bonn zwischen März 2009 bis Oktober 2020 erhielten. Feten, die bereits vor der Therapie eine intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) (Schätzwert < 10 . Perzentile) aufwiesen ($n = 10$) und alle monochorialen Zwillingschwangerschaften ($n = 63$) sowie höhergradige Mehrlingsschwangerschaften ($n = 3$) dieser Kohorte wurden im Vorfeld ausgeschlossen. Als Kontrollgruppe (Kontrollen) dienten Labordaten von 276 Fetalblutproben, welche im Rahmen eines medizinisch induzierten Schwangerschaftsabbruchs (Fetozid) am Universitätsklinikum Bonn zwischen 2017 und 2020 entnommen wurden. Hierbei wurden alle Feten mit Erkrankungen ausgeschlossen, welche mögliche Einflussfaktoren auf die NT-proBNP-Konzentration darstellten ($n = 190$). Darunter fielen urogenitale Malformationen, Malformationen des Thorax, Infektionen, Herzvitien, Tumore, das Vorliegen einer IUGR oder eines Hydrops fetalis (Merz et al. 2012a, S. 76). Ebenfalls wurden Feten mit einer Anämie ($\text{MOM-Hb} < 0,84$) ausgeschlossen. Zudem wurden Fälle mit pathologischen Flussmustern der Arteria uterina oder des Ductus venosus (DV) sowie Fälle mit einem MOM-MCA-PSV -Wert von $> 1,5$ exkludiert.

Jede Patientin gab vor dem ersten Eingriff ihre schriftliche Einverständniserklärung zur Verwendung der Daten für wissenschaftliche Studien. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn mit der Nummer 52520 befürwortet und unterliegt den Richtlinien der Deklaration von Helsinki.

2.1.1. Diagnosestellung

Bei Erstvorstellung der Patientinnen wurden nachfolgende Variablen dokumentiert: Alter [Jahre], Körpergröße [m], Körpergewicht [kg], Gestationsalter [Woche, Tag], Parität [Anzahl] und Gravidität [Anzahl] der Patientin. Mittels der folgenden Formel wurde der Body-Mass-Index (BMI) ermittelt: $\frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{(\text{Körpergröße [m]})^2}$. Es erfolgte eine ausführlich körperliche und fetale Ultraschalluntersuchung mit Befunddokumentation. Folgende sonographischen Untersuchungsergebnisse wurden erfasst: Geschlecht, Schätzwert (SG) [g], Perzentile des Schätzwertes, der Schwangerschaftsmodus (Einlings- oder Mehrlingsschwangerschaft) und erkennbare Fehlbildungen und Erkrankungen der Feten. Es wurden ausschließlich hochauflösende Ultraschallgeräte verwendet, welche für die Geburtshilfe zugelassen sind (Voluson E8 and E10 (GE Healthcare, Solingen, Germany), IU22 and Epiq 5 and 7 (Philips, Hamburg, Germany), Aplio 500 and 600 (Canon/Toshiba Medical Systems, Neuss, Germany) mit r-MHZ 7,5 MHz oder 9 MHz Ultraschallsonden). Das Schwangerschaftsalter wurde mittels Ultraschalluntersuchung im ersten Trimester überprüft und korrigiert. Die Diagnosestellung der fetalen Grunderkrankung erfolgte anhand der sonographischen Untersuchungsbefunde in Zusammenschau mit den Laborbefunden der Fetalblutanalyse und/oder maternalen Blutproben. Die Diagnose einer Blutgruppeninkompatibilität bei Vorliegen einer Anämie wurde mittels eines positiven Antikörpersuchtest (Coombs-Test) diagnostiziert. Die fetale PVB19-Infektion wurde entweder durch das Vorliegen einer Serokonversion PVB19-spezifischer Antikörper im maternalen Blut oder durch quantitativen Nachweis der B-19-Viruslast mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) im Fetalblut bestätigt. Chromosomale Aberrationen wurden mittels (molekular)-zytogenetischer Blutuntersuchungen des Fetalblutes bestätigt. Hierfür wurden 15 – 20 ml steril entnommenes Fruchtwasser oder 0,7 – 1,5 ml heparinisiertes Blut der Nabelschnurvene untersucht. Diagnosen, welche nach einem Fetozyd in einer Obduktion gestellt wurden, wurden ebenfalls mit einbezogen. Die Diagnose eines Hydrops fetalis erfolgte, wenn mindestens in zwei Kompartimenten Flüssigkeitsansammlungen vorlagen, wovon mindestens ein fetales Kompartiment betroffen war (Aszites, Haut, Pleura, Perikard, Polyhydramnion, Plazentomegalie). Dopplersonographisch wurden der Ductus venosus (DV), die Arteria umbilicalis, die Arteria uterina und die MCA untersucht. Der DV und die Arteria

umbilicalis wurden mit einem Insonationswinkel von $< 30^\circ$ beurteilt. Es wurde keine Winkelkorrektur durchgeführt. Ein Pulsatilitäts-Index der Arteria umbilicalis über der 90. Perzentile für das entsprechende GA und/oder fehlende oder umgekehrte enddiastolische Flüsse wurden als pathologisch gewertet. Zudem wurde unterschieden zwischen Feten, die im Blutflussgeschwindigkeitsprofil des DV einen antegraden Blutfluss während der atrialen Systole (positive a-Welle) aufwiesen und denen, die einen reversen Blutfluss während der atrialen Systole (negative a-Welle) aufwiesen. In der Probandengruppe erfolgt die Untersuchung der MCA vor jeder intrauterinen Transfusion. Es wurde eine 1 – 3 mm große Messvolumenzelle, 1,0 – 1,5 cm entfernt von der Gabelung der MCA, aus dem Circulus Willisi bzw. der Arteria carotis interna gemessen. Der Insonationswinkel betrug $0^\circ - < 10^\circ$. Die Ergebnisse wurden mittels folgender Formel in MOM-Werte umgerechnet:

$$MOM - MCA - PSV = \frac{MCA-PSV \left[\frac{cm}{s} \right]}{e^{(2,31+0,046 GA)}}$$

Ein MOM-MCA-PSV von $> 1,28$ wurde als Anämie definiert. Eine leichte Anämie bestand ab einem MOM-MCA-PSV von 1,29 – 1,48, eine mittelschwere (moderate) Anämie ab 1,49 – 1,54 MOM-MCA-PSV und eine schwere Anämie ab $> 1,55$ MOM-MCA-PSV. Nach der Entbindung wurde das Geburtsgewicht [g], die Perzentile des Geburtsgewichts, das Geschlecht der Feten und im Falle der Probandengruppe das Vorliegen einer Tot- oder Lebendgeburt vermerkt. Postnatales Versterben der Feten innerhalb von 2 Wochen wurde ebenfalls dokumentiert. Die eben genannten Parameter wurden unter dem Begriff Outcome zusammengefasst.

In der Kontrollgruppe erfolgte die dopplersonographische Untersuchung der oben genannten Parameter im Rahmen des stationären Aufenthaltes vor dem geplanten Fetozid. Die Messungen konnten mangels Kapazitäten nicht in jedem Fall anhand des eben beschriebenen Protokolls erfolgen. Alle Feten dieser Gruppe wurden als Totgeburten vermerkt.

2.1.2. Invasive Eingriffe

Die Indikation zur IUT wurde bei hochgradigem Verdacht auf eine schwere fetale Anämie mittels oben beschriebener Diagnostik gestellt. Unter aseptischen Bedingungen erfolgte ultraschallgesteuert die transkutane, transabdominale Punktion mit einer 22-Gauge-Einmalpunktionssnadel in die Nabelschnurgefäße, möglichst nah der plazentaren Insertionsstelle. Zur Lagekontrolle der Nadel und zur Blutprobenentnahme wurde unmittelbar vor

der Transfusion 1 – 3 ml venöses Fetalblut entnommen. Es erfolgte eine direkte Hämoglobinbestimmung des Fetalblutes vor Ort mit dem HemoCue® Hemoglobin 201 Analyse zur Bestätigung der Anämie. Zur Transfusion wurde ein Leukozyten-gefiltertes und bestrahltes CMV-negatives Erythrozyten-Konzentrat der Blutgruppe 0, Rhesus-negativ verwendet. Die Probe wurde auf einen Hämatokrit-Wert von 72 % und einen Hämoglobinwert von 30 - 40 g/dl berechnet. Das Transfusionsvolumen wurde anhand des fetalen Schätzwertes ohne fetale Wassereinlagerungen – zwischen 30 und 50 ml/kg ermittelt, wobei bei schwer hydropischen und herzinsuffizienten Feten, ersichtlich anhand einer ausgeprägten dilatativen Kardiomegalie, holosytolischer AV-Klappen-Insuffizienzen und einer erhöhten Pulsatilität im Ductus venosus, Mengen im unteren Bereich der Spanne transfundiert wurden, um die akute Volumenbelastung zu reduzieren. Das maximale Transfusionsvolumen war auf 80 ml pro IUT begrenzt und wurde in Schritten von 10 ml/min transfundiert. Eine erneute Blutentnahme inklusive Hb-Bestimmung erfolgte am Ende der Transfusion, um die Hb-Konzentration und den Hämatokrit zu messen und das Intervall bis zur nächsten Infusion zu bestimmen. Nach der Transfusion wurden die Patientinnen für weitere 24 Stunden medizinisch überwacht. Transfusionsbedingte Komplikationen waren definiert als Blutungen der Punktionsstelle, fetale Bradykardie, Nabelvenenspasmus und ein intrauteriner Tod innerhalb von 24 Stunden nach dem Eingriff.

Alle IUTs erfolgten nach der gleichen, eben beschriebenen Vorgehensweise. Dabei ergaben sich Ausnahmen in zwei Fällen: In einem Fall fand eine intraperitoneale Transfusion in den ersten zwei Sitzungen statt, alle weiteren Transfusionen wurden intravaskulär nach dem eben beschriebenen Vorgehen durchgeführt. Bei einem anderen Fetus wurde intrakardial transfundiert. In diesem Fall wurde kein Fetalblut entnommen. Nur die Ergebnisse der MCA-PSV-Messungen wurden in der Studie berücksichtigt.

In der Kontrollgruppe erfolgte bei einem Fetozid die perkutane Punktion der Nabelvene sonographisch gesteuert in der gleichen Vorgehensweise. Hierbei wurde Fetalblut zur Blutprobenentnahme und Lagekontrolle vor Injektion der kardioplegen Lösung entnommen. Die Fetozide wurden in Übereinstimmung mit den rechtlichen Gegebenheiten durchgeführt und erfolgten zwischen der 20. und der 34. SSW.

2.1.3. Blutanalysen

Alle entnommenen Blutproben wurden innerhalb von vier bis acht Stunden ins Zentrallabor transportiert. Die Hämoglobinkonzentration [g/dl], die Erythrozytenanzahl [T/l], die Retikulozytenzahl [G/l], die Retikulozyten [%], der Retikulozytenproduktionsindex und die Thrombozytenkonzentration [G/l] wurden aus Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Vollblutproben gemessen. Die Blutanalyse erfolgte mit dem Hämatologie-Analyser Sysmex XN9000 mittels Fluoreszenz-Durchflusszytometrie. Mit folgender Formel wurden die RPIs berechnet:

$$RPI = \frac{\text{Retikulozytenzahl [\%]}}{\text{Reifungszeit [Tage]}} \times \frac{\text{Hämatokrit [L/L]}}{0,45 [L/L]}$$

Hb-Konzentrationen wurden retrospektiv in MOM-Werte umgerechnet und dienten der Einteilung des Anämie-Schweregrades (0,84 - 0,65 = leichte Anämie; 0,64 – 0,55 = mittelschwere Anämie; < 0,55 = schwere Anämie).

Die Umrechnung erfolgte mit der folgenden Formel: $(MOM - Hb = \frac{Hb\text{-Konzentration} [\frac{g}{dl}]}{e^{(2,84-8,55/GA)}})$.

Die Konzentration des NT-proBNP wurde in EDTA-Plasma-Blutproben durch ECLIA (Elektrochemilumineszenzimmunoassay, Gerät: Dimension Vista 1500) bestimmt. Inter- und Intra-Assay-Variationskoeffizienten betragen 3,5 % bzw. 2,3 %. Blutproben, die eine vermeintliche Kontamination mit Fruchtwasser aufwiesen, wurden im Nachhinein ausgeschlossen.

2.2. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung fand mit dem Statistik-Programm SPSS Version 27.0 statt. Alle untersuchten Variablen wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Parameter, welche eine positive Schiefe aufwiesen, wurden logarithmiert betrachtet. Mittelwertvergleiche fanden zwischen den Kontrollen, Subjekten und Feten mit einer Rhesusinkompatibilität (Subgruppe = Rh. Ink.) sowie einer Parvovirus-B19-Infektion (Subgruppe = PVB19) statt. Bei Variablen mit einer Gaußschen Normalverteilung wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Mit dem Levene-Test wurde zuvor die Varianzgleichheit geprüft und bei vorliegender Varianzgleichheit der Bonnferroni Post-Hoc-Test durchgeführt. Bei fehlender Varianzgleichheit wurde der Games-Howell-Post-Hoc-Test herangezogen. Parameter, welche nicht normalverteilt vorlagen, wurden mittels Kruksali-Wallis-Test und nachfolgenden Dunn-Bonnferroni-Test verglichen. Die Teststärke wurde bei dieser Analyse mittels cohens d bestimmt. Mittelwertvergleiche zwischen

hydropischen und nicht hydropischen Feten innerhalb einer Subgruppe (PVB19 und Rh. Ink.) wurden mit dem Man-Whitney-U-Test durchgeführt.

Folgende Einflüsse auf die Variablen der Blutanalyse wurden mittels multipler linearer Regressionen untersucht: Geschlecht und Krankheit des Kindes, BMI [g/ kg/ m²] und Alter der Mutter [Jahre] sowie das GA zum Zeitpunkt des Eingriffes [Woche, Tag]. Residuen wurden zuvor mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft. Lineare Korrelationen innerhalb der Gruppen wurden mit dem Pearson Korrelationskoeffizienten eingeschätzt.

Der Verlauf der Blutuntersuchungsergebnisse während der Therapie mit seriellen IUTs wurde mithilfe eines linear gemischten Modells exploriert und folgende Einflüsse auf die Blutuntersuchungsergebnisse im Verlauf der Therapie untersucht: Anzahl der erfolgten IUTs, Hb-Konzentration zum Entnahmezeitpunkt und das Vorliegen eines Hydrops fetalis zum Transfusionszeitpunkt. Es wurden feste und zufällige Effekte mit einbezogen. Subgruppenanalysen wurden bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität und Feten mit einer PVB19-Infektion durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde für jede Analyse auf $p < 0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

Auszüge der folgenden Ergebnisse wurden von Siebers et al. (2023) publiziert. Diese beinhalten unter anderem die Beschreibungen des Kollektivs, die Parameter der Anämie-Diagnostik, sowie die Ergebnisse, welche mit der NT-proBNP-Konzentration in Zusammenhang stehen (Siebers et al. 2023). Zur Vollständigkeit und zum Verständnis der weiteren Zusammenhänge sind diese Ergebnisse im nachfolgenden Teil aufgeführt.

3.1. Beschreibung des Kollektivs

In die Kontrollgruppe wurden Untersuchungsergebnisse und Blutentnahmen von 86 Fetoziden eingeschlossen (Kontrollen). Die Erkrankungen der Kontrollen wurden in folgende Subgruppen eingeteilt: Skelettdysplasien (n = 5), Neuralrohrdefekte (n = 15), Hirnfehlbildungen (n = 39), Trisomie 21 (n = 14), Chromosomenaberrationen (n = 2), Diverses (n = 11) (Abb. 1).

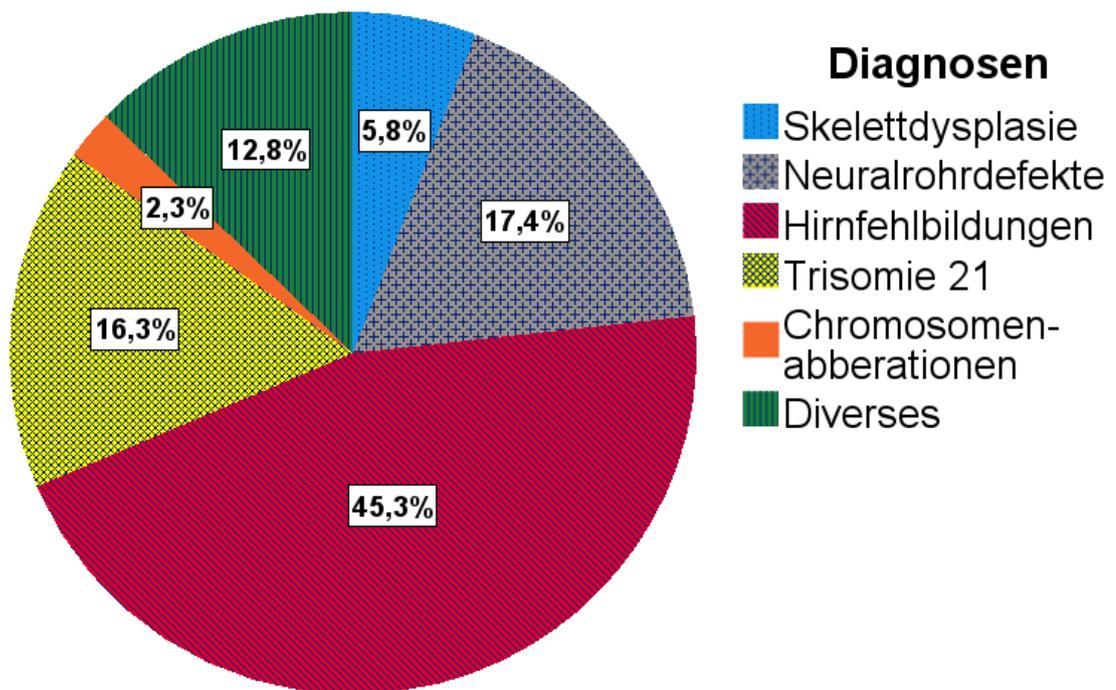


Abb. 1: Verteilung der Diagnosen [%] in der Gruppe der Kontrollen (N = 86)

In die Probandengruppe wurden 107 Feten, welche eine oder mehrere intrauterine Transfusionen (IUTs) aufgrund einer diagnostizierten Anämie erhielten, eingeschlossen (Subjekte). Die Diagnosen der Feten sind in Tab. 1 dargestellt. Die häufigste Erkrankung der

Subjekte stellte mit 41 Feten die Rhesusinkompatibilität dar (38 %). Bei 36 dieser Fälle (88%) lagen RhesusD-Antikörper (AK) vor, in vier Fällen (10 %) sowohl RhesusD-AK, als auch RhesusC-AK und in einem Fall (2 %) RhesusE-AK. Die zweithäufigste Diagnose stellte mit 29 Feten (27%) eine Infektion mit dem Parvovirus B19 dar. Diese beiden Diagnosen bildeten die Subgruppen (Rh. Ink.; PVB19) dieser Analyse. Insgesamt waren bei 49 Feten (46 %) immunologische Ursachen der Anämie auszumachen. Unter diese fielen das Vorliegen einer Kellinkompatibilität und einer Rhesusinkompatibilität. Bei 32 Feten (30 %) war der Transfusionsgrund infektiöser Genese. Diese beinhalteten das Vorliegen einer PVB19-Infektion und einer CMV-Infektion. Das durchschnittliche Intervall zwischen der ersten und der zweiten IUT lag bei 7 ± 6 Tage. Zwischen der zweiten und dritten Transfusion lag das Intervall durchschnittlich bei 13 ± 12 Tagen.

Tab. 1: Diagnosen der Subjekte (N = 107)

	Anzahl [n]	Prozent [%]
Chorangiom	3	2,8
Zytomegalie (CMV)	3	2,8
Homozygote alpha-Thalassämie	1	0,9
Kellinkompatibilität	8	7,5
Kongenitale dyserythroetische Anämie	1	0,9
Lower urinary tract obstruction (LUTO)	1	0,9
Parvovirus B19 (PVB19)	29	27,1
Rhesusinkompatibilität	41	38,3
Steißbeinteratom	3	2,8
Trisomie 21	1	0,9
Unklare Genese	16	15,0

In allen Gruppen wurden das Alter [Jahre], der BMI [kg/m²], die Graviddität und Parität sowie das GA [Woche, Tage] der Mütter beim invasiven Eingriff (Fetozid oder erste IUT) dokumentiert (Tab. 2). Das Alter der Patientinnen war in allen Gruppen im Durchschnitt zwischen 31 und 32 Jahren. Der ermittelte BMI der Mütter war in allen Gruppen durchschnittlich im übergewichtigen Bereich (BMI zwischen 25 - 29,9 kg/m²). Die Graviddität lag im Durchschnitt zwischen zwei und vier Schwangerschaften. Die Mütter der Subgruppe rhesusinkompatibler Feten wiesen die höchste Graviddität auf. Die Parität lag gemittelt bei

einer bis zwei Geburten (Tab 2). Das GA beim Eingriff war in allen Gruppen durchschnittlich im zweiten Trimenon, wobei die Patientinnen der Subgruppe PVB19 das jüngste GA beim Eingriff aufwiesen. Der früheste Eingriff erfolgte in der 14+0 SSW bei Verdacht auf eine PVB19-Infektion mit Entwicklung eines Hydrops fetalis. Es wurden zudem sonographisch folgende Charakteristika in allen Gruppen erhoben: das Geschlecht der Feten, das Vorliegen einer Mehrlingsschwangerschaft und das fetale Schätzwert (SG) [g] inklusive der Perzentile (Tab. 2).

Tab. 2: Basischarakteristika des Patientenkollektivs

	Subjekte n = 107	Sub- gruppe Rh. Ink. n = 41	Sub- gruppe PVB19 n = 29	Kontrollen n = 86
Maternale Charakteristika				
Alter der Mutter [Jahre] ^a	31,4 ± 5,3	32 ± 1,5	31,2 ± 5,5	31,4 ± 5,3
BMI der Mutter [kg/m ²] ^a	26,1 ± 4,5	27,1 ± 4,9	26,2 ± 4,4	27,8 ± 5,7
Gravidität der Mutter ^a	3,0 ± 1,6	4,2 ± 1,5	2,7 ± 1,3	2,4 ± 1,3
Parität der Mutter ^a	1,0 ± 1,3	2,0 ± 1,5	1,1 ± 0,9	1,0 ± 1,0
GA beim ersten Eingriff [Woche, Tage] ^a	23,6 ± 6,5	25,3 ± 5,0	19,5 ± 2,6	25,0 ± 3,7
Fetale Charakteristika				
Männliche Feten ^b	51 (47,7)	22 (53,7)	15 (51,7)	38 (44,2)
Weibliche Feten ^b	53 (49,5)	17 (41,5)	14 (48,3)	48 (55,8)
Dichoriale Zwillingfeten ^b	5 (4,7)	2 (4,9)	1 (3,4)	5 (5,8)
Schätzwert (SG) [g] ^a	843 ± 627	1081 ± 664	356 ± 145	704 ± 442
Perzentile SG ^a	60 ± 28	61 ± 24	20 ± 3	39 ± 23
Outcome				
Lebendgeburten ^b	91 (85,0)	37 (90,2)	22 (75,9)	0 (0,0)
Geburtsgewicht [g] ^a	2692 ± 724	2658 ± 584	2950 ± 1078	
Geburtsgewichtspozentile ^b	49 ± 27	53 ± 27	36 ± 25	
Intrauterin verstorben ^a	11 (10,3)	0 (0,0)	7 (24,1)	
keine Information ^b	5 (4,7)	4 (9,7)	0	

^a Angaben in Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD)

^b Angaben in Anzahl der Grundgesamtheit = n (%)

Die Geschlechter der Feten waren in allen Subgruppen gleichmäßig verteilt. In drei Fällen konnten retrospektiv keine Informationen zum Geschlecht erhoben werden. Insgesamt

wurde das Blut von fünf Feten aus dichorialen-diamnioten Zwillingsschwangerschaften eingeschlossen. Zwei dieser Feten hatten eine Rhesusinkompatibilität und ein Fetus eine PVB19-Infektion. Das Schätzwert wurde in allen Fällen vor der ersten IUT bestimmt. Subjekte mit einer PVB19 Infektion hatten im Durchschnitt das niedrigste SG mit 843 ± 627 g. Das geringste Schätzwert lag in dieser Subgruppe bei 113 g auf der 11. Perzentile. Es wurde zudem das Outcome der Feten dokumentiert. Elf Subjekte erlitten einen intrauterinen Fruchttod. Sieben dieser Feten hatten eine PVB19-Infektion und zeigten einen ausgeprägten Hydrops Fetalis. In Zwei Fällen lag eine CMV-Infektion vor. In einem dieser Fälle wurde ein Fetozyd durchgeführt. Ein Fetus hatte eine schwere Anämie unklarer Genese und ein Fetus ein Steißbeinteratom. Insgesamt verstarben fünf Feten innerhalb von 24 Stunden nach dem invasiven Eingriff und waren mit Komplikationen dieser Eingriffe assoziiert. In fünf Fällen konnten retrospektiv keine Informationen über die Ergebnisse der Entbindung erhoben werden. Die restlichen 91 Feten wurden lebend entbunden. Das Geburtsgewicht der lebend entbundenen Kinder war im Mittel 2692 ± 724 g, mit einem durchschnittlichen Perzentil von 49 ± 27 ($n = 91$). In der Subgruppe PVB19 betrug das Geburtsgewicht 2658 ± 584 g auf der $52. \pm 27$. Perzentile ($n = 22$). In der Subgruppe Rh Ink. lag es bei 2950 ± 1078 g, mit einem durchschnittlichen Perzentil von 36 ± 25 ($n = 37$). Fünf Kinder verstarben postnatal (Fall 1 = Fetus mit Trisomie 21 und Ausbildung eines Hydrops Fetalis, entbunden in der 32 + 5 SSW; Fall 2 = Fetus mit multiplen Chorangiomen und Kardiomegalie, entbunden in der 20 + 3 SSW; Fall 3 = Fetus mit schwerer Anämie unklarer Genese und stark ausgeprägten Hydrops Fetalis, entbunden in der 27 + 6 SSW; Fall 4 = Fetus mit einer CMV-Infektion, entbunden in der 28 + 1 SSW; Fall 5 = Fetus mit schwerer Anämie unklarer Genese, entbunden in der 27 + 1 SSW).

3.1.1. Parameter der Anämie-Diagnostik

Bei 54 Kontrollen (63 %) wurden die Hb-Werte im Rahmen des Fetozydes gemessen und in MOM-Werte umgerechnet. Diese lagen im Mittelwert bei $1,04 \pm 0,10$ ($n = 54$). Der minimale MOM-Hb-Wert betrug 0,85 und maximal bei 1,34. Alle Kontrollen zeigten unauffällige Flussprofile des DV, der Arteria uterina und der Arteria umbilicalis (Tab. 3). Der Mittelwert der MCA-PSV lag bei $33,0 \pm 11,2$ cm/s ($n = 63$). Der maximale MOM-MCA-PSV-Wert war $< 1,5$ (Tab. 3). Es lagen somit keine Hinweise auf Anämien vor.

In der Gruppe der Subjekte wurden in 100 Fällen (93 %) der Hb-Wert im Fetalblut unmittelbar vor der ersten IUT bestimmt. Der Großteil der Subjekte wies eine schwere Anämie auf (66 %). Auch in den Subgruppen war die Anämie im Großteil schwer ausgeprägt. Dabei zeigte die Subgruppe PVB19 den höchsten Anteil mit 20 Feten (69 %) (Tab 3). Auffällig war, dass bei drei Subjekten (2%) vor der ersten IUT anhand des MOM-Hb-Wertes keine Anämie vorlag. In einem dieser Fälle war die Ursache der Anämie eine PVB19-Infektion. In den zwei anderen Fällen lag eine Rhesusinkompatibilität vor. Aufgrund der jeweils bestätigten Diagnose wurde angesichts der erhöhten MCA-PSV-Werten transfundiert. In sieben Fällen konnte keine Hb-Bestimmung vor der ersten Transfusion erfolgen. In einem Fall erfolgte eine intrakardiale Transfusion und es wurden keine Blutwerte abgenommen. In einem anderen Fall erfolgten die ersten zwei Transfusionen intraperitoneal. Bei fünf Proben war das abgenommene Blut vor der Analyse geronnen.

Tab. 3: Parameter zur Einteilung des Anämie-Schweregrades bei den Kontrollen, den Subjekten und Subgruppen vor dem invasiven Eingriff

	Subjekte n = 107	Rh. Ink. n = 41	PVB19 n = 29	Kontrollen n = 86
Negative a-Welle im DV _b	6 (5,6)	2 (4,9)	2 (7,0)	0 (0,0)
MOM-MCA-PSV _a	2,12 ± 0,43	2,05 ± 0,42	2,22 ± 0,40	1,1 ± 0,21
MOM-Hb _a	0,43 ± 0,21	0,44 ± 0,21	0,40 ± 0,20	1,04 ± 0,10
Keine Anämie _b	3 (2,8)	2 (4,9)	1 (3,4)	54 (62,8)
Leichte Anämie _b	18 (16,8)	9 (22,0)	2 (7,0)	0 (0,0)
Mittelschwere _b	8 (7,5)	2 (4,9)	1 (3,4)	0 (0,0)
Schwere Anämie _b	71 (66,4)	26 (63,4)	20 (69)	0 (0,0)
Hydrops fetalis _b	54 (50,5)	15 (36,6)	18 (62,1)	0 (0,0)

_a Angaben in Mittelwert ± Standardabweichung

_b Angaben der Anzahl der Grundgesamtheit = n (%)

Das Flussprofil des DV wurde in 94 Fällen (88 %) vor der ersten IUT gemessen. In zehn Fällen fand sich ein auffälliges Flussprofil in Form eines reversen Flusses während der atrialen Systole (negative a-Welle). Sowohl die Arteria uterina als auch in die Arteria umbilicalis zeigten jedoch bei keinem der Subjekte auffällige Flussprofile vor der ersten IUT. Der MCA-PSV-Wert wurde bei allen Subjekten gemessen und betrug im Durchschnitt 64 ± 17 cm/s vor der ersten IUT und lag somit doppelt so hoch wie in der Kontrollgruppe (Tab. 3). In allen Fällen war der umgerechnete MOM-MCA-PSV vor der ersten IUT pathologisch erhöht (MOM > 1,5). Eingeteilt anhand des MOM-MCA-PSV wiesen 101 Feten (94

%) vor der ersten IUT eine schwere Anämie, drei eine mittelschwere Anämie (3 %) und zwei eine leichte Anämie (2 %) auf. Die MOM-MCA-PSV-Werte zeigten eine starke negative Korrelation nach Pearson zu den MOM-Hb-Werten ($p = 0,001$, $R = 0,78$). Feten mit einer schweren Anämie Ausprägung zeigten somit höhere MOM-MCA-PSV Werte.

3.1.2. Subjekte mit der Diagnose Hydrops fetalis

Bei 54 Subjekten (51 %) wurde ein Hydrops fetalis diagnostiziert. Unter diesen befanden sich 26 männliche Feten (48 %) und 25 weibliche Feten (46 %). Bei drei Feten (5,6 %) wurde das Geschlecht nicht bestimmt. Drei der hydropischen Feten (5,6 %) waren Feten einer dichorialen-diamnioten Zwillingschwangerschaft. 15 der hydropischen Feten hatten als Grunderkrankung eine Rhesusinkompatibilität (27 %) und 18 hydropische Feten hatten eine Parvovirus B19-Infektion (33 %). Diese Fälle waren somit Teil der Subgruppen. Die detaillierten Diagnosen finden sich in Tab. 4. Das Schätzwert der hydropischen Feten lag bei 703 ± 523 g auf der 57. \pm 29. Perzentile. Unter den hydropischen Feten befanden sich neun Fälle, die einen intrauterinen Fruchttod erlitten, die restlichen Feten wurden lebend entbunden.

Tab. 4: Diagnosen der Feten mit einem Hydrops fetalis

	Anzahl [n]	Prozent [%]
Chorangiom	1	1,9
Zytomegalie (CMV)	3	5,6
homozygote alpha-Thalassämie	1	1,9
Kellinkompatibilität	4	7,4
Parvovirus B19	18	33,3
Rhesusinkompatibilität	15	27,8
Trisomie 21	1	1,9
unklare Genese	11	20,4
Gesamt	54	100

3.1.3. MOM-MCA-PSV-Werte und MOM-Hb-Werte im Gruppenvergleich vor und während der IUT- Therapie

Zwischen den Subgruppen Rh. Ink. und PVB19 zeigten sich in der Regressionsanalyse und dem anschließenden Post-hoc-Test (Games-Howell) keine signifikant unterschiedlichen Mittelwerte der MOM-MCA-PSV-Werte ($p = 0,33$) und der MOM-Hb-Werte vor der ersten Transfusion ($p = 0,89$).

Das Vorliegen eines Hydrops Fetalis zeigte im linear gemischten Modell keinen Einfluss auf MOM-MCA-PSV-Werte im Fetalblut der Subjekte während des Therapieverlaufs ($p = 0,279$). Vor Therapiebeginn lag der Mittelwert der MOM-MCA-PSV-Werte im Blut der hydropischen Feten bei $2,2 \pm 0,5$ ($n = 54$) und somit höher als bei den restlichen Subjekten mit einem Mittelwert von $2,0 \pm 0,4$ ($n = 53$). Im Therapieverlauf blieb dieser Unterscheid nicht erhalten. Auf die MOM-Hb-Werte zeigte das Vorliegen eines Hydrops fetalis im gemischt linearen Modell nur einen geringen Einfluss im Therapieverlauf ($\beta = 0,11$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-0,06 - (-0,17)$). Feten mit einem Hydrops fetalis zeigten niedrigere MOM-Hb-Werte als die restlichen Feten. Der MOM-Hb-Wert lag vor der Therapie im Fetalblut der hydropischen Feten im Durchschnitt bei $0,4 \pm 0,2$ ($n = 50$). Somit zeigten diese Feten eine schwerere Anämie Ausprägung als die restlichen Subjekte, welche einen durchschnittlichen MOM-Hb-Wert von $0,5 \pm 0,2$ ($n = 50$) im Blut aufwiesen.

Da das therapeutische Management abhängig von den gemessenen MCA-PSV-Werten und Hb-Werten der Feten gemacht wurde, ist eine Interpretation dieser Werte über den Therapieverlauf nicht trivial. Die größte Veränderung in diesen Werten zeigte sich bei allen Subjekten zwischen der ersten und der zweiten IUT. Der MOM-Hb-Wert stieg zwischen diesen IUTs von einem Median von $0,42$ ($0,24 - 0,58$) auf $0,78$ ($0,55 - 0,84$). Insgesamt stieg der MOM-Hb-Wert im gemischt linearen Modell um $\beta = 0,05$ ($p < 0,001$, 95 % KI = $0,04 - 0,05$), blieb jedoch vor jeder weiteren IUT pathologisch niedrig.

Der Median der MOM-MCA-PSV-Werte sank nach der ersten IUT von $2,12$ ($1,78 - 2,36$) auf $1,59$ ($1,33 - 1,95$) ab. Insgesamt sank dieser Wert pro IUT gemittelt um $\beta = -0,09$ ($p < 0,001$, 95 % KI = $-0,10 - (-0,07)$).

3.2. Die NT-proBNP-Konzentration im Gruppenvergleich

In der Kontrollgruppe betrug der Mittelwert der NT-proBNP-Konzentration 1.339 ± 639 pg/ml ($n = 58$). Das steigende Gestationsalter der Mutter zeigte in der multiplen linearen

Regressionsanalyse einen signifikanten Einfluss auf die Konzentration ($p < 0,001$). Mit jeder Schwangerschaftswoche sank der Wert um durchschnittlich 74 pg/ml (Regressionskoeffizient (R)). Insgesamt fiel der Durchschnitt von einem Mittelwert von 1.813 pg/ml in der 19. SSW auf 702 pg/ml in der 34. SSW. Der Mittelwert und das 95 % KI (± 2 SD) aufgetragen gegen die SSW ist in Abb. 2 dargestellt und wird nachfolgend als Normwertbereich für weitere Analysen definiert. Zum Vergleich mit etablierten Referenzwerten der NT-proBNP-Konzentration wurden die von Merz et al. (2010) erhobenen Werte in Abb. 2 hinterlegt. Die Abbildung wird modifiziert nach Siebers et al. abgebildet (2023).

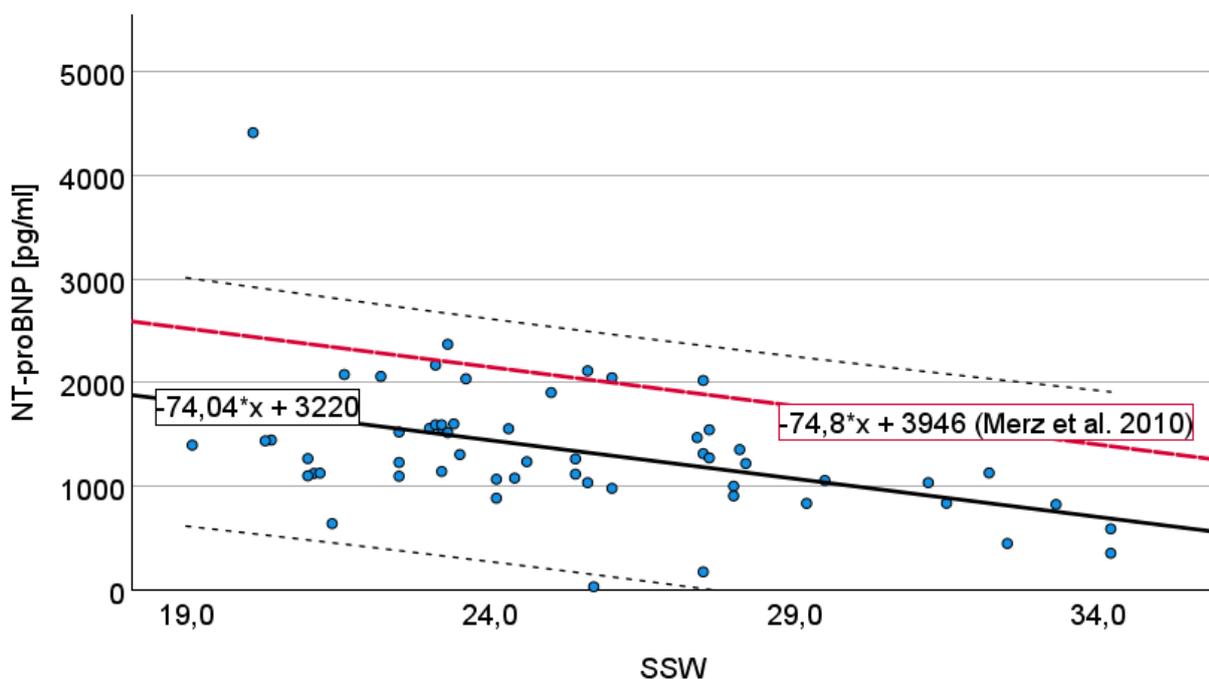


Abb. 2: Lineare Korrelation der NT-proBNP-Konzentration [pg/ml] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Mütter zum Entnahmzeitpunkt (Mittelwert + 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = -74,04, Std.- Fehler = 20, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,44, T = -3,65, $p = 0,001$; erhobene Referenzwerte von Merz et al. (2010) sind zum Vergleich als Regressionsgerade angegeben; Abbildung modifiziert nach Siebers et al. (2023)

Lediglich einer der erhobenen Konzentrationen lag mit einem Wert von 4.413 pg/ml nicht in dem berechneten Referenzwertbereich (Abb. 2). In diesem Fall lag der Verdacht auf eine Spina bifida aperta (sakral) vor. Der MOM-Hb-Wert lag bei diesem Fetus bei 0,9. Andere sonographischen Auffälligkeiten der Lunge oder des Herzens wurden nicht erkannt. Es war nicht abschließend zu klären, warum die NT-proBNP-Konzentration im Blut dieses Fetus erhöht war.

Die verschiedenen fetalen Diagnosen (Abb. 1), das Alter und der BMI der Mütter zeigten in der multiplen linearen Regression keinen Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentration ($p > 0,05$). Lediglich Feten des männlichen Geschlechts zeigten eine leicht erhöhte NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut im Vergleich zu den Feten des weiblichen Geschlechts ($p = 0,042$, $R = 358$, $T = -2,08$). Die Stärke dieses Einflusses war jedoch deutlich geringer ($\beta = 0,3$) als der Einfluss des Gestationsalter ($\beta = 0,5$). Der Unterschied in den Mittelwerten war mit einem $R = 358$ sehr klein. Auch ist zu beachten, dass der eben beschriebene Ausreißer mit der hohen NT-proBNP-Konzentration von 4.413 pg/ml ein männlicher Fetus war und somit die Analyse beeinflusste. Im gemischt linearen Modell wurde dem Geschlecht kein wesentlicher Einfluss auf die Konzentration zugeschrieben. Um die NT-proBNP-Konzentration vor Beginn der Therapie zwischen den Subjekten, den Subgruppen und den Kontrollen zu vergleichen, wurde ein Mittelwertvergleich der logarithmierten Werte mittels Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied innerhalb dieser Gruppen ($p < 0,001$, $F = 81,8$). Im Post-Hoc-Test (Games-Howell) zeigten die Subjekte eine signifikant höhere NT-proBNP-Konzentration im Vergleich zu den Kontrollen (Tab. 5 und 6). Der Mittelwert lag in der Probandengruppe bei 37.453 ± 44.205 pg/ml und somit um das 37-fache höher als in der Kontrollgruppe (1.339 ± 639 pg/ml) (Tab 5). Die Subgruppe der Feten mit einer PVB19-Infektion hatte die höchste NT-proBNP-Konzentration im Blut. Der durchschnittliche NT-proBNP-Wert betrug in dieser Subgruppe 46.420 ± 3.6982 pg/ml und war im Vergleich zur Kontrollgruppe um das 46-fache erhöht. Es ergab sich ein doppelter Wert im Vergleich zu den Fällen einer Rhesusinkompatibilität (27.937 ± 37.680 pg/ml). Auch der Mittelwert der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität lag im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher ($p < 0,001$) (Tab 6).

Tab. 5: Mittelwerte (M) und Standardabweichung (SD) der NT-proBNP-Konzentration [pg/ml] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT

Gruppe	n	M [pg/ml]	SD [pg/ml]
Kontrollen	58	1.339	639
Subjekte	54	37.453	44.205
Subgruppe Rh. Ink.	23	27.937	37.680
Subgruppe PVB19	14	46.420	36.982

Tab. 6: Post-Hoc-Test (Games-Howell) auf Unterschiede in der NT-proBNP-Konzentration (logarithmiert) im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppe (p = Signifikanzwert, 95 % KI = 95 % Konfidenzintervall, UG = Untergrenze des 95 % KI, OG = Obergrenze des 95 % KI)

Gruppen		Mittelwertdifferenz	Std.-Fehler	p	95 % KI	
					UG	OG
Kontrollen	Subjekte	-1,33	0,12	< 0,001	-1,69	-1,00
	Rh. Ink.	-1,48	0,10	< 0,001	-1,77	-1,18
	PVB19	-1,00	0,14	< 0,001	-1,37	-0,63
Rh. Ink.	PVB19	-0,48	0,16	0,028	-0,92	-0,04

Im Rahmen der ANOVA wurde ebenfalls ein Mittelwertvergleich der NT-proBNP-Konzentration zwischen den Subjekten mit Ausprägung eines Hydrops fetalis und ohne Ausprägung eines Hydrops fetalis durchgeführt ($F = 130$). Der Mittelwert lag bei Ausbildung eines Hydrops fetalis vor Therapie bei 52.947 ± 54.777 pg/ml, er lag somit doppelt so hoch wie bei den restlichen Subjekten mit 21.959 ± 22.004 pg/ml. Der post-Hoc-Test (Games Howell) ergab eine signifikante Mittelwertdifferenz der logarithmierten NT-proBNP-Konzentration von -1,45 (Std. Fehler = 0,1, $p < 0,001$) zwischen den Subjekten mit und ohne Ausbildung eines Hydrops fetalis.

Eine erhöhte NT-proBNP-Konzentration bei Feten mit einem Hydrops fetalis konnte ebenfalls innerhalb der Subgruppe der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität mittels Mann-Whitney-U-Test signifikant nachgewiesen werden ($p = 0,022$, $Z = -2,3$, Mittlerer Rang: kein Hydrops fetalis = 9,88 ($n = 16$), Mittlerer Rang: Hydrops fetalis = 16,86 ($n = 7$)). Bei Feten mit einer PVB19-Infektion ergab sich kein signifikanter Effekt auf die NT-proBNP-Konzentration bei Vorliegen eines Hydrops fetalis ($p = 0,54$, $Z = -0,707$, Mittlerer Rang: kein Hydrops fetalis = 6,25 ($n = 4$), Mittlerer Rang: Hydrops fetalis = 8,0 ($n = 10$)). Die Mediane (Q1 – Q3) der logarithmierten NT-proBNP-Konzentration vor der ersten IUT ist nochmals in der Abb. 3 dargestellt. Insgesamt zeigt die Abbildung, wie oben beschrieben, dass die Feten mit einer PVB19-Infektion die höchste NT-proBNP-Konzentration aufwiesen. Die Abbildung wird modifiziert nach Siebers et al. abgebildet (2023).

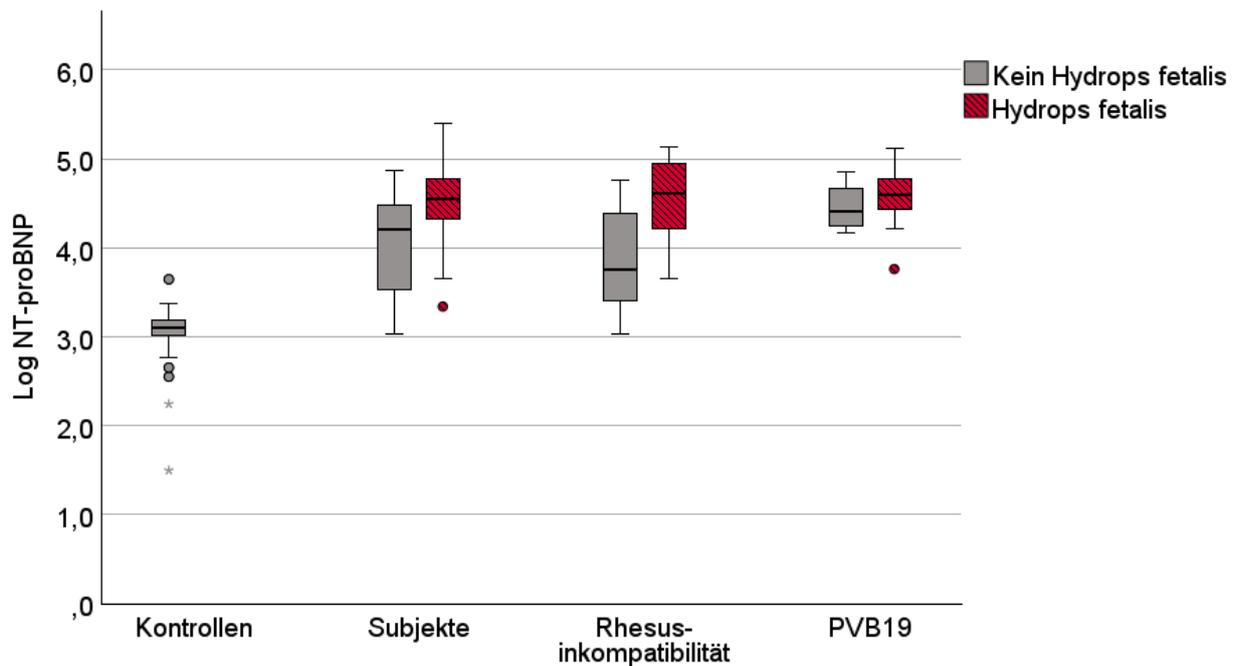


Abb. 3: Mediane (Q1 - Q3) der logarithmierten NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen. Als Einflussfaktor wurden Feten mit einem Hydrops fetalis in den einzelnen Gruppen hervorgehoben; Abbildung modifiziert nach Siebers et al. (2023)

3.2.1. Die NT-proBNP-Konzentration im Verlauf der IUT-Therapie

Die Ergebnisse der gemischten linearen Regressionsanalyse zeigten einen signifikanten Abfall der NT-proBNP-Konzentration im Therapieverlauf um durchschnittlich -2.478 pg/ml (β) pro IUT. Der Median fiel nach der ersten Transfusion von 24.772 ($7.367 - 49.917$) pg/ml auf 12.924 ($3.245 - 34.885$) pg/ml. Zwischen diesen ersten Transfusionen zeigte sich die stärkste durchschnittliche Abnahme von 47 %. Zwischen der zweiten und dritten Transfusion nahm der Wert im Durchschnitt um 36 % ab und sank auf einen Median von 2.126 ($1.425 - 8.254$) pg/ml. Der gesamte Verlauf der Konzentration im Fetalblut der Subjekte ist in Abb. 4 logarithmiert dargestellt und macht deutlich, dass der stärkste Abfall innerhalb der ersten drei Transfusionen stattfand. Die unterlegte Lineare zeigt den in der Kontrollgruppe über die gesamte Schwangerschaft ermittelten Mittelwert + 2 SD als obere Referenz des Normwertbereiches an (2.616 pg/ml). Die Abbildung wird modifiziert nach Siebers et al. abgebildet (2023).

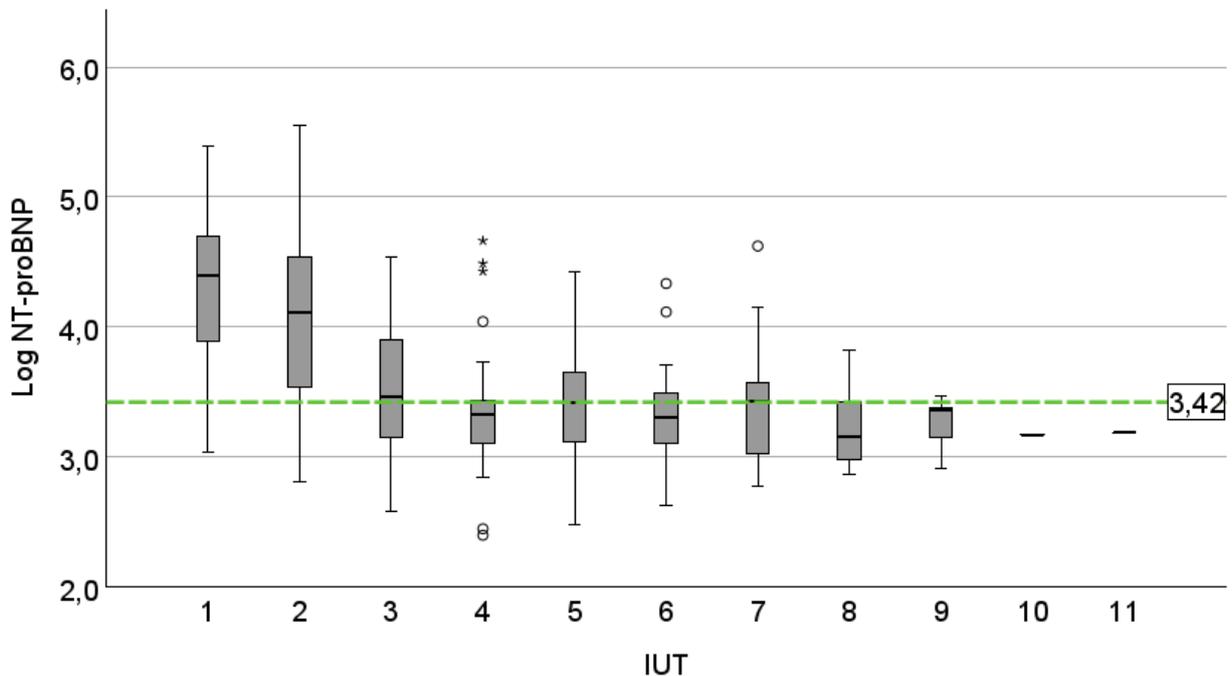


Abb. 4: Logarithmierte NT-proBNP-Konzentration im Verlauf der IUT-Therapie. $\beta = -0,08$, Std. - Fehler = $0,02$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-0,11 - (-0,05)$. Unterlegter SSW-unabhängiger Normwertbereich von $0 - 3,42$ (M + 2 SD der NT-proBNP-Konzentration (logarithmiert) im Fetalblut der Kontrollen); Abbildung modifiziert nach Siebers et al. (2023)

Es zeigte sich, dass nach der dritten IUT der Median innerhalb des Normwertbereiches sank und im folgenden Verlauf ebenfalls innerhalb des Normwertbereiches blieb.

In der Zusammenschau der mittels linearer Regression berechneten SSW-abhängigen Mittelwerte der Kontrollen ($-74,04 * \text{SSW} + 3220 + 2 \text{SD}$, Abb. 2) stieg auch hier im Verlauf der Therapie der Anteil der Feten, die eine physiologische NT-proBNP-Konzentration aufwiesen. Anhand dieser Werte lagen lediglich drei der gemessenen NT-proBNP-Konzentrationen (5 %) vor der ersten IUT im physiologischen Bereich. Nach der dritten IUT betrug dieser Anteil 14 gemessene Werte (63 %). Nach drei Transfusionen wiesen also auch mit Referenz des SSW-abhängigen Normwertbereiches mehr Feten physiologische NT-proBNP-Konzentrationen, als pathologische NT-proBNP-Konzentration auf.

Im gemischt linearen Modell wurden außerdem der Einfluss der Hb-Konzentration und der Einfluss der Diagnose Hydrops fetalis zum Therapiezeitpunkt auf den Verlauf der NT-proBNP-Konzentration während der Therapie beurteilt. Die Hb-Konzentration im Fetalblut zeigte einen signifikanten Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentration. Je niedriger der Hb-Wert gemessen wurde, desto höher war die gemessene NT-proBNP-Konzentration über die gesamte Therapiedauer ($\beta = -1,31$, Std. - Fehler = $0,17$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-1,65 -$

(-0,98)). Die Korrelation bestand ebenfalls zwischen den MOM-Hb-Werten und der NT-proBNP-Konzentration vor der ersten IUT und ist mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,6 als stark einzustufen (Korrelation nach Pearson = 0,64, $p < 0,001$). Bei Feten mit einer leichten Anämie (gemessen anhand der MOM-Hb-Werte) lag der Mittelwert bei 13.237 ± 15.884 pg/ml ($n = 11$) zu Beginn der Therapie, wohingegen der Mittelwert bei Feten mit einer schweren Anämie bei 49.679 ± 8.303 pg/ml ($n = 35$) lag. Die Anämie Ausprägung hatte in diesem Modell den größten Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentration. Ebenfalls mit einer erhöhten NT-proBNP-Konzentration war die Ausbildung eines Hydrops fetalis über den gesamten Therapiezeitraum assoziiert ($\beta = -0,20$, Std.- Fehler = 0,08, $p = 0,017$, 95 % KI -0,36 – (-0,04)) (Abb. 3).

3.3. Die relative Retikulozytenzahl im Gruppenvergleich

Die relative Retikulozytenzahl lag in der Kontrollgruppe im Durchschnitt bei $8,8 \pm 2,4$ %. Der Wert zeigte in der linearen Regressionsanalyse eine signifikante Korrelation mit dem GA der Patientinnen ($p < 0,001$). Mit steigendem GA sank die Konzentration mit einem Regressionskoeffizienten von -0,4 ab. In der 20. SSW lag der Durchschnitt der RR bei 10,9 % und sank bis zur 34. SSW auf 5,1 %. Der Mittelwert und das 95 % KI (± 2 SD) aufgetragen gegen die SSW der Mutter ist in Abb. 5 dargestellt und wird nachfolgend als Normwertbereich definiert. Zum Vergleich mit etablierten Referenzwerten wurden in der Abb. 5 die Regression von Nicolaidis et al. (1989) hinterlegt. Ein Fall hob sich mit einer Konzentration von 15,5 % deutlich von den anderen Fällen ab. In diesem Fall lag eine sonographisch diagnostizierte Balkenagenesie bei einem weiblichen Fetus vor. Der RPI lag bei 7,2, die AR wurde nicht bestimmt. Weshalb die RR so hoch im Blut dieses Fetus gemessen wurde, konnte nicht abschließend geklärt werden.

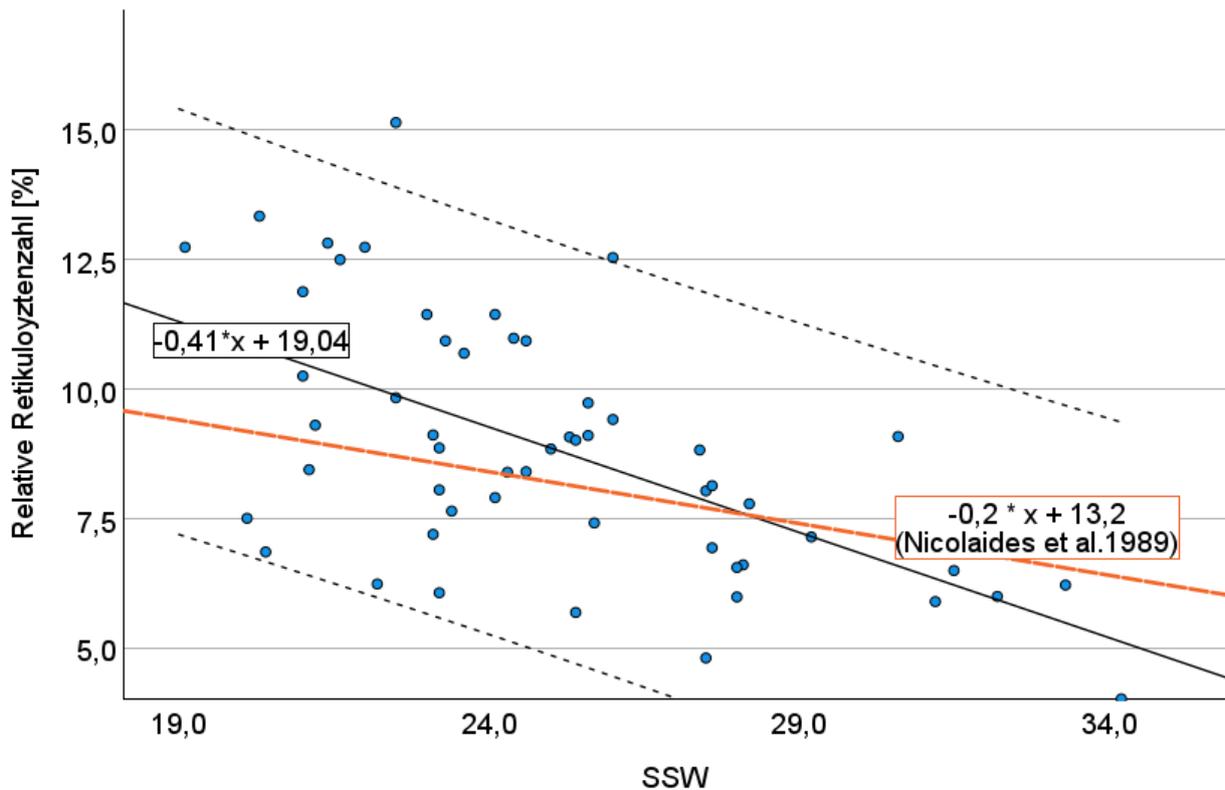


Abb. 5: Lineare Korrelation der Relativen Retikulozytenzahl [%] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) der Patientinnen [Woche, Tage] zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert + 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = -0,4, Std.-Fehler = 0,07, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,6, T = -5,7, $p < 0,001$, erhobene Referenzwerte von Nicolaidis et al. (1989) sind zum Vergleich als Regressionsgerade angegeben

In der multiplen linearen Regressionsanalyse zeigten die fetalen Diagnosen, das Alter und der BMI der Mütter keinen Einfluss auf die RR. Die weiblichen Feten zeigten einen gering höheren Mittelwert mit $12 \pm 9,3$ % als die männlichen Feten mit $12 \pm 11,3$ % ($p < 0,001$, T = -3,655). Der standardisierte Koeffizient dieses Einflusses war jedoch niedriger ($\beta = -0,37$) als der Koeffizient des GA der Mütter ($\beta = -0,6$). Aus diesen genannten Gründen wurden die fetalen Diagnosen und das fetale Geschlecht, sowie das Alter und der BMI der Mütter in der folgenden linear gemischten Regressionsanalyse nicht betrachtet.

Unterschiede zwischen den Blutanalysen der Subjekte und der Subgruppen vor der ersten IUT, sowie den Kontrollen wurden mittels Kruksali-Wallis-Test analysiert ($p = 0,003$, T = 13,6) (Tab. 7). Der nachfolgende Post-Hoc-Test (Dunn-Bonferroni) zeigte, dass nur die Feten mit einer Rhesusinkompatibilität signifikant höhere Mittelwerte aufwiesen als die Kontrollen ($p < 0,001$) (Tab. 8). Dieser Unterschied war mit einer Teststärke (Cohens d)

von 0,43 als mittelstark zu werten. Die Streuung der RR war bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität hoch (Tab. 7). Die RR war im Vergleich zwischen den Subgruppen PVB19 und Rh. Ink. auf einem Signifikanzniveau von $p = 0,052$ nur knapp nicht signifikant.

Tab. 7: Mittelwerte (M), Standardabweichung (SD) und mittlerer Rang der RR [%] der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen mittels Kruksali-Wallis Test

Gruppe	n	M [%]	SD [%]	Mittlerer Rang
Kontrollen	54	8,8	2,4	83,7
Subjekte	51	16,1	13,7	107,4
Subgruppe Rh. Ink.	20	23,3	15,9	139,3
Subgruppe PVB19	12	12,8	12,0	86,3

Tab. 8: Post-Hoc-Test (Dunn Bonnferroni) auf Unterschiede in der RR [%] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT (p = Signifikanzwert, 95 % KI = 95 % Konfidenzintervall, UG = Untergrenze des 95 % KI, OG = Obergrenze des 95 % KI)

		Teststatistik	Std. Fehler	Standardteststatistik	p	Angepasste Signifikanz ^a
Kontrollen	Subjekte	-23,75	9,39	-2,53	0,011	0,069
	Rh. Ink.	-55,61	13,46	-4,13	< 0,001	< 0,001
	PVB19	-2,67	16,82	-0,16	0,874	1,000
Rh. Ink.	PVB19	52,942	20,185	2,623	0,009	0,052

a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.

Insgesamt ließ sich die Tendenz erkennen, dass Feten mit einer Rhesusinkompatibilität höhere relative Retikulozytenzahlen im Fetalblut aufwiesen als die restlichen Subjekte und signifikant erhöhte RR im Vergleich zu physiologischen Werten (Kontrollen). Der Vergleich der RR zwischen den Subjekten und Kontrollen sowie zwischen der Subgruppe PVB19 und Kontrollen zeigte keine signifikanten Ergebnisse (Tab. 8).

3.3.1. Die relative Retikulozytenzahl im Verlauf der IUT-Therapie

Die relative Retikulozytenzahl im Fetalblut der Subjekte sank signifikant über den Therapiezeitraum, im Durchschnitt um $\beta = -2,1$ pro IUT. Zwischen der ersten und zweiten Transfusion sank die Konzentration um durchschnittlich 39 % ab. Der Median sank von 12,3 (5,5 – 25,4) % vor der ersten IUT auf 4,3 (1,6 – 9,6) % vor der zweiten IUT. Zwischen der zweiten und der dritten Transfusion sank der Wert um durchschnittlich 52 %. Der Median

lag vor der dritten Transfusion bei nur noch 0,6 (0,3 – 1,6) %. Nach der dritten IUT zeigten sich nur noch geringe Änderungen in der RR. Der genaue Verlauf ist in Abb. 6 dargestellt. Farblich unterschieden sind in dieser Abbildung die Subgruppen Rh. Ink. und PVB19, sowie Subjekte mit einer Kellinkompatibilität. Unterlegt ist zudem der durch die Kontrollen definierte Normwertbereich ($M \pm 2\text{ SD}$) unabhängig des Schwangerschaftsalters (4 - 13,6 %). Es zeigte sich, dass nach der dritten IUT nur noch wenige Feten innerhalb dieses Normwertes lagen. Zieht man den aus der Kontrollgruppe ermittelten SSW-abhängigen Normwertbereich ($0,41 \cdot \text{SSW} + 19,04 (\pm 2,4)$) heran, wies ein Großteil der Feten ($n = 39$ (76 %)) schon vor der ersten IUT pathologisch erniedrigte RR im Blut auf. Nach der zweiten IUT und vor allen weiteren IUTs zeigte kein Fetus mehr physiologische RR und alle gemessenen Werte befanden sich unterhalb des SSW-abhängigen Normbereiches. Es ließ sich schlussfolgern, dass die Anzahl der IUTs bei allen Subjekten mit einem Absinken der RR im Fetalblut assoziiert war und diese auf pathologisch niedrige Werte sanken. Das Vorliegen eines Hydrops fetalis zeigte in dem adjustierten linear gemischten Modell keinen Einfluss auf die RR in der Analyse der gesamten Subjekte ($p = 0,35$).

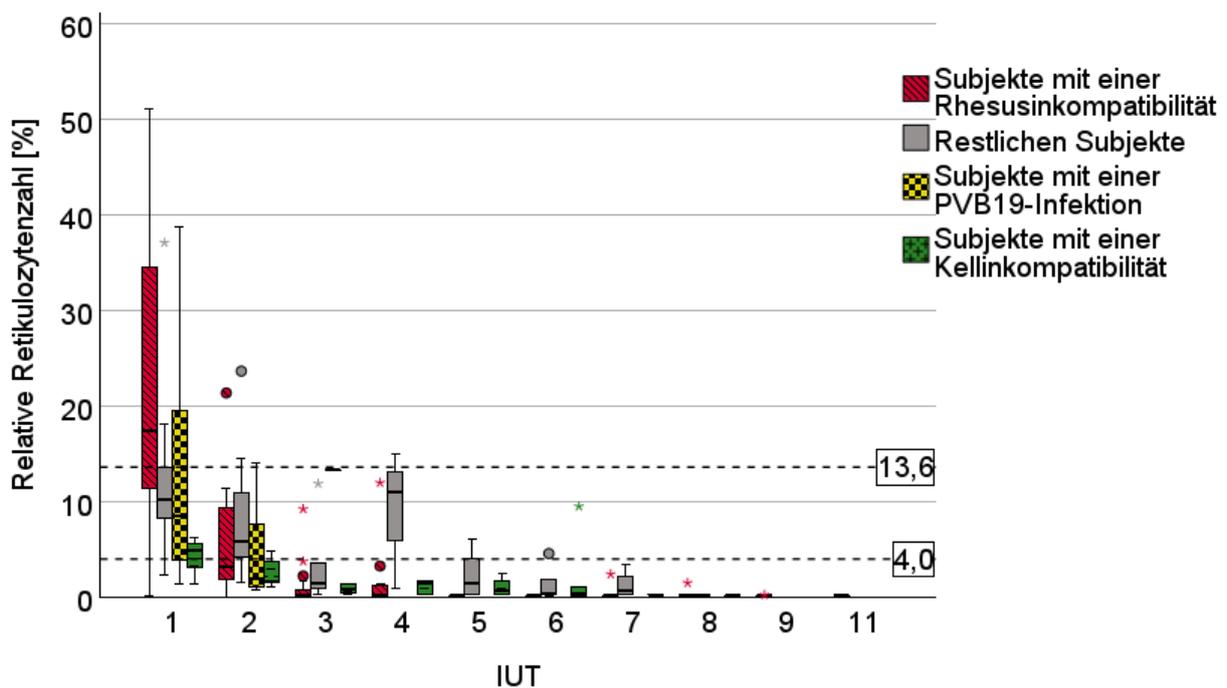


Abb. 6: Relative Retikulozytenzahl [%] im Verlauf der IUT-Therapie (Mittelwert und 95 % KI). $\beta = -2,1$, Std. - Fehler = 0,2, $p < 0,001$, 95 % KI = -2,5 – (-1,6). Unterlegt der GA-unabhängige Normwertbereich von 4,0 – 13,6 % ($M \pm 2\text{ SD}$ der Relativen Retikulozytenzahl [%] im Fetalblut der Kontrollen), sowie farblich unterlegt die verschiedenen Subgruppen (Rhesusinkompatibilität, PVB19, Kellinkompatibilität, restlichen Subjekte)

Der Vergleich zwischen den Subgruppen Rh. Ink und PVB19 im gemischt linearen Modell zeigte, dass die Feten mit einer Rhesusinkompatibilität signifikant höhere RR als Feten mit einer PVB19-Infektion über den Therapiezeitraum aufwiesen, gemessen vor den jeweils ersten drei Transfusionen ($\beta = -6,2$, Std. Fehler = 3,0, $T = -2,0$, $p = 0,046$, 95 % KI = $-12,31 - (-0,1)$). Innerhalb der Subgruppe Rh. Ink. sank die RR signifikant über den Therapiezeitraum ($\beta = -2,3$, Std. Fehler = 0,35, $T = -6,6$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-3,1 - (-1,7)$) (Abb. 6). In dieser Subgruppenanalyse zeigte sich im Modell ein signifikanter Einfluss des MOM-Hb-Wertes. Je niedriger der MOM-Hb-Wert gemessen wurde, desto höher war die RR im Blut der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität ($\beta = -21,2$ Std. Fehler = 4,3, $T = 4,9$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-29,8 - (-12,7)$).

Die Subjekte mit einer Kellinkompatibilität wurden farblich in Abb. 6 gekennzeichnet. Die Abbildung verdeutlicht, dass diese Subjekte bereits vor der ersten IUT niedrige RR-Werte im Blut aufwiesen. Der Mittelwert lag bei diesen Feten vor der ersten IUT bei $4,3 \pm 1,0$ % ($n = 4$). Im Verlauf sanken die gemessenen Werte der RR und blieb nach der zweiten IUT unterhalb des anhand der Kontrollen bestimmten Normwertbereiches.

3.4. Die absolute Retikulozytenzahl im Gruppenvergleich

Die AR lag im Fetalblut der Kontrollen bei durchschnittlich 288 ± 72 G/l (Tab. 9). Die Konzentration sank signifikant mit einem Regressionskoeffizienten (β) von $-6,0$ mit dem zunehmenden GA der Mütter ($p = 0,025$). Die Konzentration sank von einem Mittelwert von 319 G/l in der 20. SSW auf 248 G/l in der 34. SSW. Der Mittelwert und das 95 % KI (± 2 SD) aufgetragen gegen die SSW der Mutter ist in Abb. 7 dargestellt und wird nachfolgend als Normwertbereich definiert. Normwerte von Nicolaidis et al. (1989) sind rot hinterlegt. Lediglich ein Wert lag mit 431 G/l oberhalb des ermittelten Normwertbereiches. In diesem Fall wurde der Fetozyd aufgrund einer psychischen Beeinträchtigung der Mutter durchgeführt. Die Entwicklung des Fetus zeigte sonographisch keine Auffälligkeiten. Es blieb unklar, weshalb im Blut dieses Fetus eine erhöhte AR vorlag.

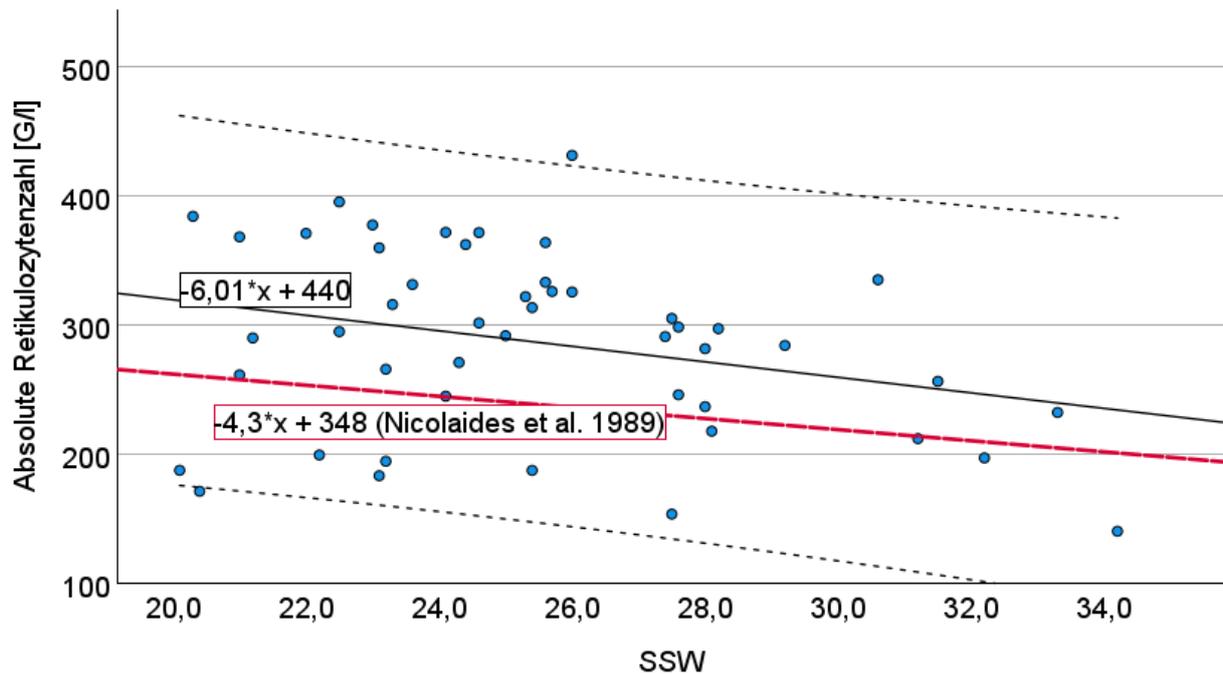


Abb. 7: Lineare Korrelation der absoluten Retikulozytenzahl [G/l] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Patientinnen zum Entnahmepunkt (Mittelwert und 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = 6,0, Std. - Fehler = 2,4, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,2, $T = 2,1$, $p = 0,025$; erhobene Referenzwerte von Nicolaides et al. (1989) sind zum Vergleich als Regressionsgerade angegeben

Insgesamt zeigten die fetalen Diagnosen, das Alter und der BMI der Mütter in der multiplen linearen Regression keinen signifikanten Einfluss auf die AR. Weibliche Feten hatten signifikant höhere AR im Fetalblut als männliche Feten ($p = 0,001$, $R = -59,2$, Std. - Fehler = 17,5). Der Mittelwert lag bei weiblichen Feten bei $5,2 \pm 2,8$ G/l und bei männlichen Feten bei $3,8 \pm 2,5$ G/l. Aufgrund des großen Unterschiedes und des standardisierten Koeffizienten von $\beta = 0,4$ wurde dieser Einfluss nachfolgend im gemischt linearen Modell berücksichtigt und geprüft.

Um Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Subjekten, sowie zwischen Subgruppen vor der ersten IUT festzustellen, wurde eine ANOVA durchgeführt. Diese ergab einen signifikanten Unterschied in der AR im Fetalblut innerhalb der Gruppen ($p < 0,001$, $F = 8,4$). Der Post-Hoc-Test (Games-Howell) zeigte, dass die AR im Fetalblut der Subjekte signifikant niedriger war als im Blut der Kontrollen ($p < 0,001$, Tab. 10). Die Subgruppe der Rh. Ink. unterschied sich nicht signifikant in der gemessenen AR im Vergleich zu den Kontrollen ($p = 0,619$). Dagegen zeigte die Subgruppe PVB19 eine signifikant niedrigere AR im Blut als die Kontrollgruppe ($p = 0,018$, Tab. 10). Der Mittelwert der Subgruppe

PVB19 betrug 140 ± 141 G/l. Der Unterschied zwischen der Subgruppen PVB19 und Rh. Ink. war nicht signifikant ($p = 0,187$). Es ließ sich eine Tendenz erkennen, dass Feten mit einer PVB19 Infektion die niedrigsten AR im Fetalblut aufwiesen. Insgesamt zeigten sich große Streuungen um die Mittelwerte der AR im Fetalblut der Subjekte und Subgruppen (Tab 9).

Tab. 9: Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) der AR [G/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT

Gruppen	n	M [G/l]	SD [G/l]
Kontrollen	53	288,4	72,0
Subjekte	51	196,6	135,0
Subgruppe Rh. Ink.	20	248,0	141,3
Subgruppe PVB19	12	139,9	142,0

Tab. 10: Post-Hoc-Test (Games Howell) auf Unterschiede in der AR [G/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT ($p =$ Signifikanzwert, 95 % KI = 95 % Konfidenzintervall, UG = Untergrenze des 95 % KI, OG = Obergrenze des 95 % KI)

Gruppen		Mittelwertdifferenz	Std.-Fehler	p	95% KI	
					UG	OG
Kontrollen	Subjekte	91,8	21,3	< 0,001	35,8	147,9
	PVB19	148,5	42,2	0,018	23,8	273,3
	Rh. Ink.	40,5	33,1	0,619	-51,2	132,2
Rh. Ink.	PVB19	108,1	51,8	0,187	-35,1	251,2

3.4.1. Die absolute Retikulozytenzahl Verlauf der IUT-Therapie

Im Verlauf der Therapie sank die absolute Retikulozytenzahl mit $\beta = -26$ signifikant pro IUT ab. Die Abb. 8 stellt den Verlauf der AR über den Therapiezeitraum dar. Der aus der Kontrollgruppe erhobene SSW-unabhängige Normwertbereich ($M \pm 2$ SD) ist hinterlegt (144 - 432 G/l). Es ist deutlich zu erkennen, dass nach der zweiten IUT keiner der Feten eine physiologische AR im Fetalblut aufwies. Zu beachten ist, dass nach der zweiten IUT wenig gemessene Werte vorlagen ($n = 19$). Zu Beginn der Therapie lag der Mittelwert bei Feten mit einer schweren Anämie höher (230 ± 84 G/l, $n = 36$) als bei Feten mit einer leichten Anämie (164 ± 131 G/l, $n = 8$). Insgesamt zeigte der MOM-Hb-Wert jedoch keinen signifikanten Einfluss im adjustierten gemischt linearen Modell über den Therapiezeitraum

($p = 0,316$). Das Vorliegen eines Hydrops fetalis zeigte in diesem Modell über die Therapie auf einem Signifikanzniveau von $p = 0,090$ ebenfalls keinen Unterschied ($\beta = 53,7$, Std. - Fehler = 31, 95 % KI = $-8,8 - 116,1$). Betrachtet man jedoch den Mittelwert der hydropischen Feten zu Beginn der Therapie (155 ± 131 G/l ($n = 24$)) lag dieser niedriger als der Mittelwert der restlichen Subjekte (234 ± 130 ($n = 27$)). Über den Verlauf der IUT-Therapie blieb dieser Unterschied jedoch nicht aufrecht. Es wurde der Einfluss des fetalen Geschlechtes geprüft, welcher sich in dem gemischt linearen Modell als nicht signifikant herausstellte ($p = 0,213$).

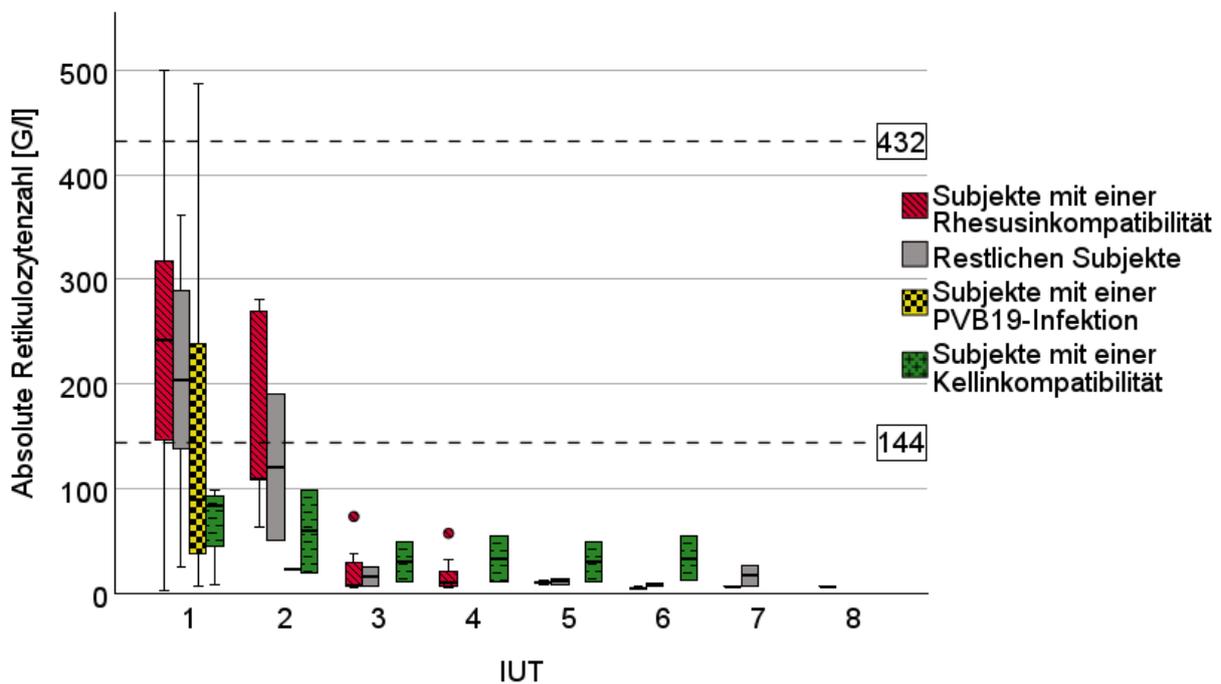


Abb. 8: Mediane (Q1 – Q3) der AR [G/l] im Verlauf der IUT-Therapie. $\beta = -26$, Std. - Fehler = 5,1, $p < 0,001$, 95 % KI = $-36,3 - (-15,9)$). Unterlegter SSW-unabhängiger Normwertbereich von 144 – 143 G/l ($M + 2SD$ der absoluten Retikulozytenzahl [G/l] im Fetalblut der Kontrollen), sowie farblich unterlegt die verschiedenen Subgruppen (Rhesusinkompatibilität, PVB-19, Kellinkompatibilität, restlichen Subjekte).

Innerhalb der Subgruppenanalyse der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Abfall der AR über den Therapieverlauf ($\beta = -39$, Std. Fehler = 8,1, $t = -4,8$ $p < 0,001$, 95 % KI = $-55,9 - (-23,0)$). Adjustiert an die Variable MOM-Hb zeigte sich in dieser Subgruppe kein signifikanter Effekt der Anämie-Schwere ($p = 0,72$). Bei den Subjekten mit einer PVB19-Infektion lagen lediglich zwölf gemessene Werte der

absoluten Retikulozytenzahl vor der ersten IUT vor. Eine Verlaufsanalyse innerhalb dieser Subgruppe wurde auf Grund dieser wenigen Werte nicht durchgeführt.

Farblich unterlegt sind in Abb. 8 die Feten mit einer Kellinkompatibilität. Es lässt sich deutlich sehen, dass diese Feten schon zu Beginn der Therapie niedrige AR im Blut aufwiesen. Der Durchschnitt lag bei 69 ± 21 G/l ($n = 4$). Alle gemessenen Werte vor der ersten IUT lagen unterhalb des anhand der Kontrollen bestimmten Normwertbereiches. Während der gesamten Therapie blieben die gemessenen AR in dieser Subgruppe unterhalb dieses Normwertbereiches ($n = 12$) (Abb. 8).

3.5. Der Retikulozytenproduktionsindex im Gruppenvergleich

Der Retikulozytenproduktionsindex lag in der Kontrollgruppe im Durchschnitt bei $6,3 \pm 2,0$ und zeigte keine signifikante Korrelation mit dem steigenden GA der Mütter ($p = 0,28$). Der Mittelwert und das 95 % KI (± 2 SD) aufgetragen gegen die SSW der Mutter ist in Abb. 9 dargestellt und wird nachfolgend als Normwertbereich definiert. Die fetalen Diagnosen, der BMI und das Alter der Mütter hatten keinen signifikanten Einfluss auf den RPI in den Ergebnissen der Regressionsanalyse ($p > 0,05$).

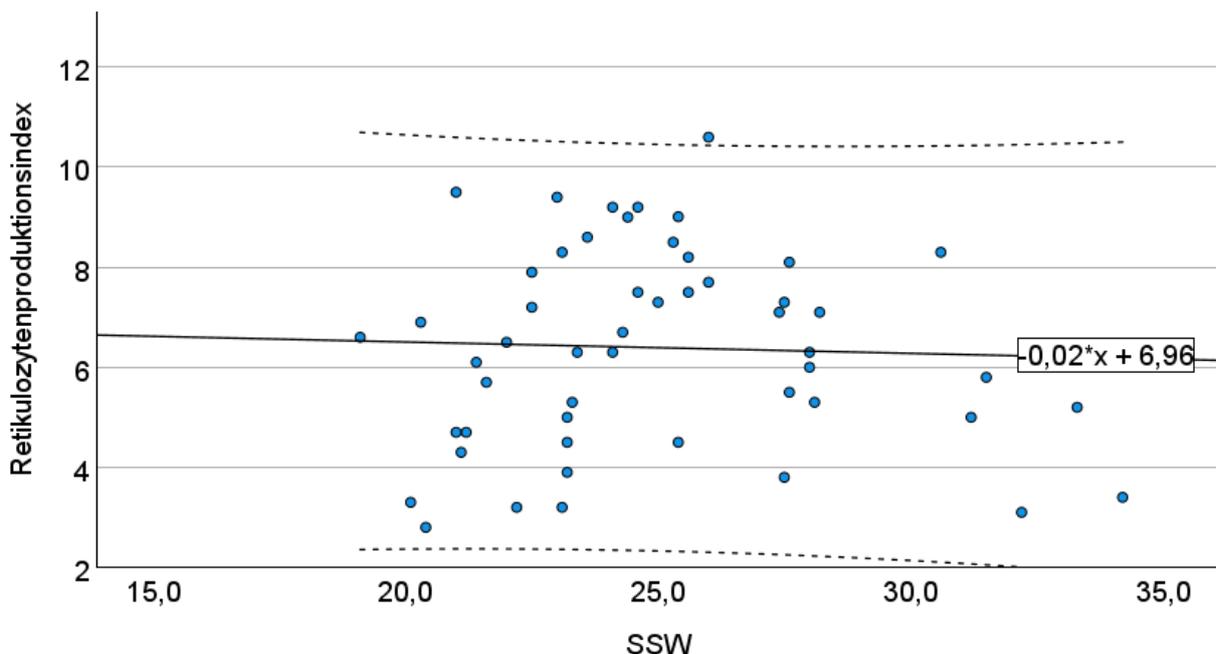


Abb. 9: Lineare Korrelation des Retikulozytenproduktionsindex im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Patientinnen zum Entnahmzeitpunkt (Mittelwert + 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = -0,006, Std. - Fehler = 0,07, $\beta = -0,01$, $T = -0,09$, $p = 0,932$

Mittels ANOVA konnte ein signifikanter Unterschied des Retikulozytenproduktionsindex im Fetalblut zwischen den (Sub-)Gruppen vor Therapiebeginn gezeigt werden ($p < 0,001$, $F = 38,7$). Im Post-Hoc-Test (Bonferroni) zeigten alle Subjekte inklusive der Subgruppen signifikant niedrigere Werte vor der ersten IUT als die Kontrollen. Der stärkste Unterschied war zwischen der Subgruppe PVB19 und den Kontrollen ($M_{\text{Diff}} = 4,5$, Std.- Fehler = 0,6, $p < 0,001$, 95 % KI = 2,8 – 6,5).

Tab. 11: Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) des RPI im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT

Gruppen	n	M	SD
Kontrollen	52	6,39	1,99
Subjekte	51	2,63	1,97
Subgruppe PVB19	12	1,85	2,12
Subgruppe Rh. Ink.	20	3,29	2,00

Dennoch war auch der RPI im Fetalblut der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität im Vergleich zu den Kontrollen erniedrigt ($M_{\text{Diff}} = 3,1$, Std. – Fehler = 0,5, $p < 0,001$, 95 % KI = 1,5 - 4,5). Der Unterschied zwischen den Subgruppen Rh. Ink und einer PVB19 war nicht signifikant ($p = 0,303$).

Es zeigte sich die Tendenz, dass Feten mit einer PVB19 Infektion einen niedrigeren RPI im Fetalblut aufwiesen als die restlichen Subjekte. Insgesamt war der RPI im Fetalblut aller Subjekte, inklusive der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität niedriger als der definierte Normwertbereich (Kontrollen).

3.5.1. Der Retikulozytenproduktionsindex im Verlauf der IUT-Therapie

Die Anzahl der IUTs zeigte im linear gemischten Modell einen signifikanten Einfluss auf den RPI ($p < 0,001$). Über den Therapiezeitraum sank der RPI mit $\beta = -0,35$ pro IUT. Der Verlauf ist in Abb. 10 dargestellt. Die Untergrenze des Normwertbereiches der Kontrollen ($M - 2SD = 2,3$) ist als Lineare unterlegt. Vor der ersten IUT zeigten 27 Subjekte (52 %) einen normwertigen RPI. Bereits vor der zweiten IUT hatten mehr als die Hälfte der Feten ($n = 27$ (62 %)) einen erniedrigten RPI im Blut. Vor der dritten IUT lagen nur noch wenige gemessene Werte ($n = 2$ (7 %)) im Normbereich. Die restlichen gemessenen Werte ($n = 27$ (93 %)) waren erniedrigt. Zusammenfassend war deutlich zu sehen, dass der RPI während der Therapie abnahm und die Werte nach der dritten IUT größtenteils unterhalb des

definierten Normwertbereiches lagen. Im adjustierten gemischt linearen Modell zeigte der MOM-Hb-Wert eine signifikante negative Korrelation mit dem RPI ($\beta = 1,5$, Std. – Fehler = $0,6$, $p = 0,009$, 95 % KI = $0,36 - 2,61$). Je stärker die Anämie ausgeprägt war, desto niedriger war der gemessene RPI im Blut der Subjekte über den Therapieverlauf. Das große Konfidenzintervall zeigte jedoch, dass dieser Effekt sehr unterschiedlich ausgeprägt war. Das Vorliegen der Diagnose Hydrops fetalis war mit keiner Veränderung des RPIs im Blut der Subjekte während der Therapie assoziiert ($p = 0,478$).

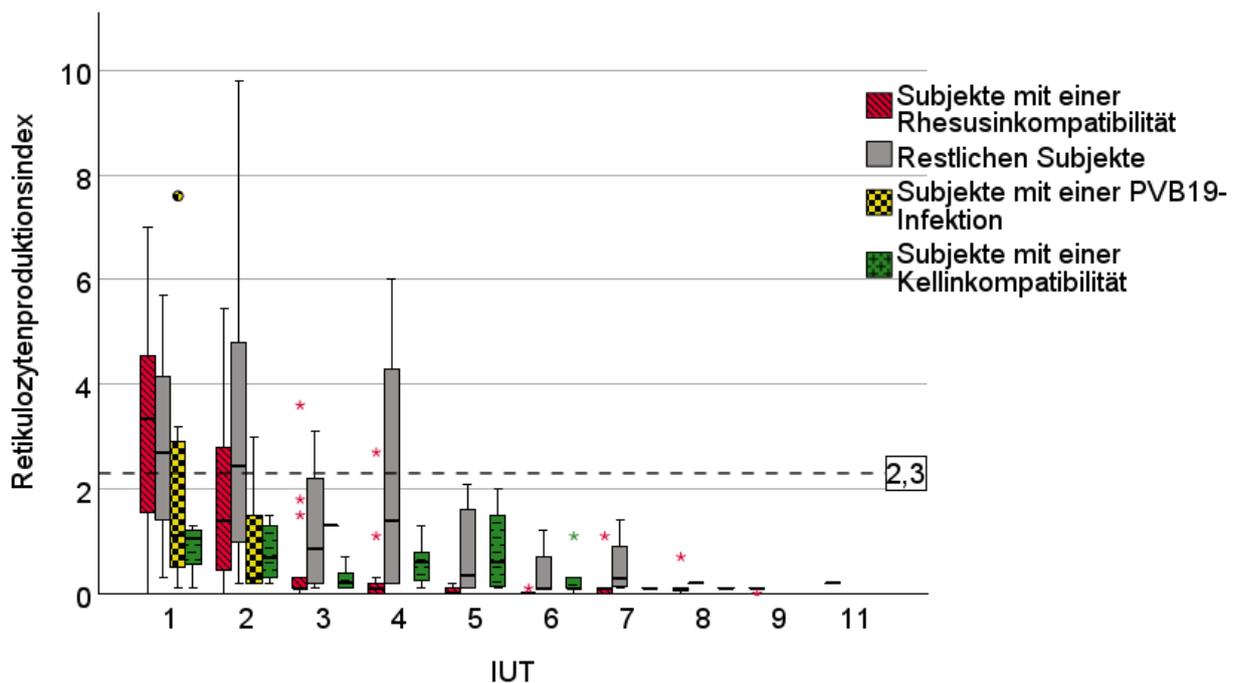


Abb. 10: Mediane (Q1 – Q3) des RPI im Verlauf der IUT-Therapie. $\beta = -0,35$, Std. - Fehler = $0,04$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-0,43 - (-0,26)$). Unterlegter SSW-unabhängiger Normwertbereich mit der Untergrenze von $2,3$ (M - 2SD des RPI im Fetalblut der Kontrollen), sowie farblich unterlegt die verschiedenen Subgruppen (Rhesusinkompatibilität, PVB-19, Kellinkompatibilität, restlichen Subjekte).

Der Vergleich zwischen den Subgruppen Rh. Ink und PVB19 im gemischt linearen Modell zeigte, dass die Feten mit einer Rhesusinkompatibilität signifikant höhere RPIs als Feten mit einer PVB19-Infektion über den Therapiezeitraum aufwiesen, gemessen vor den jeweils ersten drei Transfusionen ($\beta = -1,1$, Std. Fehler = $-0,5$, T = $-2,3$, $p = 0,025$, 95 % KI = $-2,0 - (-0,1)$). Innerhalb der Subgruppe Rh. Ink. fiel der RPI signifikant über den gesamten Therapieverlauf ab ($\beta = -0,4$, Std. Fehler = $0,05$, $p < 0,001$, 95 % KI = $-0,5 - (-0,3)$)

(Abb. 10). Ein Einfluss der MOM-Hb-Werte konnte innerhalb dieser Subgruppe nicht signifikant dargestellt werden ($p = 0,684$).

Farblich unterlegt sind in Abb. 10 die Feten mit einer Kellinkompatibilität. Deutlich erkennbar sind die niedrigen RPI vor der ersten IUT. Der Durchschnitt der RPI lag vor der ersten Transfusion bei $0,9 \pm 0,3$ ($n = 4$). Alle gemessenen Werte ($n = 26$) lagen im Verlauf der Therapie unterhalb des bestimmten Normwertbereich (Abb. 10).

3.6. Die Thrombozyten-Konzentration im Gruppenvergleich

Da für die fetale Thrombozyten-Konzentration etablierte Referenzwerte vorliegen, wurde bei diesem Wert auf die eigene Normwerterhebung verzichtet. Das Vorliegen einer Thrombozytopenie wurde bei einer Konzentration von unter 150 T/l als leicht definiert, bei einer Konzentration von unter 100 T/l als mittelschwer (moderat) und bei einer Konzentration von unter 50 T/l als schwer. Sechs Feten der Kontrollgruppe (12 %) wiesen eine leichte Thrombozytopenie auf, ein Fetus (2 %) eine mittelschwere und 3 Feten (6 %) eine schwere Thrombozytopenie. In 42 Fällen (80 %) lag keine Thrombozytopenie vor.

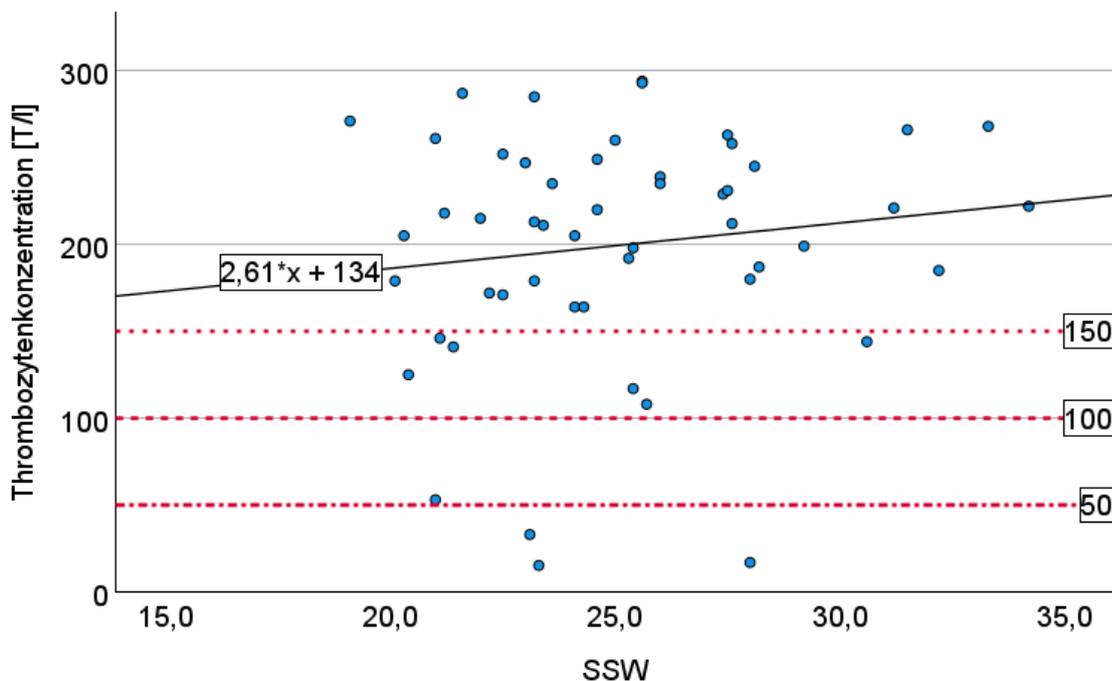


Abb. 11: Korrelation der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Patientinnen zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert). $R = -2,6$ Std.-Fehler = 2,6, $\beta = -0,14$, $T = -0,98$ $p = 0,139$. Cut-Off-Werte der Thrombozytopenie: <150 T/l = leicht, <100 T/l = mittelschwer, <50 T/l = schwer

Das steigende Schwangerschaftsalter, der BMI und das Alter der Mütter, sowie die fetalen Diagnosen und das fetale Geschlecht zeigten keinen Einfluss im multiplen linearen Regressionsmodell ($p > 0,05$).

Die ANOVA zeigte signifikante Unterschiede in der Thrombozyten-Konzentration innerhalb der Gruppen ($F = 5,9$, $p = 0,001$). Der Post-Hoc-Test (Games-Howell) zeigte, dass in der Subgruppe PVB19 die niedrigste Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut vorlag. Die Thrombozyten-Konzentration war im Fetalblut dieser Subgruppe sowohl im Vergleich zu den Kontrollen ($M_{\text{Diff}} = 97,0$, Std. – Fehler = $21,3$, $p = 0,002$, 95 % KI = $-157 - (-36)$) als auch im Vergleich zu den Feten mit einer Rhesusinkompatibilität erniedrigt ($M_{\text{Diff}} = -106$, Std.-Fehler = 26 , $p = 0,002$, 95 % KI $(-177,6 - (-35,5))$). Zwischen der Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und der Subgruppe Rh. Ink. gab es keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$). Die Mediane (Q1 – Q3) der Thrombozyten-Konzentrationen innerhalb der Gruppen sind in Abb. 12 verdeutlicht.

In der Gruppe der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität lagen drei gemessene Thrombozyten-Konzentrationen (12 %) unter 150 T/l vor der ersten IUT (leichte Thrombozytopenie). Ein Fetus (8 %) zeigte eine moderate Thrombozytopenie (Thrombozyten-Konzentration < 100 T/l) und ein Fetus (8 %) eine schwere Thrombozytopenie (Thrombozytenkonzentration < 50 T/l). In der Subgruppe PVB19 hatten vor der ersten IUT zwei Feten (17 %) eine schwere Thrombozytopenie; vier Feten (33 %) wiesen eine mittelschwere und zwei Feten (17 %) eine leichte Thrombozytopenie auf. Nur vier Feten (33 %) zeigten keine Thrombozytopenie. Vor der zweiten IUT lagen alle gemessenen Thrombozyten-Konzentrationen dieser Subgruppe bei < 150 T/l und somit im Bereich der leichten bis schweren Thrombozytopenie ($n = 7$). Die Diagnose PVB19-Infektion war insgesamt mit einer verringerten Thrombozyten-Konzentration assoziiert.

Im Rahmen der ANOVA zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen Subjekten mit und ohne einen Hydrops Fetalis ($F = 10,1$, $p = 0,002$). Der Mittelwert der Thrombozyten-Konzentration lag bei hydropischen Feten vor der ersten IUT bei 135 ± 94 T/l ($n = 25$) und somit signifikant niedriger als bei den restlichen Subjekten (214 ± 94 T/l ($n = 27$)). Das Auftreten niedriger Thrombozyten Konzentrationen bei Vorliegen eines Hydrops fetalis zeigte sich ebenfalls innerhalb der Subgruppen. In der Subgruppe der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität zeigte sich im Withney-U-Test ein signifikant niedrigerer Durchschnitt der Thrombozyten-Konzentration bei hydropischen Feten ($M = 140 \pm 25$ (n

= 16)) als bei den Feten ohne Hydrops Fetalis (M = 243 +/- 72 (n = 8)) (Z = -3,2, p = 0,001). Ebenso lag der Durchschnitt bei hydropischen Feten in der Subgruppe PVB19 deutlich niedriger (M = 63 +/- 13 (n = 7)) als bei nicht hydropischen Feten (M = 157 +/- 26 (n = 5)) (Z = -2,2, p = 0,030). Diese Unterschiede sind in Abb. 12 verdeutlicht.

Vor Therapiebeginn fand sich innerhalb der Subgruppe Rh. Ink. eine signifikante Korrelation zwischen der Thrombozyten-Konzentration und den MOM-Hb-Werten (R = 0,47, p = 0,020). Diese Korrelation war in der Subgruppe PVB19 nicht signifikant darstellbar (R = 0,09, p = 0,779).

Tab. 12: Mittelwerte und Standardabweichung der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT

Gruppe	N	M [T/l]	SD [T/l]
Kontrollen	104	200	67
Subjekte	56	179	102
Subgruppe Rh. Ink.	24	209	87
Subgruppe PVB19	12	103	66

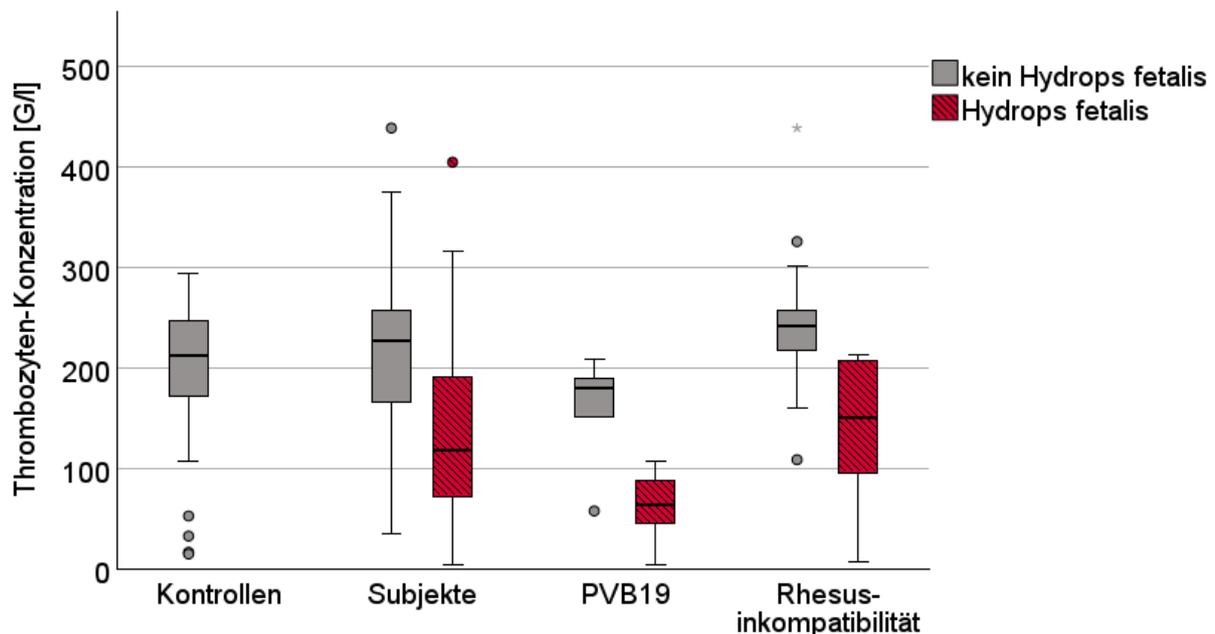


Abb. 12: Mediane (Q1 - Q3) der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT. Als Einflussfaktor wurden Feten mit einem Hydrops fetalis in den einzelnen Gruppen farblich hervorgehoben.

3.6.1. Thrombozytenkonzentration im Verlauf der IUT-Therapie

Die Anzahl der IUTs zeigte im gemischt linearen Modell keinen signifikanten Einfluss auf die Thrombozyten-Konzentration über den Therapiezeitraum ($p = 0,203$). Der Median lag vor der ersten IUT bei 180 (89,8 – 241,8) T/l. Vor der zweiten IUT war er leicht erniedrigt mit 120 (48,8 -206,8) T/l. Vor der dritten IUT lag dieser bei 177,5 (114 – 243) T/l und veränderte sich nicht wesentlich zur vierten IUT (177,5 (106 - 223) T/l). Der genaue Verlauf der Mediane (Q1 – Q3) der Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut der Subjekte ist in Abb. 15 gezeigt. Unterlegt sind die Cut-Off-Werte der Thrombozytopenie.

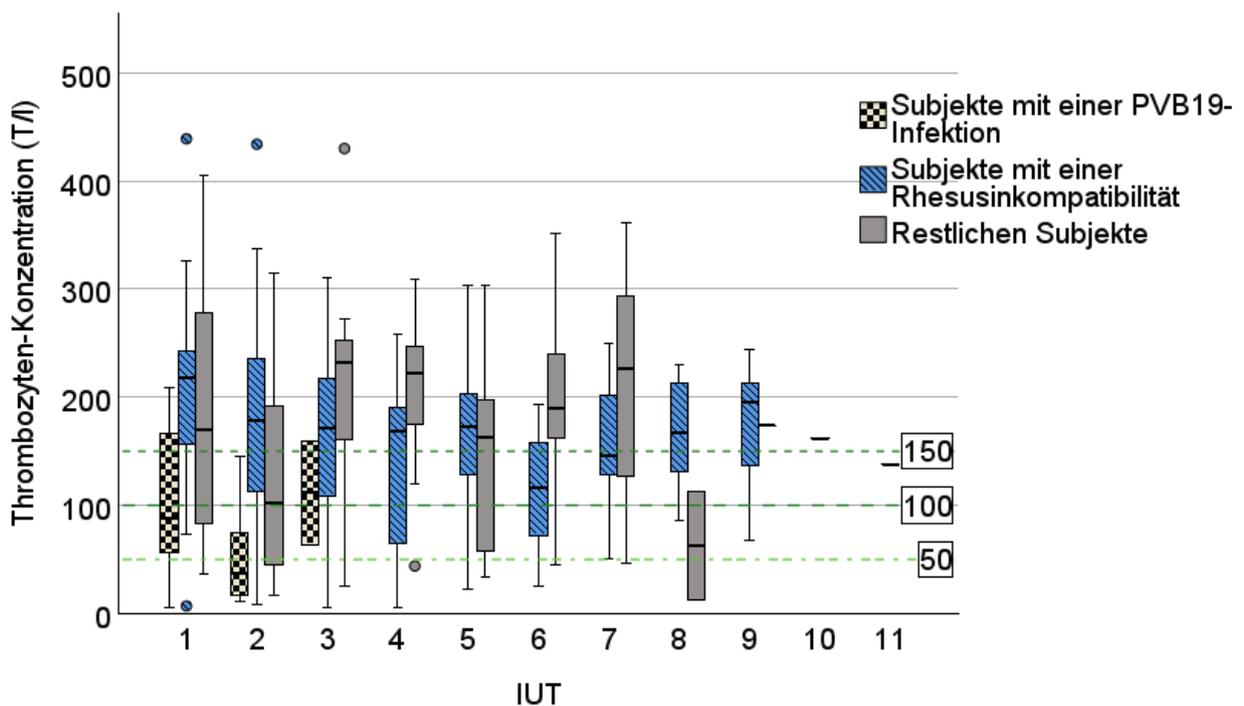


Abb. 13: Mediane (Q1 – Q3) der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Verlauf der IUT-Therapie. $\beta = -3,0$, Std. - Fehler = 2,4, $p = 0,207$, 95 % KI = -7,7– (-1,7)). Cut-Off-Werte der Thrombozytopenie: <150 T/l = leicht, <100 T/l = mittelschwer, <50 T/l = schwer. Farblich unterlegt wurden die Subgruppen PVB19, Rhesusinkompatibilität und die restlichen Subjekte.

Im gemischt linearen Modell zeigte sich kein signifikanter Einfluss der MOM-Hb Werte auf alle Subjekte über den Therapieverlauf ($p = 0,273$). Subjekte mit der Diagnose Hydrops fetalis zeigten im gemischt linearen Modell signifikant niedrigere Thrombozyten-Konzentrationen während der Therapie als die restlichen Subjekte ($\beta = 53$, Std. – Fehler = 17, $p = 0,003$, 95 % KI = 19,2 – 87,1). 15 hydropische Feten (60 %) zeigten vor der ersten IUT

eine leichte bis schwere Thrombozytopenie, zehn hydropische Feten (40 %) hatten normwertige Thrombozyten-Konzentrationen. Vor der zweiten IUT zeigten 18 Feten (82 %) eine leichte bis schwere Thrombozytopenie, während noch acht Feten (7 %) keine Thrombozytopenie aufwiesen. Es ließ sich feststellen, dass Subjekte mit einem Hydrops fetalis insgesamt eine erniedrigte Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut über den Therapiezeitraum aufwiesen.

Die statistische Analyse der Thrombozytenkonzentration über den Therapieverlauf mit dem gemischt linearen Modell für Feten mit einer PV-19 Infektion wurde anhand der Werte vor der ersten und zweiten IUT durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Abfall innerhalb dieses Zeitraums ($\beta = -51$, Std. Fehler = 16,6, $T = -3,1$, $p = 0,032$, 95 % KI = -95,6 - (-6,8)) (Abb. 13). Im direkten Vergleich wiesen die Feten mit einer PVB19-Infektion über diesen Therapiezeitraum signifikant niedrigere Werte auf, verglichen zu den Feten mit einer Rhesusinkompatibilität ($\beta = -97$, $T = -4,01$, $p < 0,001$, 95 % KI = -145 - (-49)) (Abb. 13). In der Subgruppenanalyse der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität zeigte sich keine signifikante Abnahme der Thrombozyten-Konzentration über den gesamten Therapiezeitraum ($p = 0,174$).

4. Diskussion

Auszüge der folgenden Diskussion wurden von Siebers et al. (2023) veröffentlicht. Zur Vollständigkeit werden diese nachfolgend aufgeführt und in weitere Kontexte eingeordnet.

4.1. Die NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut

Physiologische Referenzwerte der NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut sind aufgrund ethischer Erwägungen und unterschiedlichen Methoden der Analyse schwer zu definieren (Bar-Oz et al. 2005). Nach der vorangegangenen Literaturrecherche sind drei Studien bekannt, welche diesen Sachverhalt untersuchten. Fortunato et al. (2006) führten Blutentnahmen bei einer Kohorte von 22 Feten im zweiten Trimester durch. Die durchschnittliche NT-proBNP-Konzentration lag bei 2.308 pg/ml. Ausschlusskriterien waren Mehrlingschwangerschaften, schwere fetale Anomalien und anormale Karyotypen (Fortunato et al. 2006). Walther et al. (2001) berechneten eine durchschnittliche NT-proBNP-Konzentration von 1.052 ± 182 pg/ml im Fetalblut von neun Feten. Die Blutentnahme erfolgte hier aufgrund des Verdachtes einer fetalen Infektion im zweiten Trimester, welcher in der Blutanalyse nicht bestätigt wurde. Weitere Ausschlusskriterien wurden nicht benannt (Walther et al. 2001). Beide Studien wiesen eine kleine Fallzahl auf und begrenzten sich auf Werte vor der 25. SSW. Merz et al. (2010) ermittelten eine durchschnittliche NT-proBNP-Konzentration bei 59 Feten von 1.998 pg/ml (± 2 SD = 242 – 3754) zwischen der 20. und 34. SSW. Die Ausschlusskriterien beinhalteten strukturelle Fehlbildungen des kardiovaskulären und urogenitalen Systems und Erkrankungen mit potenziellem Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentration (Tumore, neuromuskuläre Störungen, Infektionen, Anämie, Hydrops fetalis und IUGR) (Merz et al. 2010). In der hier vorliegenden Studie lag der Durchschnitt der gemessenen NT-proBNP-Konzentration bei 1.339 ± 639 pg/ml zwischen der 20. und 35. SSW (n = 58). Das Ergebnis deckt sich mit dem Wertebereich der bisherigen Daten, bei gleichem Analyseverfahren. Die Ergebnisse erweitern, ebenso wie Merz et al. (2010) den Referenzwertbereich mit Fällen nach der 25. SSW und weisen neben dieser Arbeit die größte Stichprobengröße auf (n = 58). Nach dem aktuellen Kenntnisstand befanden sich keine Krankheiten mit Einflüssen auf die NT-proBNP-Konzentration in dieser Kohorte (Abb. 1). Zudem zeigte sich in dieser Regressionsanalyse ein signifikanter Abfall der NT-proBNP-Konzentration mit steigendem Schwangerschaftsalter ($-74,04 * \text{SSW} +$

3220 pg/ml, Std.- Fehler = 20, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,44, T = -3,65, p = 0,001), welcher in großer Übereinstimmung mit der von Merz et al. (2010) berechneten Regression lag ($-74.8 \cdot \text{SSW} + 3946 \text{ ng/L}$, p = 0,012, $r^2 = 0,111$, n = 56) (Abb.2). Die Abnahme mit fortschreitendem Schwangerschaftsalter bestätigt sich im Vergleich der NT-proBNP-Konzentration in postnatalen Nabelschnurproben bei Termingraviditäten, welche deutlich niedriger liegen als die Werte im zweiten Trimester (Fortunato et al. 2006; Miyoshi et al. 2018b; Seong et al. 2010).

Im Vergleich zu erwachsenen Referenzwerten (0 – 10 pg/ml) und der maternalen NT-proBNP-Blutkonzentration liegen die fetalen Blutwerte deutlich höher. Ein plazentarer Austausch in der Schwangerschaft und fehlende renale Eliminierung wurden als Ursachen ausgeschlossen (Bakker et al. 2004; Cameron und Ellmers 2003; Fortunato et al. 2006). Die höhere NT-proBNP-Konzentration scheint durch die fetale Produktion dieses Hormones zu entstehen (Merz und Gembruch 2014). Natriuretische Peptide sind während der Fetalzeit an der Entwicklung verschiedener Organsysteme beteiligt und vor allem für das Wachstum des kardiovaskulären Gewebes verantwortlich. Tierexperimente zeigten, dass sowohl ANP als auch BNP das Wachstum der kardialen Fibroblasten unterdrücken können und das Herzwachstum regulieren (Cameron und Ellmers 2003; Swynghedauw 1999). Ab Mitte der Schwangerschaft scheint das natriuretische Peptid-System die postnatale Funktion zu übernehmen und über myokardiale Dehnungszustände an der Steuerung des Blutdrucks und der Salzkonzentration beteiligt zu sein (Cameron und Ellmers 2003). Die pränatal erhöhte NT-proBNP-Konzentration kann somit sowohl als Ausdruck der fetalen kardiovaskulären Reifung als auch der hohen kardialen Volumenbelastung im fetalen Kreislauf gesehen werden (Siebers et al. 2023). Die Abnahme im Schwangerschaftsverlauf könnte somit durch die zunehmende kardiale Reife und die Abnahme der Volumenbelastung zu erklären sein (Merz et al. 2010). Die Korrelation der linksventrikulären Volumenbelastung und der NT-proBNP-Konzentration wird ebenfalls im Nabelschnurblut von Neugeborenen in den ersten Lebenstagen beobachtet. Durch die fetalen Kreislaufveränderungen unmittelbar nach der Geburt kommt es zu einem starken Anstieg der pulmonalen Perfusion bei gleichzeitigem Anstieg der linksventrikulären Nachlast. Diese Druck- und Volumenbelastung des linken Ventrikels korreliert mit einer erhöhten NT-proBNP-Konzentration. In den folgenden Lebenstagen ist ein Abfall der NT-proBNP-Konzentration zu verzeichnen (Schwachtgen et al. 2005).

Eine pathologische Erhöhung der NT-proBNP-Konzentrationen im Fetalblut ist unter anderem mit kardiovaskulären Funktionseinschränkungen assoziiert (Kocylowski et al. 2009). Bei kardiovaskulären Funktionseinschränkungen kommt es zur kardialen Hypertrophie und einem kardialen Remodeling. Diese Prozesse verschlechtern durch den steigenden myokardialen Sauerstoffverbrauch die Herzfunktion weiter. Um die Herzleistung bei der herabgesetzten Compliance aufrecht zu erhalten, steigt der enddiastolische Füllungsdruck und der zentralvenöse Druck. Vor allem dieser Anstieg des zentralvenösen Drucks im fetalen Kreislauf scheint zu den hohen NT-proBNP-Konzentrationen im Blut zu führen (Miyoshi et al. 2018a; Miyoshi et al. 2021). Ebenso ist das Vorliegen einer Anämie mit erhöhten NT-proBNP-Konzentrationen im Fetalblut assoziiert. Das Vorliegen einer Anämie steigert durch die verminderte Sauerstoffkapazität des Blutes das Herzzeitvolumen (high cardiac output state) und führt zu einer kardialen Volumenbelastungen mit Aktivierung des natriuretischen Peptid Systems (Yadav et al. 2019). Knock-Out-Mäuse der BNP-Gene entwickelten Myokardfibrosen in den Herzkammern nach kardialer Druckbelastung. Vor allem BNP wird eine entscheidende Rolle beim kardialen Remodeling unter hypoxischen Myokardveränderungen zugeschrieben (Bakker et al. 2004). Die vorliegende Studie betrachtete die NT-proBNP-Konzentration bei fetalen Anämien mit Fokus auf die Rhesusinkompatibilität und PVB19-Infektion sowie der möglichen kardialen Dekompensation mit Folge eines Hydrops fetalis. Die Ergebnisse bestätigten eindeutig, dass die NT-proBNP-Konzentration bei einer Anämie erhöht ist und mit der Schwere der Anämie korreliert ($\beta = -1,31$, Std. – Fehler = 0,17, $p < 0,001$; Korrelation nach Pearson = 0,64, $p < 0,001$) (Siebers et al. 2023). Diese Korrelation zeigte sich unabhängig der Anämie-Genese und war in dem vorliegenden Modell der stärkste Effekt auf eine Erhöhung der NT-proBNP-Konzentration.

Bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität ist die erhöhte NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut bekannt (Luterek et al. 2011; Walther et al. 2001; Yadav et al. 2019). Hier scheint insbesondere die exzentrische Hypertrophie durch die Anämie bedingte Volumenbelastung für die NT-proBNP Erhöhung verantwortlich zu sein (Ferreira et al. 2009). Yadav et al. (2019) verglichen die NT-proBNP-Konzentrationen im Blut von 20 Feten mit einer Alloimmunisierung mit Blutanalysen von 18 Nabelschnurpunktionen gesunder Frühgeborenen. Die Feten mit einer Alloimmunisierung zeigten deutlich höhere Werte als die gesun-

den Frühgeborenen (Yadav et al. 2019, S. 130). Die pathologisch hohe NT-proBNP-Konzentration bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität konnte in dieser Studie deutlich bestätigt werden (Abb. 3) (Siebers et al. 2023).

Feten mit einer PVB19-Infektion zeigten in dieser Studie darüber hinaus die höchste NT-proBNP-Konzentration (Abb. 3), während die MOM-Hb-Werte und die MOM-MCA-PSV-Werte keinen signifikanten Unterschied zu Feten mit einer Rhesusinkompatibilität zeigten (Tab. 4). Es ließ sich schlussfolgern, dass Feten mit einer PVB19-Infektion bei gleichem Anämie-Schweregrad eine stärkere kardiale Belastung vor Therapiebeginn aufwiesen als Feten mit einer Rhesusinkompatibilität (Siebers et al. 2023). Eine denkbare Ursache der hohen NT-proBNP-Level ist die PVB19-assoziierte Myokarditis, welche durch den viralen Befall der Myokardzellen entsteht (Girsen et al. 2007; Porter et al. 1988; Young 1995). Die NT-proBNP-Konzentration im Blut von Feten mit einer PVB19-Infektion wurde ebenfalls von Merz et al. (2012b) untersucht, welche bei einer kleineren Stichprobengröße (n = 8) keinen signifikanten Unterschied in der NT-proBNP-Konzentration zwischen Feten mit einer PVB19-Infektion und Feten mit Anämien anderer Ursachen nachwies. (Merz et al. 2012b). Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten auf die verschiedene Stichprobengröße zurückzuführen sein. Weitere Studien zur Analyse der NT-proBNP-Konzentration im Blut von Feten mit einer PVB19-Infektion konnten in der vorrangegangenen Literaturrecherche nicht gefunden werden.

In Bezug zum vorliegenden Ergebnis ist zu berücksichtigen, dass in der Subgruppe PVB19 eine hohe Prävalenz an Feten mit einem diagnostizierten Hydrops fetalis vorlag. Die Prävalenz lag in dieser Subgruppe bei 62 % und somit über der Prävalenz der Rhesus-inkompatiblen Feten mit 36,6 % und höher als die in der Literatur angegebenen Prävalenz von bis zu 24 % (Heegaard und Brown 2002). Dies könnte durch die Auswahl der Feten entstanden sein, da lediglich therapiepflichtige Feten einbezogen wurden. Zudem lag das durchschnittliche Schwangerschaftsalter in dieser PVB19-Subgruppe unter der 20. SSW. Aufgrund der kardialen Reifungsprozesse sind jüngere Feten Vor- und Nachlast-sensitiv und leichte Erhöhungen des venösen Drucks führen zu einer raschen Abnahme des Lymphflusses und zu Ausbildung eines Hydrops fetalis. Ferner treten schwere Anämien bei PVB19 zumeist schon vor der 20. SSW auf (Kosian et al. 2022), bei Blutgruppeninkompatibilität meist deutlich später. Insgesamt ist das Risiko eines Hydrops fetalis bei frühen PVB19-Infektionen somit erhöht. Nicht auszuschließen ist außerdem, dass

das niedrige Gestationsalter in dieser Subgruppe einen Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentration hatte, da in den frühen Schwangerschaftswochen die NT-proBNP-Konzentration höher ist als zu späteren Zeitpunkten der Schwangerschaft (Abb. 2). Zur Definition von pathologischen Konzentrationen wurden in der vorliegenden Arbeit aus diesem Grund GA-abhängige Referenzwerte verwendet. Innerhalb dieser Analyse konnte der Einflussfaktor des GA somit ausgeschlossen werden. Im direkten Vergleich zwischen den Subgruppen lag das Gestationsalter in der Gruppe der Feten mit einer PVB19-Infektion jedoch deutlich niedriger als bei den Feten mit einer Rhesusinkompatibilität (Tab. 1). Hier ist ein Einfluss des GA somit möglich (Siebers et al. 2023).

Bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität entsteht ein Hydrops fetalis vor allem bei schwerer Anämie ($Hb < 4 - 5 \text{ g/dl}$) dann, wenn die kardialen Kompensationsmechanismen erschöpft sind; erst mit dem Auftreten eines Hydrops fetalis kommt es zu einer Zunahme des fetoplazentaren Blutvolumens, was die Hypothese der Herzinsuffizienz als Ursache des Hydrops fetalis untermauert (Pasman et al., 2009). Die folgende Dysregulation der fetalen Flüssigkeitskompartimente bei kardialer Volumenbelastung äußert sich sonographisch als Kardiomegalie mit exzentrischer Myokardhypertrophie, im späteren Stadium mit AV-Klappeninsuffizienzen (Gottschalk und Gembruch 2017; Pasman et al. 2009). Bei diesen Feten wurde bereits eine erhöhte NT-proBNP-Konzentration bei Ausbildung eines Hydrops fetalis nachgewiesen, was auch die hier vorliegende Arbeit signifikant zeigen konnte (Abb. 3) (Merz et al. 2012b; Yadav et al. 2019). Yarav et. al. stellten die hohen NT-proBNP-Konzentrationen bei zehn hydropischen Feten mit einer Rhesusinkompatibilität dar. Die Ergebnisse zeigten, dass mit zunehmender Ausprägung des Hydrops fetalis die NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut steigt (Yadav et al., 2019).

Bei Feten mit einer PVB19-Infektion wurde das Vorkommen eines Hydrops fetalis jedoch auch bei geringer Anämie-Schwere beobachtet (Forestier et al. 1999). Dies lässt eine myokardiale Ursache des Hydrops fetalis vermuten. Als Morphogenese wird die PVB19-assoziierte Myokarditis diskutiert (Cosmi et al. 2002; Forestier et al. 1999; Morey et al. 1991; Porter et al. 1988). Studien zur NT-proBNP-Konzentration bei hydropischen Feten mit einer PVB19-Infektion liegen nicht vor. Die vorliegende Studie zeigte keinen signifikanten Anstieg der NT-proBNP-Konzentration mit Vorliegen eines Hydrops fetalis bei Feten mit einer PVB19-Infektion (Abb. 3). Nicht auszuschließen ist, dass die kleine Subgruppengröße dieses Ergebnis verzerrt (Siebers et al. 2023). Weitere Studien sind nötig, um

dies auszuschließen. Zusammenfassend scheint die PVB19-Infektion durch die Myokarditis zu einer myokardialen Funktionseinschränkung zu führen. Diese Einschränkung ist assoziiert mit der Ausbildung eines Hydrops fetalis und ist in einer erhöhten NT-proBNP-Konzentration messbar (Abb. 3) (Siebers et al. 2023).

4.1.1. Die NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut im Verlauf der IUT-Therapie

Die IUT-Therapie verbessert die Überlebensraten bei Feten mit einer Anämie, wobei die akute kardiale Volumenbelastung durch das transfundierte Blut ein mögliches Risiko darstellt (Zwiers et al. 2017a). Walther et al. (2001) stellten diese kardiale Volumenbelastung durch die Messungen der NT-proBNP-Konzentration unmittelbar vor und nach einer IUT dar. Das transfundierte Volumen hatte einen unmittelbaren Anstieg der NT-proBNP-Konzentration um 13 % zur Folge (Walther et al. 2001). Der genaue Volumenanstieg durch eine intravaskuläre Transfusion wurde darüber hinaus in Tierstudien analysiert. Brace (1989) berichtete über eine fetale Blutvolumenzunahme von 50 % des transfundierten Volumens in Schafsfeten. Der restliche Teil des transfundierten Volumens diffundierte schnell aus dem kardiovaskulären System ins periphere Gewebe (Brace 1989).

Studien, welche den Verlauf der NT-proBNP-Konzentration vor seriellen IUTs analysierten, zeigten einen Abfall dieser Konzentration bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität (Luterek et al. 2011; Yadav et al. 2019). Merz et al. (2012b) beschrieben darüber hinaus eine Normalisierung der NT-proBNP-Konzentration nach drei IUTs, während der erhöhte MCA-PSV-Wert und ein niedriger Hb-Wert als Zeichen der Anämie bestehen blieben (n = 27) (Merz et al. 2012b). Diese Ergebnisse konnten mit der vorliegenden Arbeit bestätigt werden (Abb. 4) (Siebers et al. 2023). Erstmals wurden darüber hinaus Referenzwerte verwendet, welche angepasst für das Gestationsalter berechnet wurden. Dadurch sollte die Zuverlässigkeit erhöht werden, pathologische Konzentrationen zu detektieren. Vor der ersten IUT lagen anhand dieser Werte lediglich 5 % der gemessenen NT-proBNP-Konzentrationen im Referenzbereich, nach der dritten IUT befanden sich 64 % dieser Werte im Referenzbereich, während die gemessenen MOM-MCA-PSV Werte und die MOM-Hb-Werte vor jeder IUT pathologisch erhöht blieben (Abb. 4). Es scheint, dass trotz der kurzzeitigen kardialen Belastung während und in den Stunden nach einer Transfusion das Wiederauftreten der Anämie abnahm (Siebers et al. 2023). Ein wesentlicher Faktor war

sicherlich der Hämoglobinanstieg nach der Transfusion und die zunehmende Normalisierung der Erythrozytenkonzentration und damit auch der kardialen Belastung in den längeren Phasen zwischen den zumeist 14-tägigen Transfusionsabständen. Zwar weisen adulte Erythrozyten eine schlechtere Sauerstoffbindungskurve als fetale Erythrozyten auf, jedoch haben diese eine weniger starre Zellmembran und geringere Volumina. Zusätzlich könnte eine Anpassung der fetalen Kardiomyozyten an den hypoxischen Zustand stattgefunden haben (kardiales Remodeling) (Merz et al. 2012b). Bei fötalen Schafen wurde eine Zunahme der Myokardmasse und der myokardialen Vaskularisierung im Verlauf einer Anämie beobachtet, welche die hohe Anpassungsfähigkeit der Kardiomyozyten wieder spiegeln (Jonker et al. 2010). Das kardiale Remodeling könnte zunächst verstärkend auf die kardiale Entlastung gewirkt haben; im weiteren Verlauf kommt es zu einer Abnahme der exzentrischen Myokardhypertrophie, der Kardiomegalie und zum Verschwinden von AV-Klappeninsuffizienzen (Siebers et al. 2023).

In großer Übereinstimmung der hier vorliegenden Studie mit den Ergebnissen von Merz et al. (2012b) und Luterek et al. (2011) und durch die Verwendung der spezifischen GA-abhängigen Referenzwerte scheint eine Abnahme der NT-proBNP-Konzentration und die kardiale Entlastung unter seriellen IUTs wahrscheinlich (Merz et al., 2012b; Luterek et al., 2011; Siebers et al., 2023)

4.1.2. Verwendung von NT-proBNP im Fetalblut als kardialer Marker

NT-proBNP ist der einzige bekannte Parameter, der für die Beurteilung der fetalen kardialen Funktion zur Verfügung steht. Limitationen dieses Markers sind bedingte Vergleichbarkeit durch unterschiedliche Analysemethoden und der zwangsläufige invasive Eingriff, der mit einer fetalen Blutentnahme einhergeht (Bar-Oz et al. 2005). Auch zeigten sich Kreuzreaktionen mit dem Vorläuferpeptid proBNP, welches ebenfalls bei Patienten mit Herzinsuffizienzen in erhöhten Konzentrationen nachgewiesen wurde (Merz et al. 2012b). Die Korrelation zwischen der kardialen Belastung und der NT-proBNP-Konzentration scheint jedoch auch im fetalen Organismus stark zu sein (Lechner et al. 2009; Leufgen et al. 2017; Merz et al. 2012b). Durch die lange Halbwertszeit und die hohe Thermostabilität ist NT-proBNP bei Erwachsenen bereits ein etablierter Marker. Im Gegensatz zur bildbasierten Diagnostik gibt es keine Variabilität zwischen und innerhalb der Untersucher. Obwohl die MCA-PSV-Messung eine hohe Zuverlässigkeit zur Anämie-Diagnostik zeigt,

kann sie im Verlauf der IUT-Therapie durch das transfundierte Volumen beeinflusst werden und kann ein Auftreten eines Hydrops fetalis nicht zuverlässig vorhersagen (Detti et al. 2001; Oepkes et al. 2006; Scheier et al. 2004; Scheier et al. 2006). Zudem ist der Schweregrad einer fetalen Herzinsuffizienz allein durch Ultraschalluntersuchungen schwierig zu beurteilen, da die kardiale Entwicklung im fetalen Kreislauf und die kardiale Anpassungsfähigkeit an die postnatalen kardiopulmonalen Veränderungen schwer pränatal sonographisch einzuschätzen sind.

Vor der ersten Transfusion spiegelt die NT-proBNP-Konzentration das Ausmaß der kardialen Be- bzw. Überlastung zuverlässig wider. Auch bei einer invasiven Therapie wie der sequentiellen IUT-Therapie kann die implementierte Bestimmung der NT-proBNP-Konzentration eine bessere Beurteilung des jeweiligen kardialen Zustandes ermöglichen. (Merz und Gembruch 2014; Siebers et al. 2023). Merz et al. (2012b) zeigten, dass eine NT-proBNP-Konzentration von < 10.000 ng/l mit einer Wahrscheinlichkeit von 100 % (negativ prädiktiver Wert) das Vorliegen eines Anämie-bedingten Hydrops fetalis ausschließt und mit einer Wahrscheinlichkeit von 44 % (positiv prädiktiver Wert) das Vorliegen eines Hydrops fetalis bestätigt (Merz et al. 2012b). Zwar werden spontane Remissionen eines Hydrops fetalis bei einer PVB19-Infektion beobachtet, trotzdem ist das Krankheitsbild mit einem schlechten Outcome assoziiert und sequentielle IUTs bleiben die Therapie der Wahl (Schild et al. 1999; van Kamp et al. 2001). Eine Transfusion kann bei PVB19-bedingter Anämie die fetale Verlustrate der bereits hydropischen Feten um bis zu 50 % vermindern (Cosmi et al. 2002; Kosian et al. 2022). Durch die hohe Prävalenz eines Hydrops fetalis bei Feten mit einer PVB19-Infektion scheint die NT-proBNP-Messung vor allem bei diesem Krankheitsbild sinnvoll. Auch ist der optimale Therapiezeitpunkt für dieses Krankheitsbild unklar (Simms et al. 2009). Erst kürzlich wurde gezeigt, dass eine erfolgreiche Therapie bereits vor der 20. SSW möglich ist (Hellmund et al. 2018; Kosian et al. 2022). NT-proBNP könnte helfen, den Zeitpunkt des Therapiebeginns zu optimieren und Feten mit einer Myokarditis-assoziierten kardialen Belastung zu erkennen (Siebers et al. 2023).

4.2. Retikulozyten-Konzentrationen im Fetalblut

Grenzwerte für die absolute sowie relative Retikulozytenzahl im Fetalblut wurden bereits in anderen Studien etabliert (Redzko et al. 2002). Die Studien zeigten bei beiden Para-

metern einen Konzentrationsabfall im Fetalblut zwischen der 17. - 40. SSW. Auch in dieser Arbeit zeigte sich trotz kleinerer Stichprobengröße ein Abfall dieser Retikulozyten-Konzentrationen im Fetalblut mit steigendem Schwangerschaftsalter. Die Regression zeigte eine große Übereinstimmung mit den Werten von Nicolaidis et al. (1989) (Abb. 5 und 7). Die Abnahme der Retikulozyten-Konzentrationen im Fetalblut wurde durch die Verlagerung des Erythropoese-Ortes von der Leber in das medulläre Kompartiment erklärt (Nicolaidis et al. 1989). Insgesamt liegen pränatale Retikulozyten-Konzentrationen höher als die etablierten Referenzwerte von Erwachsenen, wobei ein erhöhter Anteil von unreifer Retikulozyten im Fetalblut gemessen wurde. Dies lässt auf eine erhöhte fetale Erythropoese-Aktivität schließen (Paterakis et al. 1993).

Normwerte für den Retikulozytenproduktionsindex liegen für das Fetalblut nicht vor. Der Retikulozytenproduktionsindex lag in dieser Kontrollgruppe bei $6,4 \pm 2,0$ ($n = 52$). Er lag somit höher als der etablierte Referenzwert des RPI bei Erwachsenen von 2 - 3 (Piva et al. 2015). Bei Erwachsenen ist ein erhöhter RPI (> 4) durch einen sinkenden Hkt-Wert bei einer adäquaten Erythropoese zu erklären. Kompensatorisch steigt sowohl die EPO-Produktion im Knochenmark als auch durch den verstärkte Shift unreifer Retikulozyten die Verweildauer dieser im peripheren Blut, wodurch die Retikulozytenzahl steigt (Nebe et al. 2010). Fetale erythropoide Vorläuferzellen weisen eine stärkere EPO-Sensitivität auf als adulte Vorläuferzellen (Ohls 2004). Dies könnte den hohen RPI im Fetalblut erklären. Einflüsse der verschiedenen Krankheitsbilder konnten in der Regressionsanalyse ausgeschlossen werden. Die Werte des Retikulozytenproduktionsindex zeigten keine signifikante Änderung mit steigendem Schwangerschaftsalter. Dies deutet darauf hin, dass die Erythropoese im Verhältnis der vorliegenden Hkt-Werte während der gesamten Schwangerschaft ausreichend ist. Die These, dass die sinkenden Retikulozyten-Konzentrationen nicht mit einer Abnahme der Erythropoese-Qualität, sondern durch die Verlagerung der Erythropoese in medulläre Kompartimente zu Stande kommt, wurde durch dieses Ergebnis bestärkt (Nicolaidis et al. 1989).

Bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität sind sinkende Hb-Werte mit steigenden relativen Retikulozytenzahlen assoziiert, was auf eine gesteigerte Erythropoese durch die Zerstörung der Erythrozyten zurückzuführen ist (Thorp et al. 1991). Durch die teilweise Zerstörung der Retikulozyten unter der Alloimmunisierung bleibt die absolute Retikulozytenzahl unverändert (Gottschalk und Gembruch 2017; Weiner und Widness 1995). Mit dieser

Studie werden diese Ergebnisse im gemischt linearen Modell über den Therapiezeitraum bestätigt. Bei starker Anämie Ausprägung wurden höhere relative Retikulozytenzahlen gemessen, ($\beta = -21$, $p < 0,001$), während die absolute Retikulozytenzahl und der RPI vom Hb-Wert unbeeinträchtigt blieben ($p > 0,05$). Feten mit einer Rhesusinkompatibilität wiesen zudem höhere relative Retikulozytenzahl im Vergleich zu den Kontrollen auf, während sich in der absoluten Retikulozytenzahl kein signifikanter Unterschied zeigte (Tab. 7 und 9).

Der RPI war bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität niedriger im Vergleich zu den Kontrollen (Tab. 11). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die Erythropoese vom fetalen Organismus unter einer Rhesusinkompatibilität nicht ausreichend ist, um die Anämie vollends zu kompensieren. Das Ergebnis könnte durch die Antikörper vermittelte Zerstörung der Retikulozyten zu erklären sein, wodurch trotz ausreichender Produktion von EPO und funktionierender Erythropoese die Retikulozytenzahlen nicht ausreichend ansteigen.

Im Verlauf sequentieller IUTs fand ein signifikanter Abfall aller Retikulozyten-Parameter im Blut der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität statt (RR, AR, RPI). Ree et al. (2020) belegten ebenfalls einen Abfall der absoluten Retikulozytenzahl bei Feten mit einer Alloimmunisierung um 100 % sowie einen starken Abfall der relativen Retikulozytenzahl des Ausgangswertes nach fünf erfolgten IUTs (Ree et al. 2020). Eine andere Studie zeigte einen Abfall der relativen Retikulozytenzahl bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität und Kell-Inkompatibilität (Goodrum et al. 1997). Weiner et al. (1995) belegte einen Abfall der relativen Retikulozytenzahl auf <1 % bei 48 Feten mit einer Alloimmunisierung (Weiner und Widness 1995). Auch der EPO-Spiegel zeigte einen signifikanten Abfall während der IUT-Therapie. Insgesamt deuten alle Daten, so auch die hier vorliegenden, darauf hin, dass die Erythropoese bei Feten mit einer hämolytischen Anämie durch sequentielle IUT unterdrückt wird (Millard et al. 1990; Thorp et al. 1991). Die erniedrigte Retikulozytenkonzentration und die erniedrigte EPO-Konzentration im Fetalblut können auch nach der Geburt bestehen bleiben und sind mit erhöhten postpartalen Komplikationen assoziiert. Die IUT-Therapie bleibt trotz dieser Risikoerhöhung die Therapie der Wahl (Zwiers et al. 2017a).

Das Parvovirus B19 zerstört über die Bindung an zellulären Rezeptoren unreife Erythrozyten im Knochenmark und in der fetalen Leber (Brown et al. 1993). Die Erythropoese

wird gehemmt und dies führt zur Anämie (Segata et al. 2007). Als Folge wurden erniedrigte RR- und AR-Werte im Blut von Erwachsenen Patienten gemessen (Brown et al. 1993; Young 1995). Im Fetalblut von Feten mit einer PVB19-infektion wurde bislang keine Korrelation zwischen der Anämie-Ausprägung und der relativen Retikulozytenzahl gefunden (Macé et al. 2014). Auch diese Studie zeigte eine große Streuung der RR und der AR innerhalb dieser Subgruppe (Tab. 7 und 9). Ein möglicher Grund hierfür könnte eine unterschiedliche Erkrankungsdauer der Feten gewesen sein, wobei einige Feten möglicherweise bereits eine beginnende Erythropoese aufwiesen. Eine Korrelation zwischen der Viruslast und den Retikulozyten-Konzentrationen scheint ebenfalls denkbar. Ein Zusammenhang zwischen der Viruslast und den Hb-Werten wurde bereits ausgeschlossen (Haan et al. 2008). Macé et al. (2014) zeigten, dass Retikulozyten-Konzentrationen von 20 % nicht das Wiederauftreten einer Anämie oder eines intrauterinen Tod unter einer IUT-Therapie verhindern konnten (Macé et al. 2014). Insgesamt scheinen die Retikulozyten-Konzentrationen bei dieser Krankheit in ihrer Aussagekraft limitiert. Der RPI zeigte sich in der vorliegenden Studie bei Feten mit einer PVB19-Infektion signifikant erniedrigt im Vergleich zu den Kontrollen und auch niedriger als bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität (Tab. 10). Diese niedrigen Werte spiegeln die geringe Erythropoese-Aktivität durch die Zerstörung der erythropoiden Vorläuferzellen wider. Da keine weiteren Referenzwerte bis auf diese Arbeit vorliegen, bedarf es weitere Studien, um diesen Parameter als diagnostisches Mittel hinzuzuziehen. Ebenfalls scheint auch dieser Parameter durch eine große Streuung der Werte in seiner Aussagekraft begrenzt (Tab 10).

Die hier vorliegende Arbeit berichtet erstmals über eine Abnahme aller Retikulozyten-Parameter (AR, RR, RPI) im Fetalblut bei vorliegender PVB19-Infektion unter sequentiellen IUTs (Abb. 6, 8 und 10). Die Feten erhielten maximal drei Transfusionen, alle Feten wiesen jedoch bereits vor der zweiten Transfusion pathologisch niedrige Werte auf, gemessen anhand der mittels Kontrollen erhobenen Referenzwerte (Abb. 6, 8, 10). Es liegt nahe, dass eine Suppression der Erythropoese stattgefunden hat. Nicht auszuschließen war jedoch, dass ein Voranschreiten der Zerstörung der erythropoiden Vorläuferzellen diese Suppression beeinflusste. Der sinkende RPI ließ jedoch eindeutig auf eine inadäquate Erythropoese unter Therapie schließen.

Die Retikulozyten-Konzentration im Blut der Feten mit einer Kellinkompatibilität wurden auf Grund der kleinen Stichprobengröße graphisch analysiert. Es zeigte sich deutlich,

dass diese Feten schon vor der ersten Transfusion und im Verlauf der gesamten Therapie niedrige AR, RR und RPI im Blut aufwiesen (Abb. 6, 8, 10). Dies bestätigt insgesamt die These, dass die Kell-Antikörper neben den Erythrozyten auch die erythropoetischen Vorläuferzellen zerstören und somit zu einer Störung der Erythropoese führen (Vaughan et al. 1994; Weiner und Widness 1995). Dieser Effekt wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals ebenfalls anhand des RPIs aufgezeigt. Dieser lag vor Therapie Beginn bei Feten mit einer Kellinkompatibilität bei $0,9 \pm 0,3$ ($n = 4$) und somit deutlich niedriger als der RPI der Kontrollen und der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität. Dies ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die starke Zerstörung der Retikulozyten zurückzuführen, wodurch der Wert trotz gesteigerter EPO-Produktion niedrig bleibt.

4.2.1. Verwendung der Retikulozyten-Konzentration zur Bewertung der Erythropoese-Qualität

Die Bestimmung der Retikulozyten-Konzentrationen könnte im Verlauf der IUT-Therapie helfen, die Qualität der Erythropoese zu evaluieren und bei einer PVB19-induzierten Anämie diejenigen Feten zu erkennen, welche keine Transfusion benötigen, da sie sich bereits in der Phase einer kompensatorisch gesteigerten Erythropoese befinden. Jedoch ist die Bestimmung der Retikulozyten-Konzentrationen in der Praxis zu zeitaufwändig, um einen Einfluss auf unmittelbare Therapieentscheidungen zu haben (Schild et al. 1999). Hier eignet sich die schnelle Bestimmung des Hb-Wertes. Zudem zeigten alle Parameter große Streuungen in den ermittelten Werten. Darüber hinaus wird bei Feten mit einer PVB19-Infektion der Parameter durch eine fehlende Korrelation mit der Anämie-Ausprägung limitiert, im Gegensatz zu Feten mit einer Rhesusinkompatibilität (Macé et al. 2014; Weiner und Widness 1995). Insgesamt scheint der RPI in dieser Arbeit die Prozesse einer aplastischen und hämolytischen Anämie mit Zerstörung der Retikulozyten im Fetalblut widerzuspiegeln. Für eine Etablierung sind weitere Studien nötig. Auf Grund der oben genannten Gründe bleibt ein Einfluss auf das Therapiemanagement durch diesen Parameter jedoch fraglich.

4.3. Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut

Die durchschnittlichen Thrombozyten-Konzentrationen der Kontrollen deckten sich gut mit den in der Literatur etablierten Werten ($M = 170 - 223$ T/l (Millar et al. 1985)). Zehn Feten der Kontrollgruppe zeigten eine Thrombozytopenie von unter 150.000 T/l (19 %) (Abb.

11). Dies könnte auf die Auswahl der Kontrollgruppe zurückzuführen sein, welche primär nach Einflussfaktoren auf die NT-proBNP-Konzentration erfolgte (Haan et al. 2008).

Im Rahmen einer PVB19-Infektion wurden vermehrt Thrombozytopenien beobachtet (Gottschalk und Gembruch 2017; Holinstat 2017; Kosian et al. 2022). Das Virus befällt über das P-Antigen Megakaryozyten und führt zu einer verminderten Thrombozyten-Produktion (Forestier et al. 1999; Haan et al. 2008; Srivastava et al. 1990). Eine zusätzliche Bildung von antithrombozytären Antikörpern mit anschließendem übermäßigem Thrombozytenabbau im retikuloendothelialen System wird darüber hinaus vermutet. Die Ausbildung eines Hydrops fetalis scheint zusätzlich mit erniedrigten Thrombozyten-Konzentrationen assoziiert zu sein (Haan et al. 2008; Kosian et al. 2022; Segata et al. 2007). Auch in dieser Arbeit wurden bei den Feten mit einer PVB19-Infektion die niedrigsten Thrombozyten-Konzentrationen gemessen (Abb. 12). Die Ausbildung eines Hydrops fetalis konnte darüber hinaus mit einem zusätzlichen Abfall der Thrombozyten-Konzentrationen assoziiert werden (Abb. 12). Die Prävalenz der Thrombozytopenie lag bei 75 % in dieser Subgruppe. 64 % dieser Feten zeigten die Ausbildung eines Hydrops fetalis. Die Prävalenz der Thrombozytopenie lag oberhalb der in der Literatur angegebenen Prävalenz von 29 – 64 % und war mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Auswahl unserer Subgruppe zurückzuführen, da diese ausschließlich therapiebedürftige Feten enthielt (Haan et al. 2008). Eine Korrelation zwischen einer hohen Viruslast und niedrigen Thrombozyten-Konzentrationen ist nicht geklärt. Während *in vitro* und *in vivo* Experimente an Tierzellen eine Korrelation vermuteten, fanden Haan et al. keine Korrelation der Thrombozyten-Konzentration im Blut von Feten mit einer PVB19-Infektion (Lamana et al. 2001; Srivastava et al. 1990). Die Autoren deuteten dies als zeitliche Dissoziation zwischen dem Peak der Viruslast und dem Auftreten der Thrombozytopenie. Sie vermuteten eine erhöhte Thrombopoetin-Freisetzung bei sinkender Thrombozyten-Anzahl sowie eine Abnahme der TPO-Rezeptoren, wodurch der Spiegel an freiem zirkulierendem Thrombopoetin steigt und die Thrombozyten-Produktion anregt (Haan et al. 2008). Weitere Studien zur Messung der Viruslast und dem TPO-Spiegel im Fetalblut erscheinen sinnvoll.

In der Literatur wurde die IUT-Therapie mit einem Abfall der Thrombozytenkonzentration bei Feten mit einer PVB19-Infektion assoziiert (Haan et al. 2008; Melamed et al. 2015). Auch in der vorliegenden Arbeit sank die Thrombozytenkonzentration im Fetalblut der Subgruppe PVB19 auf pathologisch niedrige Werte nach der ersten IUT (< 150 T/l) und

nahm signifikant zwischen der ersten und der zweiten Transfusion ab (Abb. 15). Als Ursache für die Abnahme der Thrombozyten-Konzentration wird eine Verdünnungs-Thrombozytopenie angenommen, wie sie bei adulten Patienten auftritt (Segata et al. 2007). Dieser Effekt ist vor allem bei Feten mit schweren Anämien unter einer PVB19-Infektion wahrscheinlich. Diese schweren Anämien sind mit einer verminderten Thrombopoese assoziiert, wodurch ungefähr 40 % des Volumens mit einer IUT hinzugefügt werden. Darüber hinaus erhalten diese Feten durchschnittlich zwei Tage später eine weitere IUT, wodurch der Verdünnungseffekt durch den kurzen zeitlichen Abstand verstärkt werden könnte. Das Anhaften von Thrombozyten an Mikroaggregaten des transfundierten Blutes ist bei der Verwendung von leukozytendepletierten und bestrahlten Spenderblut auszuschließen. Im Blut von Feten mit einer Rhesusinkompatibilität werden niedrige Thrombozyten-Konzentrationen insbesondere bei mittelschweren bis schweren Anämien und dem (daraus resultierenden) Vorliegen eines Hydrops fetalis beschrieben (Koenig und Christensen 1989; Saade et al. 1993; van den Akker et al. 2008). Dieser Einfluss ließ sich auch in der vorliegenden Arbeit darstellen (Abb. 12). 20 % der Feten mit einer Rhesusinkompatibilität wiesen eine Thrombozytenkonzentration von < 150 T/l. Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen der Thrombozytenkonzentration und den MOM-Hb-Werten ($R = 0,47$, $p = 0,020$), was sich mit Ergebnissen bisheriger Studien deckt (van den Akker et al. 2008; van den Hof und Nicolaidis 1990). Saade et al. (1993) beschrieben zudem eine negative Korrelation der Thrombozytenkonzentration und der Hkt-Werte ($R = - 0,659$, $p < 0,01$) (Saade et al. 1993). Die Thrombozytenkonzentration scheint mit steigendem Schweregrad der hämolytischen Anämie abzunehmen. Das Antigen, welches durch die Rhesusantikörper erkannt wird, konnte bislang nicht auf Thrombozyten oder Megakaryozyten nachgewiesen werden (Koenig und Christensen 1989). Es wird angenommen, dass durch eine gesteigerte Erythropoese eine Verdrängung der thrombotischen Vorläuferzellen und eine Suppression der Thrombozyten-Produktion stattfindet. Hierauf deutet die Korrelation zwischen der Retikulozyten-Konzentration und der Thrombozyten-Konzentration hin (Saade et al. 1993). Zudem scheint das mittlere Thrombozyten-Volumen nicht erhöht, wodurch eine Zerstörung der Thrombozyten auszuschließen ist (Koenig und Christensen 1989; Rosenbloom et al. 2019). Eine Modulierung der megakaryotischen Wachstumsfaktoren durch Sättigung der Rezeptoren für erythroide Wachstumsfaktoren auf multipotenten Vorläuferzellen ist zudem denkbar. Rosenbloom et al. fanden bei fünf Müttern mit einer

Thrombozytopenie drei Fälle einer fetalen Thrombozytopenie. Sie diskutierten die maternale Thrombozytopenie als Risikofaktor. Die Fallzahlen waren jedoch sehr gering, wodurch der Zusammenhang fraglich bleibt (Rosenbloom et al. 2019). Die IUT-Therapie zeigte in der vorliegenden Studie keinen Einfluss auf die Thrombozyten-Konzentration (Abb. 15).

4.3.1. Behandlung der Thrombozytopenie unter einer IUT-Therapie

Sowohl bei Feten mit einer PVB19-Infektion als auch bei Feten mit einer Rhesusinkompatibilität sind schwere Thrombozytopenien unter einer IUT-Therapie mit höheren Risiken an Komplikationen assoziiert, wobei das Vorliegen eines Hydrops fetalis dieses Outcome zusätzlich verschlechtern kann (Kosian et al. 2022; Melamed et al. 2015; van den Akker et al. 2008). In der Literatur wird die Verwendung von Thrombozyten-Aggregaten während einer IUT-Therapie diskutiert, um die Überlebensrate zu steigern. Die Thrombozyten-Transfusion selbst kann jedoch zu einer zusätzlichen Volumenbelastung führen, welche vor allem für hydropische Feten gefährlich scheint (Haan et al. 2008). Es fehlen zudem eindeutige Ergebnisse über das verbesserte Outcome von Feten nach einer Thrombozyten-Transfusionen, da in einigen Studien trotz schneller Thrombozyten-Transfusion während einer IUT über Blutungen nach der Nabelschnurpunktion berichtet wurde (Overton et al. 2002; van den Akker et al. 2008; van Kamp et al. 2005). Der Einsatz von Thrombozyten-Konzentraten sollte nur nach individueller Risikoabwägung erfolgen, um kein unnötiges Komplikationsrisiko einzugehen (Haan et al. 2008).

4.4. Limitationen und Ausblick

Eine Einschränkung der erhobenen Referenzwerte ergibt sich durch die Auswahl der Kontrollgruppe. Blutentnahmen sind bei gesunden Feten ohne eine medizinische Indikation aufgrund des Komplikationsrisikos ethisch nicht vertretbar. Durch die hohe Anzahl medizinisch indizierter Fetalblutentnahmen am Universitätsklinikum Bonn konnte eine Kontrollgruppe erstellt werden, ohne ethische Grenzen zu überschreiten. Auf Grundlage aktueller Forschungsergebnisse wurden alle Krankheitsbilder mit wesentlichem Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentration exkludiert, es verblieben jedoch kranke Feten in dieser Gruppe. Signifikante Einflüsse der verschiedenen Krankheitsbilder sowie Einflüsse von maternalen Charakteristika konnten in der Regressionsanalyse ausgeschlossen werden. Die Wahrscheinlichkeit des Einflusses ist somit gering. Da diese Arbeit insbesondere die

erste Erhebung von Referenzwerten des RPIs im Fetalblut ist, sind weitere Studien zur endgültigen Etablierung dieser Referenzwerte sinnvoll (Siebers et al. 2023). Insgesamt gelten diese Limitationen jedoch für alle bereits publizierten Gestationsalter-abhängigen Referenzwerte im Fetalblut.

Eine weitere Limitation ist durch die Komplexität der fetalen invasiven Eingriffe entstanden. Aufgrund unterschiedlicher Beeinträchtigungen des Ablaufs, konnte nicht im Rahmen jedes Eingriffes eine fetale Blutentnahme erfolgen. In der gemischt linearen Regressionsanalyse der Parameter über den Verlauf der Therapie konnten die fehlenden Werte durch den Einbezug fester und zufälliger Effekte berücksichtigt werden. Hauptsächlich war die Analyse von signifikanten Einflüssen innerhalb der Subgruppen durch die Stichprobenzahlen limitiert. Eine weitere Studie zum Vergleich der NT-proBNP-Konzentration bei Feten mit einer PVB19-Infektion mit und ohne Hydrops fetalis ist deshalb eine sinnvolle Erweiterung der vorliegenden Ergebnisse, um die Auswirkungen dieses Krankheitsbildes auf die kardiale Funktion detailliert zu verstehen. Zudem scheint eine Analyse zwischen der Viruslast und der NT-proBNP-Konzentration nützlich, um den Zusammenhang zwischen der Erkrankungsdauer, der viralen Myokarditis und der NT-proBNP-Konzentration zu analysieren.

Darüber hinaus ist ebenfalls eine Korrelation zwischen der Erkrankungsdauer der PVB19-Infektion und der Abnahme der Retikulozyten- sowie Thrombozyten-Konzentration im Fetalblut wahrscheinlich und könnte die Streuung der Retikulozyten-Werte erklären. Die Korrelation der Viruslast und der Thrombozyten-Konzentration wurde bereits untersucht, konnte jedoch nicht eindeutig geklärt werden. Eine Analyse dieses Zusammenhanges könnte helfen, das Auftreten der aplastischen Anämien und der Thrombozytopenien vorherzusagen und den umstrittenen Einsatz von Thrombozyten-Transfusionen unter seriellen IUTs zu klären.

5. Zusammenfassung

Um die Pathophysiologien fetaler Anämien unterschiedlicher Genese zu verstehen, sowie mögliche Verbesserungen in der Therapiesteuerung der seriellen intrauterinen Transfusionen vorzunehmen, wurden in dieser Studie retrospektiv neben der Hämoglobinkonzentration zusätzlich die NT-proBNP-, die Retikulozyten- und die Thrombozyten-Konzentrationen im Fetalblut vor und während serieller intrauteriner Transfusionen analysiert. Referenzwerte wurden mittels Blutentnahmen von Feten erhoben, welche einen induzierten Abort erhielten (Kontrollen).

Ein wichtiger Beitrag dieser Arbeit ist die Messung der NT-proBNP-Konzentration im Blut dieser Kontrollen, da Referenzwerte dieses Parameters für Feten im zweiten Trimester fehlen. Eine negative Korrelation zwischen der NT-proBNP-Konzentration und dem steigendem Gestationsalter wird deutlich belegt. Diese Korrelation sollte in Zukunft in der Bewertung der fetalen NT-proBNP-Konzentration berücksichtigt werden, um die Wahrscheinlichkeit zur Detektion von pathologischen NT-proBNP-Konzentrationen zu erhöhen. Zudem wird eindeutig bestätigt, dass bei Vorliegen einer Anämie unterschiedlicher Genese die NT-proBNP-Konzentration pathologisch erhöht ist. Anhand der NT-proBNP-Konzentration ließ sich eine kardiale Volumenbelastung bei fetalen Anämien und unter Ausbildung eines Hydrops fetalis infolge eines high cardiac output failure messen. Erstmals wurde gezielt die NT-proBNP-Konzentration im Blut von Feten mit einer Parvovirus B19-Infektion analysiert. Bei diesen Feten lag die NT-proBNP-Konzentration deutlich höher als bei anderen Krankheitsbildern, obwohl keine signifikant stärkere Anämie vorlag. Zurückzuführen ist dies wahrscheinlich auf die Parvovirus B19-assoziierte Myokarditis mit schneller Ausbildung eines Hydrops fetalis. Eine Studie zur zeitlichen Einordnung des Auftretens der Myokarditis durch die zusätzliche Messung der Viruslast stellt eine sinnvolle Erweiterung dieses Ergebnisses dar. Insgesamt führen serielle intrauterine Transfusionen bei allen Feten zu einem starken Absinken der pathologisch hohen NT-proBNP-Konzentration. Dies verdeutlicht die positiven Auswirkungen der Therapie auf das fetale Herzkreislaufsystem durch eine Verringerung der kardialen Belastung, trotz bestehender Anämie.

Die relativen und absoluten Retikulozytenzahlen, sowie der Retikulozytenproduktionsindex sanken im Verlauf der Therapie auf pathologisch niedrige Werte. Diese Studie konnte

somit in Übereinstimmung zu den bisherigen Forschungsergebnissen zeigen, dass serielle intrauterine Transfusionen zu einer Suppression der Erythropoese führen. Die erstmalige Analyse des Retikulozytenproduktionsindex zeigt, dass eine Einschätzung der Erythropoese-Qualität zusätzlich anhand dieses Parameters möglich ist. Insgesamt werden die Parameter der Retikulozyten Konzentrationen zur Therapiesteuerung jedoch aufgrund großer Streuungen innerhalb der Gruppen als limitiert beurteilt.

Die Thrombozyten-Konzentration spiegelt die pathophysiologischen Abläufe der Krankheitsbilder vor Therapiebeginn deutlich wider. Die Konzentration sinkt unter seriellen intrauterinen Transfusionen insbesondere bei Feten mit schweren Anämien durch eine Parvovirus B19-Infektion. Als Ursache scheint in diesen Fällen in der Zusammenschau der aktuellen Datenlage eine Verdünnungsthrombozytopenie als wahrscheinlich.

Insgesamt stellt somit insbesondere die NT-proBNP-Messung eine sinnvolle Ergänzung der bisherigen Therapiesteuerung dar, um mögliche Komplikationen des Herz-Kreislaufsystems vorzubeugen.

6. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Verteilung der Diagnosen [%] in der Gruppe der Kontrollen (N = 86)..... 20
- Abb. 2:** Lineare Korrelation der NT-proBNP-Konzentration [pg/ml] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Mütter zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert + 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = -74,04, Std.-Fehler = 20, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,44, T = -3,65, p = 0,001; erhobene Referenzwerte von Merz et al. (2010) sind zum Vergleich als Regressionsgerade angegeben; Abbildung modifiziert nach Siebers et al. (2023) 27
- Abb. 3:** Mediane (Q1 - Q3) der logarithmierten NT-proBNP-Konzentration im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen. Als Einflussfaktor wurden Feten mit einem Hydrops fetalis in den einzelnen Gruppen hervorgehoben; Abbildung modifiziert nach Siebers et al. (2023)..... 30
- Abb. 4:** Logarithmierte NT-proBNP-Konzentration im Verlauf der IUT-Therapie. β = -0,08, Std. - Fehler = 0,02, p < 0,001, 95 % KI = -0,11– (-0,05). Unterlegter SSW-unabhängiger Normwertbereich von 0 - 3,42 (M + 2 SD der NT-proBNP-Konzentration (logarithmiert) im Fetalblut der Kontrollen); Abbildung modifiziert nach Siebers et al. (2023)..... 31
- Abb. 5:** Lineare Korrelation der Relativen Retikulozytenzahl [%] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) der Patientinnen [Woche, Tage] zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert + 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = -0,4, Std.-Fehler = 0,07, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,6, T = -5,7, p < 0,001, erhobene Referenzwerte von Nicolaidis et al. (1989) sind zum Vergleich als Regressionsgerade angegeben 33
- Abb. 6:** Relative Retikulozytenzahl [%] im Verlauf der IUT-Therapie (Mittelwert und 95 % KI). β = -2,1, Std. - Fehler = 0,2, p < 0,001, 95 % KI = -2,5 – (-1,6). Unterlegt der GA-unabhängige Normwertbereich von 4,0 – 13,6 % (M \pm 2 SD der Relativen Retikulozytenzahl [%] im Fetalblut der Kontrollen), sowie farblich unterlegt die verschiedenen Subgruppen (Rhesusinkompatibilität, PVB19, Kellinkompatibilität, restlichen Subjekte)..... 35

Abb. 7: Lineare Korrelation der absoluten Retikulozytenzahl [G/l] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Patientinnen zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert und 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = 6,0, Std. - Fehler = 2,4, Standardisierter Koeffizient (β) = -0,2, T = 2,1, p = 0,025; erhobene Referenzwerte von Nicolaides et al. (1989) sind zum Vergleich als Regressionsgerade angegeben 37

Abb. 8: Mediane (Q1 – Q3) der AR [G/l] im Verlauf der IUT-Therapie. β = -26, Std. - Fehler = 5,1, p < 0,001, 95 % KI = -36,3 – (-15,9)). Unterlegter SSW-unabhängiger Normwertbereich von 144 – 143 G/l (M + 2SD der absoluten Retikulozytenzahl [G/l] im Fetalblut der Kontrollen), sowie farblich unterlegt die verschiedenen Subgruppen (Rhesusinkompatibilität, PVB-19, Kellinkompatibilität, restlichen Subjekte)..... 39

Abb. 9: Lineare Korrelation des Retikulozytenproduktionsindex im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Patientinnen zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert + 95 % KI). Regressionskoeffizient (R) = -0,006, Std. - Fehler = 0,07, β = -0,01, T = -0,09, p = 0,932 40

Abb. 10: Mediane (Q1 – Q3) des RPI im Verlauf der IUT-Therapie. β = -0,35, Std. - Fehler = 0,04, p < 0,001, 95 % KI = -0,43– (-0,26)). Unterlegter SSW-unabhängiger Normwertbereich mit der Untergrenze von 2,3 (M - 2SD des RPI im Fetalblut der Kontrollen), sowie farblich unterlegt die verschiedenen Subgruppen (Rhesusinkompatibilität, PVB-19, Kellinkompatibilität, restlichen Subjekte)..... 42

Abb. 11: Korrelation der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Fetalblut der Kontrollen mit dem Schwangerschaftsalter (SSW) [Woche, Tage] der Patientinnen zum Entnahmezeitpunkt (Mittelwert). R = -2,6 Std.-Fehler = 2,6, β = -0,14, T = -0,98 p = 0,139. Cut-Off-Werte der Thrombozytopenie: <150 T/l = leicht, <100 T/l = mittelschwer, <50 T/l = schwer..... 43

Abb. 12: Mediane (Q1 - Q3) der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT. Als Einflussfaktor wurden Feten mit einem Hydrops fetalis in den einzelnen Gruppen farblich hervorgehoben. 45

Abb. 13: Mediane (Q1 – Q3) der Thrombozyten-Konzentration [T/l] im Verlauf der IUT-Therapie. $\beta = -3,0$, Std. - Fehler = 2,4, $p = 0,207$, 95 % KI = -7,7– (-1,7)). Cut-Off-Werte der Thrombozytopenie: <150 T/l = leicht, <100 T/l = mittelschwer, <50 T/l = schwer. Farblich unterlegt wurden die Subgruppen PVB19, Rhesusinkompatibilität und die restlichen Subjekte..... 46

7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Diagnosen der Subjekte (N = 107).....	21
Tab. 2: Basischarakteristika des Patientenkollektivs.....	22
Tab. 3: Parameter zur Einteilung des Anämie-Schweregrades bei den Kontrollen, den Subjekten und Subgruppen vor dem invasiven Eingriff.....	24
Tab. 4: Diagnosen der Feten mit einem Hydrops fetalis	25
Tab. 5: Mittelwerte (M) und Standardabweichung (SD) der NT-proBNP-Konzentration [pg/ml] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT	28
Tab. 6: Post-Hoc-Test (Games-Howell) auf Unterschiede in der NT-proBNP-Konzentration (logarithmiert) im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppe (p = Signifikanzwert, 95 % KI = 95 % Konfidenzintervall, UG = Untergrenze des 95 % KI, OG = Obergrenze des 95 % KI).....	29
Tab. 7: Mittelwerte (M), Standardabweichung (SD) und mittlerer Rang der RR [%] der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen mittels Kruksali-Wallis Test.....	34
Tab. 8: Post-Hoc-Test (Dunn Bonnferroni) auf Unterschiede in der RR [%] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT (p = Signifikanzwert, 95 % KI = 95 % Konfidenzintervall, UG = Untergrenze des 95 % KI, OG = Obergrenze des 95 % KI)	34
Tab. 9: Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) der AR [G/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT.....	38
Tab. 10: Post-Hoc-Test (Games Howell) auf Unterschiede in der AR [G/l] im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT (p = Signifikanzwert, 95 % KI = 95 % Konfidenzintervall, UG = Untergrenze des 95 % KI, OG = Obergrenze des 95 % KI)	38

Tab. 11: Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) des RPI im Fetalblut der Kontrollen, Subjekte und Subgruppen vor der ersten IUT 41

Literaturverzeichnis

Abbasi, N.; Johnson, J-A; Ryan, G. (2017): Fetal anemia. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 50 (2), S. 145–153. DOI: 10.1002/uog.17555.

Bakker, Jaap; Gies, Inge; Slavenburg, Barbara; Bekers, Otto; Delhaas, Tammo; van Dieijen-Visser, Marja (2004): Reference values for N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in umbilical cord blood. In: *Clinical chemistry* 50 (12), S. 2465. DOI: 10.1373/clinchem.2004.040253.

Bar-Oz, Benjamin; Lev-Sagie, Achinoam; Arad, Ilan; Salpeter, Lea; Nir, Amiram (2005): N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in mothers just before delivery, in cord blood, and in newborns. In: *Clinical chemistry* 51 (5), S. 926–927. DOI: 10.1373/clinchem.2005.048892.

Brace, Robert A. (1989): Ovine fetal cardiovascular responses to packed red blood cell transfusions. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 161 (5), S. 1367–1374. DOI: 10.1016/0002-9378(89)90698-4.

Brown, Kevin E.; Anderson, Stacie M.; Young, Neal S. (1993): Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. In: *Science* 262 (262), S. 114–117.

Cameron, Vicky A.; Ellmers, Leigh J. (2003): Minireview: natriuretic peptides during development of the fetal heart and circulation. In: *Endocrinology* 144 (6), S. 2191–2194. DOI: 10.1210/en.2003-0127.

Cosmi, Erich; Mari, Giancarlo; Delle Chiaie, Loredana; Detti, Laura; Akiyama, Masashi; Murphy, June et al. (2002): Noninvasive diagnosis by doppler ultrasonography of fetal anemia resulting from parvovirus infection. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 187 (5), S. 1290–1293. DOI: 10.1067/mob.2002.128024.

Detti, L.; Oz, U.; Guney, I.; Ferguson, J. E.; Bahado-Singh, R. O.; Mari, G. (2001): Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 185 (5), S. 1048–1051. DOI: 10.1067/mob.2001.118161.

Federico, Cacciapuoti (2010): Natriuretic peptide system and cardiovascular disease. In: *Heart Views* 11 (1), S. 10–15.

Ferreira, Ana Luíza Penido; Reis, Zilma Silveira Nogueira; Braga, Jacqueline; Leite, Henrique Vitor; Cabral, Antônio Carlos Vieira (2009): Relationship between cardiofemoral index and the plasma concentration of brain natriuretic peptide in anemic fetuses associated with Rh alloimmunization. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 279 (3), S. 335–339. DOI: 10.1007/s00404-008-0728-y.

Forestier, F.; Tissot, J. D.; Vial, Y.; Daffos, F.; Hohlfeld, P. (1999): Haematological parameters of parvovirus B19 infection in 13 fetuses with hydrops foetalis. In: *British journal of haematology* 104 (104), Artikel 104, S. 925–927.

Fortunato, Giuliana; Carandente Giarrusso, Patrizia; Martinelli, Pasquale; Sglavo, Gabriella; Vassallo, Michele; Tomeo, Luigi et al. (2006): Cardiac troponin T and amino-terminal pro-natriuretic peptide concentrations in fetuses in the second trimester and in healthy neonates. In: *Clinical chemistry and laboratory medicine* 44 (7), S. 834–836. DOI: 10.1515/CCLM.2006.144.

Gembruch, Ulrich (Hg.) (2013): *Ultraschalldiagnostik in Geburtshilfe und Gynäkologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin.

Giancarlo, M. (2000): Noninvasive diagnosis by doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. In: *N Engl J Med* 342 (342), S. 9–14.

Girsen, A.; Ala-Kopsala, M.; Mäkikallio, K.; Vuolteenaho, O.; Räsänen, J. (2007): Cardiovascular hemodynamics and umbilical artery N-terminal peptide of proB-type natriuretic peptide in human fetuses with growth restriction. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 29 (3), S. 296–303. DOI: 10.1002/uog.3934.

Goodrum, L. A.; Saade, G. R.; Belfort, M. A.; Carpenter, R. J.; Moise, K. J. (1997): The effect of intrauterine transfusion on fetal bilirubin in red cell alloimmunization. In: *Obstetrics and gynecology* 89 (89), Artikel 1, S. 57–60.

Gottschalk, Ingo; Gembruch, Ulrich (2017): Fetale Anämie und Alloimmun-Thrombozytopenie. In: Fetale Anämie. Unter Mitarbeit von Christoph Berg. Berlin, Boston: De Gruyter, S. 127–137.

Gressner, Axel M.; Arndt, Torsten (2019): Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin.

Haan, T. R. de; van den Akker, E. S. A.; Porcelijn, L.; Oepkes, D.; Kroes, A. C. M.; Walther, F. J. (2008): Thrombocytopenia in hydropic fetuses with parvovirus B19 infection: incidence, treatment and correlation with fetal B19 viral load. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 115 (1), S. 76–81. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2007.01555.x.

Heegaard, Erik D.; Brown, Kevin E. (2002): Human parvovirus B19. In: *Clinical microbiology reviews* 15 (3), S. 485–505. DOI: 10.1128/CMR.15.3.485-505.2002.

Hellmund, Astrid; Geipel, Annegret; Berg, Christoph; Bald, Rainer; Gembruch, Ulrich (2018): Early intrauterine transfusion in fetuses with severe anemia caused by parvovirus B19 Infection. In: *Fetal diagnosis and therapy* 43 (2), S. 129–137. DOI: 10.1159/000477208.

Hill, Stephen A.; Booth, Ronald A.; Santaguida, P. Lina; Don-Wauchope, Andrew; Brown, Judy A.; Oremus, Mark et al. (2014): Use of BNP and NT-proBNP for the diagnosis of heart failure in the emergency department: a systematic review of the evidence. In: *Heart failure reviews* 19 (4), S. 421–438. DOI: 10.1007/s10741-014-9447-6.

Holinstat, Michael (2017): Normal platelet function. In: *Cancer metastasis reviews* 36 (2), S. 195–198. DOI: 10.1007/s10555-017-9677-x.

Jonker, Sonnet S.; Giraud, M. Kathryn; Giraud, George D.; Chattergoon, Natasha N.; Louey, Samantha; Davis, Lowell E. et al. (2010): Cardiomyocyte enlargement, proliferation and maturation during chronic fetal anaemia in sheep. In: *Experimental physiology* 95 (1), S. 131–139. DOI: 10.1113/expphysiol.2009.049379.

Kaushansky, Kenneth (2015): Thrombopoiesis. In: *Seminars in hematology* 52 (1), S. 4–11. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2014.10.003.

Kocylowski, Rafal D.; Dubiel, Mariusz; Gudmundsson, Saemundur; Sieg, Ina; Fritzer, Elfriede; Alkasi, Ozkan et al. (2009): Biochemical tissue-specific injury markers of the heart and brain in postpartum cord blood. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 200 (3), 273.e1-25. DOI: 10.1016/j.ajog.2008.10.009.

Koenig, Joyce M.; Christensen, Robert D. (1989): Neutropenia and thrombocytopenia in infants with Rh hemolytic disease. In: *The Journal of pediatrics* 114 (4), S. 625–631. DOI: 10.1016/S0022-3476(89)80709-7.

Kosian, Philipp; Hellmund, Astrid; Geipel, Annegret; Bald, Rainer; Geist, Otilia-Maria; Böckenhoff, Paul et al. (2022): Intrauterine transfusion in 103 fetuses with severe anemia caused by parvovirus infection. A multicenter retrospective study. In: *Archives of gynecology and obstetrics*. DOI: 10.1007/s00404-022-06712-z.

Lamana, María L.; Albella, Beatriz; Bueren, Juan A.; Segovia, Jose C. (2001): In vitro and in vivo susceptibility of mouse megakaryocytic progenitors to strain i of parvovirus minute virus of mice. In: *Exp Haematol* 29 (11), S. 1303–1309. DOI: 10.1016/s0301-472x(01)00724-x.

Lechner, E.; Wiesinger-Eidenberger, G.; Wagner, O.; Weissensteiner, M.; Schreier-Lechner, E.; Leibetseder, D. et al. (2009): Amino terminal pro B-Type natriuretic peptide levels are elevated in the cord blood of neonates with congenital heart defect. In: *Pediatric research* 66 (66), Artikel 4, S. 466–469.

Leufgen, Christina; Gembruch, Ulrich; Stoffel-Wagner, Birgit; Fimmers, Rolf; Merz, Waltraut M. (2017): N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in amniotic fluid of fetuses with

known or suspected cardiac load. In: *PloS one* 12 (5), 1-10. DOI: 10.1371/journal.pone.0177253.

Lindenburg, Irene T. M.; van Kamp, Inge L.; Oepkes, Dick (2014): Intrauterine blood transfusion: current indications and associated risks. In: *Fetal diagnosis and therapy* 36 (4), S. 263–271. DOI: 10.1159/000362812.

Luterek, Katarzyna; Szymusik, Iwona; Bartkowiak, Robert; Koltowski, Lukasz; Filipiak, Krzysztof J.; Wielgos, Mirosław (2011): N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: a potential marker of fetal heart failure in hemolytic disease. In: *Neuro Endocrino Lett* 32 (32), Artikel 5, S. 658–662.

Macé, Guillaume; Sauvan, Marine; Castaigne, Vanina; Moutard, Marie-Laure; Cortey, Anne; Maisonneuve, Emeline et al. (2014): Clinical presentation and outcome of 20 fetuses with parvovirus B19 infection complicated by severe anemia and/or fetal hydrops. In: *Prenatal diagnosis* 34 (11), S. 1023–1030. DOI: 10.1002/pd.4413.

Mari, Giancarlo; Norton, Mary E.; Stone, Joanne; Berghella, Vincenzo; Sciscione, Anthony C.; Tate, Danielle; Schenone, Mauro H. (2015): Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Clinical Guideline #8: the fetus at risk for anemia--diagnosis and management. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 212 (6), S. 697–710. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.01.059.

Melamed, Nir; Whittle, Wendy; Kelly, Edmond N.; Windrim, Rory; Seaward, P. Gareth R.; Keunen, Johannes et al. (2015): Fetal thrombocytopenia in pregnancies with fetal human parvovirus-B19 infection. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 212 (6), 793.e1-8. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.01.048.

Merz, W. M.; Gembruch, U. (2014): Old tool - new application: NT-proBNP in fetal medicine. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 44 (4), S. 377–385. DOI: 10.1002/uog.13443.

Merz, Waltraut M.; Kübler, Kirsten; Albers, Eike; Stoffel-Wagner, Birgit; Gembruch, Ulrich (2010): Reference values for N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in fetal circulation

between 20 and 34 weeks of gestation. In: *Clin Biochem* 43 (4-5), S. 519–521. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.11.012.

Merz, Waltraut M.; Kübler, Kirsten; Albers, Eike; Stoffel-Wagner, Birgit; Gembruch, Ulrich (2012a): N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in the circulation of fetuses with cardiac malformations. In: *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society* 101 (2), S. 73–79. DOI: 10.1007/s00392-011-0366-4.

Merz, Waltraut M.; Kübler, Kirsten; Fimmers, Rolf; Stoffel-Wagner, Birgit; Geipel, Anne-gret; Gembruch, Ulrich (2012b): Circulating N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in fetal anemia before and after treatment. In: *Pediatric research* 72 (2), S. 174–178. DOI: 10.1038/pr.2012.53.

Merz, Waltraut M.; Leufgen, Christina; Fimmers, Rolf; Stoffel-Wagner, Birgit; Gembruch, Ulrich (2014): Reference intervals for N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in amniotic fluid between 10 and 34 weeks of gestation. In: *PloS one* 9 (12), e114416. DOI: 10.1371/journal.pone.0114416.

Millar, D. S.; Davis, Lowell E.; Rodeck, C. H.; Nicolaidis, K. H.; Mibashan, R. S. (1985): Normal blood cell values in the early mid-trimester fetus. In: *Prenat Diagn* 5 (5), S. 367–373.

Millard, D. D.; Gidding, S. S.; Socol, M. L.; MacGregor, S. N.; Dooley, S. L.; Ney, J. A.; Stockman, J. A. 3rd (1990): Effect of intravascular, intrauterine transfusion on prenatal and postnatal hemolysis and erythropoiesis in severe fetal isoimmunization. In: *The Journal of pediatrics* 117 (117), Artikel 3, S. 447–454.

Miyoshi, T.; Umekawa, T.; Hosoda, H.; Asada, T.; Fujiwara, A.; Kurosaki, K. I. et al. (2018a): Plasma natriuretic peptide levels in fetuses with congenital heart defect and/or arrhythmia. In: *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 52 (5), S. 609–616. DOI: 10.1002/uog.18925.

Miyoshi, Takekazu; Hosoda, Hiroshi; Minamino, Naoto (2021): Significance of atrial and brain natriuretic peptide measurements in fetuses with heart failure. In: *Frontiers in physiology* 12, S. 654356. DOI: 10.3389/fphys.2021.654356.

Miyoshi, Takekazu; Hosoda, Hiroshi; Umekawa, Takashi; Asada, Takashi; Fujiwara, Akihiro; Kurosaki, Ken-ichi et al. (2018b): Amniotic fluid natriuretic peptide levels in fetuses with congenital heart defects or arrhythmias. In: *Circ J* 82, S. 2619–2626.

Morey, A. L.; Nicolini, U.; Welch, C. R.; Economides, D.; Chamberlain, P. F.; Cohen, B. J. (1991): Parvovirus B19 infection and transient fetal hydrops. In: *Lancet* 337 (8739), S. 496. DOI: 10.1016/0140-6736(91)93435-C.

Nebe, Carl Thomas; Diem, Heinz; Heimpel, Hermann (2010): Aktuelle Aspekte zur Bestimmung der Retikulozytenzahl / Current aspects of reticulocyte analysis. In: *Lab Med* 34 (6), S. 295–304. DOI: 10.1515/jlm.2010.057.

Nicolaides, K. H.; Thilaganathan, B.; Mibashan, R. S. (1989): Cordocentesis in the investigation of fetal erythropoiesis. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 161 (5), S. 1197–1200. DOI: 10.1016/0002-9378(89)90664-9.

Nir, Amiram; Lindinger, Angelika; Rauh, Manfred; Bar-Oz, Benjamin; Laer, Stephanie; Schwachtgen, Lynn et al. (2009): NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. In: *Pediatric cardiology* 30 (1), S. 3–8. DOI: 10.1007/s00246-008-9258-4.

Oepkes, D.; Seaward, P. Gareth; Vandenbussche, Frank P. H. A.; Windrim, R.; Kingdom, J.; Beyene, J. et al. (2006): Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. In: *N Engl J Med* 355 (355), Artikel 2, S. 156–164.

Ohls, Robin K. (2004): Developmental erythropoiesis. In: *Fetal and Neonatal Physiology*: Elsevier, S. 1397–1420.

Overton, Timothy G.; Duncan, Keith R.; Jolly, Matthew; Letsky, Elizabeth; Fisk, Nicholas M. (2002): Serial aggressive platelet transfusion for fetal alloimmune thrombocytopenia: platelet dynamics and perinatal outcome. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 186 (4), S. 826–831. DOI: 10.1067/mob.2002.122140.

Pasman, S. A.; van den Brink, C P Bil; Kamping, M. A.; Adama van Scheltema, P N; Oepkes, D.; Vandebussche, F P H A (2009): Total blood volume is maintained in nonhydropic fetuses with severe hemolytic anemia. In: *Fetal diagnosis and therapy* 26 (1), S. 10–15. DOI: 10.1159/000236353.

Paterakis, G. S.; Lykopoulou L.; Papassotiriou, J.; Stamulakatou, A.; Kattamis, C.; Loukopoulos, D. (1993): Flow-cytometric analysis of reticulocytes in normal cord blood. In: *Acta haematologica* 90 (90), S. 182–185.

Pierre, Robert V. (2002): Reticulocytes: Their usefulness and measurement in peripheral blood. In: *Clinics in laboratory medicine* 22 (1), S. 63–79. DOI: 10.1016/S0272-2712(03)00067-2.

Piva, Elisa; Brugnara, Carlo; Spolaore, Federica; Plebani, Mario (2015): Clinical utility of reticulocyte parameters. In: *Clinics in laboratory medicine* 35 (1), S. 133–163. DOI: 10.1016/j.cll.2014.10.004.

Porter, H. J.; Quantrill, A. M.; Fleming, K. A. (1988): B19 Parvovirus infection of myocardial cells. In: *Lancet* 331, S. 535–536.

Prefumo, Federico; Fichera, Anna; Fratelli, Nicola; Sartori, Enrico (2019): Fetal anemia: Diagnosis and management. In: *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 58, S. 2–14. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2019.01.001.

Redzko, Slawomir; Przepiesc, Jerzy; Zak, Janusz; Turowski, Dariusz; Urban, Jan; Wysocka, Jolanta (2002): Cord blood reticulocytes and reticulocyte subtypes in normal and complicated pregnancy. In: *Medycyna wieku rozwojowego* 6 (2), S. 145–153.

Ree, Isabelle M. C.; Lopriore, Enrico; Zwiers, Carolien; Böhringer, Stefan; Janssen, Marleen W. M.; Oepkes, Dick; Haas, Masja de (2020): Suppression of compensatory erythropoiesis in hemolytic disease of the fetus and newborn due to intrauterine transfusions. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 223 (1), 119.e1-119.e10. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.01.028.

Rosenbloom, Joshua I.; Bruno, Ann M.; Conner, Shayna N.; Tuuli, Methodius G.; Simon, Laura E.; Macones, George A.; Cahill, Alison G. (2019): Fetal thrombocytopenia in pregnancies complicated by fetal anemia due to red-cell alloimmunization: cohort study and meta-analysis. In: *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* 39 (7), S. 920–926. DOI: 10.1038/s41372-019-0388-8.

Saade, G. R.; Moise, K. J.; Copel, J. A.; Belfort, M. A.; Carpenter, R. J. (1993): Fetal platelet counts correlates with the severity of anemia in red-cell alloimmunization. In: *Obstet Gynecol* 82 (82), Artikel 6, S. 987–991.

Scheier, M.; Hernandez-Andrade, E.; Carmo, A.; Dezerega, V.; Nicolaides, K. H. (2004): Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 23 (5), S. 432–436. DOI: 10.1002/uog.1010.

Scheier, Matthias; Hernandez-Andrade, Edgar; Fonseca, Eduardo B.; Nicolaides, Kypros H. (2006): Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 195 (6), S. 1550–1556. DOI: 10.1016/j.ajog.2006.03.060.

Schild, R. L.; Bald, R.; Plath, H.; Eis-Hübinger, A. M.; Enders, G.; Hansmann, M. (1999): Intrauterine management of fetal parvovirus B19 infection. In: *Ultrasound Obstet Gynecol* 13 (13), S. 161–166.

Schulze, H.; Shivdasani, R. A. (2005): Mechanisms of thrombopoiesis. In: *J Thromb Haemost* 3 (8), S. 1717–1724. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01426.x.

Schwachtgen, L.; Herrmann, M.; Georg, T.; Schwarz, P.; Marx, N.; Lindinger, A. (2005): Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. In: *Zeitschrift für Kardiologie* 94 (6), S. 399–404. DOI: 10.1007/s00392-005-0246-x.

Segata, Maria; Chaoui, Rabih; Khalek, Nahla; Bahado-Singh, Ray; Paidas, Michael J.; Mari, Giancarlo (2007): Fetal thrombocytopenia secondary to parvovirus infection. In:

American journal of obstetrics and gynecology 196 (1), 61.e1-4. DOI: 10.1016/j.ajog.2006.08.041.

Seong, Won Joon; Yoon, Douk Hun; Chong, Gun Oh; Hong, Dae Gy; Koo, Tae Bon; Lee, Taek Hoo; Chun, Sang Sik (2010): Umbilical cord blood amino-terminal pro-brain natriuretic peptide levels according to the mode of delivery. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 281 (5), S. 907–912. DOI: 10.1007/s00404-009-1253-3.

Siebers, Pauline; Gembruch, Ulrich; Merz, Waltraut Maria; Recker, Florian; Müller, Andreas; Strizek, Brigitte et al. (2023): Fetal NT-proBNP levels and their course in severe anemia during intrauterine treatment. In: *Archives of gynecology and obstetrics*. DOI: 10.1007/s00404-023-07006-8.

Simms, R. A.; Liebling, R. E.; Patel, R. R.; Denbow, M. L.; Abdel-Fattah, S. A.; Soothill, P. W.; Overton, T. G. (2009): Management and outcome of pregnancies with parvovirus B19 infection over seven years in a tertiary fetal medicine unit. In: *Fetal diagnosis and therapy* 25 (4), S. 373–378. DOI: 10.1159/000236149.

Srivastava, A.; Bruno, E.; Briddell, R.; Cooper, R.; Srivastava, C.; van Besien, K.; Hoffman, R. (1990): Parvovirus B19-induced perturbation of human megakaryocytopoiesis in vitro. In: *Blood* 10 (10), S. 1997–2004. DOI: 10.1182/blood.V76.10.1997.1997.

Swynghedauw, B. (1999): Molecular mechanisms of myocardial remodeling. In: *Physiological reviews* 79 (1), S. 215–262. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.1.215.

Thorp, James A.; O'Connor, Timothy; Callenbach, John; Cohen, Gary R.; Yeast, John D.; Albin, James; Plapp, Fred (1991): Hyporegenerative anemia associated with intrauterine transfusion in rhesus hemolytic disease. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 165 (1), S. 79–81. DOI: 10.1016/0002-9378(91)90228-J.

Tsiftoglou, Asterios S.; Vizirianakis, Ioannis S.; Strouboulis, John (2009): Erythropoiesis: model systems, molecular regulators, and developmental programs. In: *IUBMB life* 61 (8), S. 800–830. DOI: 10.1002/iub.226.

van den Akker, Eline S. A.; Haan, Timo R. de; Lopriore, Enrico; Brand, Anneke; Kanhai, Humphrey H. H.; Oepkes, Dick (2008): Severe fetal thrombocytopenia in Rhesus D alloimmunized pregnancies. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 199 (4), 387.e1-4. DOI: 10.1016/j.ajog.2008.07.001.

van den Hof, Michiel C.; Nicolaidis, Kypros H. (1990): Platelet count in normal, small, and anemic fetuses. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 162 (3), S. 735–739. DOI: 10.1016/0002-9378(90)90997-L.

van Kamp, I. L.; Klumper, F. J.; Bakkum, R. S.; Oepkes, D.; Meerman, R. H.; Scherjon, S. A.; Kanhai, H. H. (2001): The severity of immune fetal hydrops is predictive of fetal outcome after intrauterine treatment. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 185 (3), S. 668–673. DOI: 10.1067/mob.2001.116690.

van Kamp, Inge L.; Klumper, Frans J. C. M.; Oepkes, Dick; Meerman, Robertjan H.; Scherjon, Sicco A.; Vandenbussche, Frank P. H. A.; Kanhai, Humphrey H. H. (2005): Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 192 (1), S. 171–177. DOI: 10.1016/j.ajog.2004.06.063.

Vaughan, Janet I.; Warwick, Ruth; Letsky, Elizabeth; Nicolini, Umberto; Rodeck, Charles H.; Fisk, Nicholas M. (1994): Erythropoietic suppression in fetal anemia because of Kell alloimmunization. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 171 (1), S. 247–252. DOI: 10.1016/0002-9378(94)90477-4.

Walther, T.; Stepn, H.; Faber, R. (2001): Dual natriuretic peptide response to volume load in the fetal circulation. In: *Cardiovasc Res* 49 (49), S. 817–819.

Weiner, Carl P.; Widness, J. A. (1995): Decreased fetal erythropoiesis Kell hemolytic anemia. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 174, S. 547–551.

Winterhalter, K. H. (1975): Normal erythropoiesis. In: *Schweizerische medizinische Wochenschrift* 105 (47), S. 1558–1562.

Yadav, Vikas; Deka, Dipika; Aparna, Sharma; Dadhwal, Vatsla (2019): NT-proBNP: a useful biochemical marker for prognosis in Rh-isoimmunized pregnancies. In: *Journal of obstetrics and gynaecology of India* 69 (Suppl 2), S. 128–132. DOI: 10.1007/s13224-018-1180-y.

Young, Neal S. (1995): B19 parvovirus. In: *Baillieres Clin Haematol* 8, S. 25–56.

Zwiers, C.; Lindenburg, I. T. M.; Klumper, F. J.; Haas, M. de; Oepkes, D.; van Kamp, I. L. (2017a): Complications of intrauterine intravascular blood transfusion: lessons learned after 1678 procedures. In: *Ultrasound Obstet Gynecol* 50 (2), S. 180–186. DOI: 10.1002/uog.17319.

Zwiers, Carolien; van Kamp, Inge; Oepkes, Dick; Lopriore, Enrico (2017b): Intrauterine transfusion and non-invasive treatment options for hemolytic disease of the fetus and newborn - review on current management and outcome. In: *Expert review of hematology* 10 (4), S. 337–344. DOI: 10.1080/17474086.2017.1305265.