



# **UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE**

## **XXX CICLO DEL DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE DELLA RIPRODUZIONE E DELLO SVILUPPO**

### **LA PORTATA EMATICA DELLE ARTERIE UTERINE E DELLA VENA OMBELICALE NELLE GRAVIDANZE COMPLICATE DA RESTRIZIONE DI CRESCITA FETALE (IUGR)**

Settore scientifico-disciplinare: GINECOLOGIA E OSTETRICIA

**DOTTORANDA  
LEILA LO BELLO**

**COORDINATORE  
PROF. PAOLO GASPARINI**

**SUPERVISORE DI TESI  
PROF. GIUSEPPE RICCI**

**CO-SUPERVISORE DI TESI  
DOTT.SSA TAMARA STAMPALIJA**

**ANNO ACCADEMICO 2016/2017**

# **INDICE**

<b>ABSTRACT</b>	<b>Pag. 4</b>
<b>INTRODUZIONE</b>	
<b>Circolazione feto-placentare</b>	<b>Pag. 6</b>
<b>Restrizione di crescita intrauterina</b>	<b>Pag. 15</b>
<b>Portata ematica nella vena ombelicale</b>	<b>Pag. 23</b>
<b>Portata ematica nelle arterie uterine</b>	<b>Pag. 44</b>
<b>RAZIONALE</b>	<b>Pag. 58</b>
<b>SCOPO DELLO STUDIO</b>	<b>Pag. 60</b>
<b>MATERIALI E METODI</b>	<b>Pag. 61</b>
<b>RISULTATI</b>	<b>Pag. 66</b>
<b>DISCUSSIONE</b>	<b>Pag. 86</b>
<b>CONCLUSIONI</b>	<b>Pag. 95</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>Pag. 96</b>

## **ABBREVIAZIONI**

AC – abdominal circumference, circonferenza addominale

AOmb – arterie ombelicali

AUt – arterie uterine

BE – base excess, eccesso di basi

BMI – body mass index, indice di massa corporea

CMA – arteria cerebrale media

CTG - cardiotocografia

EFW – estimated fetal weight, stima peso fetale

IUGR – intrauterine growth restriction, restrizione di crescita intrauterina

Pc – percentile

pCO<sub>2</sub>– pressione parziale di anidride carbonica

PI – pulsatility index

pO<sub>2</sub>– pressione parziale di ossigeno

Q – volume blood flow, portata

SaO<sub>2</sub>– saturazione di ossigeno

SGA – small for gestational age, feti piccoli costituzionali

## **ABSTRACT**

Intrauterine growth restriction (IUGR) indicates a condition in which the fetus fails to reach its growth potential genetically predetermined. This condition is associated with a higher risk of adverse perinatal outcome, especially if undetected. However, the definition of IUGR in clinical practice is challenging because some “small fetuses” might be simply constitutionally small (SGA), whether other might have suffered from growth restriction despite the fact that they present biometric parameters within normal ranges. There are some evidences to support the added value of the volume blood flow in the uterine arteries (QAUt) or in umbilical vein (QVOmb) in IUGR fetuses.

### **Aim of the study**

The aim of the study is to evaluate QAUt and QVOmb in fetuses considered to be SGA or that have slowed down their growth. Particularly, we wanted to evaluate the relationship with other Doppler parameters commonly used, the possible association with adverse perinatal outcome, and the added value of blood flow volume in differentiating between SGA and IUGR.

### **Methods**

This was a case-control study (1:2) in a single third referral centre. Patients were recruited during second and third trimester in the presence of abdominal circumference (AC)<10th centile or reduced fetal growth (AC crossing 50 centiles). Doppler measurements of uterine arteries (UtA), umbilical artery (AOmb), and middle cerebral artery (CMA) were performed longitudinally to assess the fetal well-being according to standard protocols. Controls were uncomplicated pregnancies with normal fetal growth and without any Doppler alteration. Evaluation of QAUt and QVOmb were performed longitudinally at each ultrasound assessment and were normalized for estimated fetal weight (EFW). Operators were blinded to volume flow measurements. Analysis in cases was performed at recruitment (diagnosis) and on last measurement before delivery. A composite adverse outcome was defined as at least one of the following: intervention due to CTG abnormalities, arterial cord blood pH<7.10 or base excess >-12 or admission to neonatal special care unit. Logistic regression models, adjusted for gestational age, were adopted to evaluate differences between the groups of dependent variables.

### **Main findings of the study**

We recruited 110 cases and 220 controls. Of those 4 cases and 42 controls had to be excluded for missing outcome data or onset of some complication in control group. Thus, the analysis was performed on 106 cases and 178 controls. The QAUt and QVOmb, total and normalized for EFW, were significantly lower in fetuses with CA<10°pc or growth retardation than in controls (total QAUt, total QVOmb and normalized QVOmb all  $p<0.0001$ ; QAUt normalized for EFW  $p=0,0005$  at diagnosis and  $p=0,04$  before delivery). Cases that had also at least one Doppler alteration had significantly lower QAUt and QVOmb, total and normalized for EFW, than controls (total QAUt  $p<0.0001$ ; normalized relative QAUt  $p=0.0002$ ; total and normalized QVOmb both  $p<0.0001$ ). However, also fetuses without Doppler abnormalities showed significantly lower total QAUt, total and normalized for EFW QVOmb than controls (total QAUt  $p<0.0001$ ; relative QAUt  $p=0.6$ ; total QVOmb  $p<0.0001$  and normalized QVOmb  $p=0.003$ ). In those fetuses QVOmb, total and normalized for EFW, were significantly lower in the presence of composite adverse outcome than in controls (respectively  $p <0.0001$ ;  $p=0.004$ ), while there were no significant differences between those fetuses with normal outcome and controls (total QVOmb  $p<0.0001$ ; normalized QVOmb  $p=0.06$ ), respectively.

### **Conclusion**

Blood flow volume in uterine arteries and umbilical vein might be helpful in identifying small fetuses that suffered from growth restriction in the absence of other Doppler abnormalities. Further studies are needed to prove the clinical usefulness and performance.

# **INTRODUZIONE**

## **CIRCOLAZIONE FETO-PLACENTARE**

Lo sviluppo fetale è il risultato dall'interazione tra il potenziale genetico ed il clima intrauterino cui esso è esposto. Un adeguato trasferimento di ossigeno, nutrienti e metaboliti tra i compartimenti materno e fetale condiziona il profilo di crescita fetale (Cetin I, 2009). La placenta è l'organo chiave nell'interazione tra madre e feto, deputato agli scambi di gas e nutrienti, al ruolo di barriera emato-coriale nonché a molteplici funzioni endocrine e immunitarie.

### **I processi di placentazione**

La placentazione gioca un ruolo dominante nel determinare le dimensioni finali e la morfologia placentare, nonché la sua funzionalità. I processi iniziano con l'impianto della blastocisti a livello dell'endometrio e con la sua successiva penetrazione all'interno della decidua uterina dopo 7-8 giorni dal concepimento. Aderendo all'endometrio le cellule del trofoectoderma si differenziano e si fondono per formare il sinciziotrofoblasto. Le sue proiezioni penetrano nell'endometrio e nello stroma sottostante cosicché lo zigote è completamente indovato nella decidua materna entro l'undicesimo giorno dalla fecondazione. Il sinciziotrofoblasto si espande mediante la proliferazione e fusione delle cellule del citotrofoblasto sottostante e circondando l'intera superficie della blastocisti. Durante questo processo il sinciziotrofoblasto erode i capillari dilatati presenti nella decidua e le parti apicali delle ghiandole endometriali creando un sistema di lacune, precursore dello spazio intervillare, in cui si riversano gli eritrociti materni e le secrezioni ghiandolari. I fattori che stimolano e regolano il rapido sviluppo placentare sono ad oggi poco conosciuti, sembra tuttavia che nel primo trimestre di gestazione lo sviluppo embrionario sia supportato da secrezioni istotrofiche da parte delle ghiandole endometriali. Tali secrezioni sono fagocitate dal sinciziotrofoblasto e si accumulano nel liquido celomico per essere successivamente

trasportate all'embrione attraverso il sacco vitellino secondario, che fluttua nel celoma (Ashari N, 2018).

Intorno al tredicesimo giorno dal concepimento il sinciziotrofoblasto forma i villi primari, che protrudono nelle lacune. Al progressivo incremento della lunghezza e del diametro dei villi si associa l'invasione del loro asse principale da parte del citotrofoblasto inizialmente e successivamente ad opera del mesenchima. Intorno alla fine della terza settimana dal concepimento i vasi capillari fetali si differenziano dalle cellule mesenchimali dando origine ai villi terziari. I villi inizialmente interessano l'intero sacco coriale ma verso la settima - ottava settimana di gravidanza quelli a livello del polo superficiale iniziano a regredire, lasciando le membrane lisce o chorion laeve, mentre a livello della sede di impianto permane la ramificazione (chorion frondosum). Questa regressione è associata localmente a livelli elevati di stress ossidativo ed apoptosi, secondaria al progressivo incremento dell'afflusso ematico dalla periferia della placenta verso le regioni centrali. Tale pattern riflette l'estensione dell'invasione del trofoblasto extravillare e l'interessamento delle arterie spirali materne attraverso il letto placentare (Burton GJ, 2016).

Verso la 10-12° settimana di gravidanza la placenta appare definita da spazi intervillari e da villi coriali strutturati in modo da creare una barriera ematocoriale, composta da uno strato di sinciziotrofoblasto, di citotrofoblasto, dalla lamina basale, dal mesenchima extraembrionario e dall'endotelio dei capillari fetali e capace di permettere gli scambi tra la circolazione fetale e quella materna. (Jaffe R. et al, 1997). Con il progredire della gravidanza la barriera ematocoriale va incontro a modificazioni quantitative dovute ad una progressiva diminuzione dello spessore del sinciziotrofoblasto, dello strato mesenchimale e del citotrofoblasto, tali per cui il diametro medio dei villi si riduce.

Mentre la circolazione feto-placentare si sviluppa strutturalmente e matura funzionalmente attraverso la gravidanza quale risultato di una crescita continua e della maturazione del trofoblasto villosa (Jackson MR et al, 1992), si ritiene invece che il rimodellamento strutturale della vascolarizzazione utero-placentare avvenga attraverso due fasi consecutive di invasione delle arterie spirali ad opera del trofoblasto: la prima compresa tra la 6° e la 18° settimana di gravidanza e la seconda tra la 18° e la 24° settimana di gravidanza. Tali modificazioni inoltre si associano ad adattamenti a carico dei vasi di dimensioni maggiori (arterie uterine, arcuate e radiali) che si dilatano per incrementare l'afflusso di sangue all'utero (James JL, 2017).

La conversione delle arterie spirali da vasi altamente convoluti tipici dell'endometrio non decidualizzato a vasi di largo calibro che si aprono nello spazio intervilloso ed indipendenti dalla vasocostrizione materna è un evento cruciale nel processo di placentazione, sia per connettere direttamente la circolazione uterina allo spazio intervillare, sia per permettere al

sangue materno di infondere in maniera omogenea lo spazio presente tra le ramificazioni villari della placenta, garantendo un adeguato nutrimento fetale. Nella gravidanza fisiologica, questa porzione rimodellata delle arterie spirali si estende attraverso la decidua e penetra per circa un terzo attraverso il miometrio (Pijnenborg R, 1981). L'estensione del rimodellamento vascolare appare cruciale per il successo della gravidanza, visto che carenze nella profondità dell'impianto o nel numero delle arterie spirali coinvolte sono state associate a condizioni patologiche in gravidanza, quali la restrizione di crescita fetale e la preeclampsia.

Il rimodellamento delle arterie spirali avviene quale risultato delle modificazioni ormonali che avvengono immediatamente prima dell'impianto, dei meccanismi a livello deciduale a carico dell'immunità cellulo-mediata (Smith SD, 2009) e della migrazione delle cellule del trofoblasto extravillare al di fuori dei villi placentari di ancoraggio nella decidua. Le arterie spirali vengono rimodellate perdendo le cellule muscolari lisce ed il tessuto elastico vasale; inoltre esiste una progressiva colonizzazione da parte dei trofoblasti endovascolari che migrano nel lume vascolare e ne modificano le pareti (Harris LK, 2011; Cartwright JE, 2010). Nelle fasi precoci della gravidanza il trofoblasto endovascolare occlude parzialmente le arterie spirali prevenendo un eccessivo afflusso di sangue nello spazio intervillare. Verso la fine del primo trimestre la loro progressiva dispersione permette l'instaurarsi di un vero flusso ematico materno a contatto diretto con la superficie placentare portando all'insorgenza della circolazione arteriosa materna placentare ed alla modificazione di una condizione di nutrimento istotrofico ad emotrofico (Burton GJ, 1999; Jaffe R, 1993; Janieaux E, 2001).

Quale risultante di questo processo scompare la reattività vascolare e le porzioni terminali delle arterie spirali si dilatano, garantendo al sangue materno un flusso costante a bassa pressione e velocità all'interno dello spazio intervillare e prevenendo il danno villare e la deposizione di fibrina (Burton GJ, 2009; Pijnenborg, 1981). Il sangue materno tuttavia non scorre passivamente attraverso questi vasi: il suo flusso pulsatile può essere osservato mediante le tecniche ecografiche Doppler ed è considerato cruciale per garantire la penetrazione del sangue materno nel tessuto placentare (Collins SG, 2012). Sembra inoltre che la disposizione e distribuzione dell'albero villare in relazione alle aperture delle arterie spirali contribuisca ad influenzare la perfusione dei capillari fetali aumentando l'efficienza negli scambi materno-fetali (Chernyarsky IL, 2010; Lin M, 2016).

Le modificazioni emodinamiche a carico delle arteriole spirali si ripercuotono a monte, inducendo una riduzione delle resistenze nelle arterie uterine (AUt). Nella gravidanza fisiologica anche le componenti vascolari uterine più profonde, rappresentate dalle arterie radiali, dalle arterie arcuate e dalle AUt, sono sottoposte a modificazioni importanti, tali da contribuire ad un incremento progressivo del flusso ematico dalla fase pregravidica al termine della gravidanza (Assali NS, 1953). Durante la gravidanza normalmente la pressione

sanguigna materna rimane costante o si riduce, pertanto questo progressivo incremento nel flusso uterino sembra essere secondario ad una riduzione delle resistenze uterine totali, ad un incremento delle dimensioni dei vasi uterini e una loro ridotta reattività (Osol G, 2009; Flo K, 2010).

### **Circolazione feto-placentare**

In epoca prenatale la circolazione fetale è sostenuta da quella placentare: il sangue arricchito di sostanze nutritive ed ossigeno è veicolato dalla placenta al feto attraverso la vena ombelicale (VOmb) sinistra, fluisce nel fegato dopo il suo ingresso in addome, viene deviato attraverso il dotto venoso di Aranzio a livello dell'atrio destro e successivamente indirizzato preferenzialmente verso il forame ovale e l'atrio sinistro. Dal cuore sinistro il sangue ossigenato entra nell'arco aortico, irrorando principalmente le arterie coronarie ed i vasi epiaortici, incontra il sangue proveniente dal dotto arterioso, a minor concentrazione di ossigeno, e successivamente dall'aorta si distribuisce ai distretti periferici, per ramificarsi nelle arterie iliache interne e dipartirsi dal feto verso la placenta attraverso le AOmb (Kiserud T, 2004).

All'interno del funicolo decorrono le due arterie ombelicali (AOmb) e la VOmb. Il sangue ossigenato e ricco di nutrienti arriva al feto attraverso una singola V Omb. La V Omb è un vaso con una parete sottile, che in condizioni fisiologiche durante la quiete fetale presenta un flusso continuo e non pulsatile durante l'intero ciclo cardiaco fetale, tranne che nel primo trimestre di gravidanza in cui è possibile osservare una pulsatilità intrinseca. Studi su feti umani mediante cordocentesi hanno evidenziato come la saturazione di ossigeno ( $SaO_2$ ) del sangue venoso ombelicale a metà della gravidanza sia approssimativamente 80-88%, la pressione parziale di ossigeno ( $pO_2$ ) 44-46 mmHg, la pressione parziale di anidride carbonica ( $pCO_2$ ) 33-34 mmHg ed il pH 7,425-7,430. In prossimità al parto fisiologicamente la  $SaO_2$ , la  $pO_2$  ed il pH diminuiscono (rispettivamente  $SaO_2$  67-75%,  $pO_2$  30-34 mmHg, pH 7,38-7,41) mentre la  $pCO_2$  incrementa (36-37 mmHg) (Nicolaidis KH, 1989). Anche se la saturazione di ossigeno nel sangue della V Omb diminuisce con l'avanzare della gravidanza il contenuto di ossigeno è mantenuto grazie all'incremento della concentrazione di emoglobina ed una sua maggiore affinità per l'ossigeno.

Le due A Omb irrorano la superficie fetale della placenta e da lì si ramificano progressivamente fornendo sangue deossigenato ai villi terminali della placenta. Il loro flusso

di sangue è sempre pulsatile. Si ritiene che fisiologicamente a carico delle A Omb la SaO<sub>2</sub> sia 62,1-70,4%, la pO<sub>2</sub> 24-29 mmHg, la pCO<sub>2</sub> 35-46 mmHg ed il pH 7,35-7,40 a 18-38 settimane di gravidanza (Nicolaidis KH, 1989). Con l'avanzare della gravidanza è stato inoltre osservato che esiste una diminuzione della SaO<sub>2</sub> nelle A Omb, così come della pO<sub>2</sub> e del pH, mentre la pCO<sub>2</sub> incrementa (Nicolaidis KH, 1989; Lazarevic B, 1991).

A livello placentare la resistenza vascolare è determinata principalmente dalle modificazioni a carico dell'area di sezione dei villi terminali nella placenta; il tono della vascolarizzazione villare placentare è controllato da sostanze vasoattive ad azione locale. Nella gravidanza fisiologica la resistenza vascolare placentare diminuisce con l'avanzare dell'epoca gestazionale (da circa 0.65 mmHg/mL/min a metà gravidanza a 0.15 mmHg/mL/min a termine) mentre, quando viene rapportata al peso fetale incrementa progressivamente (Acharya G, 2016).

La placenta rappresenta una riserva di sangue fetale ed il volume di sangue feto-placentare incrementa con l'epoca gestazionale (Morris JA et al, 1974). Studi eseguiti su feti a 16-22 settimane hanno evidenziato come circa il 40% del sangue fetale sia contenuto nella placenta (Brace RA et al, 1983; Yao AC et al, 1969). Nella prima metà della gravidanza la crescita placentare è più rapida rispetto a quella fetale mentre il contrario si verifica nel terzo trimestre. Studi ecografici basati sull'impiego di tecniche volumetriche 3D hanno evidenziato come esista un progressivo incremento del volume placentare, da una media di 83 cm<sup>3</sup> a 12 settimane a 181.5 cm<sup>3</sup> a 20 settimane fino a 427.7 cm<sup>3</sup> a 40 settimane (de Paula C et al, 2008).

La distribuzione dell'output cardiaco fetale alla placenta è regolata dalla resistenza che la circolazione placentare offre ai distretti fetali: con l'avanzare della gravidanza si modifica la frazione di gittata cardiaca fetale destinata alla placenta. Attraverso l'utilizzo di radionuclidi in donne gravide sottoposte ad interruzioni di gravidanza tra la 10<sup>o</sup> e la 20<sup>o</sup> settimana di gravidanza è stato possibile evidenziare come la frazione di output cardiaco del ventricolo sinistro e destro (CCO) distribuita alla placenta incrementa del 17% in feti di peso inferiore a 50 g fino al 33% in feti di peso superiore a 150 g (Acharya G, 2016). Tali dati sono stati valutati anche mediante l'impiego di tecniche di ecografia Doppler, evidenziando come nella prima metà della gravidanza esista un progressivo incremento della frazione della CCO fetale distribuita alla placenta, che passa dal 14% a 11 settimane al 21% a 20 settimane (Vimpeli T et al, 2009), mentre nella seconda metà della gravidanza, tale frazione diminuisce da una media di 32% a 20 settimane a 21% dopo le 32 settimane di gravidanza (Kiserud T, 2006).

La quantità di ossigeno fornita al feto è il prodotto della portata di sangue a livello della VOmb e del suo contenuto di ossigeno, che dipende dalla pO<sub>2</sub>, dalla SaO<sub>2</sub> e dalla concentrazione di emoglobina. L'analisi di campioni ematici ottenuti da cordocentesi di 208

feti a sviluppo normale tra le 18-38 settimane di gravidanza ha evidenziato come nella VOmb e nelle AOmb la pO<sub>2</sub> e la SaO<sub>2</sub> diminuiscano con l'avanzare della gravidanza (Nicolaidis KH, 1989). Questa diminuzione di pO<sub>2</sub> a livello della UV è compensata dal contemporaneo incremento della concentrazione di emoglobina (da 10.8 a 14.5 g/dL) cosicché il contenuto di ossigeno rimane relativamente costante (approssimativamente 6.0-6.7 mmol/L) (Nicolaidis KH, 1989).

L'estrazione di ossigeno fetale, ossia il consumo di ossigeno in fase di quiete, è una misura del suo metabolismo e si può calcolare quale il prodotto della portata della VOmb e la differenza nel contenuto di ossigeno tra la VOmb e la AOmb (Acharya G, 2009). Studi che hanno impiegato metodiche invasive hanno osservato come fisiologicamente l'estrazione di ossigeno nel feto umano vari tra le 14-28 settimane, passando da valori di 3.0 a 5.4 mL/min/kg (Assali NS, 1960). Altri autori hanno invece utilizzato la calorimetria indiretta per quantificare il metabolismo fetale e placentare tra le 28 e le 40 settimane, stimando che l'estrazione di ossigeno sia compresa tra 5.4 e 6.8 mL/min/kg. In feti umani a termine il consumo di ossigeno è stabile, con valori compresi tra 5.9 e 6.8 mL/min/kg a seconda degli studi (Acharya G, 2009; Radaelli T, 2012). La placenta stessa consuma un quantitativo significativo di ossigeno, che a termine della gravidanza è stimabile circa al 40% dell'ossigeno consumato dall'unità feto-placentare. Quando la disponibilità di ossigeno si riduce in maniera acuta il consumo placentare di ossigeno è mantenuto alle spese del feto (Carter AM, 2015).

### **Studio ecografico della funzionalità placentare**

L'introduzione della tecnologia ecografica Doppler ha permesso per la prima volta lo studio in vivo dell'emodinamica feto-placentare normale ed anormale, essenziale per comprendere e per monitorare le condizioni fetali.

I primi studi si sono concentrati sulla valutazione della VOmb, di cui tratteremo nella sezione corrispondente. Successivamente sono stati indagati i distretti arteriosi, analizzando le variazioni emodinamiche della circolazione placentare sulla base di criteri descrittivi della morfologia dell'onda dei vasi e di misurazioni semi-quantitative indipendenti dall'angolo di misurazione.

Tipicamente le onde di velocità di flusso ottenute dall'analisi del segnale Doppler derivano da vasi pulsatili che presentano variazioni nell'ambito del ciclo cardiaco. Le caratteristiche delle onde dipendono dalle seguenti variabili: 1) la frequenza cardiaca; 2) la distanza del sito di campionamento dal cuore; 3) le proprietà elastiche del vaso; 4) la pressione d'ingresso e 5) la resistenza del flusso a valle che influenza significativamente la velocità diastolica. Dato che

modificazioni nelle velocità sistoliche sono minime, le misurazioni del rapporto tra il picco sistolico e le velocità di fine diastole durante il ciclo cardiaco possono fornire informazioni relative alla resistenza a valle. Quindi velocità di fine diastole elevate riflettono una bassa resistenza a valle e basse velocità diastoliche riflettono una elevata impedenza a valle.

Per quanto riguarda la valutazione semiquantitativa del profilo d'onda negli anni è stato proposto l'impiego di diversi indici velocimetrici angolo-indipendenti tra cui il rapporto S/D (rapporto tra la velocità massima sistolica e la velocità massima telediastolica); l'indice di resistenza (RI, rapporto tra la differenza della velocità massima sistolica e la minima diastolica rispetto alla velocità massima sistolica); l'indice di pulsatilità (PI, rapporto tra la differenza della velocità massima sistolica e la minima diastolica rispetto alla velocità media). L'indice PI ha il vantaggio di includere i valori di velocità massima e minima e la quantificazione della velocità media nel ciclo cardiaco (area sottesa dal profilo d'onda), pertanto il suo utilizzo viene preferito.

Il profilo Doppler velocimetrico a carico dell'AOMB esprime le impedenze esistenti sul versante fetale placentare (Giles WB, 1985; Hendricks SK, 1989), mentre la Doppler velocimetria delle AUt rappresenta le resistenze sul versante materno della placenta. I riscontri ecografici possono essere ritenuti degli utili indicatori in vivo delle alterazioni istologiche placentari, così come evidenziato da studi in gravidanze complicate da restrizione di crescita (IUGR) (Madazli, 2003): mentre nelle placente dei feti che presentavano un profilo Doppler velocimetrico normale a carico delle AUt le alterazioni istologiche del parenchima placentare si verificavano nel 16,6% dei casi, la prevalenza di tali lesioni aumentava fino al 79,3% in presenza di Doppler velocimetria alterata in entrambe le AUt. Anche nei casi in cui erano presenti alterazioni Doppler velocimetriche a livello delle arterie ombelicali esistevano importanti alterazioni istologiche placentari rappresentative di un danno villare.

Nella gravidanza fisiologica i valori di PI nella AOMB sono elevati durante il primo trimestre e l'inizio del secondo trimestre. Velocità di fine diastole sono assenti fino alle 13-15 settimane di gravidanza e successivamente incrementano stabilmente mentre i valori di PI diminuiscono. La diminuzione dei valori di PI è correlata allo sviluppo dell'albero vascolare villare il cui sviluppo durante il primo ed il secondo trimestre è largamente dipendente dalla proliferazione e dall'estensione dell'angiogenesi (Todros T, 1996). Modelli matematici hanno permesso di analizzare ulteriormente la correlazione tra i valori Doppler velocimetrici di PI a carico delle AOMB e lo sviluppo villare, prendendo ad esempio in considerazione elementi di fisiologia feto-placentare quali la progressiva divisione dicotomica delle ramificazioni vascolari dell'asse villare, l'incremento della pressione di perfusione e della sezione dell'area della AOMB, la frequenza cardiaca fetale e la viscosità ematica (Thompson RS, 1989; 1990; Guiot C, 1992; Myers LJ, 2002. Tali modelli sono utili per simulare la fisiologia feto-

placentare e validare ipotesi relative agli effetti di condizioni patologiche a carico dell'albero vascolare villare.

Per quanto riguarda il flusso utero-placentare, questo può essere studiato in maniera non invasiva attraverso l'analisi della velocimetria Doppler delle AUt. Nelle gravidanze fisiologiche, il processo di invasione trofoblastica delle arterie spiraliformi avviene tra la 6° e la 24° settimana e comporta una riduzione della resistenza al flusso delle AUt con il progredire della gravidanza. Ciò si esprime anche qualitativamente nella morfologia dell'onda delle AUt, in quanto generalmente entro la 24° settimana fisiologicamente scompare l'incisura protodiastolica (notch) sul profilo velocimetrico, quale riflesso delle modificazioni a carico delle arterie spiraliformi che perdono la componente elastica a livello delle pareti. La persistenza, oltre la fine del processo di placentazione (idealmente verso la 24° settimana), di elevate resistenze nelle arterie uterine, evidenziata da un alterato profilo Doppler velocimetrico indica un difetto di placentazione che sappiamo essere correlato ad un aumento del rischio di lesioni anatomico-vascolari della placenta stessa (Ferrazzi, 1999).

Bernstein et al (2002) hanno valutato l'adattamento vascolare delle arterie uterine umane in donne che programmavano una gravidanza, valutando le modificazioni emodinamiche dall'inizio del ciclo mestruale fino alla gravidanza iniziale. Hanno misurato in maniera prospettica il PI ed il flusso ematico uterino durante le fasi del ciclo mestruale, seguendo in maniera longitudinale le pazienti a 4, 6 e 12 settimane di gravidanza e confrontando le modificazioni uterine con quelle che avvenivano a carico dell'arteria uterina radiale. Hanno così potuto osservare che, nelle donne che avevano concepito, esisteva una progressiva riduzione del PI delle AUt mentre consensualmente il flusso uterino incrementava in maniera significativa dal 10° gg del ciclo fino alle 12 settimane.

Diversi autori hanno inoltre cercato di passare da una analisi qualitativa della velocimetria Doppler delle arterie uterine alla valutazione quantitativa della portata del flusso ematico di questi stessi vasi, tematica che verrà approfondita a parte nella sezione corrispondente.

Un nuovo approccio allo studio in vivo della placenta è basato sulla tecnologia Power Doppler tridimensionale (3D) che permette di eseguire simultaneamente i calcoli volumetrici e la valutazione della perfusione tissutale. Sulla base dei segnali Color doppler e Power Doppler identificati da ciascun particolare volume placentare selezionato, sono ricavati diversi parametri. L'indice di vascolarizzazione (VI) descrive la perfusione globale, quale la percentuale di flusso per un determinato tessuto. L'indice del flusso di vascolarizzazione (VFI) combina l'informazione relativa alla presenza del vaso (perfusione) e permette di valutare la velocità ematica nello stesso volume campione. L'indice di flusso (FI) fornisce l'informazione relativa a quante emazie sono trasportate al momento del campionamento 3D, quindi valuta la vascolarizzazione globale in un volume campione. Visto che non è possibile eseguire l'insonazione di tutta la placenta oltre il primo trimestre di gravidanza il segnale

Doppler è ottenuto da diversi siti di campionamento, considerati rappresentativi dell'intera placenta. Alcuni studi hanno mostrato che VI, VFI e FI non variano con l'epoca gestazionale nelle gravidanze fisiologiche indicando che l'incremento nella vascolarizzazione (numero di vasi e portata) è proporzionale all'incremento del volume placentare (Guiot C, 2008, de Paula CF, 2009). I risultati di altri studi invece suggeriscono che VI e VFI (ma non FI) o FI (ma non VI e VFI) incrementano durante l'intera gravidanza (Guimaraes Filho HA, 2010). La notevole variabilità tra gli studi limita tuttavia il suo utilizzo clinico.

## **RESTRIZIONE DI CRESCITA INTRAUTERINA (IUGR)**

### **Definizione**

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definisce un neonato piccolo per l'epoca gestazionale (SGA) quando il suo peso, a termine di gravidanza, è inferiore a 2,500 grammi (World Health Organization). Questa definizione è utile ai fini della pratica clinica in condizioni di basse risorse, quali i paesi sottosviluppati, in considerazione del fatto che spesso non è possibile datare con certezza l'epoca gestazionale ed esiste necessità di limitare le risorse all'assistenza di nati piccoli e prematuri. Nei paesi occidentali, a partire dagli anni '70, ha trovato impiego frequente una definizione diversa di neonato SGA, basata sulla presenza di un peso neonatale inferiore al 10°percentile, sulla base di curve di crescita locali ed in relazione all'epoca gestazionale al momento del parto (Battaglia 1967).

La definizione sulla base del peso neonatale non consente tuttavia di evidenziare la causa sottostante a questa condizione: un feto SGA potrebbe essere tale per una restrizione di crescita, per la presenza di cromosopatie o infezioni congenite, o semplicemente perchè costituzionalmente piccolo. L'adozione di un percentile di peso inferiore al 5° o al 3° percentile (pc) è stata proposta per incrementare la possibilità di riconoscere una vera restrizione di crescita (Marconi 2008).

La restrizione di crescita fetale (IUGR) è una condizione patologica che indica il mancato raggiungimento da parte del feto del suo potenziale di crescita geneticamente determinato (Resnik R, 2002). Alla base della condizione di IUGR esistono numerosi possibili disordini fetali o materni, quali anomalie cromosomiche o sindromi genetiche, cause ambientali (infettive o tossiche) o una condizione di insufficienza placentare che compromette la nutrizione e l'ossigenazione fetale e che si esprime con gradi diversi di severità (Jauniaux E, 2006; Burton GJ, 2017). Sebbene l'eziologia sia spesso multifattoriale, una alterata placentazione è il meccanismo più frequentemente associato alla condizione di IUGR. In questi casi si osserva un incremento della mortalità e morbidità perinatale, a causa dell'elevato rischio di morte endouterina, mortalità intrapartum ed un tasso elevato di prematurità iatrogena (<34 settimane gestazionali) (Bernstein, 2002). Accanto alle complicanze a breve termine, quali policitemia, ipoglicemia e difficoltà respiratorie correlate alla prematurità (Hernandez-Adrade, 2013), i neonati IUGR hanno un elevato rischio

aumentato anche di complicanze a lungo termine, quali ritardo nello sviluppo psico-motorio e comportamentale (Villar, 1990). Inoltre, un crescente numero di studi suggerisce l'esistenza di una connessione tra IUGR e sindrome metabolica nell'adulto (Barker, 2005).

### **Diagnosi e problemi relativi alla definizione di IUGR**

Il prerequisito essenziale per poter diagnosticare correttamente una condizione di IUGR è una corretta determinazione dell'epoca gestazionale. La valutazione ecografica della biometria fetale è cruciale per una diagnosi accurata di restrizione di crescita. Le singole misurazioni della circonferenza cefalica (HC), della circonferenza addominale (AC) e della lunghezza del femore fetale (FL) possono essere confrontate con valori di riferimento locali o con curve di crescita customizzate, monitorate in maniera longitudinale così da valutare della crescita individuale ed inoltre permettere il calcolo della stima peso fetale (EFW) (Figueras, 2009). Le formule di calcolo della EFW più frequentemente utilizzate sono quelle suggerite da Shepard (Shepard, 1982) e da Hadlock (Hadlock, 1985). In base a queste formule IUGR viene definito come una EFW inferiore al 10°, 5° o 3° pc dei valori di riferimento locale.

In condizioni di prematurità la conoscenza della EFW assume grande rilevanza visto l'impatto del peso fetale sugli esiti neonatali a breve e lunga distanza. È stato osservato che condizioni di tipo infettivo, infiammatorio o ipossico a carico della placenta, capaci di influenzare il potenziale biologico di crescita fetale, sono spesso associate alla condizione di prematurità (Baker 2008). Pertanto, l'utilizzo di curve di riferimento basate su feti nati tra le 26 e le 36 settimane di gravidanza potrebbe non riflettere il vero potenziale di crescita di un determinato feto.

È stato osservato che la valutazione della crescita fetale basata sulla AC è utile per differenziare i feti IUGR da quelli SGA. Infatti, i neonati che presentano una flessione della crescita della AC hanno un outcome perinatale peggiore (Roth 1999).

L'utilizzo di rapporti derivati da single misurazioni biometriche, quali il rapporto HC/AC, integra le informazioni fornendo dati aggiuntivi relativamente alle dimensioni del fegato e all'incremento dei depositi fetali (Padoan, 2004). In base al rapporto HC/AC, sono stati descritti due diversi pattern di IUGR (Campbell, 1977): uno caratterizzato da una crescita simmetrica, che si associa a condizioni di aneuploidia o di infezione fetale, ed un altro di tipo asimmetrico, tipicamente associato ad una insufficienza placentare, in cui esiste un aumento del rapporto HC/AC (Al Riyami 2011). Tale rapporto permette inoltre di evidenziare anche condizioni di restrizione di crescita caratterizzate da una flessione della AC superiore a 40 percentili, pur in presenza di un peso neonatale entro i limiti della normalità (Marconi 2008).

La tematica della definizione di feto FGR diventa ancora più complessa quando si considera che attualmente non esiste ancora accordo relativo a quali curve di crescita debbano essere utilizzate come riferimento, sia in ambito prenatale sia in epoca postnatale. Un possibile approccio è basato sull'ipotesi che il potenziale di crescita fetale è simile anche se applicato a popolazioni differenti, e che qualsiasi deviazione dalla traiettoria di crescita indica le influenze esterne rispetto alle differenze geneticamente determinate (INTERGROWTH). Sono state proposte curve customizzate capaci di valutare il peso fetale e neonatale non soltanto rispetto alla media della popolazione ma anche rispetto al potenziale di crescita individuale calcolato per ciascun feto, basate su 3 principi: 1) lo standard è aggiustato o customizzato per il sesso così come per le caratteristiche materne quali altezza, peso, parità ed origine etnica sulla base del principio che un'unica taglia non è sempre quella adeguata per tutti (Resnik R, 2007); 2) i fattori patologici quali il fumo, l'ipertensione, il diabete ed il parto pretermine sono esclusi nella predizione del peso ottimale che un bambino può conseguire alla fine di una gravidanza normale; 3) il peso ottimale è proiettato retrospettivamente per tutte le epoche gestazionali, utilizzando una curva di crescita ecografica di proporzionalità; ciò evita di basare lo standard sul peso di neonati pretermine, che sono nati dalle gravidanze con un outcome patologico (pretermine) e quindi non necessariamente rappresentano il potenziale di crescita di quel feto (Gardosi J, 2009). Studi recenti hanno mostrato che questo principio è inoltre applicabile internazionalmente con notevoli similitudini tra il peso predetto per una madre standard in paesi diversi (Gardosi J, 2009). Negli studi sui nati SGA basati su curve di crescita customizzate è stato evidenziato come, rispetto alle curve basate su studi di popolazione, esistono associazioni significative con anomalie antenatali a carico del Doppler, a distress fetale, a taglio cesareo, ammissione e ricovero prolungato in reparti di neonatologia così come a morte endouterina e morti neonatali (Figueras F, 2007; Gardosi J, 2009). Lo standard customizzato inoltre identifica un elevato numero di casi aggiuntivi a rischio che non riescono ad essere identificati quali SGA nella popolazione normale in quanto i criteri di selezione della popolazione sono differenti: ciò può avere rilevanza clinica quando si cerca di ridurre le diagnosi falsamente positive di IUGR o interventi non necessari (Dua A, 2006). Una delle possibili critiche alle tabelle customizzate è legata al fatto che la curva Hadlock utilizzata per svilupparle risulta in una percentuale più elevata di feti pretermine identificati come SGA. Inoltre l'utilità della customizzazione sembra limitata perché l'altezza materna, il peso e l'etnia materna sono predittori meno potenti se si considera l'elevata variabilità nel peso fetale (Gardosi, 2011).

## **Restrizione di crescita su base placentare**

La presenza di un alterato sviluppo e funzionamento placentare può determinare una crescita fetale non appropriata. Nelle gravidanze complicate da IUGR si evidenzia la presenza di un alterato rimodellamento delle arterie spirali da parte del trofoblasto: tale condizione può essere dovuta ad una nutrizione istotrofica inadeguata durante le prime settimane di gravidanza, una eccessiva apoptosi all'interno del letto placentare che determina una riduzione del numero di cellule del trofoblasto extravillare o ad un'alterata capacità penetrativa del trofoblasto a livello parietale (Burton GJ, 2017). Il difettoso rimodellamento arterioso determina l'ingresso di sangue materno nello spazio intervillare con un flusso pulsatile che determina la creazione di larghi canali e laghi tra gli alberi villari: l'elevata velocità, la disomogeneità del flusso e, ancora di più la perfusione intermittente della placenta causano uno stress ossidativo che porta alla diffusa degenerazione del trofoblasto. Quando il trofoblasto endovascolare non si sviluppa in maniera adeguata la circolazione materna inizia prematuramente e in maniera spazialmente disorganizzata, riducendo la sua funzionalità (Brosens I, 2011; Burton GJ, 2018; Reijnders IF, 2018). In esperimenti su feti IUGR in pecore gravide è stato osservato che l'associazione tra IUGR severo ed ipossia è correlata ad un alterato metabolismo ossidativo dovuto all'insufficienza placentare, che porta ad una progressiva riduzione del trasferimento di ossigeno al feto e ad una minore estrazione di ossigeno (Regnault, 2007).

Tra i riscontri istopatologici placentari più frequenti evidenziabili in queste condizioni vi sono una alterata proliferazione citotrofoblastica, fenomeni di apoptosi, necrosi villare con conseguente deposizione di fibrina, nodi sinciziali, un'elevata maturazione dei villi, l'ispessimento della membrana trofoblastica basale e la presenza di multipli infarti placentari (Benirschke, 2006). La proporzione di lesioni è inversamente correlata alla funzionalità della placenta e può determinare una riduzione del trasporto di ossigeno e sostanze nutritive al feto, oltre che un incremento delle resistenze del flusso ematico placentare a livello dei distretti materni (Ferrazzi, 1999) e fetali (Karsdorp, 1994).

L'impiego delle metodiche Doppler velocimetriche ha permesso di estendere le conoscenze relative alla fisiopatologia della FGR su base placentare.

La valutazione Doppler qualitativa e semiquantitativa delle arterie uterine (AUt) può fornire elementi sulla funzionalità placentare: nei casi di IUGR correlato ad insufficienza placentare, le arterie uterine sono caratterizzate da elevate resistenze al flusso espresse in termini di Pulsatility Index (PI) (Ghosh GS, 2009).

Modelli matematici di circolazione feto-placentare hanno evidenziato come il PI delle arterie ombelicali (AOmb) incrementi in relazione della severità del danno placentare: in particolare,

è stato osservato che una riduzione delle velocità di flusso a fine diastole è evidente quando almeno il 30% della vascolarizzazione dei villi è alterata e come sia necessaria l'obliterazione di più del 50% dei vasi villari prima del riscontro di alterazioni a carico del flusso di fine diastole (assente o invertito) delle AOmb (Thompson RS, 1990). La presenza di alterazioni a carico della Doppler velocimetria delle arterie ombelicali è un valido proxy della severità della patologia placentare (Karsdrop, 1994).

La restrizione di crescita può essere distinta in forme ad esordio precoce (early-onset) ed altre ad esordio tardivo (late onset) (Turan OM, 2008), caratterizzate da differenti aspetti biochimici, istologici e clinici (Crispi F, 2006).

Diversi studi hanno evidenziato come la presenza di alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle AOmb è più frequente nei feti IUGR ad insorgenza precoce. In particolare, la presenza di un flusso diastolico assente o invertito nelle AOmb è associato ad un peggiore esito postnatale nei feti IUGR nati prematuri rispetto a feti prematuri con peso neonatale normale (Vossbeck, 2001). È stato osservato come l'epoca gestazionale sia uno dei fattori predittivi principali di outcome neonatale anche in presenza di IUGR (Baschat, 2007; Shand, 2009). Lo studio GRIT ha valutato l'influenza di un precoce espletamento del parto rispetto ad un management di attesa confrontando, in termini di outcomes, feti IUGR con flusso diastolico assente o invertito: è stato evidenziato che in caso di condotta di attesa le percentuali di morti neonatali erano inferiori (4% a 32 settimane gestazionali per un peso medio compreso tra 1,200 g e 1,400 g) rispetto alla gestione attiva (8%) (Thorton, 2004). Nello studio TRUFFLE, applicando una sorveglianza attiva basata sul dotto venoso e sulla cardiocografia computerizzata, è stata riscontrata una ridotta percentuale di morti neonatali (4% per un peso medio di 980 grammi a 31 settimane) rispetto allo studio GRIT, nonostante l'epoca media di espletamento del parto fosse più precoce (Lees, 2013).

Mentre le alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle AOmb si evidenziano frequentemente nei feti con IUGR precoce, è stato visto che nei feti IUGR ad esordio tardivo queste sono meno comuni. Inoltre, nelle forme late si osserva meno frequentemente l'associazione con i disordini ipertensivi gestazionali presente nei feti early-IUGR (Crispi F, 2006).

Un recente studio ha analizzato, in 656 gravidanze con diagnosi di FGR, la relazione tra epoca gestazionale, caratteristiche cliniche ed outcomes perinatali delle due diverse forme di FGR: a 32 settimane, epoca comunemente scelta per differenziare le forme ad insorgenza precoce dalle tardive, esisteva il maggior numero di differenze significative per gli outcomes analizzati, tra cui anomalie della Doppler velocimetria, associazione con preeclampsia (35.1% precoce vs 12.1% tardiva,  $p < 0.001$ ), associazione di esiti neonatali avversi (13.4% precoce vs 4.6% tardiva,  $p < 0.001$ ), mortalità perinatale (7.1% precoce vs 0% tardiva,  $p < 0.001$ ) ed

anomalie istologiche placentari (86% precoce vs 66% tardiva,  $p < 0.001$ ). Gli autori sottolineano come gli outcomes clinici delle due forme di IUGR si sovrappongano tra loro e la semplice distinzione temporale non permetta una adeguata distinzione tra le due forme, al contrario di quanto si osserva distinguendo di dati degli esiti neonatali sulla base del PI della AOmb (Savchev2013).

### **Criteri attuali per la diagnosi di IUGR**

L'utilizzo come criterio diagnostico della sola  $EFW < 10^{pc}$  non consente la discriminazione tra feti IUGR e feti SGA, pertanto alcuni studi si sono concentrate sul ruolo di criteri aggiuntivi nella diagnosi di IUGR.

È stato evidenziato che una maggiore selettività nei criteri diagnostici biometrici per IUGR permette di correlare in maniera significativa i dati relativi agli esiti neonatali: lo studio PORTO ha evidenziato come l'unico criterio di definizione di IUGR consistentemente associato ad esiti neonatali avversi era l'utilizzo della stima peso fetale inferiore al  $3^{pc}$  (Unterscheider, 2013).

Il POP Study ha invece evidenziato come l'utilizzo aggiuntivo della flessione di crescita fetale rispetto alla sola definizione legata al percentile di crescita può fornire ulteriori elementi diagnostici (Sovio, 2015).

Recentemente, un gruppo di studio costituito da esperti, mediante un consensus Delphy, ha definito nuovi criteri per la definizione di FGR che prendono in considerazione fattori "isolati", la cui unica presenza è sufficiente a definire un feto FGR, o "concomitanti", la cui associazione ne permette la diagnosi (Gordijn,2016).

### **Monitoraggio del benessere fetale nei feti IUGR**

Il monitoraggio biofisico del benessere fetale è basato su: 1) valutazione della crescita fetale; 2) valutazione del liquido amniotico; 3) valutazione Doppler velocimetrica dei distretti fetali; 4) variabilità nella frequenza cardiaca fetale e 5) il profilo biofisico fetale.

La valutazione del liquido amniotico è una stima semi-quantitativa, ottenuta sommando le quattro tasche verticali di liquido amniotico (amniotic fluid index, AFI) (Chauhan 2008). La riduzione del liquido amniotico è espressione di una redistribuzione del volume circolante fetale, che si associa ad una riduzione della funzione renale fetale. La presenza di per sè di un oligoidramnios non costituisce l'elemento decisivo per il timing del parto. Nei feti IUGR precoci è marker della necessità di aumentare la frequenza della valutazione Doppler velocimetrica e del monitoraggio della frequenza cardiaca fetale (Baschat, 2006).

La valutazione Doppler velocimetrica delle AOmb è basata su indici di severità. Il riscontro di un PI-AOmb superiore al  $95^{pc}$  richiede una valutazione bisettimanale; in presenza di AEDF

è preferibile incrementare la frequenza delle valutazioni Doppler. Il monitoraggio dei feti IUGR con alterazioni Doppler velocimetriche ha mostrato una riduzione della mortalità, dei ricoveri ospedalieri, del tasso di induzione del travaglio di parto e dei tagli cesarei (Alfirevic 2010; Stampalija 2010).

La risposta fetale all'ipossia cronica è caratterizzata da una redistribuzione della circolazione ematica che determina uno spostamento del sangue fetale dai distretti viscerali verso gli organi vitali quali l'encefalo, il cuore e le ghiandole surrenali. Tale fenomeno di adattamento viene denominato "brain-sparing". L'arteria cerebrale media (CMA) è il vaso cerebrale più facilmente accessibile, e la redistribuzione del flusso in questo distretto può essere documentata da un incremento del flusso diastolico e da una riduzione del PI nella CMA. Tali modificazioni generalmente avvengono in presenza di un incremento del PI a carico della AOmb e precedono l'assenza di flusso diastolico assente in AOmb (Mari, 1996).

Il rapporto cerebro-placentare (CPR), dato dal rapporto tra il PI nella CMA e AOmb, può identificare un peggioramento delle condizioni fetali prima della comparsa di alterazioni Doppler velocimetriche isolate nella AOmb e nella CMA (Gramellini, 1992). La diminuzione degli indici Doppler velocimetrici a carico della CMA si associa ad una riduzione della  $pO_2$  e ad elevati livelli di  $pCO_2$  (Karsdrop, 1994). È stato osservato come tuttavia, in condizione di prematurità estrema, quando l'epoca gestazionale è un predittore di outcome neonatale, il riscontro di una vasodilatazione cerebrale non costituisce di per sé una indicazione per l'espletamento del parto (Ferrazzi, 2002; Bilardo 2004) ed è preferibile una condotta di attesa fino alla comparsa di alterazioni a carico del dotto venoso.

La valutazione del dotto venoso permette una misurazione indiretta della quantità di sangue che tale struttura devia direttamente nell'atrio di destra, riducendo l'apporto ematico al fegato di  $O_2$  e nutrienti (Bellotti 2004). L'assenza o l'inversione dell'onda a indica la presenza di una dilatazione del dotto venoso (Bellotti, 1998; Ebbing, 2009). Il riscontro di una dilatazione a carico del dotto venoso, documentabile dal PI dell'onda valutata all'ingresso del vaso, è considerato essere il migliore predittore di un outcome neonatale severo negli IUGR severi (Baschat, 2007; Ferrazzi, 2002; Bilardo, 2004).

Il monitoraggio integrato della frequenza cardiaca fetale mediante cardiocografia computerizzata permette di ottenere informazioni relative alla frequenza cardiaca fetale, alla sua variabilità e modificazioni periodiche. L'utilizzo della valutazione computerizzata, specialmente nei feti IUGR pretermine, riduce le difficoltà interpretative relative alla valutazione della variabilità cardiaca ed inoltre fornisce informazioni relative all'integrità del Sistema autonomo fetale attraverso la variabilità a breve e lungo termine. Tali misurazioni sono indicative dell'equilibrio acido-base fetale (Ribbert, 1991).

La valutazione dei movimenti fetali, che è parte del profilo biofisico, è stata impiegata nel monitoraggio del benessere fetale nei feti IUGR. Generalmente i movimenti fetali non sono coinvolti dall'incremento della resistenza placentare, motivo per cui il profilo biofisico è utile per monitorare i feti early IUGR in presenza di severe alterazioni delle AOmb. L'attività fetale in genere si riduce in presenza di una severa ipossemia/acidemia (Ribbert, 1991) e pertanto il profilo biofisico fetale risulterà alterato nella cascata degli eventi di deterioramento fetale (Baschat, 2006).

## **PORTATA EMATICA NELLA VENA OMBELICALE**

La vena ombelicale (VOmb) è un vaso dalla parete sottile dotato di scarsa struttura muscolare, che decorre nel cordone assieme alle arterie ombelicali (AOmb), ed è circondato dalla gelatina di Wharton (Todros T, 2002). Attraverso la VOmb il feto umano riceve l'ossigeno ed i substrati metabolici dalla placenta, mentre le AOmb veicolano in direzione opposta i metaboliti di scarto. Dopo l'ingresso della VOmb nell'addome fetale, il sangue ossigenato è diretto preferenzialmente verso l'atrio di destra attraverso un meccanismo di shunt centrale che coinvolge il dotto venoso via vena cava inferiore; da lì, attraverso il forame ovale, passa nelle sezioni sinistre del cuore fetale andando successivamente ad irrorare le strutture fetali più importanti (Kiserud T, 2004). Pertanto, il flusso venoso ombelicale rappresenta la quantità di sangue ricco di ossigeno e di nutrienti che raggiunge il feto.

Le prime misurazioni del flusso venoso ombelicale sono state ottenute applicando metodiche invasive a donne che si sottoponevano a taglio cesareo (pletismografia - Greenfield, 1951) o ad interruzione volontaria di gravidanza mediante isterectomia (flussometria elettromagnetica - Assali, 1961): è stato così osservato come in gravidanza la portata ematica assoluta a livello della VOmb incrementa progressivamente, mentre il flusso ematico rapportato per unità di peso fetale rimane pressoché costante.

In considerazione della difficile applicabilità delle metodiche invasive nelle gravidanze umane, gli studi successivi si sono concentrati sullo studio della fisiopatologia dell'emodinamica feto-placentare in modelli animali.

### **MODELLI ANIMALI: STUDIO DELLA PORTATA EMATICA NELLA VENA OMBELICALE**

Il modello di placentazione più frequentemente utilizzato negli studi di fisiopatologia applicata è quello ovino. I primi studi che si sono occupati della misurazione del flusso venoso ombelicale hanno adoperato metodiche invasive: è stato così possibile quantificare la portata ematica per unità di peso fetale che, per le pecore a termine di gravidanza, è stimata intorno 274-278 mL/min/kg; hanno inoltre evidenziato l'esistenza di un buon grado di concordanza tra le tecniche invasive, in particolare tra la spirometria e le tecniche di diffusione (Metcalf J, 1970; Clapp JF, 1974).

Altri autori hanno applicato la Doppler velocimetria nello studio dell'emodinamica fetoplacentare. È stato osservato che tale metodica presenta una buona correlazione con le tecniche invasive basate sull'impiego di radionuclidi, su sonde elettromagnetiche e su metodiche di diffusione (Schmidt, 1991; Galan HL, 1999). Questi studi hanno evidenziato come il flusso ematico assoluto a carico della VOmb incrementa progressivamente in gravidanza, mentre la portata ematica per unità di peso fetale si riduce con l'avanzare dell'epoca gestazionale (Barbera A, 1999). Esistono tuttavia delle differenze tra quanto si osserva nella pecora e le gravidanze umane: negli ovini infatti a metà gravidanza la portata ematica a livello della VOmb relativa alla stima peso fetale (EFW) è molto superiore a quanto si osserva nel feto umano ed inoltre si riduce in maniera più consistente con l'avanzare della gravidanza (Bell AW, 1986) (Tabella 1).

	<b>FETI UMANI</b>		<b>FETI OVINI</b>	
<i>Epoca gestazionale</i>	23 settimane	38 settimane	75 giorni	130 giorni
<i>Peso fetale (g)</i>	470	2935	210	2909
<i>Peso placentare (g)</i>	126	407	486	305
<i>QVOmb (mL/min)</i>	54	320	102	630
<i>nQVOmb (mL/min/kg)</i>	125	104	468	217
<i>PnQVOmb (mL/min/kg)</i>	0.4	0.8	0.2	2.1

Tabella 1. Confronto tra le caratteristiche dei feti umani e ovini. QVOmb: portata assoluta nella VOmb. nQVOmb: portata della VOmb normalizzata per peso fetale. PnQVOmb: portata della VOmb normalizzata per peso placentare (Adattato da: Barbera A, AJOG 1999; 181:174-179).

La portata nella VOmb si modifica in presenza di variazioni della resistenza a carico delle AOmb: ad esempio la coagulazione permanente di una delle due AOmb determina una riduzione significativa della portata ematica a livello della VOmb (Tchirikov M, 2001). Anche modificazioni croniche della portata ematica uterina si associano ad una riduzione della portata ematica a livello della VOmb (Lang U, 2002). Inoltre, inducendo in pecore anestetizzate una condizione di ipossia, è stato possibile osservare fenomeni di redistribuzione del flusso ematico venoso a livello fetale: il flusso nella VOmb si riduce mentre la portata a livello del dotto venoso incrementa (Tchirikov M, 2010).

## **STUDIO DEL FLUSSO EMATICO NELLA VENA OMBELICALE MEDIANTE DOPPLER VELOCIMETRIA**

Le tecniche di velocimetria Doppler, validate da modelli animali, sono state applicate per lo studio dei distretti venosi feto—placentari umani. Il flusso a carico della VOmb è stato studiato in relazione sia alle sue caratteristiche qualitative sia per quelle quantitative.

I primi studi che si sono occupati della valutazione Doppler velocimetrica a carico della VOmb hanno cercato di ottenere una valutazione quantitativa del volume ematico utilizzando il pulsed Doppler con sonde B-mode convenzionali e campionando la porzione intraaddominale della VOmb (Gill 1981; Gill 1984; Eik-Nes 1982; Jouppila 1984). Tuttavia, i limiti legati all'accuratezza della metodica nonché alla tecnologia utilizzata per la misurazione dei diametri della vena e della velocità ne hanno condizionato la diffusione, spostando inizialmente l'attenzione clinica verso la valutazione Doppler velocimetrica di tipo qualitativo a livello della vena e di tipo semiquantitativo a livello dei distretti arteriosi fetali (Hecher K, 1996). Più recentemente l'introduzione di ecografi ad elevata risoluzione ha permesso la reintroduzione della valutazione quantitativa del flusso venoso ombelicale nella ricerca clinica.

### **VALUTAZIONE QUALITATIVA**

Il flusso a livello del cordone ombelicale può essere valutato applicando, a livello di una porzione di cordone ombelicale in una tasca di liquido amniotico, il color Doppler così da evidenziare la direzione del flusso ed il Doppler pulsato a livello della vena e di una arteria ombelicale, così da poter descrivere il suo pattern in relazione al ciclo cardiaco fetale.

Gli studi relativi alle caratteristiche qualitative del flusso a livello della VOmb hanno evidenziato come questo presenta un pattern prevalente di tipo continuo. Movimenti fetali ed atti respiratori fetali possono condizionare il suo flusso, che presenta così un aspetto pulsatile asincrono con il ciclo cardiaco dovuto alle modificazioni del flusso venoso secondario alle alterazioni della pressione intratoracica fetale (Acharya G, 2016). Nel primo trimestre di gravidanza e fino alla 12° settimana la VOmb presenta delle pulsazioni telediastoliche di tipo fisiologico; nelle fasi successive della gravidanza, sempre in condizioni di fisiologia, il suo flusso assume un carattere di tipo lineare e ciò sembra essere secondario alla riduzione nel postcarico cardiaco determinata dalla diminuzione delle resistenze placentari (Hecher 1994; Rizzo G, 1992). Altri autori hanno identificato pulsazioni a carico della VOmb

sincrone con la frequenza fetale in gravidanze fisiologiche ad un'epoca gestazionale compresa tra 34 e 38 settimane gestazionali, evidenziando come queste possano essere osservate nel 20% delle misurazioni su ansa libera del cordone, nel 33% delle misurazioni intraaddominali e nel 78% delle onde valutate a livello del seno ombelicale e della vena portale sinistra, suggerendo che il sito di campionamento è di cruciale importanza nello studio Doppler velocimetrico dei distretti venosi (van Splunder, 1994). È stato inoltre osservato che anche questa pulsatilità può risultare dalla trasmissione delle onde da parte delle arterie ombelicali (Nakai Y, 1992).

Questi fenomeni nelle gravidanze fisiologiche sono sporadici ed intermittenti. Al contrario, in feti affetti da idrope non immune o in condizioni di restrizione di crescita severa caratterizzata da ipossia ed acidosi, il riscontro di un pattern con doppia pulsatilità nella VOmb si associa ad un incremento della mortalità perinatale (Hofstaetter, 2001). Infatti, la presenza di un flusso pulsatile a livello della VOmb, sincrono con la fase diastolica cardiaca fetale, è un segno di importante deterioramento della funzione cardiaca fetale, associato ad una alterata compliance ventricolare, una riduzione del gradiente pressorio a carico dell'atrio destro, un flusso invertito a livello della vena cava inferiore e del dotto venoso (Gudmundsson, 1999; Kiserud T, 2000; Mitra SC AND 1995). È stato evidenziato come le alterazioni Doppler velocimetriche a livello dei distretti venosi, quali l'assenza o l'inversione dell'onda a nel dotto venoso e la presenza di pulsatilità a carico della VOmb, siano dei riscontri meno frequenti nei feti IUGR e più tardivi rispetto alle modificazioni a livello dei distretti arteriosi. La presenza di pulsatilità a carico della VOmb è associata al riscontro di un flusso diastolico assente o invertito a carico delle AOmb, alla presenza di decelerazioni tardive alla cardiocotografia e ad una condizione di importante ipossiemia ed acidemia (Hecher K, 1995; Gudmunsson S, 1996; Ozcan T, 1998; Arduini D, 1993). Il sito di campionamento della VOmb può avere un ruolo importante nella valutazione della severità della restrizione di crescita fetale. Hofstaetter et al (2001) hanno suggerito che le pulsazioni rilevate nella porzione intra-addominale della VOmb possono essere indicatori precoci di una condizione fetale in via di peggioramento, con una prognosi migliore rispetto a quando le pulsazioni si estendono al resto del cordone ombelicale.

## **VALUTAZIONE QUANTITATIVA**

La valutazione quantitativa della portata venosa ombelicale esprime il volume ematico assoluto nel tempo. Nel calcolo della portata è fondamentale la conoscenza della velocità media attraverso la sezione del vaso e dell'area di sezione dello stesso.

La formula maggiormente utilizzata per calcolare la portata nella VOmb è la seguente:

$$Q = \pi (D/2)^2 \cdot 0.5 \cdot V_{\max} \cdot 60$$

dove Q è la portata (mL/min), D è il diametro della vena (cm) e Vmax è la time averaged maximum flow velocity (cm/s) (Ferrazzi, 2000; Kiserud, 1994; Acharya, 2005; Flo, 2009; Fernandez, 2008; Flo, 2010; Barbera, 1999).

Dal momento che il flusso ematico nella VOmb è un flusso “steady” con caratteristiche di scorrimento parallelo delle lamine ematiche, tipiche dei flussi venosi in assenza di fenomeni di turbolenza, il calcolo della portata può essere fatto in modo sufficientemente accurato applicando la formula matematica per il calcolo della portata con l’inserimento di un fattore di correzione della velocità massima misurata (la velocità media è considerata metà della velocità massima). I parametri che concorrono al calcolo della portata vengono misurati mediante la metodica ecografica B-mode (diametro del lume vascolare) e l’analisi Doppler velocimetrica del profilo d’onda (velocità massima) (Kiserud, 1994).

Altri autori, al posto della valutazione della Vmax, hanno utilizzato per il calcolo della portata la intensity-weighted mean velocity (IWMV), che può essere derivata dallo shift Doppler (Acharya, 2005; Flo, 2010; Tchhirikov, 1999).

Gli studi che si sono concentrati sulla valutazione della portata della VOmb hanno utilizzato tecniche differenti, distinguibili sulla base di alcuni aspetti metodologici.

- *Tecniche di misurazione.* Nel tempo sono state sviluppate diverse tecniche di misurazione della portata della VOmb e attualmente esiste un relativo consenso sulla metodologia, anche se sono necessari ulteriori studi per affinare la tecnica e migliorare l’accuratezza e la riproducibilità. L’utilizzo di una tecnica standard di misurazione è importante per minimizzare gli errori nel calcolo della portata. Il diametro interno della vena è misurato nel piano longitudinale, utilizzando una porzione diritta della vena, perpendicolare alla direzione del flusso, in cui le pareti anteriori e posteriori presentano simile ecogenicità (Kiserud, 1994, Rigano, 2008). Dopo ingrandimento dell’immagine, tipicamente maggiore del 30%, il diametro è misurato perpendicolarmente tra la parete interna-interna attraverso il lume del vaso (Flo, 2009; Figueras, 2008). Il diametro dovrebbe essere calcolato quale una media tra tre o cinque misurazioni (figura) (Kiserud, 1998; Kiserud, 1999). Per ottenere la velocità del flusso, l’angolo di insonazione dovrebbe essere mantenuto il più vicino allo zero o con un’angolazione inferiore a 30°; la correzione dell’angolo può essere applicata se necessaria, mantenendo il volume campione a copertura dell’intero calibro della vena se possibile (Rigano, 2001; Acharya, 2005; Flo, 2010) (Figura 1).

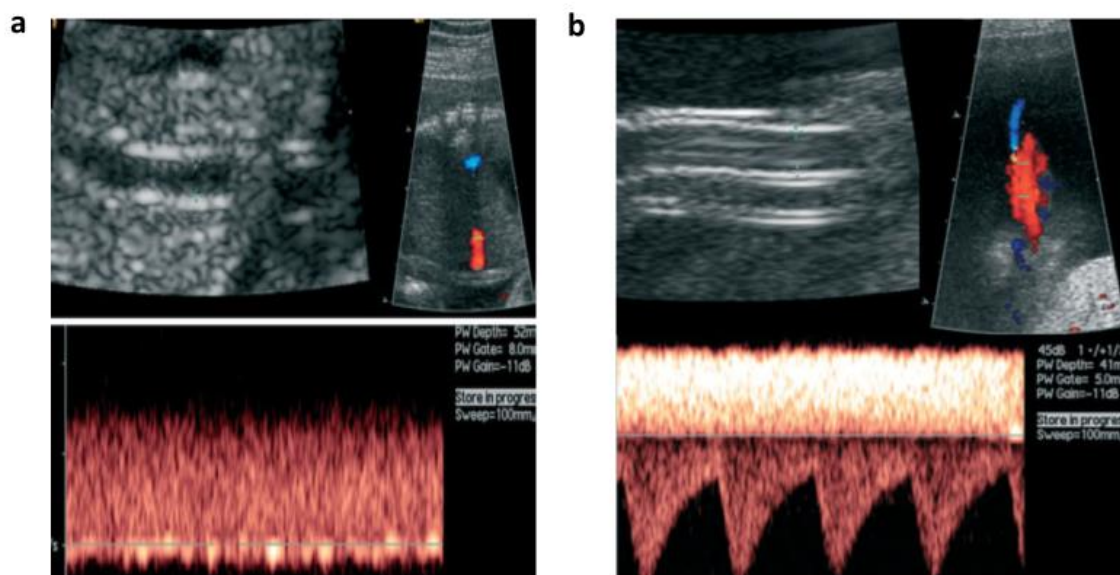


Figura 1. Tecniche di misurazione della portata a confronto: misurazioni del diametro della VOmb e della velocità di flusso venoso a livello della porzione intra-addominale a) e dell'ansa libera del cordone ombelicale. Tratto da: Flo K. UOG, 2009; 34: 171-176

Quando il volume campione permette di coprire l'intera vena, lo spettro delle velocità del flusso venoso viene compreso totalmente (Ferrazzi, 2010; Kiserud, 1994; Rigano, 2008). Qualora il Doppler gate sia troppo stretto esiste una riduzione dell'ampiezza spettrale che sovrastima la velocità media. I valori di velocità devono essere riportati quali la media di tre misurazioni differenti e valutati attraverso diversi cicli cardiaci per ridurre l'impatto della presenza di un errore random (Rigano, 2001). Queste misurazioni devono essere ottenute durante una fase di quiete fetale e apnea.

- *Scelta della sezione di cordone ombelicale da utilizzare nel calcolo della portata.* Teoricamente il flusso misurato attraverso la VOmb dovrebbe essere identico indipendentemente dalla sede di misurazione, tuttavia nella pratica questo concetto non trova applicazione. Il flusso venoso ombelicale è stato misurato in diversi tratti del cordone, in particolare a livello della porzione intraaddominale (Gill, 1984; Erskine, 1985; Gill, 1981; Gill, 1979; Griffin, 1983; Lingman, 1986; Rasmussen, 1987; Laurin, 1987; Gerson, 1987; Tkirikov, 1998; Ferrazzi, 2000; Bellotti, 2000; Tchirikov, 2002; Acharya, 2005; Flo, 2009; Tchirikov, 1999) e di un'ansa libera di cordone (Ferrazzi, 2000; Sutton, 1990; Lees, 1999; Barbera, 1999; Boito, 2002; Gerada, 2006; Fernandez, 2008; Flo, 2010), riscontrando in entrambi i casi una variabilità nel calcolo del volume che supera la variabilità biologica attesa. La tabella 2 riporta i valori di diametro, Time averaged maximum velocity e portata VOmb nella seconda metà della gravidanza osservati da alcuni autori.

<b>Studio</b>	<b>N° casi</b>	<b>Porzione VOmb analizzata</b>	<b>D medio VOmb (mm) 22 w</b>	<b>D medio VOmb (mm) 38 w</b>	<b>TAMax velocity (cm/s) 22 w</b>	<b>TAMax velocity (cm/s) 22 w</b>	<b>QVOmb (mL/min) 22-38 w</b>
<i>Barbera (1999)</i>	70	Free loop	4.1	8.3	16.0	22.0	63-373
<i>Achraya (2005)</i>	130	Intraddominale	3.5	6.5	19.4	23.4	58-245
<i>Flo (2010)</i>	53	Free loop	4.0	7.5	14.0	17.0	50-250

Tabella 2. Valori medi del diametro, della Time-Averaged Velocity (TAMax) e della portata VOmb nel secondo e terzo trimestre nelle gravidanze normali. D medio VOmb, diametro della VOmb. QVOmb, portata della VOmb. W, settimane gestazionali (Adattato da: Najafzadeh. J Clin Ultrasound 2012;8(40):502-511).

Questa discrepanza può in parte essere dovuta alla variazione nella sezione dell'area della VOmb tra la porzione placentare e quella intra-addominale della vena (Li, 2006). La scelta della sede del campionamento condiziona quindi la possibilità di confrontare i valori della portata.

Il principale vantaggio dell'utilizzo della porzione intra-addominale è la sua localizzazione relativamente fissa, utile per la misura del diametro del vaso, e la presenza a tale livello di un flusso dal profilo parabolico. Tuttavia, la valutazione del diametro del vaso è più semplice a livello della sua porzione centrale, mentre la valutazione della velocità del flusso è limitata dalla difficoltà nel mantenimento degli angoli di insonazione Doppler prossimi allo zero, a differenza di quanto avviene a livello di una sezione libera di cordone.

L'utilizzo di un'ansa libera di cordone ombelicale per le misurazioni della portata della VOmb è stato validato in un modello animale ed è probabilmente la sezione ottimale da utilizzare, anche se a causa della lunghezza del cordone e della sua mobilità può essere difficile ottenere misure ripetute attendibili dallo stesso segmento di cordone libero (Galan, 1999). Nonostante le difficoltà nella standardizzazione del sito di misurazione, le misurazioni ottenute a livello dell'ansa di cordone libero si sono dimostrate riproducibili fintanto che sono eseguite lontano dalle estremità della

VOmb, ovvero dal sito di inserzione fetale e placentare (Fernandez, 2008; Flo, 2010; Barbera, 1999). L'applicazione di un metodo di misurazione che prevede la misurazione di almeno tre diverse sezioni della vena ed il calcolo della media di tali valori permette di escludere le differenze minori nel diametro della vena (Fernandez, 2008; Flo, 2010; Barbera, 1999). Questo metodo di misurazione del diametro ha dimostrato una variabilità intraosservatore ed interosservatore minima con coefficienti di variazione rispettivamente del 3.3 e 2.9% (Barbera, 1999). Quando la portata viene valutata a livello di un'ansa libera della VOmb è possibile inoltre valutare direttamente l'area di sezione (Lees, 1999; Boito, 2002; Gerada, 2006) oppure ricavarla in maniera indiretta dalla misurazione del diametro della sezione (Ferrazzi, 2000; Sutton, 1990; Barbera, 1999) attraverso la formula  $CSA = \pi \times (D/2)^2$ . Sia nella valutazione delle sezioni trasverse sia in quelle longitudinali è importante mantenere angoli di insonazione vicini a 90° e 0° rispettivamente. Le tecniche di misurazione della portata non sono tra loro intercambiabili in quanto necessitano di una stretta aderenza metodologica, tuttavia le portate medie misurate a livello intraaddominale e di un'ansa libera di cordone presentano un buon grado di concordanza (Flo, 2009).

In base alla tecnica utilizzata per la valutazione dell'area del vaso cambiano i valori di riferimento della normalità, indipendentemente dalla variabilità biologica: ad esempio a 30 settimane l'area media di sezione venosa è 22.6 mm<sup>2</sup> a livello della porzione intra-addominale (Acharya, 2005), mentre nella porzione libera è 32.2 mm<sup>2</sup> utilizzando il calcolo del diametro (Barbera, 1999) e 40 mm utilizzando la misura diretta dell'area (Boito, 2002). Queste differenze metodologiche possono giustificare la discrepanza tra osservazioni effettuate da alcuni ricercatori relativamente alla valutazione della portata nei feti affetti da restrizione di crescita, secondo cui la riduzione del flusso venoso dipende principalmente dalla diminuzione dell'area venosa (Boito, 2002) piuttosto che da una riduzione della velocità media in assenza di modificazioni del calibro del vaso venoso (Ferrazzi, 2000). Studi di validazione nei modelli animali mediante ecografi moderni dotati di tecnologia Doppler e sotto condizioni sperimentali, ad esempio durante chirurgia ed anestesia, hanno evidenziato che le misurazioni del flusso venoso dalla stima dell'area di sezione del vaso da porzioni longitudinali di segmenti liberi del cordone godono di una estrapolazione ragionevole per un adeguato utilizzo clinico (Galan, 1999; Ferrazzi, 2000), a supporto dell'utilizzo della metodica nel modello in vivo fetale. Inoltre, visto che il raggio (D/2) è il quadrato dell'area di sezione, un minimo errore nella misura del diametro risulta in un errore elevato nel calcolo dell'area della sezione. Per limitare tale errore è necessario l'utilizzo di strumenti ecografici ad elevata risoluzione, capaci di

distinguere un decimo di millimetro, un adeguato ingrandimento dell'immagine (che deve occupare almeno il 30% dello schermo) e l'applicazione dei caliper nel diametro interno-interno del vaso. L'accuratezza della misurazione del diametro migliora valutando la media tra tre e cinque diverse misurazioni (Kiserud, 1999).

- *Velocità media.* Alcuni studi hanno applicato il Doppler continuo nella valutazione della portata della VOmb. Con questa metodica, altamente influenzata dal software impiegato, è possibile solo un'approssimazione della distribuzione della velocità attuale, denominata "intensity weighted mean velocity" (IWMV) (Hatle, 1982). La dimensione del gate Doppler interferisce nel calcolo della velocità media dalla IWMV attraverso un processo conosciuto come "spectral broadening": quando lo spectral broadening è ristretto, la media risultante è vicina alla velocità massima, sovrastimando la velocità media (Boote, 2003). Per una corretta stima della IWMV il volume campione deve quindi estendersi lateralmente e longitudinalmente ad includere la sezione completa del vaso (Willink, 1994), inoltre la valutazione è accurata solo se i profili di trasmissione e ricezione sono uniformi attraverso la sezione del vaso. L'utilizzo di filtri ad elevate frequenze può escludere segnali dipendenti da un basso flusso sovrastimando la velocità media (Evans, 1989), mentre l'utilizzo di filtri a bassa frequenza risulta in misurazioni instabili della velocità media perché il rumore di fondo dei movimenti delle pareti del vaso e gli echi dei vasi vicini alterano il segnale (Fei, 1995). In generale, gli effetti di filtri ad elevata frequenza su IWMV sono imprevedibili, visto che sono correlati al tipo di trasduttore, alla velocità di flusso, all'angolo di insonazione e ad altri settaggi della strumentazione (Stewart, 2001).

Per ovviare a queste problematiche molti studi hanno utilizzato alternativamente una stima diretta della velocità media ottenibile dall'applicazione del coefficiente di distribuzione di velocità spaziale, valore che descrive come le velocità sono distribuite attraverso la sezione del vaso. Se assumiamo un flusso parabolico laminare la velocità media può essere considerata metà della velocità massima ( $0.5 \times V_{max}$ ), valutabile al centro geometrico della sezione del vaso. Questo metodo è meno suscettibile al fenomeno di sovrastima correlata all'utilizzo di filtri in presenza di basse velocità o dall'incompleta copertura di tutta la sezione del vaso, fintanto che l'asse centrale del vaso è incluso all'interno del volume campione Doppler. La figura 2 rappresenta i range di riferimento per il flusso, normalizzati per il peso fetale, riportati dal 1990 in poi, quando può essere assunto che l'impiego delle metodiche Doppler era paragonabile agli standards attuali (Tchirikov, 1998; Bellotti, 2000; Tchirikov, 2002; Acharya, 2005; Sutton, 1990; Lees, 1999; Barbera, 1999; Boito, 2002; Kiserud, 2000).

Mostra chiaramente che esiste un trend per identificare valori maggiori di flusso quando le velocità medie sono stimate dalla IWMV a differenza di quelle stimate dalla velocità massima (Tchirikov, 1998; Tchirikov, 2002; Sutton, 1990, Lees, 1999; Kiserud, 2000), in particolare nel terzo trimestre di gravidanza (Gerada, 2006). La stima della velocità media dalla V max non può tuttavia essere considerata priva di errori. Infatti, assume implicitamente un flusso venoso di tipo stazionario, che non è tale quando la vena presenta un profilo pulsatile: in questi casi, solo la stima di IWMV potrebbe stimare accuratamente il flusso venoso. Inoltre, l'arrangiamento elicoidale della vena e la viscosità del sangue contribuiscono alla modificazione della tipologia di flusso parabolico attraverso il cordone, che teoricamente potrebbe portare ad una sottostima della velocità media.

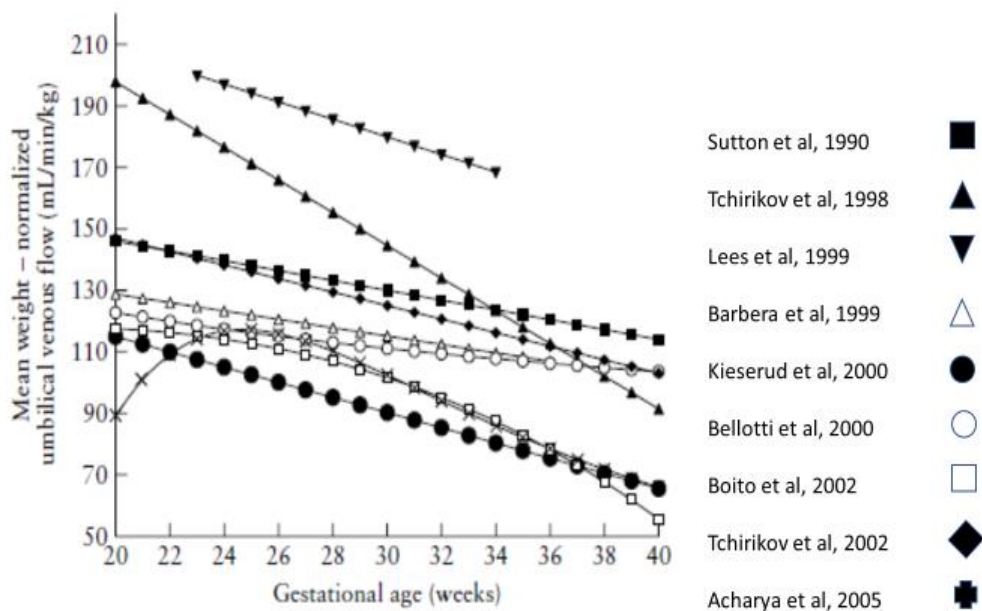


Figura 2. Valori di riferimento per la portata della VOmb a confronto tra i vari studi dal 1990 in poi. Il grafico esprime i valori medi della portata rispetto all'epoca gestazionale. A fianco sono indicati gli autori degli studi. I simboli non colorati rappresentano gli studi in cui la velocità media è stata ricavata moltiplicando la velocità massima per 0.5 (Adattato da: Figueras, UOG; 2008;32:587-591).

Pennati et al. hanno calcolato che esiste una sottostima del 18% della velocità media a livello di una porzione libera del cordone ed hanno visto che tale effetto era addirittura più pronunciato (32% di sottostima), quando la misurazione Doppler era eseguita in un tratto prossimale alla placenta (Pennati, 2004) (Figura 3). Quindi il profilo della velocità sembra seguire un profilo maggiormente parabolico quando è prossimo al feto piuttosto che alla placenta ed è possibile che diventi parabolico a livello della porzione

intra-addominale. Acharya et al hanno infatti riscontrato minime differenze tra la velocità media calcolata indirettamente dalla V max e dalla IWMV a questo livello, suggerendo che il profilo spaziale di velocità nella porzione intra-addominale della vena è parabolico (Acharya, 2005).

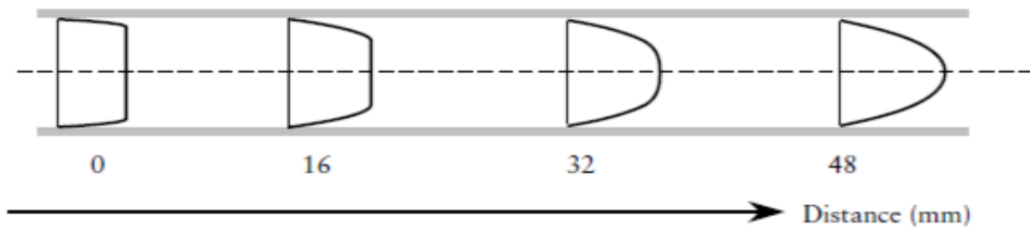


Figura 3. Profili di velocità della Vomb rilevati a distanze differenti dall'inserzione placentare nello stesso feto. Vengono riportati i profili dell'onda venosa e la distanza del sito di rilevazione dalla placenta (millimetri). (Adattato da: Pennati, UOG; 2004;23:131-137).

Gli studi recenti che hanno valutato la porzione libera del cordone (Sutton, 1990; Lees, 1999; Barbera, 1999; Boito, 2002) non hanno riportato valori di flusso sistematicamente diversi da quelli identificati negli studi che hanno utilizzato la porzione intra-addominale del cordone (Tchirikov, 1998; Bellotti, 2000; Tchirikov, 2002; Acharya, 2005; Kiserud, 2000).

Nonostante siano necessarie ulteriori indagini per esaminare il profilo della velocità attraverso il cordone e così stabilire la relazione reale tra le velocità media e massima nei diversi settori del cordone ombelicale, gli errori di misurazioni che sono dipendenti dal metodo di valutazione della velocità massima sono più prevedibili e sistematici rispetto a quelli associati al metodo IWMV. Inoltre, visto che la prima metodica è meno dipendente dal software è più probabile che sia riproducibile in gruppi differenti. Sono stati inoltre descritti metodi di calcolo della portata della Vomb che sfruttano il Color Doppler e l'analisi cine-loop per misurare la velocità media dalla V max (Gerada, 2006).

Qualsiasi sia il metodo utilizzato per il calcolo della velocità media, è fondamentale che la sezione completa del vaso sia campionata completamente, considerando le dimensioni del vaso e l'angolo di insonazione. L'effetto dell'errore visivo, introdotto inevitabilmente dall'operatore quando è introdotta l'angolazione del fascio, è minimo

quando il vaso è quasi perpendicolare alla sonda. È stato dimostrato matematicamente (Yamamoto, 2006) che in presenza di angoli di insonazione inferiori a 30°, piccoli errori nell'angolazione (<5°) hanno minimo impatto sulla stima della velocità; oltre i 30° l'impatto incrementa esponenzialmente. L'ampiezza del volume campione del Doppler influisce sulla misurazione particolarmente in presenza di un elevato diametro del vaso (quale il calibro della vena ad epoche di gravidanza >32 settimane). È pertanto consigliabile l'utilizzo di un Doppler gate compreso tra 2 e 2.5 mm (Willink, 1994).

- *Setting dell'ecografo.* La potenza dell'ecografo, il range delle frequenze ed il settaggio dei guadagni devono permettere un'adeguata penetrazione senza ridurre la risoluzione della macchina, specialmente nelle pazienti obese ed a termine di gravidanza. I setting del filtro Doppler devono essere aggiustati per prevenire il rumore di fondo ed escludere segnali provenienti da vasi vicini, permettendo la ricezione dei segnali a bassa frequenza della velocità media (Figueras, 2008). L'utilizzo dell'armonica tissutale (THI) non è stato commentato nei casi della valutazione della VOmb ma il suo effetto può influenzare l'accuratezza delle misurazioni del diametro interno.

#### **Aspetti metodologici nella misurazione della portata della VOmb**

- *Accuratezza.* Diversi studi si sono occupati di valutare in-vivo l'accuratezza della portata della VOmb misurata mediante metodica Doppler. Le misurazioni Doppler della portata ombelicale presentano una buona correlazione tra la valutazione in vivo ed i modelli animali (Schmidt, 1991; Galan, 1999; Figueras, 2008). Nel 1991 Schmidt et al hanno riportato una minima sovrastima della portata della VOmb mediante l'utilizzo del Doppler, se confrontata con l'impiego di microsferi marcate con radionuclidi e l'utilizzo di trasduttori per risonanza magnetica in feti di pecore, identificando una correlazione complessivamente accettabile con  $r$  0.91 (Schmidt, 1991). Questa apparente sovrastima della portata è maggiormente legata al fatto che nel calcolo della portata era stata impiegata la velocità modale piuttosto che la velocità media. In studi successivi che hanno utilizzato tecniche di diffusione statica confrontandole con l'ecografia triplex mode nel feto ovino è stato possibile ottenere valori di portata media venosa sovrapponibili tra loro (207.5 mL/min/kg con l'ecografia versus 208.1 mL/min/kg con la tecnica di diffusione) (Galan, 1999). Visto che il raggio (diametro/2) viene impiegato per il calcolo dell'area di sezione del vaso elevando al quadrato il suo valore, qualsiasi errore nella valutazione del diametro può risultare in una sovrastima dell'area di sezione. Per minimizzare questo errore il diametro dovrebbe essere misurato dove il perimetro di sezione della vena ha una

forma circolare (Figueras, 2008). Le aree più luminose del lume interno della vena (ad una bassa amplificazione) sono considerate le sedi migliori per il posizionamento dei caliper visto che sono riflesse da superfici ortogonali e possono essere evidenziate unicamente quando gli ultrasuoni intersecano il vaso a livello del suo diametro massimo (Barbera, 1999). Konje et al. hanno misurato la portata della VOmb nei feti umani durante taglio cesareo ed hanno identificato valori tra loro comparabili in presenza di un diametro della VOmb a 4 mm (Konje, 1996). Questi studi hanno evidenziato come la misurazione Doppler della portata della VOmb sia accurata se confrontata con le metodiche ritenute gold standards per il calcolo della portata “in-vivo”.

- *Riproducibilità.* Pochi studi sulla portata della VOmb hanno affrontato questo problema. In 10 feti Barbera et al hanno riportato un coefficiente di variazione inter-osservatore del diametro della velocità media dalla V max e della portata rispettivamente del 2.9%, 7.9% e 12.9% (Barbera, 1999). In sette feti, Lees et al hanno riportato un errore sistematico inter-osservatore di -0.8% con un coefficiente di variazione del 6.5% per l'area del vaso ombelicale e per IWMV del 10.7% e 33% rispettivamente (Lees, 1999). Boito e collaboratori hanno riscontrato una riproducibilità accettabile nelle misurazioni della portata (12%) (Boito, 2002). Figueras et al in una revisione della letteratura hanno riportato la riproducibilità della valutazione della portata della VOmb, valutata in 63 gravidanze singole ad un'epoca gestazionale compresa tra le 24 e le 42 settimane da parte di due operatori (dati non pubblicati) (Figueras, 2008). Gli autori hanno utilizzato il coefficiente di correlazione intra-classificazione (ICC) per valutare la variabilità nelle misurazioni. Secondo gli autori i ICC intra-osservatore (95% CI) per il diametro, la velocità media e la portata della VOmb erano 0.7 (0.55-0.81), 0.59 (0.4-0.74) e 0.55 (0.35-0.78) rispettivamente, mentre i ICC inter-osservatore erano 0.65 (0.35-0.7), 0.46 (0.23-0.64) e 0.60 (0.4-0.74) rispettivamente; questi risultati hanno sottolineato come un'adeguata aderenza alle raccomandazioni metodologiche garantisce una riproducibilità intra e interosservatore da moderata a buona, paragonabile a quanto riportato per gli indici di resistenza e pulsatilità dell'arteria ombelicale (AOmb) (Nakai, 2002; Scherjon, 1993; Fernandez, 2008).
- *Errori potenziali nelle misurazioni della portata della VOmb.* Quando viene valutata la sezione intra-amniotica della vena, è importante evitare segmenti tortuosi o quelli compressi dalle parti fetali, visto che una pressione estrinseca può determinare variazioni nella sezione della vena. Le misurazioni del diametro migliorano se viene

calcolata la media tra 3 e 5 misurazioni in quanto il limite di confidenza diminuisce (Kiserud, 1994; Kiserud, 1998; Kiserud, 1999). Per ragioni pratiche e per minimizzare l'esposizione agli ultrasuoni in gravidanza, la maggioranza degli studi hanno utilizzato il metodo in cui viene applicata una media di tre misurazioni. Alcuni autori hanno utilizzato per la misurazione del diametro interno della vena la funzione automatica presente nell'ecografo per la misurazione della translucenza nucale (Rizzo G, 2011). Boito et al hanno utilizzato il tracing manuale dell'intera sezione del lume interno della vena invece che le misurazioni del diametro ed hanno ottenuto una riproducibilità del 9% (Boito, 2002). Questa tecnica tuttavia necessita di un maggior tempo di rilevazione (se viene applicata la media di tre misurazioni) ed inoltre dipende dalla capacità di ottenere una sezione più circolare del cordone, che non è sempre fattibile.

Per minimizzare gli errori nella valutazione della velocità, l'utilizzo di angoli di insonazione superiori a 20° dovrebbe essere evitato (Figueras, 2008). La sonda ecografica deve essere inclinata di 90 gradi e il fascio Doppler dovrebbe essere disposto nella stessa sezione del diametro del vaso che è stato misurato (Barbera, 1999). Visto che l'utilizzo della formula presuppone la presenza di un flusso parabolico, le velocità devono essere misurate in quei tratti della vena in cui il lume è lineare per una lunghezza circa 3 volte il diametro interno del vaso (Barbera, 1999).

Le misurazioni dovrebbero essere condotte in uno stato di quiete fetale (Van Splunder, 1996; Flo, 2009; Rigano, 2008). Nella porzione intra-addominale durante movimenti respiratori ad elevata ampiezza, la velocità di flusso può incrementare del 54% in più rispetto al livello valutato durante l'apnea e la portata media può aumentare fino al 42% (Marsal, 1984; Nyberg, 2010). Il confronto del color Doppler convenzionale con la registrazione in cineloop del color Doppler ha dimostrato che la tecnica cineloop presenta valori di Vmax del 10% maggiori (Gerada, 2010). Quanto la portata venosa era calcolata nella porzione intra-addominale, utilizzando sia la V max sia la IWMV, i percentili specifici per epoca gestazionale ottenuti con entrambi i metodi erano quasi identici, visto che la IWMV è simile alla metà della V max a questo livello (Acharya, 2005). In uno studio comparativo Flo et al, hanno riscontrato che la velocità venosa media a livello intra-addominale e dell'ansa libera del cordone erano pressoché simili ma la concordanza tra le singole misurazioni era scarsa (Flo, 2009). Questo enfatizza l'importanza della standardizzazione delle tecniche e la stretta aderenza alla metodologia.

### Valutazione della portata nelle gravidanze fisiologiche

La portata assoluta (ml/min) nella VOmb aumenta progressivamente ed esponenzialmente nell'arco della gestazione (Gerson, 1989) (Figura 4).

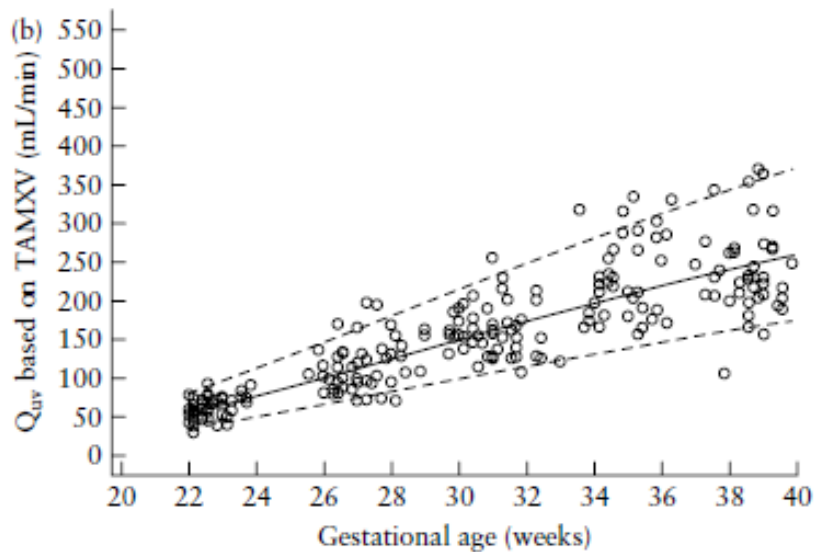


Figura. 4. Incremento della portata della VOmb in relazione all'epoca gestazionale in gravidanze normali. Le ascisse indicano l'epoca gestazionale, le ordinate la QVOmb ricavata mediante time averaged maximum velocity (mL/min). Tratto da Flo K, UOG; 2010;36:567-572.

Questo incremento è dipendente sia dall'incremento del calibro del vaso stesso sia dall'incremento della velocità media (Barbera A, 1999; Rizzo G, 2015) (Figura 5).

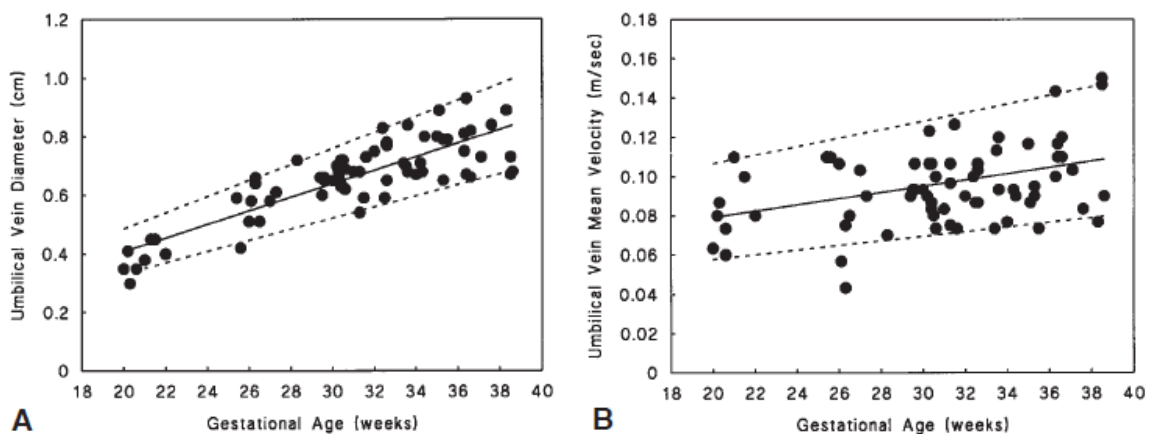


Figura 5. Modificazioni del diametro (a) e della velocità media (b) della VOmb in relazione all'avanzare dell'epoca gestazionale. Le ascisse indicano l'epoca gestazionale (settimane). Tratto da: Barbera A, AJOG 1999; 181:174-179.

Il flusso espresso per unità di peso fetale (ml/min/kg) invece mostra una riduzione lineare non significativa in relazione all'epoca gestazionale (Gill, 1981; Barbera, 1999; Acharya, 2005; Flo; 2010) (Figura 6).

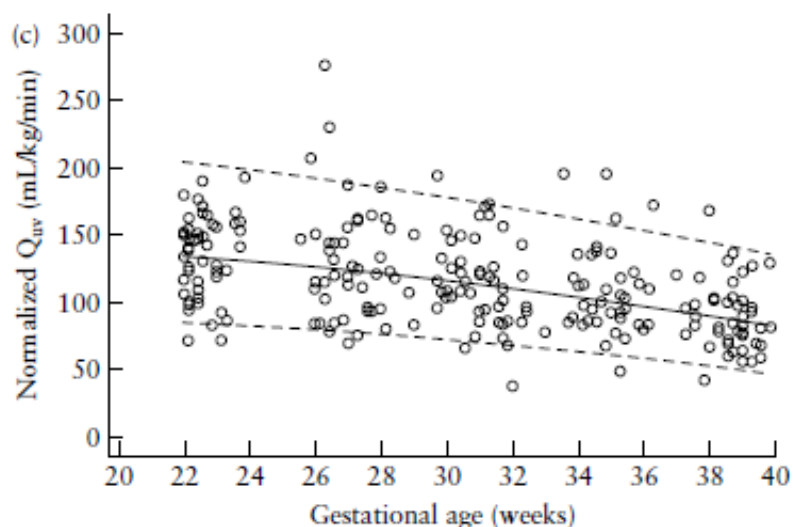


Figura. 6. Andamento della portata della VOmb rapportata alla EFW in relazione all'epoca gestazionale, nelle gravidanze normali. Le ascisse indicano l'epoca gestazionale. Tratto da Flo K, UOG; 2010;36:567-572.

Alcuni autori, per poter controllare l'effetto delle dimensioni fetali sul flusso venoso, hanno espresso la portata come rapporto rispetto alla circonferenza addominale (Rizzo G, 2015; Acharya G, 2005) o alla circonferenza cranica fetale (Barbera, 1999). Normalizzando la portata assoluta soltanto per uno di questi parametri è possibile ovviare all'errore che si associa all'espressione del flusso ombelicale per unità di peso fetale, legato al fatto che la stima del peso fetale presenta di per sé un errore di circa il 10%.

Fisiologicamente le velocità di flusso a livello dell'ingresso della VOmb sulla parete addominale sono differenti da quelle riscontrate a livello della sezione intra-addominale, probabilmente a causa di fenomeni di venocostrizione intermittente su base autocrina, evidenziabili in circa 21% dei feti (Acharya, 2006). Recentemente Scholbach et al hanno valutato (ogni 30 secondi per 5 minuti), mediante delle registrazioni tridimensionali, le modificazioni seriali dell'area e della velocità della VOmb in 43 feti di dimensioni normali ad un'epoca gestazionale compresa tra le 17 e le 20 settimane: gli autori hanno riscontrato che esiste una variabilità molto grande nelle misurazioni (dal 57% al 148% rispetto al valore medio), che può riflettere verosimili modificazioni nel metabolismo o nell'attività fetale (Scholbach, 2016).

È stato osservato che a seconda dello stato di attività fetale esistono delle differenze statisticamente significative nella portata della VOmb: durante il sonno attivo fetale esiste un incremento dell'area di sezione della VOmb e della frequenza fetale, probabilmente correlato ad un incremento dell'output fetale cardiaco in presenza di una resistenza costante a livello del dotto venoso (Boito, 2004).

Diversi autori hanno proposto dei range di riferimento per la portata ematica nella VOmb, ottenuti mediante studi cross sezionali (Barbera A, 1999; Lees C, 1999; Bellotti M, 2004; Rizzo G, 2015) oppure studi longitudinali (Acharya G, 2005; Vimpeli T, 2009; Flo K, 2010), in popolazioni a basso rischio. Recentemente alcuni studi si sono concentrati sulla possibile identificazione di un dimorfismo sessuale anche per la portata della VOmb, ottenendo dati contrastanti: Prior et al hanno mostrato che nei feti a termine di gravidanza i maschi presentano una riduzione della portata ematica nella VOmb rispetto alle femmine poco prima dell'insorgenza del travaglio di parto; Widnes C non hanno riscontrato differenze statisticamente significative per quanto riguarda la portata ematica nella VOmb nella seconda metà della gravidanza, tuttavia il pattern di modificazioni temporali della portata in relazione all'epoca gestazionale è differente tra feti di sesso diverso, con un cross over tra le curve di riferimento a 24 e 32 settimane di gravidanza (Prior T, 2013; Widnes C, 2017).

#### **Valutazione della portata nelle gravidanze complicate da restrizione di crescita fetale**

La portata della VOmb, sia assoluta sia normalizzata per l'unità di peso fetale, è ridotta nei feti con restrizione di crescita (Kieserud T, 1994; Ferrazzi, 2000; Rigano, 2001; Boito 2002; Di Naro, 2002; Bellotti, 2004; Kiserud T, 2006; Rigano, 2008; Rizzo G, 2008).

In uno studio trasversale, condotto su una serie di feti affetti da restrizione di crescita fetale (IUGR) in cui erano presenti alterazioni a carico della Doppler velocimetria nelle arterie ombelicali, è stata evidenziata una correlazione diretta tra la riduzione della portata del flusso ematico nella VOmb e la restrizione della crescita, determinata principalmente da una diminuzione della velocità del flusso ematico, mentre il calibro della vena non risultava ridotto (Ferrazzi, 2000). È stato osservato che nei feti IUGR in cui sono presenti alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle arterie ombelicali, alla presenza di un flusso ridotto nella VOmb si associa un flusso assoluto normale a livello del dotto venoso, tutto a scapito di una ridotta perfusione epatica (Bellotti M, 2004).

La riduzione della portata del flusso venoso ombelicale sembra essere un evento precoce nella storia naturale della restrizione della crescita fetale: la portata per unità di peso fetale a livello della VOmb è ridotta nei feti IUGR anche in assenza di alterazioni Doppler velocimetriche a livello delle AOmb (Rigano, 2001) (Figura 7).

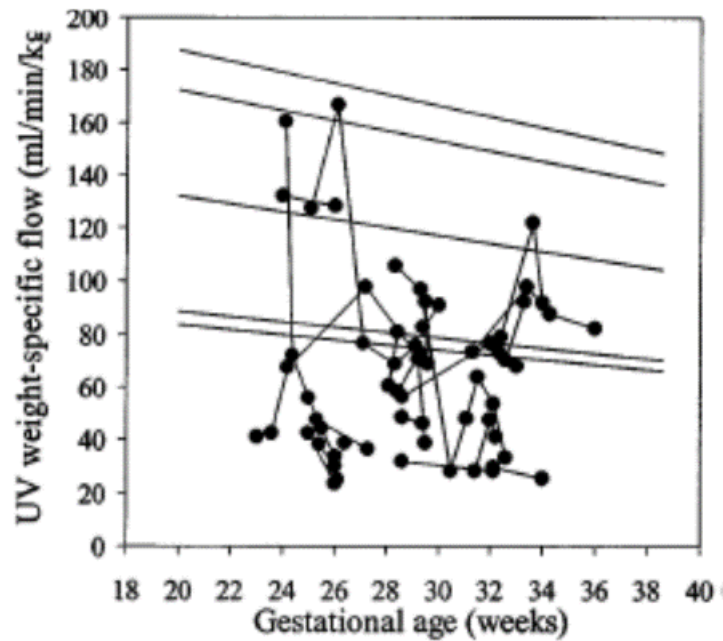


Figura 7. Portata ematica nella VOmb in feti IUGR rispetto alla popolazione normale. Le ascisse indicano l'epoca gestazionale, le ordinate la portata ematica nella VOmb rapportata al EFW. I punti neri indicano le rilevazioni delle portate (Tratto da: Rigano S, AJOG 2001; 185:834-838).

Tali eventi sono evidenti anche valutando la portata ematica a livello della VOmb in maniera longitudinale in quanto la riduzione del volume ematico nel tempo persiste tra due valutazioni seriate (Di Naro E; 2002). Queste modificazioni sembrano essere principalmente correlate alla ridotta velocità a livello della VOmb nei feti IUGR, probabilmente associata all'incremento di viscosità ematica che si osserva in questi feti (Weiner, 1989; Jouppila, 1986).

L'utilizzo della semplice velocità di flusso quale test diagnostico nell'identificazione dei feti IUGR non è tuttavia sufficiente nella pratica clinica. Infatti, in uno studio su 12 feti IUGR andati incontro a morte endouterina entro le 26 settimane di gravidanza, la riduzione persistente del flusso venoso ombelicale rispetto al gruppo di controllo dipendeva in misura minore dalla ridotta velocità ed in misura maggiore dalla riduzione del diametro della vena (Rigano, 2008). Infatti, una significativa riduzione delle dimensioni della vena, anche se corretta per le dimensioni fetali, moltiplica l'effetto della riduzione in volume del flusso venoso (Bellotti, 2004). Considerate le conseguenze sulla perfusione ed il metabolismo del fegato fetale, una riduzione nelle dimensioni della VOmb può assumere un importante ruolo prognostico quando la restrizione di crescita è diagnosticata precocemente nel secondo trimestre di gravidanza, visto che soltanto i feti che presentavano morte in utero presentavano una importante riduzione della portata nella VOmb (Rigano, 2008; Boito, 2003).

È stato osservato che in feti IUGR valutati tra le 19 e 41 settimane la riduzione della portata ematica nella VOmb si associa ad una riduzione significativa dell'output cardiaco fetale totale proveniente dal ventricolo sinistro e destro, in particolare nei feti in cui erano presenti alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle AOmb (Kiserud T, 2006). Uno studio successivo ha valutato retrospettivamente i dati emodinamici della portata nella VOmb e dell'output cardiaco fetale raccolti a 20-24 settimane in 283 donne che in gravidanza avevano una elevata resistenza a carico delle arterie uterine (AUt), evidenziando come nelle gravidanze in cui successivamente si è manifestata restrizione di crescita fetale (peso neonatale <10°pc e alterazioni Doppler velocimetriche nelle arterie ombelicali) la portata ematica nella VOmb era significativamente inferiore già a 20-24 settimane (Rizzo G, 2008). La riduzione della portata nella VOmb potrebbe quindi rappresentare un evento precoce nella patogenesi della restrizione di crescita, giocando un ruolo importante nella deprivazione di nutrienti e ossigeno per il feto che quindi compromette il suo naturale potenziale di crescita.

#### **Portata ematica nella VOmb e predizione di outcome perinatale avverso**

I primi studi che hanno utilizzato la Doppler velocimetria per valutare quantitativamente il volume ematico a livello della VOmb hanno anche suggerito l'esistenza di una associazione tra la portata relativa al peso fetale ed una aumentata incidenza di esiti perinatali avversi (presenza ipossia, morbidità e mortalità neonatale), che si esprime in maniera indipendente dalla presenza di una restrizione di crescita fetale e precocemente rispetto all'insorgenza dell'evento avverso (Gill RW, 1984).

Successivamente altri autori hanno analizzato il ruolo della portata ematica nella VOmb nella predizione degli esiti perinatali avversi, definendoli sulla base di punteggi che comprendono ad esempio la valutazione del pH arterioso, dell'Apgar score a 5 minuti, dell'accesso a cure intensive neonatali.

In due studi cross sezionali Tchirikov et al hanno analizzato retrospettivamente i dati relativi alla portata normalizzata per peso fetale, all'indice di resistenza delle AOmb, ed al rapporto tra portata relativa per peso fetale a livello della VOmb ed indice di pulsatilità a livello delle AOmb, in una popolazione di gravidanze di cui erano disponibili gli esiti neonatali, definendo come esito perinatale avverso quelle gravidanze che in base ad un determinato score (Tabella 3) presentavano un punteggio all'esito di 2 (Tchirikov, 2002).

PUNTEGGIO	0	1	2
pH arterioso funicolare	$\geq 7.2$	$< 7.2$ e $\geq 7.1$	$< 7.1$
Indice APGAR (1 minuto)	$\geq 8$	6 o 7	$\leq 5$
Peso neonatale (pc)	$\geq 37$	$< 10^{\circ}$ pc e $\geq 3^{\circ}$ pc	$< 3^{\circ}$ pc
Durata gravidanza (w)	$\geq 37$	32-37	$< 32$
Supporto respiratorio	No	Ventilazione	Intubazione
Trasferimento	Rooming-in	Neonatologia	TIN

Tabella 3. Score utilizzato da Tchirikov et al per la valutazione dell'esito perinatale avverso. Viene definito come tale la presenza di un punteggio di esito di 2. (Adattato da: Tchirikov M, UOG 2002; 20:580-585).

È stato così osservato che l'utilizzo di un valore di portata ematica con un cut-off di 90 mL/min/kg ha una sensibilità nel predire una compromissione neonatale (definita come outcome score di 2) del 76%, con una percentuale di falsi positivi del 9% (Tchirikov, 2002). Inoltre, la combinazione della portata relativa nella VOmb e dell'indice di pulsatilità (PI) a carico delle AOmb, così come la combinazione del PI nella arteria cerebrale media (CMA) con quello nelle AOmb, espresso in termini di cerebral-placental ratio (CPR), migliorano la capacità di identificare un feto che presenta segni di compromissione dopo il parto (Tchirikov, 2009).

Altri autori hanno utilizzato la portata della VOmb normalizzata per stima peso fetale in combinazione al Doppler della arteria cerebrale media per identificare, in una coorte di 193 feti SGA a termine di gravidanza, quei feti a rischio di esiti perinatali avversi: gli autori hanno così evidenziato che nei feti che presentavano una redistribuzione del circolo ed una ridotta portata a carico della VOmb il rischio di taglio cesareo d'emergenza per alterazioni cardiocografiche e di acidosi metabolica era significativamente più elevato (Parra-Saavedra, 2013).

Prior et al. hanno condotto un'analisi retrospettiva dei dati relativi alla modalità del parto in un gruppo di 589 donne a termine con gravidanze a basso rischio in cui era stata valutata la biometria fetale e la portata a carico della VOmb al momento dell'accoglienza in travaglio di parto: hanno così evidenziato come una riduzione della portata della VOmb permette di identificare quelle gravidanze a maggior rischio di taglio cesareo d'emergenza per

compromissione fetale; l'analisi si è dimostrata significativa anche dopo l'esclusione di quelle gravidanze in cui il peso neonatale era inferiore al 10°percentile (Prior, 2014).

Un recente studio ha valutato in una popolazione a basso rischio la capacità di identificare, a 37 settimane, i feti a maggior rischio di compromissione fetale, definito in base alla necessità di ricorrere ad un taglio cesareo in emergenza per una cardiocografia non rassicurante, un Apgar score <7 a 5 minuti di vita o una acidosi metabolica neonatale ( $\text{pH} \leq 7.15$  e  $\text{BE} > 12$  mEq/L): l'associazione della EFW, della Doppler velocimetria in AOmb e CMA (espressa come CPR) e della portata relativa al EFW permette di identificare nel 30% dei casi i feti a rischio di esiti perinatali avversi, rispetto alla detection rate del 19.2% ottenuta con la sola valutazione della EFW (Triunfo, 2017).

## **PORTATA EMATICA DELLE ARTERIE UTERINE**

Durante la gravidanza la placenta costituisce una nuova regione vascolare che la circolazione materna deve supportare: a tal scopo la rete vascolare uterina si adatta alle richieste fetoplacentari sia attraverso fenomeni di vasodilatazione sia mediante un incremento del letto vascolare. Le arterie uterine (AUt) forniscono il principale contributo alla vascolarizzazione dell'utero gravido e della placenta, garantendo al feto i nutrienti sufficienti per la sua crescita e sviluppo. È stato evidenziato che esiste una correlazione tra la presenza di una aumentata resistenza vascolare al flusso utero-placentare, valutabile mediante metodiche semi-quantitative Doppler velocimetriche, ed il riscontro di lesioni a livello placentare nelle gravidanze umane complicate da restrizione di crescita (IUGR) (Ferrazzi, 1999). Lo studio delle modificazioni quantitative a carico del flusso utero-placentare potrebbe ampliare le conoscenze attuali permettendo una maggior comprensione delle basi fisiopatologiche dell'insufficienza placentare.

I primi studi di fisiologia umana sulla portata ematica in gravidanza hanno utilizzato metodiche di tipo invasivo, ricavandone il flusso ematico uterino in maniera indiretta mediante la valutazione della diffusione dell'ossido nitrico in donne sottoposte a taglio cesareo, stimandolo intorno a 500 mL/minuto a termine di gravidanza (Metcalf J, 1955). Altri autori hanno valutato la portata ematica uterina mediante tecniche di flussimetria elettromagnetica che sfruttano la diffusione dell'ossido nitrico, in donne che si sottoponevano ad interruzione di gravidanza mediante isterectomia tra le 9 e 28 settimane gestazionali (Assali, 1960), evidenziando come il flusso uterino totale incrementi progressivamente in gravidanza.

La scarsa applicabilità delle metodiche dirette ha limitato l'impiego clinico nelle gravidanze umane, sebbene l'impiego di metodiche invasive in modelli animali abbia permesso di espandere le conoscenze di fisiopatologia dell'emodinamica utero-placentare.

### **MODELLI ANIMALI: STUDIO DELLA PORTATA EMATICA NELLE ARTERIE UTERINE**

L'apporto ematico uterino è stato descritto in maniera diretta ed indiretta mediante studi su animali.

I primi studi di fisiologia sono quelli di Barcroft, che ha analizzato le modificazioni correlate alla gravidanza nel flusso uterino dei conigli: gli autori hanno evidenziato come il flusso ematico uterino incrementi in maniera proporzionale all'estensione della rete vascolare materna e precocemente rispetto alla crescita fetale (Barcroft J, 1933). Lo stesso autore ha inoltre valutato indirettamente la portata ematica uterina nelle pecore, ricavando i dati dalla valutazione della differenza artero-venosa di ossigeno a livello dei vasi uterini e dall'applicazione del principio di Fick: il flusso uterino per chilogrammo di peso fetale sembra diminuire in maniera continuativa durante la seconda metà della gravidanza (Barcroft J, 1939).

Alcuni autori hanno misurato la portata uterina in pecore anestetizzate e sottoposte a trauma chirurgico, applicando il principio di Fick alla diffusione dell'ossido nitrico (Metcalf J, 1959), altri invece hanno calcolato la portata ematica uterina mediante tecniche di diffusione di soluzioni isotoniche, non suscettibili di artefatti da manipolazione dei vasi, ottenendo nelle capre anestetizzate valori pressoché sovrapponibili (Huckabee W, 1961). Questi studi hanno sottolineato come la valutazione della portata ematica totale all'utero fornisca informazioni relative alla quantità di sangue che viene fornita dalla madre al feto per la sua sopravvivenza e sviluppo, ma non mostra la quantità effettiva di sangue funzionale allo scambio dei metaboliti; inoltre non indica le necessità fetali, che possono essere inferiori o superiori all'afflusso utero-placentare.

Gli studi animali sono stati impiegati anche per comprendere le modificazioni fisiopatologiche associate alla restrizione di crescita intrauterina su base placentare: studi clinici su pecore gravide hanno evidenziato come riduzioni a carico del flusso utero-placentare prodotte mediante embolizzazione placentare (Creasy RK, 1972; Clapp JF, 1980) o attraverso riduzione meccanica del letto placentare (Lang U, 2000) determinino una restrizione di crescita fetale severa.

Gli studi animali hanno inoltre permesso di osservare come il flusso ematico uterino si riduca in risposta all'occlusione del supporto ombelicale fetale placentare, evidenziando come questa risposta sia localmente determinata e come il flusso uterino sia influenzato dal compartimento fetale (Rankin et al, 1975). Lang U et al (2002) hanno valutato gli effetti di una riduzione cronica nel flusso uterino rispetto alla portata a carico della vena ombelicale (VOmb) in 16 pecore gravide nella fase terminale della gravidanza: è stato così osservato che la riduzione cronica del flusso uterino, oltre ad influire sulla crescita fetale e placentare, previene la normale riduzione delle resistenze vascolari ombelicali e determina una minore portata a carico della VOmb.

## **VALUTAZIONE DEL FLUSSO EMATICO UTERINO MEDIANTE DOPPLER VELOCIMETRIA**

Il flusso utero-placentare può essere valutato, in vivo ed in maniera non invasiva, attraverso la velocimetria Doppler delle AUt, capace di fornire una valutazione indiretta delle resistenze a carico della circolazione utero-placentare. Esiste infatti una correlazione tra l'incremento delle resistenze uterine ed i riscontri di un'inadeguata modificazione trofoblastica da parte delle arterie spirali alla valutazione istopatologica (Guzin K, 2005; Sagol S, 1999; Olosson P, 1993).

In considerazione della loro facile applicabilità e della buona riproducibilità inter ed intra-osservatore, le metodiche di velocimetria Doppler applicate alle AUt sono state applicate quali test di screening per la precoce identificazione del danno placentare nelle gravidanze a rischio per IUGR, ipertensione gestazionale e preeclampsia. A tal scopo sono stati applicati vari indici, qualitativi (presenza di notch) e semi-quantitativi (PI, RI, S/D): tra questi il pulsatility index (PI) ha mostrato il valore predittivo più alto (Stampalija T, 2010).

Per quanto le metodiche qualitative e semi-quantitative Doppler siano di ausilio nella comune pratica clinica, non consentono tuttavia di quantificare la portata ematica utero-placentare, espressione della perfusione uterina e della resistenza vascolare del lato materno della placenta.

I progressivi miglioramenti avvenuti nella tecnologia Doppler hanno permesso tentativi di quantificazione della portata uterina in gravidanza, sia per via transvaginale sia per via transaddominale.

## **VALUTAZIONE QUANTITATIVA**

La valutazione quantitativa della portata uterina esprime il volume ematico assoluto nel tempo. Il calcolo prevede la conoscenza della velocità spaziale media attraverso la sezione del vaso e dell'area di sezione dello stesso:

$$Q = \pi * (D/2)^2 * Vel \text{ media } (t) * 60$$

in cui Q è il volume ematico per minuto, D/2 è il raggio della sezione del vaso e Vel media, la velocità spaziale media attraverso la sezione del vaso per un determinato tempo t.

Gli studi che si sono concentrati sulla valutazione della portata delle AUt hanno utilizzato tecniche differenti, distinguibili sulla base di alcuni aspetti metodologici (Metcalf J, 1955; Thaler I, 1989; Palmer 1992; Konje, 2001; Jeffreys, 2006; Wilson, 2007; Rigano, 2010). Di seguito vengono riportate le tecniche adottate per calcolare la portata ematica uterina di più recente utilizzo.

- Angio-Doppler imaging (Konje, 2001): prevede l'identificazione del vaso uterino, in una scala di grigi e con il color Doppler convenzionale, nella sua parte prossimale

relativamente all'incrocio a livello dell'arteria iliaca esterna; successivamente, modificando la modalità color Doppler con quella color power angiography, si misura il diametro del vaso perpendicolarmente al lume, tra le pareti esterne che vengono delineate dai pixel; il volume campione del Doppler viene posizionato in modo da comprendere l'intero lume del vaso e mediante pulsed Doppler viene registrata la velocità media nel vaso, durante 3-6 cicli cardiaci materni (Figura 1);

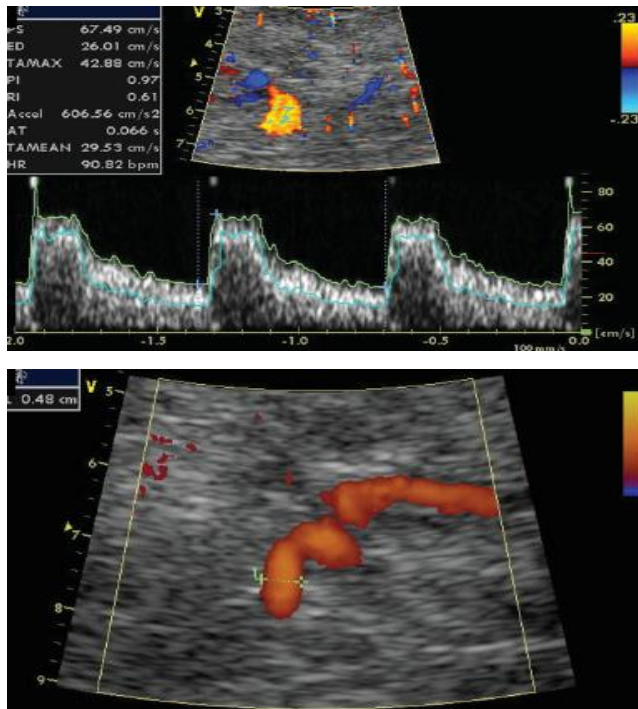


Figura 1. Tecnica di misurazione della portata uterina mediante angioDoppler imaging. Tratto da Acharya G, UOG. 2007;29:401-406.

- 3D-angio-Doppler (Rigano; 2010): prevede l'identificazione dell'anatomia delle AUt e delle sue diramazioni corporale e cervicale mediante 3D-angio-Doppler per evidenziare il tronco comune della AUt prima di qualsiasi divisione visibile, la valutazione dei diametri dei vasi, della velocità del flusso e del PI lungo la AUt approssimativamente 15 mm a monte della biforcazione del tronco comune; il lume del vaso viene visualizzato mediante angiografia color power Doppler ed i diametri sono misurati in B-mode perpendicolarmente ad una sezione longitudinale del vaso ad un ingrandimento massimale, riducendo il color box in modo da posizionare i calliper nei margini interni del vaso; viene eseguita una media di 3 misurazioni; il PI e la time-average maximum velocity nel ciclo cardiaco (V max) vengono misurate mantenendo la sonda con un angolo di insonazione entro 30° e correggendo l'angolo di insonazione qualora necessario.

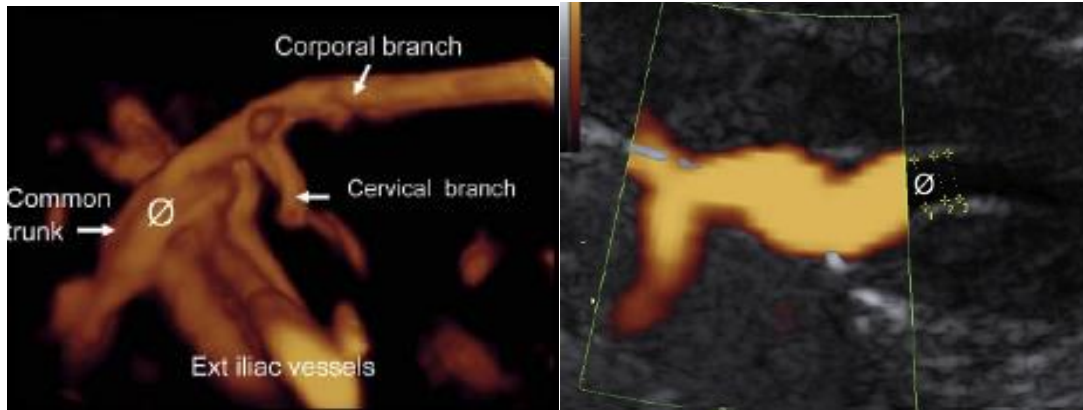


Figura 2. Tecnica di misurazione della portata uterina mediante 3D-angio-Doppler. Tratto da: Rigano S. Placenta, 2010;31:37-43.

### Validazione della tecnica nei modelli animali

Le tecniche Doppler di quantificazione della portata ematica uterina sono state impiegate anche su modelli animali.

Acharya et al (2007) hanno valutato la correlazione tra il flusso ematico a carico delle AUt misurato mediante la metodica diretta invasiva e la valutazione indiretta Doppler (mediante angiografia power Doppler) in 5 pecore anestetizzate, nella fase terminale della gravidanza (122-130 giorni di gestazione). Lo studio evidenzia come esiste una buona correlazione tra la misurazione Doppler non invasiva e quella diretta invasiva della portata, anche se non c'è una perfetta concordanza. Gli autori pertanto suggeriscono che, per ovviare alla ridotta accuratezza della misurazione non invasiva, sia utile la valutazione longitudinale della portata. Abi-Nader et al (2010) hanno valutato, in 6 pecore gravide a due epoche gestazionali diverse (metà e fine gravidanza), la concordanza tra le misurazioni della portata uterina calcolata con metodiche color/pulsed-wave Doppler (cUtABF) e con sonde bilaterali perivascolari capaci di valutare il tempo di transito (mUtABF). Gli autori hanno ottenuto un valore di correlazione 0.55 tra cUtABF e mUt ABF, riscontrando una correlazione significativa nella gravidanza avanzata ma non a metà gestazione. Secondo gli autori a metà gravidanza nella pecora le AUt presentano un decorso più tortuoso rispetto a fine gravidanza, determinando una ridotta accuratezza nella misurazione della velocità media del flusso, specialmente in considerazione della difficoltà nella regolazione dell'angolo di correzione; inoltre, le ridotte dimensioni del vaso a metà gravidanza possono essere correlate ad un errore relativo maggiore rispetto alla fine della gravidanza. All'analisi di accuratezza del metodo secondo Bland-Altman il rapporto medio cUtABF/mUtABF è 1.15 con un ampio limite di concordanza 95% (-0.26 a 2.56), suggerendo una ridotta accuratezza della metodica color Doppler rispetto a quella invasiva. I dati sono simili a quelli ottenuti da Acharya a termine di gravidanza sul corno uterino in cui aveva sede la gravidanza, anche se Acharya presenta un minore intervallo di confidenza per le

misurazioni. Abi-Nader et al sottolineano come la tecnica Doppler utilizzata per il calcolo della portata possa presentare alcune inaccurately in quanto i sistemi pulsed wave Doppler sono disegnati per ottenere la più alta risoluzione spaziale piuttosto che l'uniformità di insonazione. Inoltre, le componenti ad elevata velocità al centro del vaso pesano di più nel calcolo, determinando una sovrastima del flusso. Per quanto riguarda la misurazione del diametro del vaso, l'effetto blooming è comune sia al color sia al power Doppler, che risulta in un superamento delle pareti del vaso nel tentativo di massimizzare il riempimento. Errori nella misurazione del diametro del vaso hanno un ampio impatto sul calcolo della portata. L'inaccuratezza della misurazione è maggiormente correlata agli errori relativi al metodo ecografico scelto piuttosto che alla tecnologia utilizzata. Possibili soluzioni tecnologiche potrebbero migliorare la capacità ecografica di stimare il flusso uterino, quali i sistemi vettori Doppler, l'imaging B-flow, capace di non presentare l'effetto blooming presente nel power e color Doppler.

#### Limiti della tecnica.

La misurazione della portata ematica con tecniche non invasive ha dei limiti intrinseci correlati alla capacità della tecnica ecografica di stimare accuratamente la velocità spaziale media, alla dipendenza dell'angolo dell'onda di velocità derivata dal Doppler ed all'errore nella misurazione delle dimensioni del diametro del vaso.

- *Velocità spaziale media.* Per calcolare la velocità spaziale media sono stati descritte due differenti modalità, che influenzano il calcolo della portata uterina: un metodo considera e sfrutta la intensity-weighted mean velocity (IWMV), in cui la velocità spaziale media è stimata direttamente attraverso lo spettro ecografico totale che ritorna al trasduttore (Konje JC, 2001); l'altro metodo utilizza invece la velocità massima, moltiplicata per un coefficiente di distribuzione spaziale della velocità  $h$ , calcolato dal rapporto tra la velocità media e la velocità massima istantanea nella sezione considerata per un determinato tempo  $t$  (Kiserud T, 1998; Pennati G, 2008):

$$Q = h * V_{elmaxima}(t) * \pi * (D/2)^2.$$

Il coefficiente  $h$  dipende dal profilo velocimetrico spaziale nella sezione considerata ed è stato ottenuto mediante un modello fluidodinamico precedentemente sviluppato *ad hoc* sulla base dei numeri di Reynolds e di Womersley (due fattori adimensionali che descrivono l'emodinamica del vaso), della distanza attesa del sito di campionamento dall'arteria iliaca interna (che viene assunta ad un valore fisso di 4 cm) e dei diametri dei vasi uterini. I risultati di questo modello fluido-dinamico (Pennati G, 2008), applicati nello studio di Rigano et al (2010) e basati sul coefficiente di conversione della velocità massima nel tempo, sono in accordo con i profili di velocità spaziale uterina ottenuti sperimentalmente da Acharya et al (2007) nelle

pecore gravide. Il valore di questa metodologia è enfatizzato dall'utilizzo delle tecniche di imaging tridimensionale e da quelle ad elevata risoluzione dei vasi uterini (Rigano S, 2010).

La metodica di campionamento proposta da Konje è altamente dipendente dal trasduttore, dai filtri digitali che possono sovrastimare la velocità media, rimuovendo le basse velocità in prossimità della parete del vaso, e dall'algoritmo di elaborazione. L'attendibilità della metodica di campionamento utilizzata da Rigano e Ferrazzi dipende dalla necessità di campionare adeguatamente la velocità, mantenendo un angolo di insonazione inferiore a 30° (Pennati G, 2004; Hoskins PR, 1999). Il secondo metodo quindi è utile quando si possiedono informazioni dettagliate sull'emodinamica locale (Kiserud T, 1998).

- *Sito di campionamento.* Una fonte di errore sistematico deriva dalla metodologia utilizzata per la misurazione del diametro del vaso: infatti anche minime variazioni nel diametro del vaso possono influenzare significativamente il valore della portata ematica in quanto nella formula il raggio del vaso viene elevato al quadrato. Per quanto invece riguarda la valutazione del diametro dei vasi uterini, i primi studi hanno sfruttato il Color Doppler oppure l'angio-Doppler imaging (Konje JC, 2001; Wilson MJ, 2007); successivamente l'alta qualità dell'imaging bidimensionale ha permesso di superare le limitazioni nell'identificazione del lume vascolare dovute ad una ridotta risoluzione (Rigano S, 2010). Visto che attualmente vengono utilizzate sonde ad elevate frequenze e che le AUt presentano una profondità relativa, le misurazioni che sfruttano il power-Doppler angio imaging hanno il vantaggio di tempi di acquisizione dell'immagine più veloci anche se limitate dal bias legato all'intrinseco limite di risoluzione spaziale del imaging con power Doppler.

La misura del diametro del vaso, qualora valutata posizionando i calipers sui margini dei segnali power Doppler sovrapposti al vaso campionato (Julian CG, 2008; Hale SA, 2010; Konje CS, 2003; Flo K, 2010; Konje CS, 2001; Flo K, 2010), è diversa dalla misura ottenuta identificando lo stesso vaso ma misurato con l'imaging ad alta frequenza in scala di grigi, con valori sistematicamente superiori del 30%. Ciò spiega ad esempio come mai i valori di portata calcolati dal gruppo di Ferrazzi e Rigano sono paragonabili a quelli riportati da Thaler (1990) e Palmer (1992), ma inferiori rispetto ai valori riportati dagli studi che hanno impiegato il power Doppler.

- *Riproducibilità.* Konje et al hanno valutato i coefficienti di variazione intraosservatore con riscontro di valori pari a 5 ed 8% per la valutazione dei diametri delle arterie e di 3 e 5% per le misurazioni volumetriche (Konje, 2001; Konje, 2003). Analoghi dati sono

stati riportati da McKelvey (2017). Flo et al hanno valutato la riproducibilità delle misurazioni in 25 pazienti (Flo, 2010): il coefficiente di variazione intraosservatore per i diametri delle arterie è compreso tra 3.8 e 5.9 , per la time averaged intensity weighted mean velocity varia tra 14.7 e 19.7 e per la portata delle AUt è compresa tra 11.6 e 13.2; l'intraclass correlation coefficient è 0.88-0.94 per i diametri, 0.68-0.83 per la time averaged intensity weighted mean velocity e 0.89-0.92 per la portata delle AUt. Questi dati indicano come esista una buona riproducibilità intraosservatore.

### **Valutazione della portata delle arterie uterine nelle gravidanze fisiologiche**

Studi longitudinali eseguiti nel periodo periconcezionale e nel primo trimestre di gravidanza evidenziano come il flusso uterino si modifica durante la fase preovulatoria ed incrementa progressivamente già a partire dal momento dell'impianto embrionario (Bernstein, 2002). L'incremento della portata ematica uterina avviene gradualmente fino alla 9° settimana ed in maniera più marcata tra la 10° e la 16° settimana di gravidanza, in relazione ad un incremento progressivo sia delle dimensioni dei vasi uterini sia della velocità all'interno del vaso (Bernstein, 2002; Dickey e Hower, 1995; Thaler, 1990). Tali modificazioni quantitative del flusso ematico si associano ad una contestuale riduzione delle resistenze a carico delle arterie spirali e delle AUt, valutabili mediante PI e RI delle AUt (Bernstein, 2002; Dickey e Hower, 1995).

Con l'avanzare della gravidanza, in presenza di indici di resistenza Doppler velocimetrici normali, esiste un incremento progressivo ed esponenziale della portata ematica assoluta nelle AUt (Thaler, 1990; Bower, 1992; Konje, 2001; Rigano, 2010; Flo, 2010) (Figura 3).

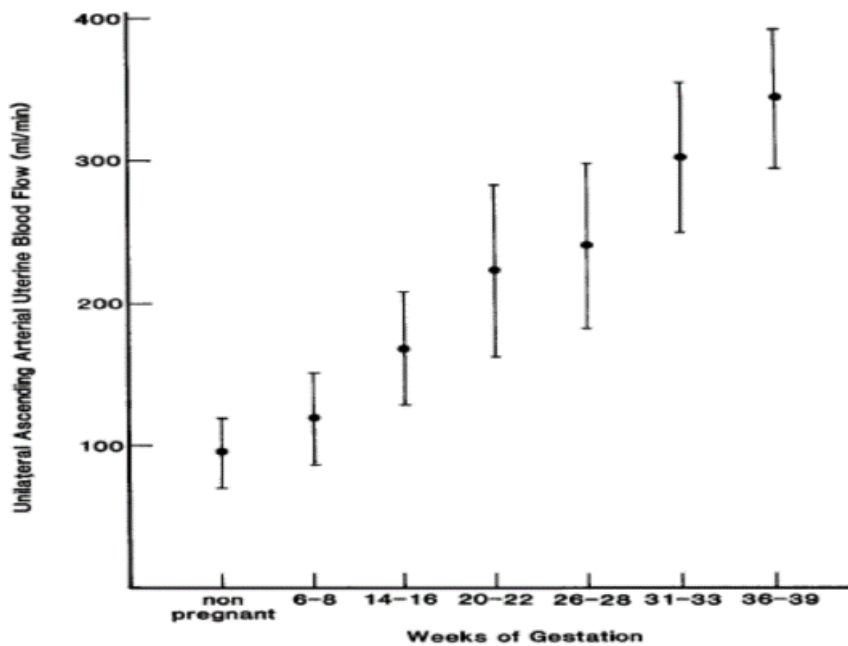


Figura 3. Incremento della portata ematica uterina, valutata a livello di una singola AUt, dalla condizione pre-gravidica fino al termine della gravidanza. Le ascisse indicano l'avanzare del tempo, espresso in settimane, mentre le ordinate la portata AUt (mL/min). Tratto da: Thaler I, AJOG 1990;162:121-125.

Quando rapportata all'unità di peso fetale, la portata uterina si riduce con il progredire della gravidanza, in maniera più evidente a partire dal secondo trimestre (Konje, 2001; Rigano, 2010; Flo, 2010).

L'incremento del volume ematico uterino assoluto è associato a progressive modificazioni del diametro delle AUt (Thaler, 1990; Konje, 2001; Rigano, 2010) oltre che ad un incremento della velocità media del flusso all'interno dei vasi (Bower, 1992; Rigano, 2010).

In gravidanza l'incremento del flusso a livello uterino è conseguenza del progressivo aumentare della portata a livello delle arterie iliache comuni e della possibile presenza di fenomeni di redistribuzione del flusso ematico pelvico in favore dell'utero gravido a scapito di quello verso le arterie iliache esterne (Palmer, 1992).

Uno studio su pazienti gravide a basso rischio, sottoposte ad una valutazione longitudinale della portata uterina e dell'emodinamica cardiaca materna mediante impedenzometria, ha evidenziato come nella seconda metà della gravidanza, contestualmente all'incremento del volume ematico uterino, esiste un aumento dell'output cardiaco materno: secondo gli autori un certo grado di redistribuzione del volume ematico, secondario all'incremento della resistenza vascolare periferica ed alla diminuzione delle resistenze vascolari uterine potrebbero essere i meccanismi coinvolti nel mantenimento di un elevato flusso uterino durante la gravidanza (Flo, 2010). È stato osservato che queste modificazioni della portata e

dell'output cardiaco sono ridotte a 22-24 settimane nelle pazienti con un precedente taglio cesareo: secondo gli autori di questo studio una alterazione a carico della rete vascolare uterina potrebbe da un lato condizionare le modificazioni emodinamiche materne, riducendo l'output cardiaco, dall'altro potrebbe influire sui processi iniziali di placentazione contribuendo alla comparsa di patologie nelle gravidanze con un precedente taglio cesareo (Flo, 2014).

Alcuni autori hanno valutato longitudinalmente il rapporto tra la portata a carico delle AUt e della VOmb in gravidanze a basso rischio, evidenziando come esista una correlazione con l'epoca gestazionale ed una indipendenza tra le circolazioni utero-placentare e feto-placentare (Flo, 2010).

### Portata uterina e sede placentare.

È stato osservato che esistono delle modificazioni della portata uterina in relazione alla sede placentare (Konje, 2001; Rigano, 2010; Tarzamni, 2016). Secondo alcuni autori ciò dipende dall'incremento dei diametri del vaso ipsilaterale al lato placentare (Konje, 2001), mentre altri ritengono che non esistono differenze significative per quanto riguarda le dimensioni dei vasi (Tarzamni MK, 2016). In presenza di una placenta centrale non esistono differenze statisticamente significative per quanto riguarda le dimensioni dei vasi uterini e la loro portata. Questa osservazione giustifica la necessità di valutare entrambe le AUt per stimare il flusso ematico uterino: se infatti si volesse ricavare la portata uterina moltiplicando per due volte il flusso a carico di una singola AUt si potrebbe ottenere una valutazione non accurata, a causa di una sovrastima o di una sottostima del valore totale (Konje, 2001; Rigano, 2010).

Il flusso uterino totale presenta una correlazione inversa con il PI delle AUt (Rigano, 2010): è stato evidenziato che in presenza di placentazione laterale questa correlazione è statisticamente significativa soltanto per le AUt ipsilaterali, mentre non è valida per quelle controlaterali (Tarzamni MK; 2016). La presenza di una dominanza della UtA ipsilaterale è probabilmente correlata alla presenza di un letto vascolare a bassa impedenza secondaria all'invasione del citotrofoblasto ed al rimodellamento delle arterie spirali. Nelle gravidanze con una placentazione centrale la portata uterina è simile nelle due arterie, confermando l'influenza della sede placentare sulle resistenze vascolari delle AUt.

### Portata uterina e peso neonatale.

Gli studi relativi alla relazione tra volume ematico uterino e peso neonatale hanno fornito finora risultati contrastanti. La valutazione della portata AUt assoluta nel terzo trimestre di gravidanza sembrerebbe non correlare in maniera significativa con il peso fetale o con il peso placentare nella popolazione di gravidanze a basso rischio (Flo, 2010). Altri autori hanno

valutato la portata uterina a 12, 20 e 24 settimane gestazionali evidenziando come esista una correlazione tra il volume ematico nel tempo ed il peso neonatale soltanto nelle valutazioni a 12 e 24 settimane gestazionali, ma non a 20 settimane (McKelvey, 2017).

Gli studi eseguiti su popolazioni residenti ad alta quota hanno sottolineato come esista una predisposizione genetica capace di interferire sulla capacità di adattamento materno e fetale in presenza di basse tensioni di ossigeno. Confrontando la portata a livello delle AUt a diverse epoche gestazionali in donne gravide, indigene e non, che soggiornavano ad alta quota, è stato possibile osservare che nelle prime la portata, il diametro delle AUt e così pure le dimensioni fetali erano significativamente maggiori: secondo gli autori di questi studi la predisposizione genetica che caratterizza le popolazioni locali determina una maggiore portata uterina ed una maggiore capacità di saturazione di ossigeno e di trasporto di ossigeno a livello utero placentare, mantenendo una crescita fetale normale anche in condizioni di ipossia da alta quota (Wilson, 2007; Julian, 2009).

In uno studio del 2011 (Browne, 2011), che ha valutato le modificazioni della portata uterina in una popolazione di gravidanze fisiologiche e complicate da disordini ipertensivi in popolazioni indigene residenti ad alta quota, è stato evidenziato che il peso neonatale correla significativamente con il flusso uterino ( $R^2=0,80$ ). Lo studio ha evidenziato che le donne che avevano un feto di dimensioni normali per epoca gestazionale ma che partorivano prematuramente avevano valori di portata ematica uterina ridotta ad un'epoca inferiore a 34 settimane. Gli autori hanno inoltre constatato che all'interno della popolazione studiata il 76% delle donne che presentano un ridotto flusso a livello delle AUt ad un'epoca inferiore alle 34 settimane gestazionali partorivano prematuramente ed il 59% aveva feti piccoli per l'epoca gestazionale.

### **Portata delle arterie uterine e IUGR.**

Le variazioni della portata uterina in presenza di restrizione di crescita intrauterina sono state considerate da due studi.

Nel 2003 Konje et al hanno valutato le modificazioni longitudinali della portata uterina in pazienti gravide che a 20-24 settimane presentavano un'aumentata resistenza a carico delle AUt, fattori di rischio per restrizione di crescita (pregressa restrizione di crescita fetale, basso peso materno, poliabortività non legata a trombofilia), il cui feto successivamente aveva sviluppato una restrizione di crescita non severa (definita come stima peso compresa tra il 10° e il 3°pc), non associata ad oligoidramnios, ed in cui il parto era avvenuto ad un'epoca superiore alle 36 settimane, con riscontro di un peso neonatale inferiore al 10°pc. Al

confronto con una popolazione di gravidanze fisiologiche in cui le AUt presentavano normali resistenze, è stato evidenziato che il flusso ematico uterino assoluto, valutato dopo la 24<sup>°</sup> settimana, è ridotto nel gruppo con IUGR. Al contrario non esistono differenze statisticamente significative per quanto riguarda la portata uterina relativa alla stima peso fetale, che si riduce progressivamente fino al termine della gravidanza in entrambi i gruppi. Secondo gli autori il continuo incremento nel diametro delle AUt in entrambi i gruppi suggerisce che l'adattamento arterioso alla gravidanza non avviene unicamente a livello delle arterie spirali ma anche nei segmenti prossimali delle AUt e continua durante la gravidanza, tuttavia nel gruppo con IUGR questo processo appare alterato o rallentato considerabilmente già dall'inizio del secondo trimestre e potrebbe essere responsabile della differenza significativa tra il diametro e la portata uterina assoluta.

Ferrazzi et al. (2011) hanno valutato i dati della portata uterina in donne gravide che, tra le 18 e le 37 settimane, presentano valori alterati di PI medio a carico delle AUt, confrontandole con un gruppo di pazienti fisiologiche (Rigano, 2010). Nelle 30 pazienti che successivamente hanno sviluppato restrizione di crescita (definita sulla base di una circonferenza addominale inferiore al 10 pc o una riduzione di almeno 40 pc in due misurazioni consecutive nel secondo e terzo trimestre), è stato possibile osservare una riduzione statisticamente significativa della portata uterina rispetto al gruppo di controllo già in occasione della prima rilevazione. Confrontando i dati della portata assoluta delle AUt tra i casi di IUGR con o senza alterazioni della Doppler velocimetria a carico delle arterie ombelicali (AOmb), non sono state evidenziate differenze significative, sembra anzi che i valori di flusso uterino relativo al peso fetale siano maggiori in presenza di PI alterato nelle VOmb. Sia il diametro sia la velocità media sono similmente coinvolti nella riduzione della portata attraverso il vaso. I dati sono coerenti con l'osservazione di Konje che la portata ematica uterina è ridotta nei feti con restrizione di crescita moderata che nascono a termine ed inoltre estende l'osservazione alle gravidanze complicate da IUGR precoce severa (l'epoca gestazionale media di rilevazione della portata è 29 settimane per la restrizione di crescita e 33 settimane per i controlli, con una differenza statisticamente significativa). Lo studio evidenzia in particolare che in entrambi i gruppi esiste una ridotta portata a carico delle AUt sia a metà sia a termine di gravidanza e che le differenze nei flussi ematici sono già presenti ad inizio gravidanza quando la stima ecografica del peso fetale non evidenzia ancora restrizione di crescita intrauterina. Dalle valutazioni longitudinali della portata uterina eseguite in 11 pazienti è stato inoltre possibile evidenziare la differenza dell'afflusso ematico esistente a diverse epoche gestazionali e l'esistenza di una ampia variabilità individuale della portata uterina. Questo studio ha inoltre evidenziato che la portata uterina assoluta è ridotta anche nelle gravidanze in cui le AUt presentano una resistenza elevata nelle AUt in presenza di una crescita fetale normale.

## **Portata delle AUt e disordini ipertensivi correlati alla gravidanza.**

Uno studio cross sezionale del 2011 (Browne, 2011) ha considerato le possibili modificazioni del volume ematico uterino in relazione alla presenza di disordini ipertensivi associati alla gravidanza. Questi autori hanno valutato la portata a carico delle AUt, iliache comuni ed iliache esterne in una popolazione di donne gravide di origini andine, confrontando i dati osservati tra una popolazione di donne con gravidanze normodecorse, donne che avevano sviluppato preeclampsia o ipertensione gestazionale, e donne non gravide residenti ad alta quota. Gli autori hanno evidenziato come la gravidanza di per sé determini l'incremento delle dimensioni dei vasi uterini, sia a metà (20-24 settimane) sia a fine gravidanza (>36 settimane). Le pazienti con preeclampsia o ipertensione gestazionale presentano un incremento degli indici di resistenza vascolare periferica (PI, RI) a livello delle AUt; in questi casi la portata delle arterie iliache è normale mentre quella a carico delle AUt è ridotta. Inoltre, nelle pazienti con esordio precoce del disordine ipertensivo (inferiore a 34 settimane) la portata delle AUt è inferiore rispetto ai casi con esordio tardivo. Secondo gli autori in caso di preeclampsia ed ipertensione gestazionale la riduzione del flusso uterino non dipende dalla diminuzione del calibro delle AUt bensì da una elevata resistenza arteriolare. Le osservazioni relative all'incremento delle dimensioni delle AUt e della portata a carico dei vasi nelle gravidanze normali sono compatibili con le modificazioni ad alta quota, suggerendo che la conservazione dei meccanismi fisiologici responsabili dell'allargamento prossimale delle AUt sono coinvolti nella protezione delle popolazioni locali dalla restrizione di crescita correlata all'ipossia da alta quota. A differenza delle gravidanze a bassa quota, in cui il diametro delle AUt incrementa dopo le 20 settimane è stato osservato come, in presenza di una cronica esposizione a basse tensioni di ossigeno, la modificazione del diametro delle AUt avviene già entro le 20 settimane. Visto che l'output cardiaco ad alta quota è ridotto, rispetto a quanto si osserva a bassa quota, il massimo incremento delle dimensioni del diametro delle AUt che avviene ad inizio gravidanza può essere interpretato come un meccanismo fisiologico precoce per sostenere il flusso utero placentare. Il riscontro di una ridotta portata a carico delle pazienti con ipertensione gestazionale o preeclampsia, a parità di dimensioni delle AUt, indica che questa componente della risposta vascolare materna della gravidanza a quota elevata rimane invariata nelle popolazioni locali. Inoltre, la riduzione della portata nelle gravidanze con disordini ipertensivi è interamente dovuta ad una riduzione della velocità media del flusso e, quindi ad una maggiore resistenza vascolare, consistente con i riscontri di un elevato PI e RI a carico delle AUt. In questo studio viene inoltre descritta un'elevata frequenza di notch diastolico che correla con una riduzione della portata delle AUt e dello spazio intervillare. In accordo con precedenti studi, anche in questo caso i disordini ipertensivi precoci presentano

particolari caratteristiche rispetto alla popolazione normale di riferimento: il peso delle pazienti è normale, esistono una marcata riduzione della portata ematica uterina ed una elevata resistenza al flusso uterino. La presenza di un elevata portata a carico delle iliache comuni mantiene normale la portata uterina. Queste osservazioni sono in accordo con studi precedenti in cui la bassa gittata cardiaca e l'elevata resistenza periferica vascolare sono osservabili nelle donne con preeclampsia precoce, mentre la preeclampsia tardiva o l'ipertensione gestazionale sono caratterizzate da un elevato output cardiaco ed una resistenza periferica bassa o normale (Valensise H, 2008). Mentre i disordini precoci rappresentano il fallimento delle risposte vascolari centrali ed utero-placentari alla gravidanza e quindi determinano una riduzione del flusso utero-placentare, i disordini ipertensivi tardivi rappresentano il tentativo di difendere il flusso ematico utero-placentare in una condizione in cui la circolazione materna è condizionata da un eccessivo peso corporeo o da una limitata disponibilità di ossigeno, così come presenti ad elevata quota.

## RAZIONALE

La restrizione di crescita fetale è una condizione che esprime il mancato raggiungimento da parte del feto del suo potenziale di crescita geneticamente predeterminato. Tale fenomeno è in gran parte condizionato da caratteristiche anatomiche, metaboliche e funzionali dell'unità feto-materno-placentare.

La traslazione del concetto di mancato raggiungimento del potenziale di crescita in misure e valori strumentali facilmente ottenibili e riproducibili non è immediata e la definizione di restrizione di crescita fetale, soprattutto verso il termine di gravidanza, rappresenta ancora un problema irrisolto.

Uno dei problemi è dato dal fatto che la restrizione di crescita fetale non trova riscontro in un unico valore di misura biometrica, se non, probabilmente, agli estremi (<3°pc). Una determinata misura biometrica (circonferenza addominale o stima ecografica del peso fetale) al di sotto di un percentile prestabilito (5° o 10°pc) potrebbe confondersi con il riscontro di un feto “piccolo per epoca gestazionale”, ossia un feto considerato costituzionalmente piccolo. Questa difficoltà di differenziare le due condizioni ha intuitive implicazioni cliniche in termini di applicazione di test predittivi, diagnosi e trattamento. L'utilizzo di curve di crescita customizzate potrebbe, in parte, risolvere il problema.

L'utilizzo di un determinato percentile, ancorché customizzato, non permette l'identificazione di feti che dimostrano un rallentamento di accrescimento con valori biometrici nei limiti della norma (>10°pc). Infatti, un recente consensus di esperti (Gordjin, 2016), ha proposto tra i criteri di definizione per la restrizione di crescita fetale la flessione di accrescimento (>50° pc) in misurazioni consecutive.

L'avvento di nuove tecnologie e scienze “omiche”, hanno permesso di aprire la finestra su processi metabolici, proteomici e genetici, fino a poco tempo fa sconosciuti, evidenziando un altro aspetto, ossia quello delle misure di esito che vengono considerate. Il dubbio non è dato da condizioni estreme di restrizione di crescita, spesso associato anche alla prematurità estrema, bensì a condizioni di iponutrizione e di ipossiemia lieve, e pertanto sfumata, ma prolungata nel tempo. Con queste premesse, potrebbe sorgere la domanda se esiste davvero un feto piccolo per epoca gestazionale, una volta considerate le caratteristiche importanti per la customizzazione, o i nostri parametri biofisici di valutazione non sono sufficientemente sensibili per cogliere lievi carenze nutrizionali e squilibri tra l'offerta placentare e richieste fetali.

In questo contesto la valutazione Doppler velocimetrica dei distretti feto-placentari certamente fornisce strumenti aggiuntivi, fondamentali, per una corretta definizione dell'origine di restrizione di crescita (placentare), diagnosi, valutazione del benessere fetale e strumento, imprescindibile, per il timing del parto. Infatti, in epoche gestazionali precoci, la cascata degli eventi Doppler velocimetrici è ben documentata e sono note le associazioni con gli esiti avversi a breve e medio termine (Lees, 2013; Lees 2015), rendendo la velocimetria Doppler lo strumento principale, assieme al CTG computerizzato, per la gestione di restrizione di crescita precoce.

Questo non è altrettanto vero dopo la 32-34<sup>o</sup> settimana. La restrizione di crescita fetale verso il termine di gravidanza, oltre a rappresentare la maggior parte dei casi di restrizione di crescita, si differenzia dalla restrizione di crescita precoce non solo per il pattern Doppler velocimetrico, ma anche per le misure di esito avverso. La distinzione tra restrizione di crescita tardiva, verosimilmente dovuta allo squilibrio tra crescente richiesta fetale e decrescente funzionalità placentare, e feto costituzionalmente piccolo (a patto che questo esista) appare molto sfumata e mancano tutt'ora chiari criteri biofisici di definizione e differenziazione.

Un metodo alternativo per valutare la funzione placentare potrebbe essere la misura della portata ematica a carico delle arterie uterine e della vena ombelicale. Rispetto ai dati qualitativi e semi-quantitativi, forniti da una valutazione Doppler velocimetrica standard, queste metodiche di tipo quantitativo potrebbero permettere una maggiore comprensione dei processi fisiopatologici alla base della restrizione di crescita. Infatti, esiste una correlazione inversa tra l'indice di pulsatilità delle arterie uterine e la portata a livello dei vasi uterini, e, in presenza di elevate impedenze a carico del flusso utero-placentare, la progressiva riduzione della portata si correla con la riduzione del peso neonatale (Ferrazzi E, 2011; Konje CS, 2003). Inoltre, la portata ematica della vena ombelicale è significativamente ridotta nei feti con restrizione di crescita intrauterina e si correla con il grado di compromissione fetale precocemente nella storia naturale della patologia della crescita (Rigano S, 2001). Tuttavia, la maggior parte degli studi pubblicati riguarda feti con restrizione di crescita precoce, mentre rimane aperta la questione del potenziale valore aggiuntivo della portata ematica a carico delle arterie uterine e vena ombelicale nei feti con restrizione di crescita tardiva e nella differenziazione tra i feti con restrizione di crescita e feti costituzionalmente piccoli.

## **SCOPO DELLA TESI**

Lo scopo della tesi è lo studio della portata ematica nelle arterie uterine e nella vena ombelicale nei feti considerati piccoli per epoca gestazionale o con flessione di crescita.

In particolare, verranno esaminati i seguenti punti:

- il confronto tra le caratteristiche della portata del flusso ematico nelle arterie uterine e nella vena ombelicale tra feti piccoli sulla base delle caratteristiche Doppler velocimetriche.
- l'associazione della portata ematica con gli esiti perinatali avversi.

## **MATERIALI E METODI**

### **Disegno dello studio e popolazione**

Questo è uno studio monocentrico caso-controllo (1:2) condotto presso la Struttura Semplice Dipartimentale di Ricerca di Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale dell'Istituto Materno Infantile IRCCS Burlo Garofolo, Trieste.

Sono state reclutate donne gravide maggiorenni con gravidanza singola e riscontro di circonferenza addominale (AC) < 10° percentile per l'epoca di gestazione o con flessione di crescita di AC di almeno due quantili rispetto al controllo biometrico precedente, eseguito ad almeno 15 giorni di distanza a partire dalla 20-a fino alla 40-a settimana di gestazione. Sono state escluse pazienti con datazione incerta, gravidanze gemellari, gravidanze complicate da anomalie fetali strutturali o cromosomiche e infezioni.

Dopo il reclutamento, la madre e il feto sono stati seguiti e monitorati in modo longitudinale secondo il protocollo clinico vigente e a seconda della severità del quadro clinico: sono stati eseguiti la Doppler velocimetria delle AUt, AOmb, CMA, dotto venoso e CTG computerizzato. Similmente, il protocollo clinico vigente è stato utilizzato per la decisione del timing e le modalità dell'espletamento del parto. Lo stato acido-base dopo il parto è stato eseguito secondo i criteri vigenti e su richiesta del medico in carica.

Nell'ambito dello studio sono state valutate in modo longitudinale le portate a carico delle AUt e la VOmb in occasione di ogni controllo ecografico. Per gli scopi del presente studio sono stati utilizzati i valori riscontrati al momento della diagnosi e l'ultimo valore prima del parto. Le misurazioni a carico delle portate delle AUt e della VOmb non sono state svelate al di fuori del gruppo di ricerca.

Nello studio è stato incluso un gruppo di controllo, rappresentato da donne con gravidanza a decorso fisiologico, abbinate per epoca gestazionale al reclutamento. Le pazienti sono state reclutate in maniera consecutiva in occasione dell'ecografia morfologica tra la 19-21-a settimane di gestazione e seguite fino al parto. Ciascuna paziente nel gruppo di controllo ha eseguito un'unica misurazione delle portate delle AUt e della VOmb, insieme alla Doppler velocimetria delle AUt, CMA e AOmb, tra la 20-a e la 40-a settimana di gestazione.

Per tutte le pazienti sono stati raccolti i dati relativi all'epoca gestazionale al parto, modalità di parto, peso neonatale e esito neonatale.

Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale (CIB – Comitato Indipendente di Bioetica, IRCCS Burlo Garofolo Trieste).

### **Definizioni cliniche e range di riferimento**

Per la definizione di AC <10°pc sono state utilizzate le curve di riferimento di Paladini (Paladini D; 2005), per la definizione di stima peso <10°pc le curve di riferimento di Hadlock (Hadlock FP; 1985) e, infine, per la definizione di peso alla nascita <10°pc le curve di riferimento di Bertino (Bertino E; 2010), rispettivamente. Brain sparing è stato definito come valore di PI-CMA <5°pc (Bashat AA, UOG 2003).

Definizione di IUGR è stata eseguita secondo i criteri DELPHI (Gordijn SJ, UOG 2016).

Esito avverso alla nascita è stato definito come variabile composita data da uno dei seguenti eventi: “esito perinatale avverso” la presenza di almeno uno tra i seguenti parametri: intervento ostetrico per CTG patologico (NICE guidelines), presenza su sangue funicolare arterioso neonatale di pH arterioso <7,10 o base excess <-12, ricovero presso il reparto di Neonatologia (Parra-Saavedra, 2013; Tchirikov, 2002).

La gravidanza fisiologica è stata definita come assenza di complicazioni di tipo ostetrico, medico o chirurgico e parto a termine ( $\geq 37$  settimane di gestazione) di un feto che ha presentato misure biometriche appropriate per epoca di gestazione (AGA), assenza di alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle arterie uterine, arterie ombelicali e arterie cerebrali medie, peso alla nascita compreso tra il 10°-90°pc.

### **Biometria fetale e Velocimetria Doppler**

Durante i monitoraggi ecografici a scopo clinico sono state eseguite misurazioni biometriche fetali (circonferenza cefalica, circonferenza addominale, lunghezza del femore) ed è stata calcolata la stima peso fetale secondo la formula Hadlock ogni 14 giorni. Sono state inoltre eseguite le seguenti valutazioni Doppler velocimetriche:

- AUt: è stato misurato l'indice di pulsatilità su una traccia di almeno 3 onde consecutive omogenee, ottenuta campionando il vaso per via trans-addominale, mediante applicazione del Color Doppler a livello dei quadranti addominali inferiori, identificando le AUt a livello dell'incrocio con le arterie iliache esterne. Successivamente, è stato applicato il Doppler pulsato con il volume di campionamento di dimensioni adeguate a coprire l'intero vaso, applicando un angolo di insonazione il più possibile vicino allo 0°. Sono stati considerati anormali la presenza di un valore medio di PI nelle AUt >95°pc (Gomez O; 2008).
- AOmb: è stato misurato l'indice di pulsatilità su una traccia di almeno 3 onde consecutive omogenee, ottenuta campionando un'ansa libera del cordone ombelicale in

assenza di movimenti fetali. La traccia velocimetrica è stata anche valutata qualitativamente: presenza di flusso anterogrado in diastole, assenza di flusso anterogrado in telediastole (AEDF, Absent End Diastolic Flow), flusso invertito in telediastole (REDF). Sono stati considerati anormali valori di PI nelle AOmb >95°pc (Arduini D e Rizzo G, 1990) o il riscontro di AEDF/REDF.

- CMA: è stato misurato l'indice di pulsatilità su una traccia di almeno 3 onde consecutive omogenee, ottenuta campionando la CMA in prossimità del poligono del Willis, in assenza di movimenti fetali e mantenendo l'angolo di insonazione entro 20°, il più possibile vicino allo zero. Sono stati considerati anormali valori di PI nelle CMA <5°pc (Arduini D e Rizzo G, 1990).
- CPR: Sulla base dei dati Doppler velocimetrici raccolti a livello delle arterie ombelicali e delle arterie cerebrali medie sono stati calcolati i rapporti cerebroplacentale ratio (CPR). Il rapporto CPR è stato calcolato rapportando il PI – CMA con il PI – UA, ed è stato considerato anormale quando <5°pc (Morales Rosellò J, 2014).

### **Misurazione della portata a carico delle arterie uterine e della vena ombelicale**

Per la quantificazione della portata di flusso ematico nelle AUt è stato evidenziato il decorso di ciascuna arteria uterina mediante il Color-Power Doppler. Ogni vaso è stato campionato per la determinazione del diametro in una sezione perpendicolare a livello del tronco comune: l'immagine è stata ottimizzata portandola a grande ingrandimento, è stato ridotto dimensionalmente il box del Color-Power in modo da evidenziare in scala di grigi una porzione della sezione del vaso e lasciando quella adiacente evidenziata con il Colore. L'ampiezza del lume vascolare è stata quindi misurata come media di tre misurazioni successive sulla porzione dell'immagine in B-mode. È stata misurata la velocità massima e media del flusso ematico nel vaso ed il PI, mediante rotazione di circa 90 gradi della sonda e correzione per l'angolo di insonazione, sempre <30° e quanto più prossimo allo zero. Il flusso ematico (ml/min) è stato calcolato in base alla formula:

$$Q=h*Velmedia*\pi*(D2)^2.$$

Il coefficiente h è stato calcolato secondo il modello fluidodinamico precedentemente sviluppato dal gruppo di Ferrazzi e Rigano (Rigano S, Placenta 2010). La portata uterina totale è stata calcolata come la somma dei valori di portata di entrambe le arterie.

La quantificazione della portata del flusso ematico nella VOmb è stata eseguita su una sezione di ansa libera intra-amniotica del cordone ombelicale, in assenza di movimenti fetali e di atti respiratori. La velocità massima è stata misurata dopo posizionamento del box Colore con

angolo di incidenza  $<20^\circ$  e quanto più possibile prossimo allo zero, triplice misurazione della velocità massima su unico campionamento; successivamente il trasduttore è stato ruotato di  $90^\circ$  fino ad ottenere sezione ortogonale della vena ombelicale in B-mode, l'immagine è stata ottimizzata mediante ingrandimento fino a 2/3 dello schermo, ed il calibro del lume della vena ombelicale è stato calcolato dalla media di 3 valori ottenuti mediante posizionamento dei caliper interno-interno rispetto l'intima del vaso.

La velocità media è stata calcolata secondo la seguente formula:

$$Velmedia=Velmax*0.5.$$

La velocità massima è stata misurata in una fase di flusso con profilo stazionario. Il flusso ematico assoluto nella vena ombelicale (ml/min) è stato calcolato in base alla seguente equazione:

$$Q=(D2)^2*\pi*Velmedia*60.$$

La valutazione della portata del flusso ematico è stata di tipo quantitativo, espresso in ml/min per il valore assoluto (non rapportato al peso fetale stimato) e in ml/min/kg per il valore relativo, ossia rapportato al peso fetale stimato. Per poter calcolare il valore delle portate rapportate al peso stimato, è stata eseguita la biometria fetale ogniqualvolta è stata eseguita la valutazione delle portate, senza però essere riportati nella cartella clinica.

La variabilità della portata ematica nelle AUt e nella VOmb tra due operatori, nonché la variabilità intra-osservatore, è stata valutata su 20 pazienti.

### **Analisi statistica**

Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test ed ispezione visuale sono stati utilizzati per valutare la normalità della distribuzione dei dati. I dati sono rappresentati come mediana e range interquartili (IQR) e come valore assoluto e percento. Test non-parametrici sono stati utilizzati per comparare le mediane delle variabili continue tra due gruppi (Mann Whitney) o gruppi multipli (Kruskal-Wallis seguito da post-hoc Bonferroni analisi per comparazioni multiple). Le proporzioni sono state comparate tramite chi-quadrato o Fisher's exact test. Per la valutazione di correlazioni tra due variabili è stato utilizzato test di correlazione di Spearman.

Modelli di regressione logistica sono stati utilizzati per determinare le associazioni tra la variabile indipendente e le variabili dipendenti, aggiustando per epoca gestazionale alla rilevazione e/o fattori demografici, laddove appropriato. Regressione lineare è stata utilizzata per studiare la relazione tra le portate a carico delle AUt e la VOmb ed i parametri Doppler velocimetrici, aggiustando per epoca gestazionale alla rilevazione. Curve di regressione lineare e quadratica sono state utilizzate per sintetizzare graficamente i valori di portata a carico delle AUt e la VOmb nei controlli.

Per la valutazione della variabilità inter- e intra-osservatore è stato utilizzato il calcolo del coefficiente di correlazione intraclassa (ICC).

L'analisi dei dati è stata eseguita al momento della diagnosi (reclutamento) delle pazienti e all'ultima rilevazione disponibile prima del parto.

L'analisi statistica è stata eseguita con STATA (Stata-Corp, College Station, TX, USA) e con Graphpad Prism.

## RISULTATI

### Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione

In totale sono state reclutate 330 pazienti: 110 donne gravide con feto con AC <10°pc o flessione della crescita fetale di almeno due quantili rispetto al controllo biometrico precedente e 220 donne con gravidanza a basso rischio al momento del reclutamento. Dei 110 casi in 4 (3.6%) non erano disponibili i dati relativi al parto e, pertanto, sono stati esclusi dalla successiva analisi. Delle 220 gravidanze a basso rischio al momento del reclutamento, 35 pazienti (15.9%) sono state escluse per: riscontro di una flessione della crescita fetale (n=6), comparsa di patologie materne (disordini ipertensivi [n=4], diabete gestazionale [n=11], isoimmunizzazione [n=1], cardiopatia materna [n=1]), parto pretermine (n=6), distacco di placenta (n=1), peso neonatale inferiore al 10°percentile (n=5). Inoltre, in 7 casi non erano disponibili i dati relativi al parto. Il gruppo di controllo pertanto è risultato composto da 178 pazienti. La Tabella 1 descrive le caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione reclutata.

**Tabella 1.** Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione. I dati sono espressi in mediana (range interquartile) o come numero (%).

VARIABILE	CONTROLLI (n=178)	CASI (n=106)	P
Età materna (anni)	32.7 (29.30 – 36.45)	32,1 (28.35 – 36.65)	0.83
BMI pregravidico (kg/m <sup>2</sup> )	21.80 (20.20 – 24.00)	20,7 (19.16 – 23.44)	0.10
Primigravide	92 (51.68%)	75 (70.75%)	<0.001
Fumatrici	14 (7.86%)	9 (8.49%)	0.82
Patologie materne			
- Ipertensione gestazionale	0	22 (20.7%)	<0.0001
- Ipertensione cronica	0	4 (3.77%)	0.01
- Diabete gestazionale	0	8 (7.54%)	0.0003
- Diabete pregestazionale	0	1 (0.94%)	0.37
- Ipotiroidismo	0	7 (6.6%)	0.0009
Epoca gestazionale al parto (settimane)	39.86 (39.00 – 40.57)	38.71 (36.68 – 39.86)	<0.0001
Peso neonatale	3365 (3088 – 3620)	2430 (2010 – 2684)	<0.0001
Modalità del parto:			
- Parto vaginale eutocico	130 (73.0 %)	58 (54.71 %)	0.0019
- Parto vaginale operativo (VO)	21 (11.8 %)	7 (6.60 %)	0.212
- Taglio cesareo elettivo	14 (7.8 %)	14 (13.20 %)	0.15
Taglio cesareo urgente	13 (7.3 %)	27 (25.47 %)	<0.0001
Interventi ostetrici per CTG patologico	16 (8,9 %)	21 (19,8 %)	0,01
Esito avverso composito	24 (13%)	53 (50%)	0,0001

*BMI, body mass index. VO, ventosa ostetrica. CTG, cardiotocografia. Esito avverso composito definito come: intervento ostetrico per alterazioni cardiotocografiche o ricovero presso reparto TIN (terapia intensiva neonatale)/Neonatologia o emogas analisi su sangue*

arterioso funicolare al parto con  $pH < 7.10$  o  $Base\ Excess > -12$  (Parra-Saavedra M, 2014; Tchirikov M, 2002).

Non sono state riscontrate differenze significative in termini di età materna, body mass index e proporzione di fumatrici. La proporzione di donne primigravide era significativamente più alta nel gruppo dei casi. Nel gruppo dei controlli, come per disegno dello studio, tutte le pazienti hanno avuto una gravidanza senza complicazioni, hanno partorito a termine neonati con peso neonatale appropriato.

La Tabella 2 rappresenta le variabili Doppler velocimetriche e l'esito neonatale nei casi distinti per epoca gestazionale alla diagnosi.

**Tabella 2.** Variabili Doppler velocimetriche ed esito neonatale nei feti con  $AC < 10^\circ pc$  o flessione della  $AC > 50^\circ pc$  distinti per epoca gestazionale alla diagnosi. I dati sono espressi in mediana (range o interquartile) o come numero (%).

	$\geq 20 - < 25$ settimane (n=7)	$\geq 25 - < 30$ settimane (n= 16)	$\geq 30 - < 34$ settimane (n= 43)	$\geq 34 - < 37$ settimane (n=22)	$\geq 37 - 40$ settimane (n= 18)	P
Epoca gestazionale al reclutamento (settimane)	23 (22-24)	28 (26,2-28)	31 (31-32)	34.5 (34-35)	38 (37-39)	$p < 0.0001$
PI-UtA media	1.46 (0.87-1.52)	1.23 (0.96-1.65)	0.79 (0.68-1.07)	0.75 (0.63-0.86)	0.66 (0.55-0.88)	$P < 0.0001$
PI-AOmb	1.07 (0.88-1.26)	1.27 (1.13-1.46)	1.06 (0.98-1.3)	1.03 (0.94-1.13)	0.96 (0.82-1.07)	$p = 0.0017$
AOMB AREDF (n° pazienti)	1 (14.3%)	1 (6.2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0.05
PI-CMA $< 5^\circ pc$	1.44 (1.38-1.56)	1.87 (1.47-2.31)	1.81 (1.54-2.04)	1.71 (1.52-1.96)	1.32 (1.22-1.51)	$P < 0.0001$
Portata A ut totale (ml/min)	150 (88-212)	165 (77-239)	239 (153-406)	269 (209-392)	331 (285-586)	$p = 0.0003$
Portata A ut relativa ad EFW (ml/min/kg)	358 (242-518)	155 (91-283)	155 (112-279)	132 (106-210)	127 (101-213)	$p = 0.02$
Portata V omb	57	111	127	150	138	$p < 0.0001$

totale (ml/min)	(32-67)	(86-135)	(92-166)	(126-168)	(117-173)	
Portata V omb relativa ad EFW (ml/min/kg)	114 (85-144)	120 (103-144)	94 (68-117)	75 (63-84)	53 (45-64)	p<0.0001
Epoca gestazionale al parto (settimane)	28 (26-38)	34.5 (30-38.5)	39 (37-39)	38 (37.7-39)	39 (38-40)	p<0.0001
Peso alla nascita < 10°pc (n° pazienti)	7 (100%)	12 (75%)	38 (88%)	20 (91%)	13 (72%)	p=0.2
Ricovero in TIN o reparto di Neonatologia (n° pazienti)	7 (100%)	13 (81%)	22 (51%)	14 (63%)	5 (28%)	p=0.002
Esito avverso composito (n° pazienti)	7 (100%)	14 (87%)	22 (51%)	10 (45%)	6 (33%)	p=0.002

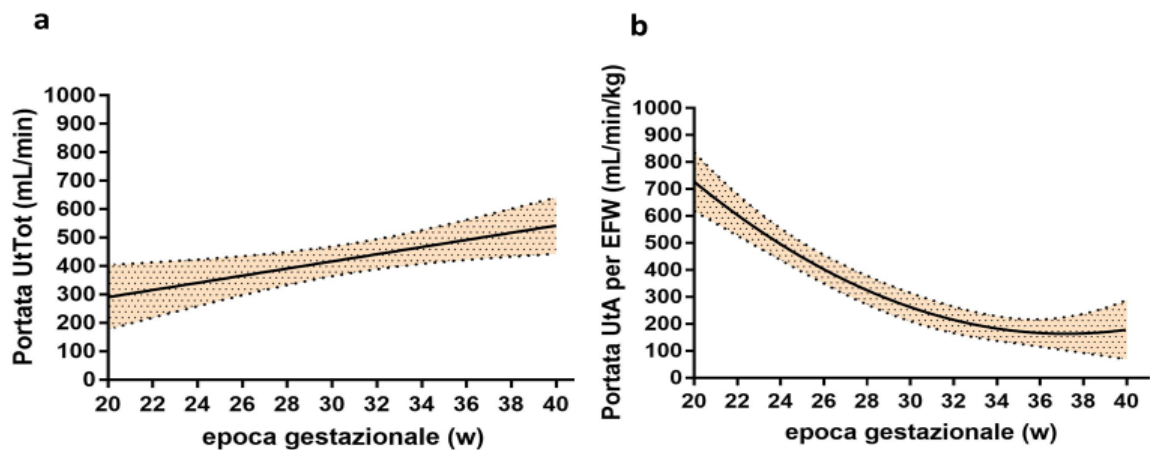
*TIN, Terapia intensiva neonatale. Esito avverso composito definito come: intervento ostetrico per alterazioni cardiotocografiche o ricovero presso reparto TIN/Neonatologia o emogas analisi su sangue arterioso funicolare al parto con pH<7.10 o Base Excess>-12 (Parra-Saavedra M, 2014; Tchirikov M, 2002).*

### **Analisi della riproducibilità intra e inter-operatore**

Per le arterie uterine il coefficiente di correlazione intraclassa (ICC) è stato di 0.94 (95% CI 0.74-0.99) per la variabilità intraoperatore e 0.89 (0.40-0.98) per la variabilità interoperatore. Per la vena ombelicale i valori di ICC intra- e inter-operatore sono stati rispettivamente 0.62 (0.38-0.92) e 0.92 (0.54-0.99).

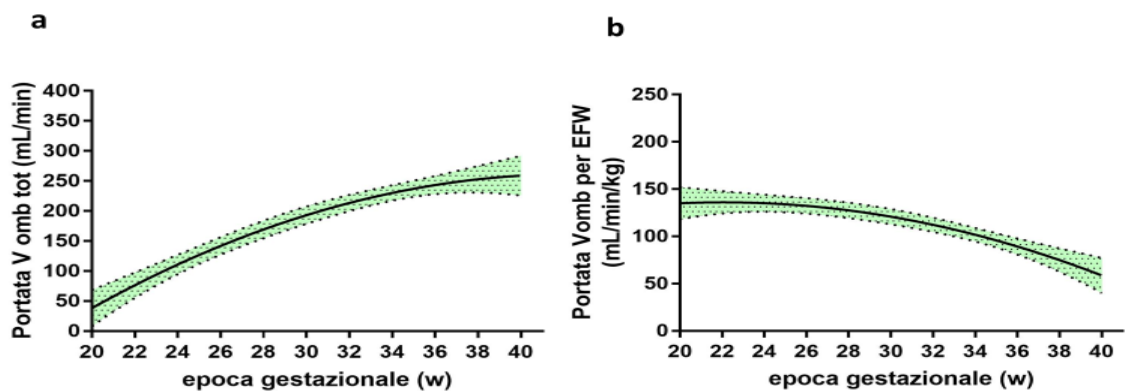
### **Analisi della portata ematica a carico delle AUt e VOmb in relazione all'epoca gestazionale e parametri Doppler utero-placentari e fetali nella gravidanza fisiologica**

La Figura 1 rappresenta l'andamento della portata delle AUt, assoluta e relativa per EFW (d'ora in poi portata relativa), in relazione all'epoca gestazionale. Il flusso ematico uterino totale incrementa con l'avanzare della gravidanza (indice di correlazione Spearman 0.25; p=0.005), mentre la portata uterina relativa diminuisce progressivamente, per stabilizzarsi dopo la 34-a settimana di gestazione (indice di correlazione Spearman -0.65; p<0.0001).



**Figura 1.** Portata a carico delle AUt in relazione all'epoca gestazionale: a) portata AUt assoluta (mL/min); b) portata AUt relativa (mL/min/kg). La linea continua rappresenta la relazione lineare (a) o la relazione quadratica, mentre le linee tratteggiate rappresentano gli intervalli di confidenza 95%.

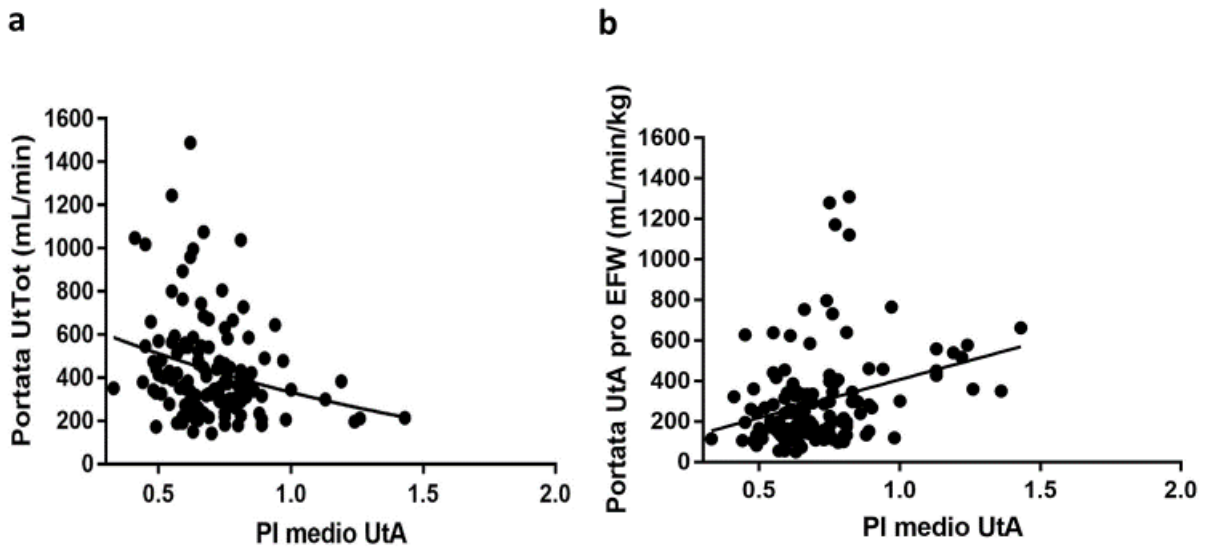
Per quanto riguarda la VOmb si evidenzia un progressivo incremento della portata ematica assoluta (indice di correlazione di Spearman 0.76;  $p < 0.0001$ ), mentre, quando la portata ematica viene rapportata al EFW, esiste una relazione inversa con l'epoca gestazionale (indice di correlazione di Spearman -0.58;  $p < 0.0001$ ), Figura 2.



**Figura 2.** La figura rappresenta la portata ematica a carico della VOmb in relazione all'epoca gestazionale: a) portata VOmb assoluta (mL/min); b) portata VOmb relativa (mL/min/kg). La linea continua rappresenta la relazione quadratica, mentre le linee tratteggiate gli intervalli di confidenza 95%.

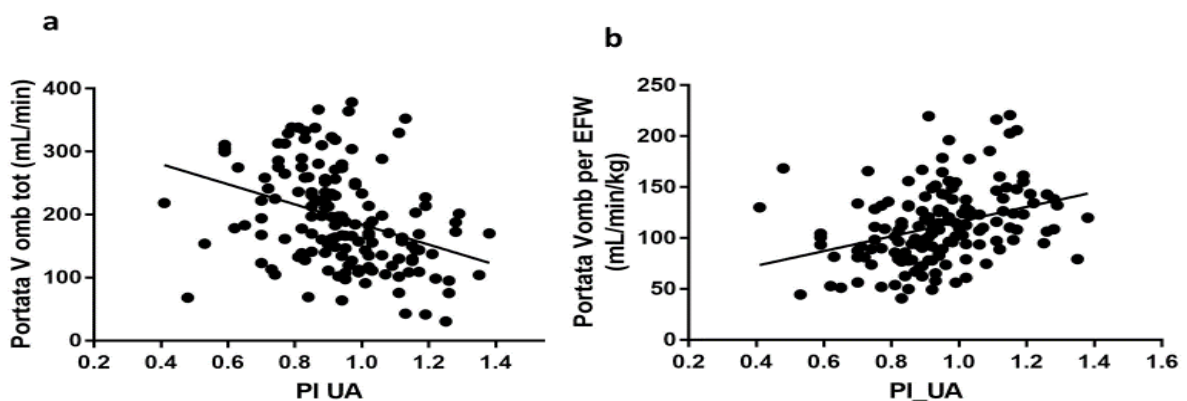
C'è una debole, ma significativa, correlazione inversa tra la portata AUt totale e PI-AUt medio: indice di correlazione di Spearman - 0.24;  $p = 0.006$  (Figura 3.a). Lo stesso è stato

confermato per la portata ematica relativa a carico delle AUt: indice di correlazione di Spearman 0.27;  $p=0.002$  (Figura 3.b).



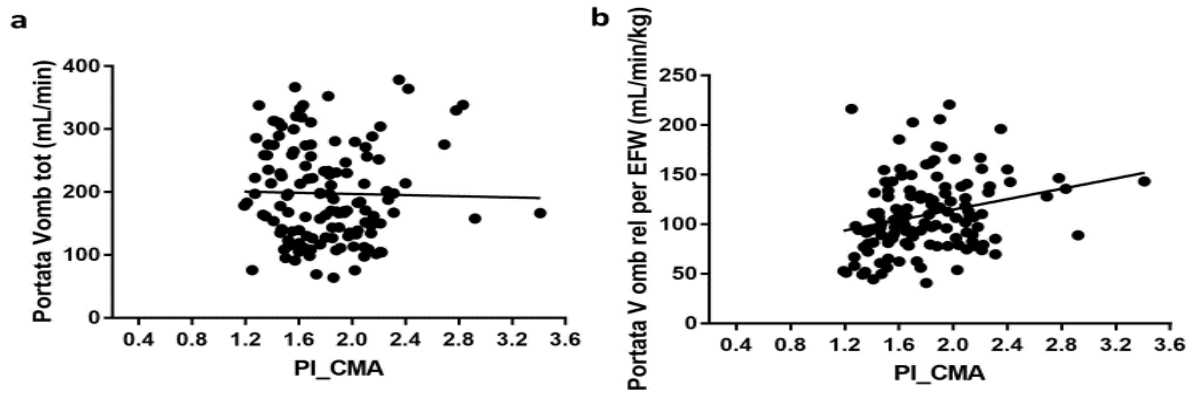
**Figura 3.** Correlazione tra la portata a carico delle AUt e PI-AUt medio: a) portata assoluta (mL/min); b) portata relativa (ml/min/kg).

Esiste una correlazione significativa inversa tra la portata ematica assoluta a carico della VOmb ed il PI-AOmb: indice di correlazione di Spearman -0.41;  $p<0.0001$  (Figura 4.a). La correlazione tra la portata ematica relativa a carico della VOmb ed il PI-AOmb è risultato essere significativo e positivo: indice di correlazione di Spearman 0.40;  $p <0.0001$  (Figura 4.b).



**Figura 4.** Correlazione tra la portata ematica a carico della VOmb ed il PI-AOmb: a) portata assoluta (mL/min); b) portata relativa (mL/min/kg).

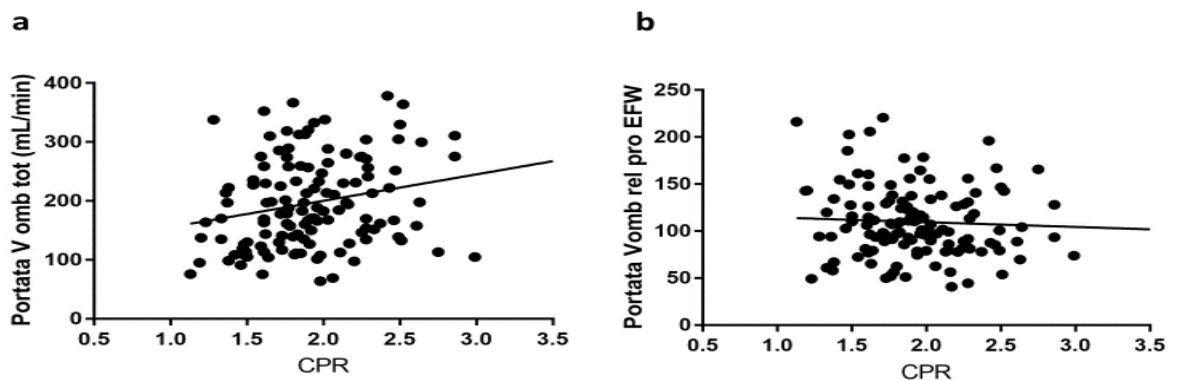
La correlazione tra la portata ematica assoluta a carico della VOmb ed il PI-CMA non è risultata significativa: indice di correlazione di Spearman  $-0.10$ ,  $p=0.2$  (Figura 5.a), mentre c'è una debole, ma significativa, correlazione tra la portata relativa a carico della VOmb ed il PI-CMA: indice di correlazione di Spearman  $0.29$ ;  $p = 0.0008$  (Figura 5.b).



**Figura 5.** Correlazione tra la portata ematica a carico della VOmb e PI-CMA: a) portata assoluta (mL/min); b) portata relativa (mL/min/kg).

La correlazione tra la portata ematica assoluta a carico della VOmb e l'indice CPR è risultata significativa, indice di correlazione di Spearman  $0.25$ ;  $p=0.003$  (Figura 6.a), mentre lo stesso non è risultato vero per la portata ematica relativa (indice di correlazione di Spearman  $-0.07$ ;  $p = 0.37$  (Figura 6.b).

La Tabella 3 rappresenta il riassunto di tutte le correlazioni riscontrate.



**Figura 6.** Correlazione tra la portata ematica a carico della VOmb e l'indice CPR: a) portata assoluta (mL/min); b) portata relativa (mL/min/kg).

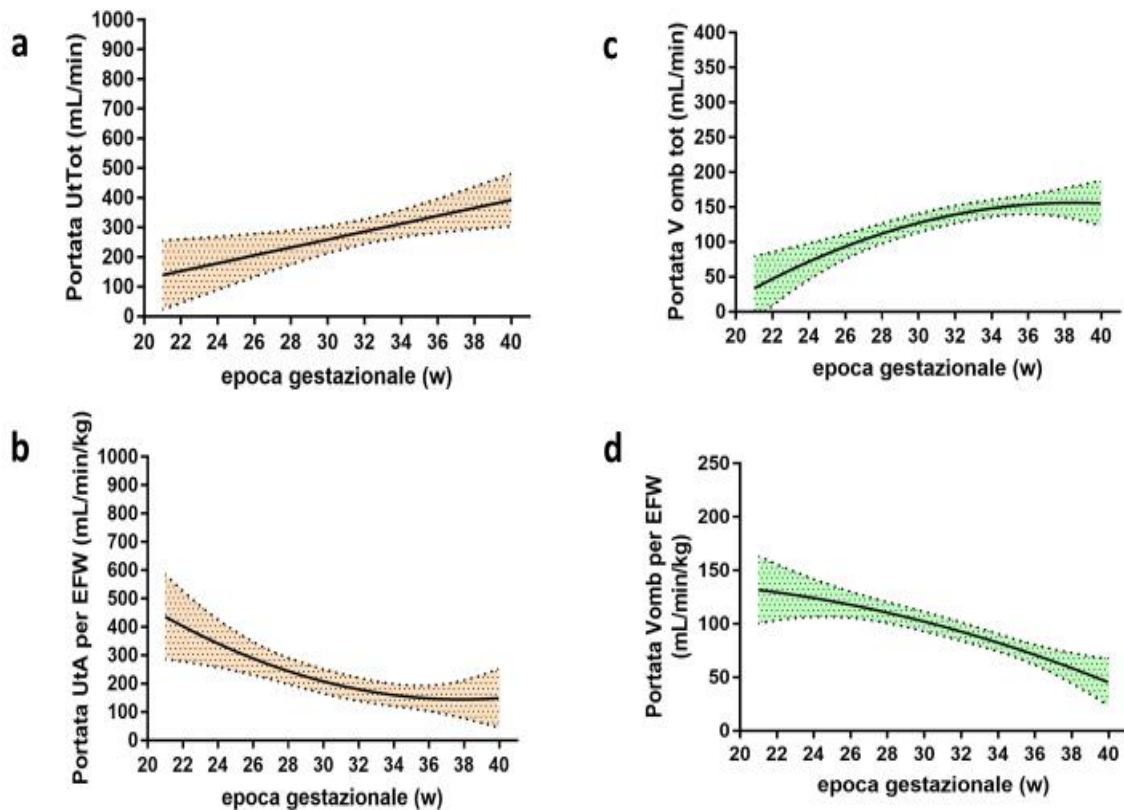
**Tabella 3.** Correlazioni riscontrate tra le portate a carico di AUt e portate a carico di VOmb e i parametri Doppler velocimetrici. I valori indicano l'indice di correlazione di Spearman.

	PI-AUt	p	PI-AOmb	p	PI-CMA	p	CPR	p
Q-AUt assoluta	-0.24	0.006	-	-	-	-	-	-
Q-AUt relativa	0.27	0.002	-	-	-	-	-	-
Q-VOmb assoluta	-	-	-0.41	<0.0001	-0.1	0.2	0.25	0.003
Q-VOmb relativa	-	-	0.4	<0.0001	0.29	0.0008	-0.07	0.4

Q, portata ematica. AUt, arterie uterine. VOmb, vena ombelicale. AOmb, arterie ombelicale. CMA, arteria cerebrale media. CPR, cerebro-placental ratio.

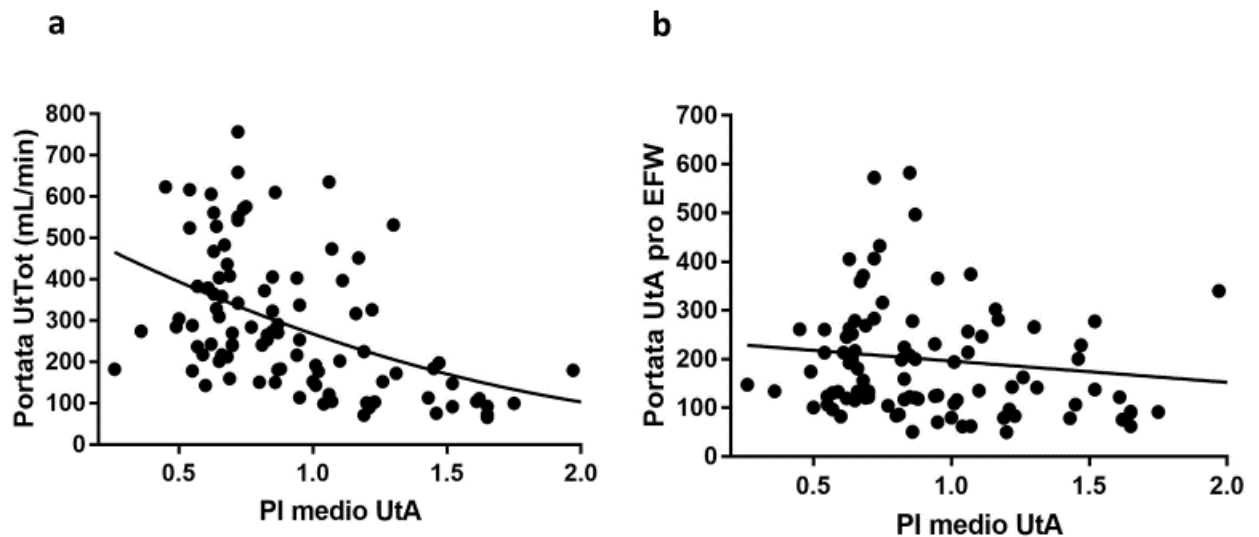
**Analisi della portata ematica a carico delle AUt e VOmb in relazione all'epoca gestazionale e parametri Doppler nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita**

Anche nel gruppo dei feti con CA<10°pc o flessione della crescita il flusso ematico assoluto a carico delle AUt incrementa in relazione all'epoca gestazionale (Figura 7.a), mentre quello relativo diminuisce progressivamente (Figura 7.b). Per quanto riguarda la portata ematica assoluta a carico della VOmb anche questa incrementa in relazione all'epoca gestazionale fino alla 32-34-a settimana, per raggiungere poi un platou (Figura 7.c). La portata ematica relativa a carico della VOmb diminuisce progressivamente (Figura 7.d).



**Figura 7. Portata ematica a carico delle AUt e VOmb nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita in relazione all'epoca gestazionale: a)** portata assoluta a carico delle AUt (mL/min), indice di correlazione di Spearman 0.39,  $p<0.0001$ ; **b)** portata relativa a carico delle AUt (mL/min/kg), indice di correlazione di Spearman -0.29,  $p=0.003$ ; **c)** portata assoluta nella VOmb (mL/min), indice di correlazione di Spearman 0.49,  $p<0.0001$ ; **d)** portata relativa nella VOmb (mL/min/kg), indice di correlazione di Spearman -0.62;  $p<0.0001$ ). Per la figura a) la linea continua rappresenta la relazione lineare, mentre le linee tratteggiate gli intervalli di confidenza 95%. Per le figure b, c e d la linea continua rappresenta la relazione quadratica, mentre le linee tratteggiate gli intervalli di confidenza 95%.

Come per il gruppo dei controlli è stata osservata una correlazione significativa inversa tra la portata AUt assoluta ed PI-AUt medio, indice di correlazione di Spearman -0.55;  $p<0.0001$  (Figura 8.a). Diversamente dai controlli, nel gruppo dei casi la portata ematica relativa a carico delle AUt presenta una debole correlazione inversa: indice di correlazione di Spearman -0.22;  $p=0.02$  (Figura 8.b).

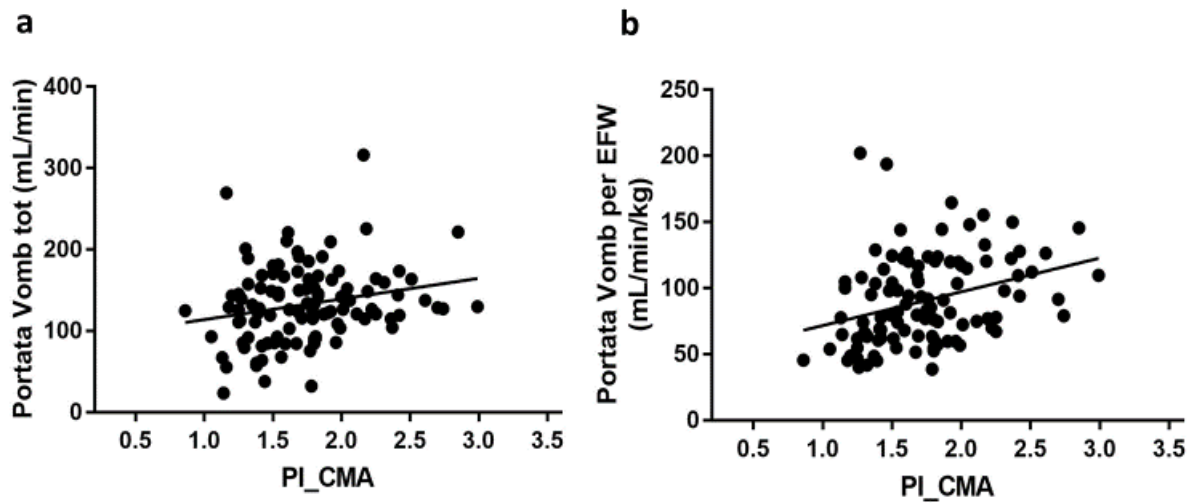


**Figura 8.** Correlazione tra la portata a carico delle AUt e PI-AUt medio: a) portata assoluta (mL/min); b) portata relativa (ml/min/kg).

L'analisi di correlazione tra il PI-AOmb e la portata ematica assoluta e relativa nella VOmb ha confermato quanto già osservato nella popolazione dei controlli, ossia l'esistenza di una debole, ma significativa correlazione tra le due variabili (rispettivamente per la portata assoluta indice di correlazione di Spearman -0.25;  $p=0.01$ ; e per la portata relativa 0.21;  $p=0.03$ ).

Diversamente da quanto evidenziato nella popolazione fisiologica, nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita il PI-CMA presenta una debole correlazione con la portata ematica

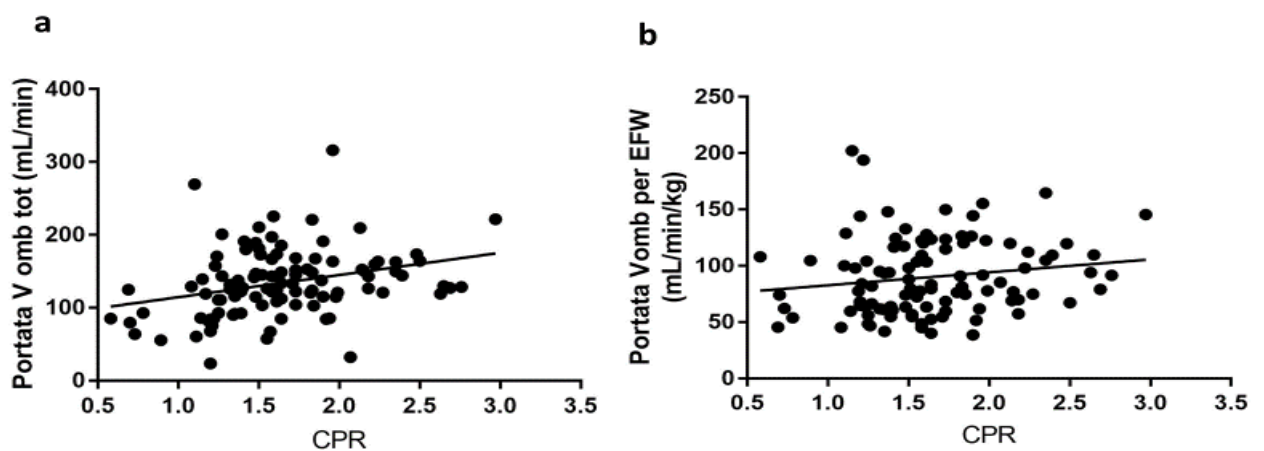
assoluta a livello della VOmb (indice di correlazione di Spearman 0.22;  $p=0.02$ ) (Figura 9.a), mentre invece persiste una relazione con la portata relativa a carico della vena ombelicale (indice di correlazione di Spearman 0.37;  $p<0.0001$ ) (Figura 9.b).



**Figura 9.** Correlazione tra la portata ematica a carico della VOmb ed il PI-CMA: **a)** portata assoluta (mL/min); **b)** portata relativa (mL/min/kg).

L'indice CPR correla con la portata assoluta a carico della VOmb (indice di correlazione di Spearman 0.35;  $p=0.0002$ ) (Figura 10.a) mentre, per quanto riguarda la portata relativa questa relazione è risultata ai limiti della significatività statistica (indice di correlazione di Spearman 0.19;  $p=0.058$ ) (Figura 10.b).

La Tabella 4 rappresenta il riassunto di tutte le correlazioni riscontrate.



**Figura 10.** Correlazione tra la portata ematica a carico della VOmb e l'indice CPR: a) portata assoluta (mL/min); b) portata relativa (mL/min/kg).

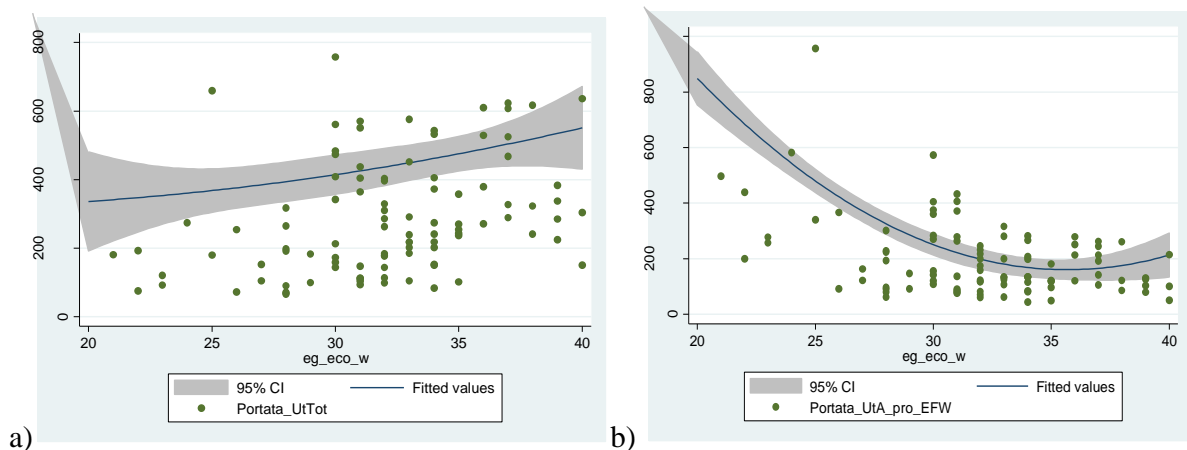
**Tabella 4.** Correlazioni riscontrate tra le portate, assolute e relative a carico delle AUt e VOmb e i parametri Doppler velocimetrici. I valori rappresentano l'indice di correlazione di Spearman.

	PI-AUt	p	PI-AOmb	P	PI-CMA	P	CPR	p
Q-AUt assoluta	-0.55	<0.0001	-	-	-	-	-	-
Q-AUt relativa	-0.22	0.02	-	-	-	-	-	-
Q-VOmb assoluta	-	-	0.25	0.01	0.22	0.02	0.35	0.0002
Q-VOmb relativa	-	-	0.21	0.03	0.37	<0.0001	0.19	0.06

Q, portata ematica. AUt, arterie uterine. VOmb, vena ombelicale. AOmb, arterie ombelicale. CMA, arteria cerebrale media. CPR, cerebro-placental ratio.

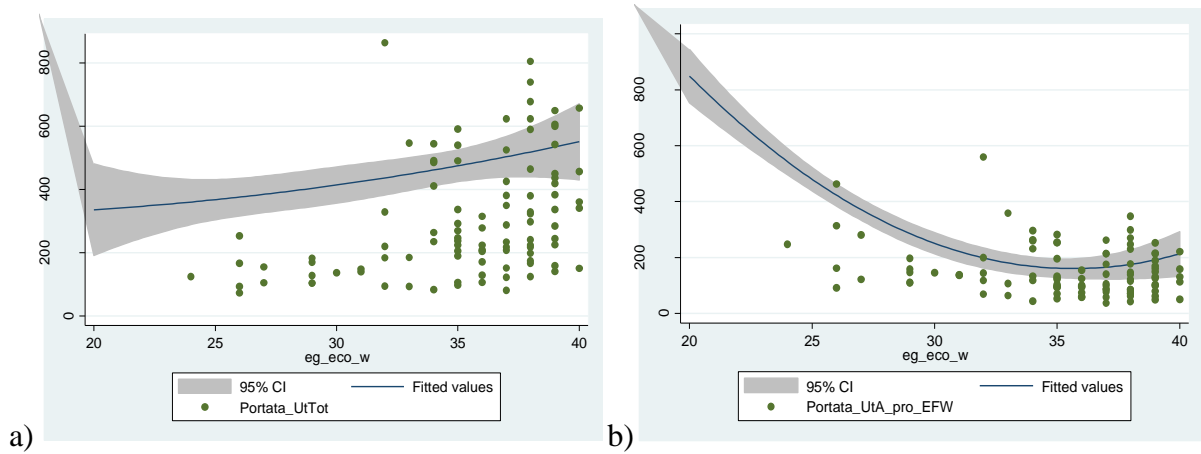
**Confronto della portata ematica a carico delle AUt e della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita**

La Figura 11 è una rappresentazione grafica del confronto tra la portata ematica assoluta (Figura 11.a) e relativa (Figura 11.b) a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita, al momento della diagnosi. Alla regressione logistica, aggiustata per epoca gestazionale, sia la portata assoluta che relativa a carico delle AUt sono risultate essere significativamente più basse nei feti con CA<10°pc o rallentamento della crescita (p<0.0001 e p=0.0005, rispettivamente).



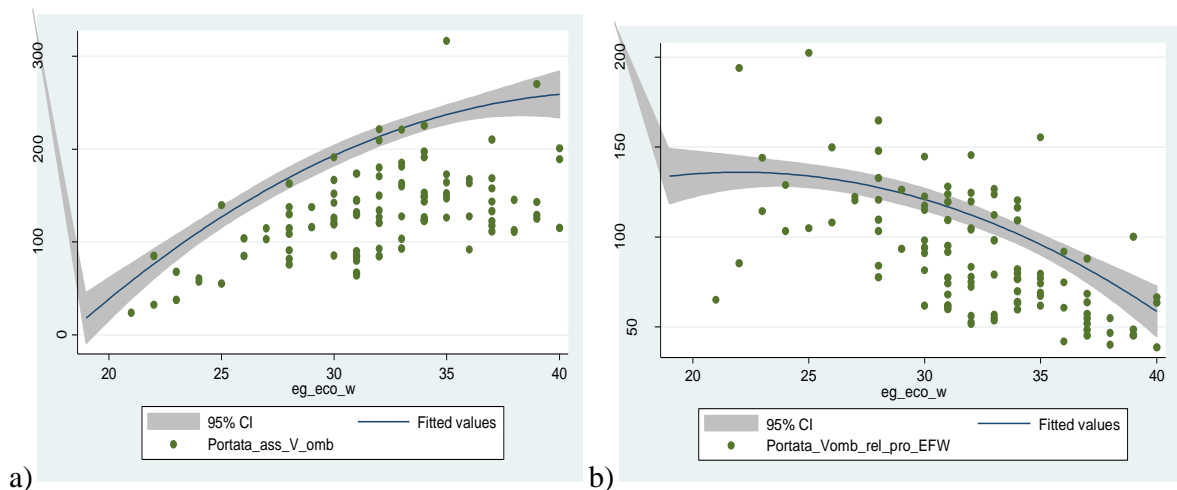
**Figura 11.** Portata ematica a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc e rallentamento di crescita (punti verdi), al momento della diagnosi. Pannello a) portata ematica assoluta; pannello b) portata ematica relativa.

La Figura 12 rappresenta lo stesso confronto però all'ultima rilevazione disponibile prima del parto.

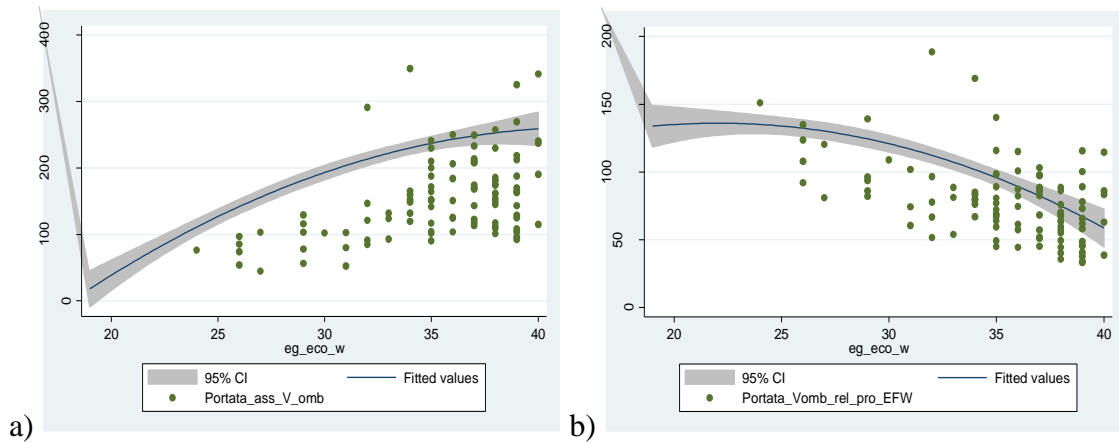


**Figura 12.** Portata ematica a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc e rallentamento di crescita (punti verdi), all’ultima rilevazione prima del parto. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale p<0.0001); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale p=0.04).

Al modello della regressione logistica, dopo aver aggiustato per epoca gestazionale, il flusso ematico a carico della VOmb, al momento della diagnosi, è risultato essere significativamente più basso nei feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita, sia per il valore assoluto (p<0.0001) sia per il valore relativo (p<0.0001) (Figura 13). Lo stesso andamento è stato confermato all’ultima rilevazione disponibile prima del parto (Figura 14).



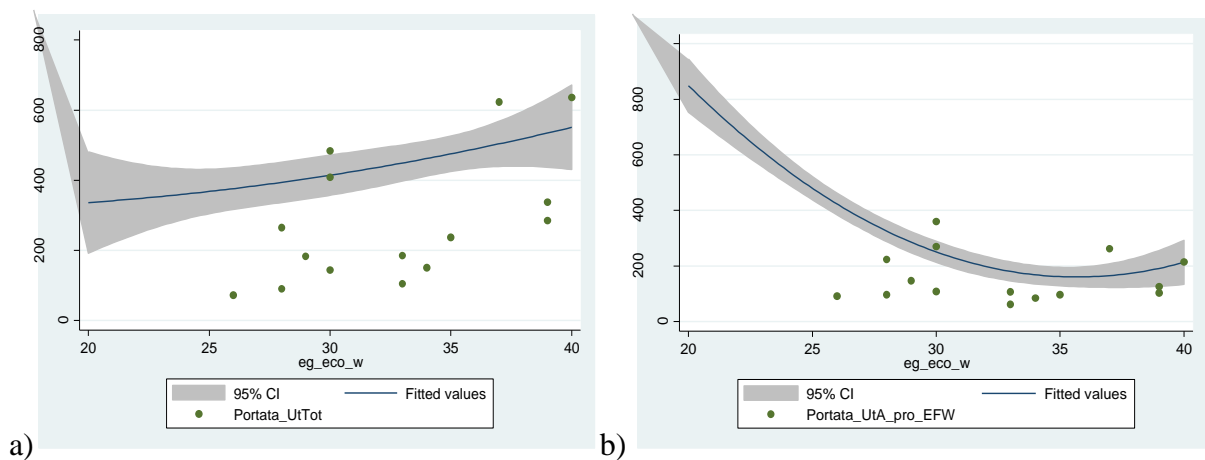
**Figura 13.** Portata ematica a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita (punti verdi), alla diagnosi. Pannello a) portata ematica assoluta; pannello b) portata ematica relativa.



**Figura 14.** Portata ematica a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita (punti verdi), all’ultima rilevazione prima del parto. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale p<0.0001); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale p=0.0001).

***Analisi della popolazione in base al percentile del peso alla nascita***

Tra le pazienti reclutate con CA< al 10°pc o flessione della crescita fetale abbiamo rilevato 16 casi in cui il peso neonatale era >10°pc per le curve di riferimento (Bertino E, 2010), di cui 14 pazienti monitorate per AC<10°pc e 2 reclutate per flessione di crescita. La Figura 15 e 16 rappresentano, rispettivamente, la portata a carico delle AUt e della VOmb, assoluta e relativa, al momento della diagnosi di questi 16 casi. I feti con CA<10°pc o flessione di crescita con il peso neonatale >10°pc presentano portata ematica a carico delle AUt e VOmb significativamente ridotta rispetto ai feti con crescita e peso neonatale appropriati per epoca gestazionale. Da notare che la maggior parte delle “discrepanze” tra la valutazione ecografica della crescita fetale e il peso alla nascita si è verificato prima della 35-a settimana.



**Figura 15.** Portata ematica a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita e peso neonatale >10°pc (punti verdi),

alla diagnosi. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale  $p=0.005$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale  $p=0.04$ ).

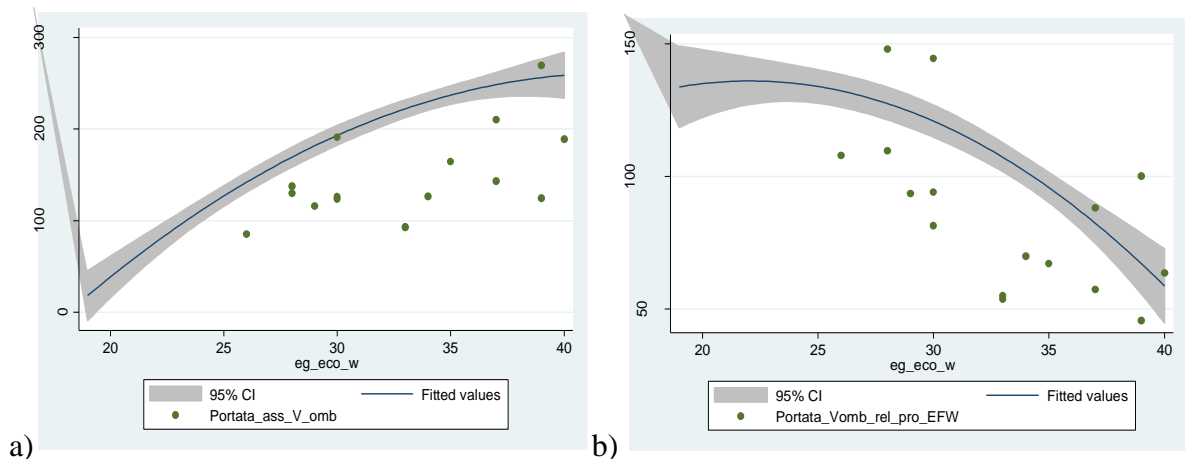


Figura 16. Portata ematica a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o rallentamento di crescita e peso neonatale  $> 10^{\circ}pc$  (punti verdi), alla diagnosi. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale  $p < 0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale  $p = 0.04$ ).

In seguito a questo riscontro i feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione di crescita e peso neonatale  $> 10^{\circ}pc$  sono stati inclusi nelle successive analisi.

***Analisi della portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb in relazione alla Doppler velocimetria dei distretti utero-placentari e fetali***

Trenta-due pazienti con feto con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione di crescita al momento della diagnosi hanno presentato anche  $PI-AUt$  medio  $> 95^{\circ}pc$ . La Figura 17 rappresenta la portata ematica assoluta e relativa a carico delle AUt distinte a seconda di  $PI-AUt$  medio ( $< 95^{\circ}pc$ ). La regressione logistica, aggiustata per epoca gestazionale, ha dimostrato differenze significative di portata assoluta a carico delle AUt nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita rispetto ai controlli, indipendentemente dal riscontro di  $PI-AUt$  medio (Figura 17.a). Viceversa, differenze significative sono state riscontrate solo per la portata relativa a carico delle AUt nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o rallentamento di crescita e con  $PI-AUt > 95^{\circ}pc$  (Figura 17.b). Tali riscontri sono stati osservati anche nell'analisi dei dati relativi all'ultima rilevazione ecografica (36 feti con  $PI-AUt > 95^{\circ}pc$ ) (Figura 18).

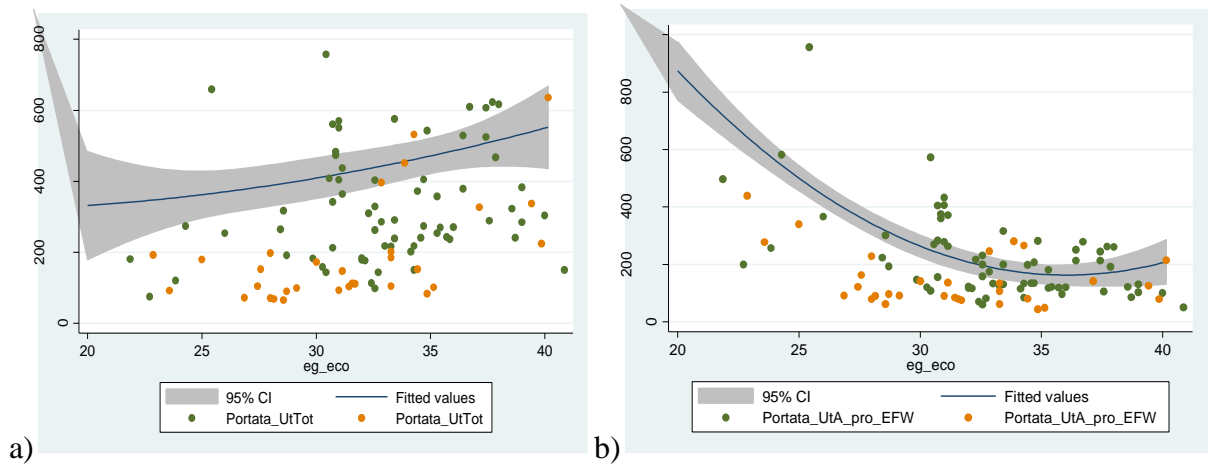


Figura 17. Portata ematica alla diagnosi a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita distinti per PI-AUt medio (punti arancioni: PI-AUt>95°pc, n=32; punti verdi: PI-AUt<95°pc, n=74). Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi p<0.0001); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con PI-AUt>95°pc p<0.0001; feti con PI-AUt<95°pc p=0.09).

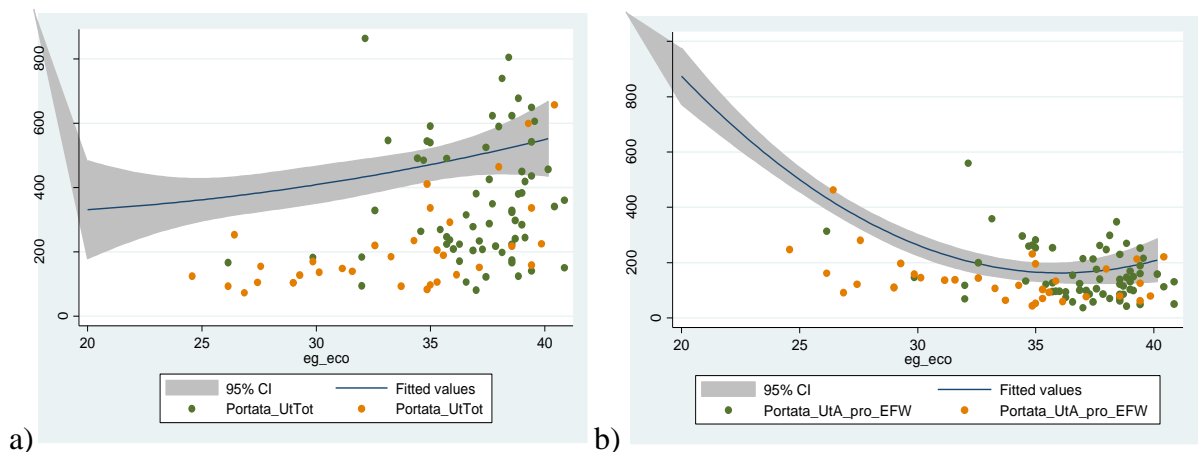


Figura 18. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita distinti per PI-AUt medio (punti arancioni: PI-AUt>95°pc, n=36; punti verdi: PI-AUt<95°pc, n=69). Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi p<0.0001); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con PI-AUt>95°pc p<0.0001; feti con PI-AUt<95°pc p=1.0).

Sette feti hanno presentato alterazioni Doppler velocimetriche a carico dell'AOMB (PI>95°pc o ARED) al momento della diagnosi. La Figura 19 rappresenta la portata ematica, assoluta e relativa, a carico della VOmb distinta seconda le alterazioni Doppler velocimetriche in AOmb. La regressione logistica, aggiustata per epoca gestazionale, ha dimostrato differenze significative di portata ematica, assoluta e relativa, a carico della VOmb nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita rispetto ai controlli, indipendentemente dal riscontro di

AOMB (Figura 19). Tali riscontri sono stati osservati anche nell'analisi dei dati relativi all'ultima rilevazione ecografica (12 feti con alterazioni Doppler velocimetriche a carico di AOMB) (Figura 20).

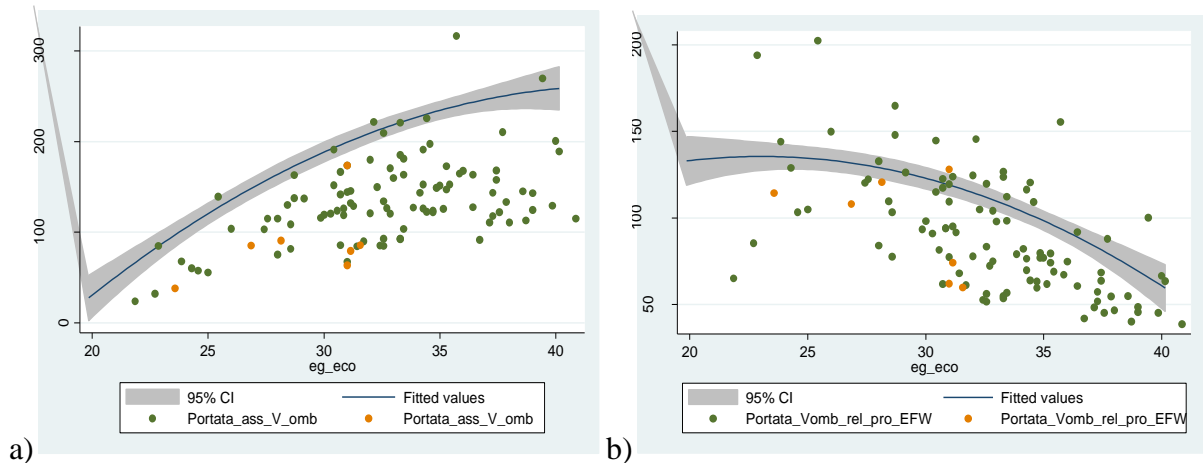


Figura 19. Portata ematica alla diagnosi a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita distinti per alterazioni Doppler velocimetriche a carico dell'AOMB (punti arancioni: AOMB alterata, n=7; punti verdi: AOMB normale, n=99). Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi p<0.0001); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con AOMB alterata p<0.0001; feti con AOMB normale p=0.04).

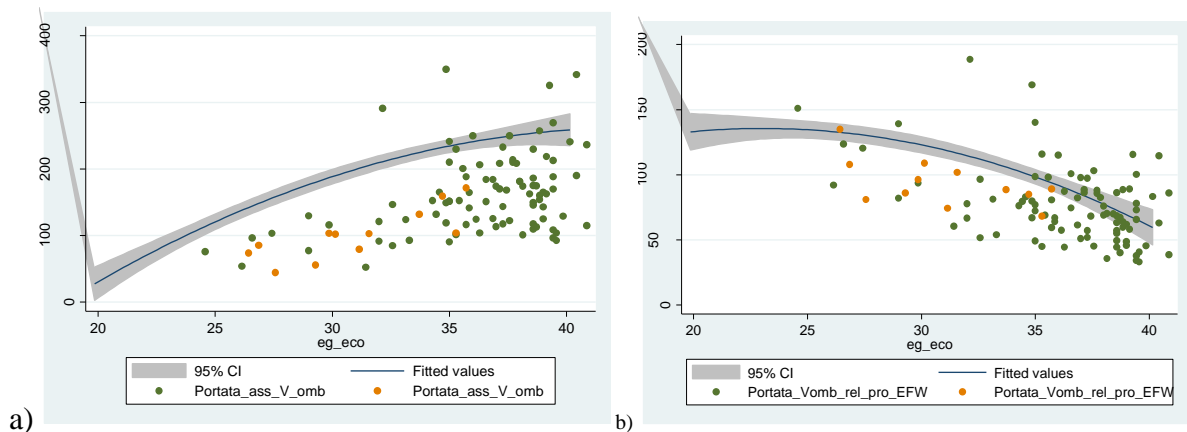


Figura 20. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita distinti per alterazione Doppler velocimetrica in arteria ombelicale (punti arancioni: AOMB alterata, n=12; punti verdi: AOMB normale, n=94). Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi p<0.0001); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con AOMB alterata p<0.0001; feti con AOMB normale p=0.03).

Diciotto feti hanno presentato PI-CMA<5°pc al momento della diagnosi. La Figura 21 rappresenta la portata ematica, assoluta e relativa, a carico della VOmb distinta a seconda del

valore di PI-CMA ( $<5^{\circ}\text{pc}$ ). La regressione logistica, aggiustata per epoca gestazionale, ha dimostrato differenze significative di portata ematica a carico della VOmb assoluta e relativa nei feti con CA $<10^{\circ}\text{pc}$  o flessione della crescita rispetto ai controlli, indipendentemente dal riscontro di PI-CMA (Figura 21). Tali riscontri sono stati osservati anche nell'analisi dei dati relativi all'ultima rilevazione ecografica (24 feti con PI-CMA $<5^{\circ}\text{pc}$ ) (Figura 22).

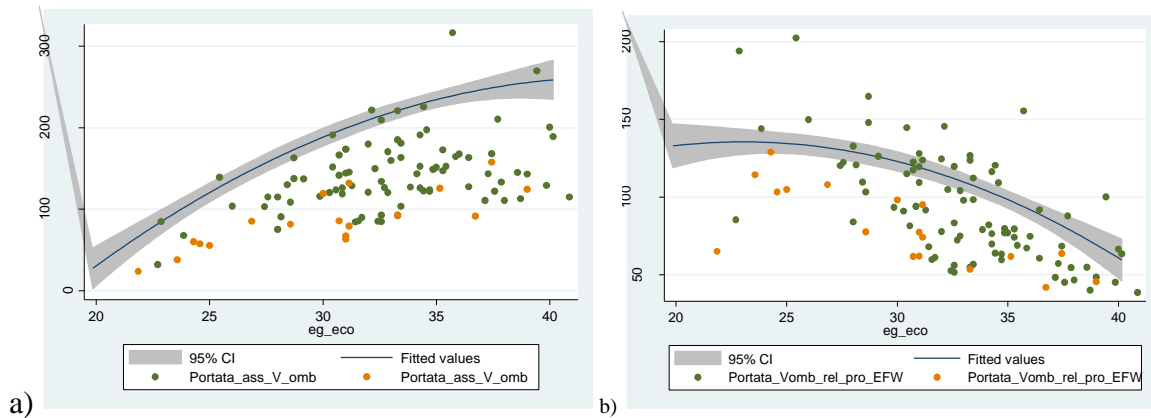


Figura 21. Portata ematica alla diagnosi a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA $<10^{\circ}\text{pc}$  o rallentamento di crescita distinti per PI-CMA (punti arancioni: PI-CMA $<5^{\circ}\text{pc}$ , n=18; punti verdi: PI-CMA $>5^{\circ}\text{pc}$ , n=87). Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi p $<0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con PI-CMA $<5^{\circ}\text{pc}$  p $<0.0001$ ; feti con PI-CMA $>5^{\circ}\text{pc}$  p=0.005).

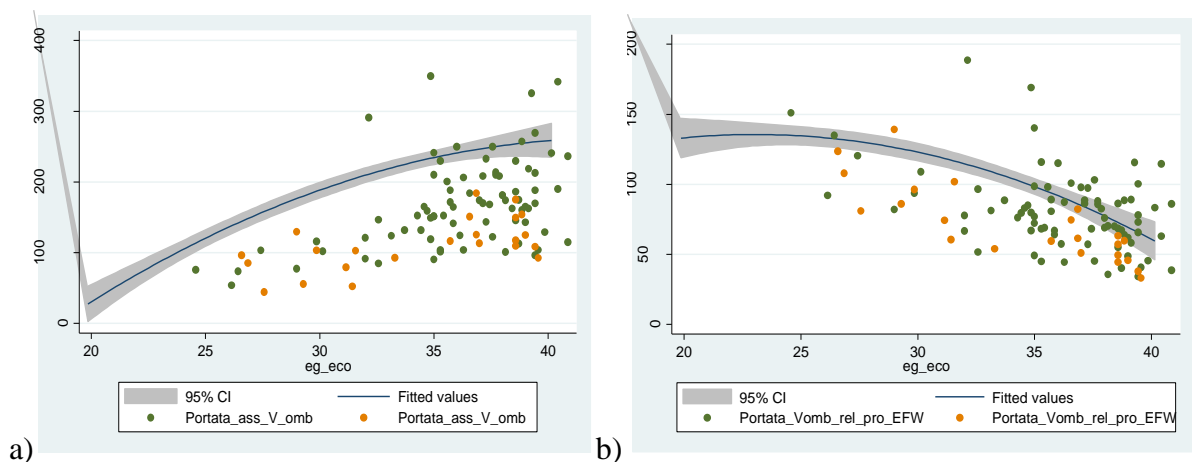


Figura 22. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA $<10^{\circ}\text{pc}$  o rallentamento di crescita distinti per PI-CMA (punti arancioni: PI-CMA $<5^{\circ}\text{pc}$ , n=24; punti verdi: PI-CMA $>95^{\circ}\text{pc}$ , n=81). Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi p $<0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con PI-CMA $<5^{\circ}\text{pc}$  p $<0.0001$ ; feti con PI-CMA $>95^{\circ}\text{pc}$  p=0.008).

Dati simili sono stati ottenuti per l'analisi a seconda dell'indice CPR (dati non presentati).

## Analisi della portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita e Doppler velocimetria regolare nei distretti utero-placentari e fetali

Successivamente, abbiamo voluto indagare eventuali differenze a carico della portata ematica, assoluta e relativa, delle AUt e VOmb nei feti con CA<10°pc e flessione della crescita fetale con o senza altri indici Doppler velocimetrici regolari, sia al momento della diagnosi sia all'ultima rilevazione prima del parto.

Al momento della diagnosi del feto con CA<10°pc o flessione della crescita abbiamo identificato 65 feti con tutti i parametri Doppler velocimetrici considerati (AUt, AOmb e CMA) normali e 41 con alterato almeno uno. La portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt, è risultata essere significativamente più bassa nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita anche in assenza di qualsiasi altra alterazione Doppler velocimetrica (Figura 23). Gli stessi risultati sono stati trovati per la portata ematica, assoluta e relativa, a carico della VOmb (Figura 24).

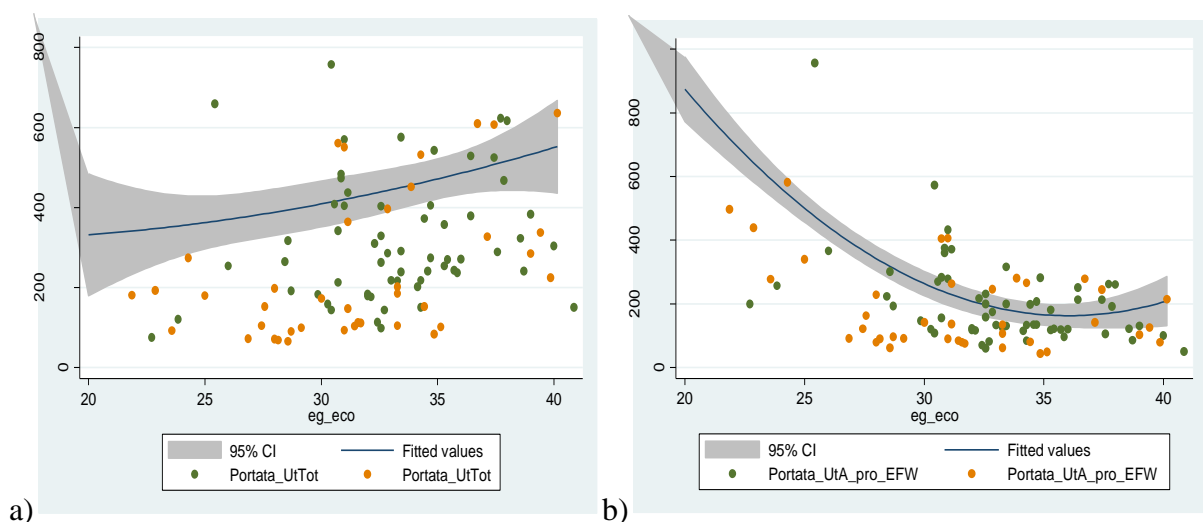


Figura 23. Portata ematica alla diagnosi a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con CA<10°pc o rallentamento di crescita distinti per presenza (punti arancioni, n=41) o meno (punti verdi, n=65) di almeno una alterazione Doppler velocimetrica nei distretti utero-placentari e fetali. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi  $p<0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con almeno una alterazione Doppler  $p<0.0001$ ; feti senza alcuna alterazione Doppler  $p=0.047$ ).

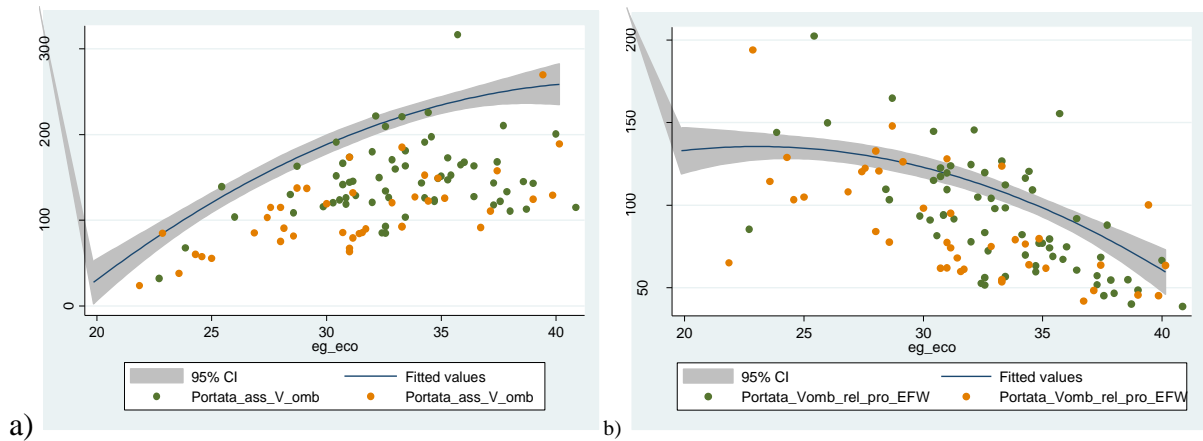


Figura 24. Portata ematica alla diagnosi a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con  $CA < 10^\circ pc$  o rallentamento di crescita distinti per presenza (punti arancioni,  $n=41$ ) o meno (punti verdi,  $n=65$ ) di almeno una alterazione Doppler velocimetrica nei distretti utero-placentari e fetali. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi  $p < 0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con almeno una alterazione Doppler  $p < 0.0001$ ; feti senza alcuna alterazione Doppler  $p = 0.01$ ).

Per quanto riguarda l'ultima valutazione disponibile prima del parto abbiamo identificato 54 feti con  $CA < 10^\circ pc$  o flessione della crescita e nessun'altra alterazione Doppler nei distretti indagati e 52 feti con alterato almeno un distretto. La portata ematica assoluta a carico delle AUt è risultata essere significativamente più bassa nei feti con  $CA < 10^\circ pc$  o flessione della crescita anche in assenza di qualsiasi altra alterazione Doppler velocimetrica (Figura 25.a), mentre la portata ematica relativa non ha dimostrato differenze significative (25.b). La portata ematica a carico della VOmb, assoluta e relativa, è risultata essere significativamente più bassa nei feti con  $CA < 10^\circ pc$  o flessione della crescita anche in assenza di qualsiasi altra alterazione Doppler velocimetrica (Figura 26).

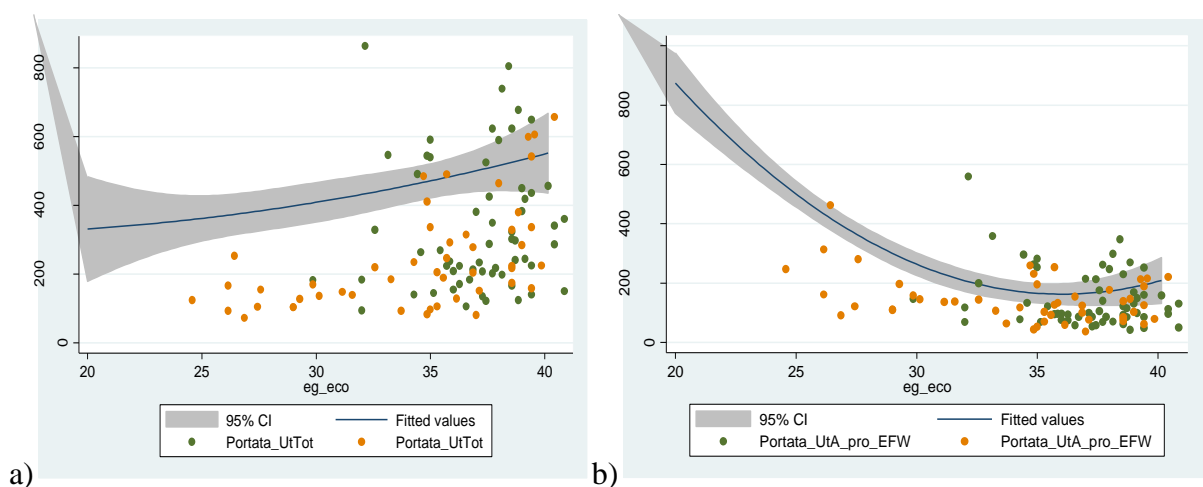


Figura 25. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con  $CA < 10^\circ pc$  o rallentamento di crescita distinti per presenza (punti arancioni,  $n=52$ ) o meno (punti verdi,  $n=54$ ) di almeno una alterazione

Doppler velocimetrica nei distretti utero-placentari e fetali. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi  $p < 0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: feti con almeno una alterazione Doppler  $p = 0.0002$ ; feti senza alcuna alterazione Doppler  $p = 0.6$ ).

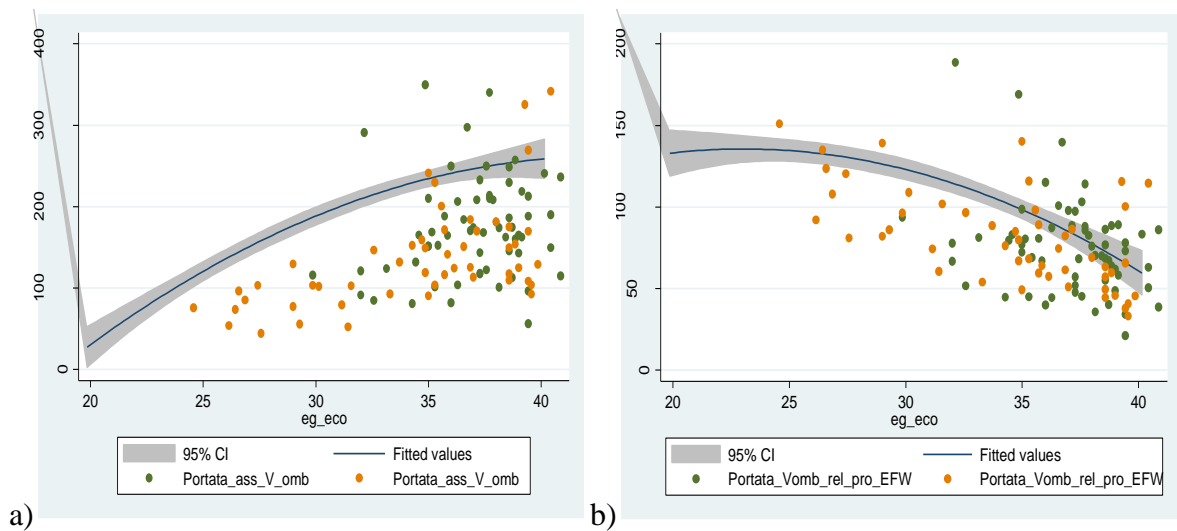


Figura 26. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o rallentamento di crescita distinti per presenza (punti arancioni,  $n = 52$ ) o meno (punti verdi,  $n = 54$ ) di almeno una alterazione Doppler velocimetrica nei distretti utero-placentari e fetali. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale: entrambi  $p < 0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (feti con almeno una alterazione Doppler  $p < 0.0001$ ; feti senza alcuna alterazione Doppler  $p = 0.003$ ).

### Analisi della portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb in relazione all'esito avverso alla nascita

Successivamente, abbiamo voluto esplorare l'associazione tra la portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb ed esito neonatale avverso composito nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita e Doppler utero-placentare e fetale regolare. Ricordiamo che l'esito avverso composito neonatale è stato definito come la presenza di almeno uno dei seguenti criteri: necessità di eseguire un intervento ostetrico per presenza di CTG patologico, pH neonatale nella arteria ombelicale  $< 7,10$  o  $BE < -12$ , ricovero presso TIN (Parra-Saavedra, 2013; Tchirikov M, 2002). Sono stati identificati 14 casi che presentavano almeno uno di questi parametri. È stata valutata solo l'ultima valutazione prima del parto.

La Figura 27 rappresenta i dati relativi alla portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt, mentre la Figura 28 i dati relativi alla portata ematica, assoluta e relativa, a carico della VOmb.

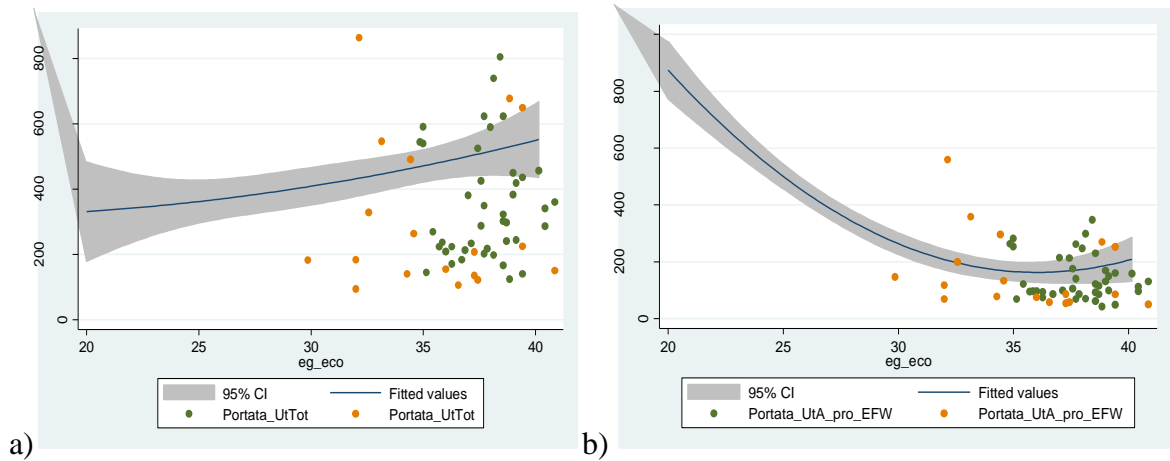


Figura 27. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico delle AUt nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o rallentamento di crescita con parametri Doppler regolari e distinti per presenza (punti arancioni,  $n=14$ ) o meno (punti verdi,  $n=40$ ) di esito avverso composito alla nascita. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale e confronto rispetto ai controlli: entrambi  $p < 0.0001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale e confronto rispetto ai controlli: feti senza esito neonatale avverso  $p=0.4$ ; feti con esito neonatale avverso  $p=0.6$ , rispettivamente).

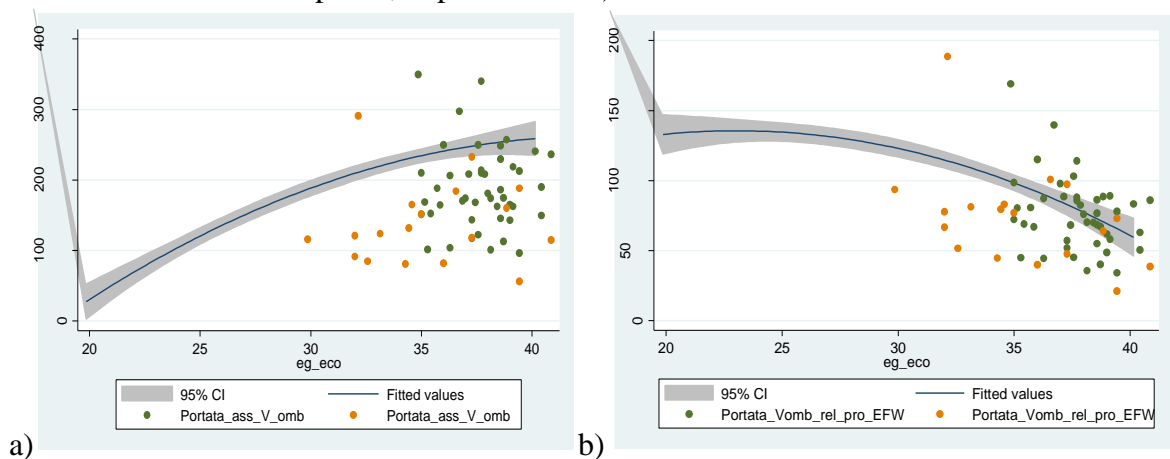


Figura 28. Portata ematica all'ultima rilevazione a carico della VOmb nei feti con crescita appropriata per epoca gestazionale (linea continua: regressione quadratica; linee tratteggiate: intervalli di confidenza 95%) e feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o rallentamento di crescita con parametri Doppler regolari e distinti per presenza (punti arancioni,  $n=14$ ) o meno (punti verdi,  $n=40$ ) di esito avverso composito alla nascita. Pannello a) portata ematica assoluta (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale e confronto rispetto ai controlli: entrambi  $p < 0.001$ ); pannello b) portata ematica relativa (regressione logistica aggiustata per epoca gestazionale e confronto rispetto ai controlli: feti senza esito neonatale avverso  $p=0.06$ ; feti con esito neonatale avverso  $p=0.004$ , rispettivamente).

# DISCUSSIONE

## Principali riscontri dello studio

1. Durante il secondo e terzo trimestre di gravidanza la portata assoluta a carico delle AUt e della VOmb incrementa con l'epoca gestazionale, mentre quella relativa al EFW si riduce. Nei feti con  $AC < 10$  pc o flessione della crescita fetale, i valori delle portate, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb sono ridotti rispetto alle gravidanze fisiologiche;
2. Nella gravidanza fisiologica, c'è una correlazione inversa tra la portata assoluta a carico di AUt e PI-AUt medio. Lo stesso tipo di correlazione vale per la portata assoluta a carico della VOmb e PI-AOmb, mentre, in condizioni di fisiologia, sembrano non esserci correlazioni tra la portata assoluta a carico della VOmb e PI-CMA.
3. Nella gravidanza fisiologica, la portata relativa a carico delle AUt ha dimostrato una correlazione positiva con AUt-PI medio. Lo stesso vale per la portata relativa a carico della VOmb e PI-AOmb. Inoltre, è risultata una lieve correlazione tra la portata relativa a carico della VOmb e PI-CMA;
4. Nei feti con  $CA < 10^{\circ}$  pc o flessione della crescita, c'è una correlazione inversa tra la portata assoluta a carico di AUt e PI-AUt medio. Risultato simile, ma una correlazione di entità più debole, è stata riscontrata per la portata relativa.
5. Nei feti con  $CA < 10^{\circ}$  pc o flessione della crescita, similmente a quanto osservato per la gravidanza fisiologica, c'è una correlazione inversa tra la portata assoluta in VOmb e PI-AOmb e una correlazione positiva tra la portata relativa in VOmb e PI-AOmb. C'è inoltre una correlazione positiva per la portata assoluta e relativa a carico delle VOmb e PI-CMA;
6. Anche nei feti reclutati per  $AC < 10^{\circ}$  pc o flessione della crescita fetale, che alla nascita presentavano un peso  $> 10^{\circ}$  percentile di peso neonatale, le portate, assolute e relative, a carico delle AUt e della VOmb sono risultate ridotte rispetto a feti con crescita appropriata per epoca di gestazione;
7. Nei feti con  $CA < 10^{\circ}$  pc o flessione della crescita e con almeno una alterazione Doppler a carico di AUt, AOmb e CMA, le portate assolute e relative a carico delle AUt e VOmb sono risultate più basse rispetto ai feti con crescita appropriata. Questo riscontro è vero sia al momento della diagnosi, sia all'ultima rilevazione. Inoltre

questo riscontro è vero anche analizzando singolarmente per parametro Doppler velocimetrico alterato;

8. Feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione di crescita e senza alcuna alterazione Doppler (PI-AUt medio  $< 95^{\circ}pc$ ; PI AOmb  $< 95^{\circ}pc$ , assenza di AEDF/REDF; e PI CMA  $> 5^{\circ}pc$ ) al momento della diagnosi presentano la portata assoluta e relativa a carico delle AUt e VOmb significativamente più basse rispetto ai feti con crescita appropriata per epoca di gestazione. Questo dato è confermato anche all'ultima rilevazione prima del parto, tranne che per la portata relativa a carico delle AUt. PI medio AUt  $> 95^{\circ}pc$ ; PI AOmb  $> 95^{\circ}pc$  o AEDF/REDF; PI CMA  $< 5^{\circ}pc$ ;
9. Feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita, senza alcuna alterazione Doppler velocimetrica, e che hanno avuto un esito avverso alla nascita, come definito dall'esito composito, hanno presentato all'ultima rilevazione le portate assolute a carico delle AUt e VOmb più basse rispetto ai feti con esito normale. Lo stesso è stato confermato per la portata relativa a carico della VOmb, mentre non ci sono state differenze significative per la portata relativa a carico delle AUt.

### **Analisi della portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb in relazione all'epoca gestazionale**

I nostri dati indicano che, durante il secondo ed il terzo trimestre di gravidanza esiste un progressivo incremento della portata assoluta a carico delle AUt mentre, quando questa viene rapportata al EFW si osserva una progressiva riduzione del rapporto. Questi dati sono in linea con quelli osservati da altri Autori (Konje, 2001; Rigano, 2010; Flo, 2010). Infatti, durante il secondo e terzo trimestre di gravidanza esiste un incremento esponenziale delle dimensioni fetali, che supera l'incremento del flusso assoluto delle portate uterine, portando pertanto ad una riduzione progressiva della portata rapportata al peso fetale. L'incremento del flusso a carico delle AUt è finalizzato al supporto delle richieste metaboliche fetali e placentari crescenti, nonché a quelle di un utero di maggiori dimensioni. Su questa base, si potrebbe supporre che una riduzione progressiva della portata relativa a carico delle AUt indica una progressiva riduzione della capacità di perfusione uterina anche in condizioni di fisiologia, portando, soprattutto verso il termine di gravidanza, verso una incapacità a garantire i fabbisogni fetali ed una condizione di delicato equilibrio.

In linea con quanto osservato da studi precedenti che hanno esaminato la portata ematica a carico delle AUt in relazione ai feti con restrizione di crescita (Konje C, 2003; Ferrazzi E, 2011), abbiamo osservato una riduzione della portata ematica, assoluta e relativa, a carico delle AUt nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita. Tuttavia, la nostra popolazione è

diversa dalla maggior parte degli studi, in quanto abbiamo considerato tutta la popolazione con  $CA < 10^{\circ}pc$  e flessione di crescita. In questa coorte, verosimilmente dovrebbero esserci feti con restrizione di crescita e feti costituzionalmente piccoli. Infatti, l'obiettivo di questo lavoro non era di trovare differenze tra gruppi, bensì di esplorare eventuale valore aggiuntivo della portata ematica a carico delle AUt e VOmb nella diagnosi differenziale tra feti con restrizione di crescita e feti costituzionalmente piccoli.

Sul versante della VOmb i nostri dati nelle gravidanze fisiologiche sono in linea con quanto evidenziato da altri autori in merito alla relazione con l'epoca gestazionale (Widnes C, 2017; Flo K, 2010; Acharya G, 2005; Bellotti M, 2000), ossia durante il secondo ed il terzo trimestre di gravidanza esiste un progressivo incremento della portata ematica assoluta a carico della VOmb mentre quella relativa si riduce progressivamente. L'interpretazione di questo dato si sovrappone a quanto esposto per la portata ematica a carico delle AUt, sottolineando però che la vena ombelicale rappresenta la connessione diretta tra la placenta e il feto. Per questo motivo, questo distretto potrebbe essere ancor più significativo rispetto alle AUt. Infatti, nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione di crescita, abbiamo osservato una significativa riduzione della portata, assoluta e relativa, a carico della VOmb, in linea con quanto osservato in letteratura per feti IUGR (Rigano S, 2008; Bellotti M, 2004; Boito S, 2002; Di Naro E, 2002; Rigano S, 2001; Ferrazzi E, 2000; Kieserud T, 1994).

Studi precedenti hanno indicato che, a fronte di una importante diminuzione della portata relativa a carico della VOmb, il flusso rapportato all'unità feto-placentare presenta una riduzione lieve nei feti a termine di gravidanza e ciò è probabilmente dovuto all'incremento del consumo di ossigeno della placenta a causa dell'elevata attività metabolica nell'area di scambio placentare. È stato infatti documentato che, dopo un iniziale incremento della concentrazione di emoglobina fetale, il contenuto di ossigeno nel sangue ombelicale venoso è mantenuto costante durante la gravidanza. Mentre l'ossigeno trasferito per unità di peso placentare rimane pressoché costante nel tempo, la diminuzione della portata ematica relativa a carico della VOmb è accompagnata ad una importante riduzione della capacità fetale di trasporto di ossigeno. Nella fase terminale della gravidanza si crea quindi un ambiente intrauterino poco favorevole capace di rallentare l'incremento del peso fetale (Link G, 2007).

### **Analisi della correlazione tra la portata ematica assoluta e relativa a carico delle AUt ed il PI – AUt**

Sia nelle gravidanze fisiologiche, sia nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita abbiamo evidenziato come esista una correlazione inversa tra la portata assoluta a carico delle AUt ed il PI-AUt medio. Tale correlazione era già stata osservata da altri autori nelle gravidanze

fisiologiche (Rigano S, 2010; Tarzamni MK, 2016). Il nostro studio estende l'osservazione anche alle gravidanze complicate da una alterazione della crescita. A differenza dei precedenti studi non abbiamo considerato la portata AUt per singola arteria bensì quella totale (somma delle portate calcolate per singola arteria), in relazione al PI medio delle AUt.

I nostri dati relativi alle portate nelle AUt sottolineano inoltre che, nei casi in cui il processo di placentazione non si associa a consensuali modificazioni a carico delle resistenze uterine materne, la portata ematica AUt risulta ridotta indipendentemente dal EFW. Ciò è in linea con quanto osservato da altri autori (Ferrazzi E, 2011; Konje C, 2003), secondo cui la portata ematica a carico di AUt è ridotta nelle pazienti che già a metà gravidanza presentavano valori di PI-AUt elevati.

Appare interessante, nelle gravidanze fisiologiche, il riscontro di due correlazioni di tipo opposto per quanto riguarda la portata uterina assoluta e relativa e il PI-AUt, a sua volta non confermato nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita. Una possibile interpretazione di questo dato potrebbe essere che, di fronte ad un clima uterino sfavorevole che si rispecchia in un aumento delle resistenze aumentate (ancorché nei limiti della norma), nelle gravidanze fisiologiche ci sia un meccanismo compensatorio rappresentato da un incremento della portata relativa a carico delle AUt. Nei feti “piccoli” nella nostra coorte ciò non avviene, facendo supporre una mancata o deficitaria risposta compensatoria.

### **Analisi della correlazione tra la portata ematica assoluta e relativa a carico della VOmb e parametri Doppler**

I nostri dati evidenziano che sia nelle gravidanze fisiologiche sia nelle gravidanze con una crescita fetale <10°pc la portata ematica, assoluta e relativa, nella VOmb correla con il PI-AOmb. Tuttavia, questa correlazione appare inversa per la portata assoluta rispetto a quella relativa, e di entità inferiore per i feti con CA<10°pc o flessione della crescita.

Studi precedenti hanno evidenziato l'esistenza di una correlazione tra PI-AOmb e flusso ombelicale medio (Lees C, 1999). Per quanto sia nota l'associazione tra la presenza di una elevata resistenza a carico delle arterie ombelicali e la presenza di lesioni istopatologiche placentari (Madazli, 2003), i meccanismi con cui avviene la regolazione del fabbisogno ematico placentare e fetale non sono ancora del tutto noti.

Alcuni studi hanno evidenziato che esiste una relazione tra la distribuzione dell'output cardiaco fetale alla placenta e le resistenze nella circolazione placentare (Vimpeli, 2009; Kiserud T, 2006). In una serie di gravidanze con aumentata resistenza a carico delle AUt, è stato osservato che, nei feti che successivamente sviluppano IUGR con alterazioni Doppler a carico delle AOmb, esiste una precoce redistribuzione dell'output cardiaco fetale alla placenta

ed una ridotta portata ematica assoluta nella VOmb già a 20-24 settimane (Rizzo, 2008). Tali alterazioni non sono state evidenziate a 20-24 settimane nei feti che hanno successivamente sviluppato IUGR senza alterazioni a carico delle AOmb.

Interessante è il fatto che, nelle gravidanze fisiologiche, non abbiamo trovato correlazioni significative con la portata ematica assoluta a carico della VOmb e il PI-CMA, mentre tale correlazione è risultata significativa per la portata relativa. Nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita sia la portata assoluta che relativa a carico della VOmb risultano correlare con PI-CMA. Ad una analisi della letteratura non abbiamo trovato studi che abbiano analizzato la relazione tra questi due parametri. Tuttavia uno studio che ha valutato l'output cardiaco nei feti IUGR ha evidenziato l'associazione tra resistenze a livello delle AOmb e redistribuzione dell'output cardiaco fetale: l'incremento dell'apporto vascolare diretto ai vasi epiaortici (determinato da una riduzione della dimensione e dello shunting attraverso il forame ovale, una maggior resistenza nel circuito polmonare, un ridotto ritorno venoso all'atrio sinistro ed un flusso retrogrado a livello dell'istmo aortico) si associa ad una aumentata estrazione di ossigeno da parte del feto ed a modificazioni della portata nella VOmb (Kiserud T, 2006).

Il riscontro di una correlazione con la portata venosa rapportata al peso fetale potrebbe indicare che i fenomeni di vasodilazione cerebrale non si associano di per sé ad un ridotto flusso sanguigno totale, bensì esprimono l'adattamento fetale ad una diversa richiesta metabolica. Queste osservazioni, qualora confermate, potrebbero anche indicare l'associazione tra esiti perinatali avversi e fenomeni di brain sparing evidenziabili anche nei feti normopeso.

I risultati relativi alla correlazione tra indice CPR e portata nella VOmb potrebbero dipendere dal fatto che tale indice è un rapporto e come tale è influenzato dalla correlazione tra le singole componenti e la portata nella VOmb.

### **Analisi della popolazione in base al percentile di peso neonatale**

Una parte delle pazienti da noi reclutate, in considerazione del riscontro di una  $AC < 10$  o di una flessione di crescita fetale, aveva alla nascita un peso "normale" in relazione ai percentili di peso neonatale (Bertino E, 2010). Analizzando i dati rilevati in questa sub-popolazione di feti abbiamo osservato che le portate assolute e relative nelle AUt e nella VOmb erano significativamente ridotte rispetto alla popolazione di riferimento. La maggior parte delle discrepanze tra valutazione ecografica della crescita fetale e peso neonatale si è verificata prima della 35° settimana.

La presenza di una discrepanza relativa ai percentili di peso ecografici e neonatali non è sorprendente. Le curve di riferimento neonatali utilizzate come riferimento per i neonati

pretermine sono principalmente basate sui dati ottenuti da studi di popolazione (Bertino E, 2010): in questi casi la definizione di “peso normale”, basata su dati ottenuti in una popolazione che di per sé è patologica (parti prematuri, parti iatrogeni indotti per patologia fetale o materna), e l’esclusione di una quota significativa di feti che non hanno necessitato dell’espletamento del parto, è fonte di bias. Inoltre, studi di popolazione hanno osservato che la definizione di normalità sulla base del percentile di peso neonatale anche a termine di gravidanza potrebbe ridurre la capacità identificativa di quei feti a rischio di eventi avversi, non identificando quelli che hanno ridotto il proprio potenziale di crescita per adattarsi ad un ambiente materno sfavorevole (Vasak B, UOG 2015).

La riduzione delle portate, assolute e relative, a carico sia delle AUt che VOmb conferma che la valutazione ecografica riesce ad identificare una quota maggiore di feti che non hanno raggiunto il loro potenziale di crescita predeterminato rispetto alla sola valutazione del peso alla nascita. Questo concetto ha diverse implicazioni cliniche e sottolinea come il peso alla nascita non può rappresentare un punto di partenza per la gestione post-natale, in quanto quest’ultima deve tener conto anche dell’epoca prenatale.

### **Analisi della portata ematica assoluta e relativa delle AUt e della VOmb in relazione alla Doppler velocimetria dei distretti utero-placentari e fetali**

#### **Portata ematica delle AUt**

L’analisi dei dati della popolazione reclutata, distinguendo le portate in base alla associazione con una aumentata resistenza a carico delle AUt, ha prodotto risultati coerenti con la letteratura (Ferrazzi E, 2011; Konje C, 2003). Infatti, abbiamo osservato che nei casi in cui la restrizione di crescita fetale si associava ad un PI-AUt medio >95°pc, la portata assoluta e relativa a carico delle AUt è ridotta: in queste gravidanze la restrizione di crescita potrebbe essere espressione dell’incapacità materna nel soddisfare le richieste fetali. Esiste infatti crescente evidenza che un insufficiente adattamento cardiovascolare materno alla gravidanza, espresso sia in termini di elevate resistenze uterine sia di riduzione dell’output cardiaco materno contribuisca all’insorgenza di IUGR e di disordini ipertensivi (Ferrazzi E, AJOG 2018).

Il fattore materno non è tuttavia l’unica componente condizionante la crescita fetale, infatti è stato visto che, pur in presenza di elevate resistenze a carico delle AUt e di una ridotta portata ematica assoluta e relativa nelle AUt, esiste una quota di feti con sviluppo normale (Ferrazzi E, Placenta 2011). Nel nostro studio, abbiamo inoltre osservato che una importante quota di gravidanze con feti piccoli per l’epoca gestazionale e normale resistenza a carico delle AUt

presenta comunque una riduzione del flusso uterino totale, a fronte tuttavia di una portata ematica AUt relativa al EFW pressoché sovrapponibile alla popolazione di controllo.

Questi dati indicano che una valutazione Doppler di tipo qualitativo o semi-quantitativo delle AUt fornisce una valutazione parziale del processo di placentazione. Inoltre, sottolineano come la crescita fetale sia dipendente dalla funzionalità placentare e dalla capacità di adattamento del feto all'apporto di ossigeno e nutrienti. Quei feti piccoli in cui la portata uterina assoluta è ridotta sono esposti ad un minor grado di perfusione ematica, tuttavia la presenza di una portata uterina relativa sovrapponibile alla popolazione normale potrebbe indicare la loro capacità di trovare un compromesso con un basso apporto nutritivo placentare, modificando le richieste metaboliche.

### Portata ematica nella VOmb

I nostri dati confermano che, nei feti con  $AC < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita fetale, indipendentemente dalla presenza di alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle AOmb, le portate della VOmb, assoluta e relativa, sono ridotte. I casi in cui la restrizione di crescita si associa ad una elevata resistenza a carico delle AOmb presentano un flusso a livello della VOmb significativamente ridotto rispetto alla popolazione di controllo e si manifestano precocemente nel secondo e nel terzo trimestre (Bellotti M, 2004; Boito S, 2002; Ferrazzi, 2000; Rigano S, 2001; Di Naro, 2002). Inoltre, l'assenza di riscontri di alterazioni Doppler in AOmb dopo la 34<sup>°</sup> settimana è coerente con il fatto che nei feti IUGR tardivi il riscontro di alterazioni a carico delle AOmb è raro (Figueras F, 2011).

L'analisi condotta sulle portate in relazione alla presenza di associazioni con alterazioni Doppler velocimetriche a livello della CMA fornisce nuovi elementi utili alla comprensione della fisiopatologia della restrizione di crescita. Nei feti con  $AC < 10^{\circ}pc$  o rallentamento della crescita e normali resistenze a carico delle arterie ombelicali sono stati osservati dei casi di brain sparing: anche in questi feti è possibile osservare una riduzione significativa della portata assoluta e relativa nella VOmb rispetto alla popolazione di controllo già in occasione della diagnosi. Il riscontro di una riduzione della portata a carico della VOmb già in occasione della prima rilevazione ecografica potrebbe far ipotizzare che alla base delle modificazioni della crescita fetale vi sia una riduzione dell'apporto ematico nella VOmb rispetto alle richieste fetali, tale da alterare il trasporto di nutrienti ed ossigeno dalla placentata al feto.

Dai nostri dati emerge che, pur escludendo tutti i casi in cui esistono alterazioni Doppler velocimetriche a carico delle AUt, della AOmb e della CMA, esiste comunque una quota di feti "piccoli" in cui le portate a livello della VOmb sono ridotte. Studi sperimentali hanno evidenziato che, in questa popolazione di feti privi di alterazioni Doppler velocimetriche,

probabilmente esistono condizioni di adattamento a quadri di ipossia lieve tali da determinare ad esempio modificazioni della capacità accelerativa e decelerativa a livello cardiaco (Stampalija T, 2015). Gli studi di fisiopatologia animale supportano queste osservazioni, evidenziando come l'esposizione cronica fetale a basse tensioni di ossigeno stimoli risposte adattative a livello metabolico oltre che relative al trasporto di ossigeno. La durata dell'esposizione all'ipossia cronica inoltre condiziona il comportamento fetale determinando una riduzione dell'afflusso e del consumo di ossigeno che contribuisce al rallentamento della crescita dei tessuti ed alle alterazioni del comportamento fetale mantenendo, tuttavia, il metabolismo ossidativo: in queste condizioni la presenza di fenomeni di redistribuzione del flusso ematico agli organi vitali, quali i distretti cerebrali, cardiaci e surrenali fetali, sembra essere ancora non presente o meno evidente e si associa a modificazioni ormonali e metaboliche presenti ancor prima della comparsa di acidemia (Richardson, 1998).

### **Analisi della portata ematica assoluta e relativa delle AUt e della VOmb nei feti con CA<10°pc o flessione della crescita in relazione all'esito avverso alla nascita.**

All'interno della popolazione di feti privi di alterazioni Doppler velocimetriche a livello delle AUt, AOmb e CMA, ma con CA<10°pc o flessione della crescita, abbiamo voluto indagare la relazione tra le portate ed esiti perinatali.

I nostri dati indicano che, rispetto alla popolazione di controllo, i feti in cui era presente almeno uno dei parametri del composite outcome (pH <7,10 o BE < -12 su sangue arterioso funicolare alla nascita, alterazioni cardiocografiche tali da indicare la necessità di un intervento ostetrico, ricovero postnatale presso il reparto di neonatologia) la portata relativa nella VOmb era significativamente ridotta rispetto alla popolazione di controllo, mentre non c'erano differenze significative tra i controlli e i feti con CA<10°pc o flessione della crescita ed esito neonatale normale. Tuttavia, esiste una sovrapposizione dei dati relativi alla portata relativa a carico della VOmb nei feti <10°pc o flessione della crescita con o senza esito avverso. Questo dato lo abbiamo osservato per tutte le analisi effettuate. Una delle ipotesi potrebbe essere che questa quota di feti sia stata effettivamente esposta ad una restrizione di crescita e non abbia raggiunto il loro potenziale di crescita, anche in presenza di parametri Doppler normali ed esito neonatale normale. Infatti, come sottolineato prima e come dimostrato dagli esperimenti sugli animali (Richardson), anche le più precoci modificazioni Doppler velocimetriche (quali il brain sparing) si verificano dopo una serie di adattamenti fetali alla carenza di nutrienti e/o ossigeno. Le conseguenze a breve o lungo termine di questa, spesso sfumata, condizione di squilibrio tra la richiesta e l'offerta, non sono note e sollevano il problema dell'appropriatezza delle misure di esiti utilizzati nei feti con restrizione di

crescita tardiva. Infatti, mentre per i feti con IUGR precoce la mortalità e la morbilità a breve termine rappresentano dei validi esiti da considerare (Baschat AA, UOG 2000), per i feti con restrizione di crescita tardiva tali outcomes potrebbero essere troppo “grossolani”.

### **Limiti e punti di forza dello studio**

Tra i limiti dello studio vi è la numerosità del campione in esame, che potrebbe aver mascherato l'identificazione di differenze più sottili tra i gruppi oggetto dello studio. Inoltre, aver incluso anche quei feti che presentavano un peso neonatale nella norma per l'epoca gestazionale potrebbe essere considerato un limite tuttavia, a nostro parere, il fatto di avere ottenuto risultati in linea con quanto evidenzia la letteratura rappresenta al contrario un punto di forza.

Un altro limite è il disegno dello studio, caso controllo, che ha impedito di valutare l'effettiva performance delle variabili studiate.

Per quanto riguarda l'analisi della riproducibilità è possibile notare che esiste una variabilità moderata nelle misure della portata, in particolare per la vena ombelicale, tuttavia i nostri dati sono in linea con quanto riportato dalla letteratura (Rizzo G, 2015; Figueras F, 2008; Flo K, 2010).

I criteri per la definizione di esito avverso potrebbero sembrare troppo ampi, ma come sottolineato prima la definizione di criteri più stretti, nel nostro parere, potrebbe essere inadeguata per cogliere differenze sottili tra feti piccoli con restrizione di crescita e quelli costituzionali. Infatti, l'utilizzo di criteri più ampi ha comunque evidenziato che esiste una quota di feti con basse portate nella VOmb non associata agli esiti perinatali avversi. Questo può far presupporre che, ad oggi, in realtà non disponiamo di criteri adeguati per definire un esito perinatale avverso nel caso di restrizione di crescita tardiva. L'avvento di nuove tecnologie “omiche” sta aprendo nuove prospettive in tal senso.

Infine, il fatto di aver considerato tutta la popolazione  $<10^{\circ}pc$  indipendentemente dalla distinzione in base ai parametri Doppler e/o epoca gestazionale potrebbe essere interpretata come un limite dello studio. Questa scelta è stata intenzionale, in quanto abbiamo voluto esplorare eventuali differenze in termini di portata ematica tra i feti “piccoli”.

Infine, tra i punti di forza del presente studio, il fatto della valutazione combinata di parametri Doppler che ha permesso di integrare le attuali conoscenze relative alla restrizione di crescita. Mentre infatti la valutazione quantitativa delle AUt e della VOmb era stata indagata precedentemente da altri autori nelle gravidanze fisiologiche (Flo K, 2010), ad oggi manca un approccio integrato di tipo semi-quantitativo e quantitativo a livello del distretto utero-placentare e feto-placentare.

## CONCLUSIONI

Lo studio mette in evidenza come le portate, assoluta e relativa, a carico delle AUt e VOmb siano ridotte nei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita con alterazioni Doppler velocimetriche in almeno uno dei distretti comunemente studiati (AUt, AOmb, CMA). Tuttavia, nell'ambito del gruppo dei feti con  $> 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita e con Doppler velocimetria normale esiste una quota che presenta portate a carico delle AUt e VOmb significativamente più basse rispetto ai controlli. I feti che hanno presentato un esito avverso alla nascita avevano la portata relativa a carico della VOmb più bassa rispetto ai controlli. Questi risultati suggeriscono che nell'ambito dei feti con  $CA < 10^{\circ}pc$  o flessione della crescita e con Doppler regolare nei distretti comunemente studiati, feti solitamente definiti SGA, c'è un sottogruppo che presenta portate a carico delle AUt e VOmb ridotte rispetto alla popolazione di controlli. Effettivo significato in termini di outcome a lungo termine e valore aggiuntivo nel management clinico sono ancora da definire.

## BIBLIOGRAFIA

Abi-Nader KN, Mehta V, Wigley V, Filippi E, Tezcan B, Boyd M, Peebles DM, David AL. Doppler ultrasonography for the noninvasive measurement of uterine artery volume blood flow through gestation in the pregnant sheep. *Reprod Sci.* 2010 Jan;17(1):13-9.

Acharya G, Gui Y, Cnota W, Huhta J, Wloch A. Human embryonic cardiovascular function. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016 Jun;95(6):621-8.

Acharya G, Sitras V. Oxygen uptake of the human fetus at term. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88(1):104-9.

Acharya G, Sonesson SE, Flo K, Räsänen J, Odibo A. Hemodynamic aspects of normal human fetoplacental (umbilical) circulation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016 Jun;95(6):672-82

Acharya G, Sitras V, Erkinaro T, Mäkikallio K, Kavasmaa T, Pääkkilä M, et al. Experimental validation of uterine artery volume blood flow measurement by Doppler ultrasonography in pregnant sheep. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;29(4):401e6.

Acharya G, Wilsgaard T, Rosvold Berntsen GK, Maltau JM, Kiserud T. Umbilical vein constriction at the umbilical ring: a longitudinal study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006 Aug;28(2):150-5.

Acharya G, Wilsgaard T, Berntsen GK, Maltau JM, Kiserud T. Doppler-derived umbilical artery absolute velocities and their relationship to fetoplacental volume blood flow: a longitudinal study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005 May;25(5):444-53.

Acharya G, Wilsgaard T, Rosvold Berntsen GK, Maltau JM, Kiserud T. Reference ranges for umbilical vein blood flow in the second half of pregnancy based on longitudinal data. *Prenat Diagn.* 2005 Feb;25(2):99-111.

Alfirevic Z, Stampalija T, Gyte GM. Fetal and umbilical Doppler ultrasound in high-risk pregnancies. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;1:CD007529.

Al Riyami N, Walker MG, Proctor LK, Yinon Y, Windrim RC, Kingdom JC. Utility of head/abdomen circumference ratio in the evaluation of severe early-onset intrauterine growth restriction. *J Obstet Gynaecol Can* 2011;33(7):715–9.

Anderson NH<sup>1</sup>, Sadler LC<sup>2</sup>, McKinlay CJD<sup>3</sup>, McCowan LME<sup>4</sup>. INTERGROWTH-21st vs customized birthweight standards for identification of perinatal mortality and morbidity. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Apr;214(4):509.e1-509.e7. doi: 10.1016/j.ajog.2015.10.931. Epub 2015 Nov 4.

Arduini D, Rizzo G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med.* 1990;18(3):165-72.

Ashary N, Tiwari A, Modi D. Embryo Implantation: War in Times of Love. *Endocrinology*. 2018 Feb 1;159(2):1188-1198. doi: 10.1210/en.2017-03082.

Assali NS, Douglass RA Jr, Baird WW, Nicholson DB, Suyemoto R. Measurement of uterine blood flow and uterine metabolism. IV. Results in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 66: 248–253, 1953.

Assali NS, Holm L, Parker H. Regional blood flow and vascular resistance in response to oxytocin in the pregnant sheep and dog. *J Appl Physiol*. 1961 Nov;16:1087-92.

Assali NS, Rauramo L, Peltonen T. Measurement of uterine blood flow and uterine metabolism. VIII. Uterine and fetal blood flow and oxygen consumption in early human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1960 Jan;79:86-98.

Baker AM, Braun JM, Salafia CM, Herring AH, Daniels J, Rankins N, et al. Risk factors for uteroplacental vascular compromise and inflammation. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199(3):256. e1–9.

Barbera A<sup>1</sup>, Galan HL, Ferrazzi E, Rigano S, Jóźwik M, Battaglia FC, Pardi G. Relationship of umbilical vein blood flow to growth parameters in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Jul;181(1):174-9.

Barcroft J, Herkel W, Hill S. The rate of blood flow and gaseous metabolism of the uterus during pregnancy. *J Physiol*. 1933 Jan 16;77(2):194-206.

Barcroft J, Kennedy JA. The distribution of blood between the foetus and the placenta in sheep. *J Physiol*. 1939 Feb 14;95(1):173-86.

Barker DJ, Osmond C, Forsen TJ, Kajantie E, Eriksson JG. Trajectories of growth among children who have coronary events as adults. *N Engl J Med* 2005;353(17):1802–9.

Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003 Feb;21(2):124-7.

Baschat AA, Galan HL, Bhide A, Berg C, Kush ML, Oepkes D, et al. Doppler and biophysical assessment in growth restricted fetuses: distribution of test results. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27(1):41–7.

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

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

Bell AW, Hales JR, Fawcett AA, King RB. Effects of exercise and heat stress on regional blood flow in pregnant sheep. *J Appl Physiol* (1985). 1986 May;60(5):1759-64.

Bellotti M, Pennati G, Pardi G, Fumero R. Dilatation of the ductus venosus in human fetuses: ultrasonographic evidence and mathematical modelling. *Am J Physiol* 1998;275(5):H1759–67.

Bellotti M, Pennati G, De Gasperi C, Bozzo M, Battaglia FC, Ferrazzi E. Simultaneous measurements of umbilical venous, fetal hepatic, and ductus venosus blood flow in growth-restricted human fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(5):1347–58.

Bellotti M, Pennati G, De Gasperi C, Battaglia FC, Ferrazzi E. Role of ductus venosus in distribution of umbilical blood flow in human fetuses during second half of pregnancy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000 Sep;279(3):H1256-63.

Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. *Pathology of the human placenta*. 5th ed. New York: Springer-Verlag; 2006.

Bertino E, Spada E, Occhi L, Coscia A, Giuliani F, Gagliardi L, Gilli G, Bona G, Fabris C, De Curtis M, Milani S. Neonatal anthropometric charts: the Italian neonatal study compared with other European studies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010 Sep;51(3):353-61.

Bernstein IM, Ziegler WF, Leavitt T, Badger GJ. Uterine artery hemodynamic adaptations through the menstrual cycle into early pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2002 Apr;99(4):620-4.

Bilardo CM, Wolf H, Stigter RH, Ville Y, Baez E, Visser GH, et al. Relationship between monitoring parameters and perinatal outcome in severe, early intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23(2):119–25.

Bilardo CM, Hecher K, Visser GHA, Papageorgiou AT, Marlow N, Thilaganathan B, Van Wassenaer-Leemhuis A, Todros T, Marsal K, Frusca T, Arabin B, Brezinka C, Derks JB, Diemert A, Duvetkot JJ, Ferrazzi E, Ganzevoort W, Martinelli P, Ostermayer E, Schlembach D, Valensise H, Thornton J, Wolf H, Lees C; TRUFFLE Group. Severe fetal growth restriction at 26-32 weeks: key messages from the TRUFFLE study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Sep;50(3):285-290. doi: 10.1002/uog.18815.

Boito S, Struijk PC, Ursem NT, Stijnen T, Wladimiroff JW. Umbilical venous volume flow in the normally developing and growth-restricted human fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002 Apr;19(4):344-9.

Boito S, Struijk PC, Ursem NT, Fedele L, Wladimiroff JW. Fetal brain/liver volume ratio and umbilical volume flow parameters relative to normal and abnormal human development. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003 Mar;21(3):256-61.

Boito SM, Ursem NT, Struijk PC, Stijnen T, Wladimiroff JW. Umbilical venous volume flow and fetal behavioral states in the normally developing fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004 Feb;23(2):138-42.

Borell U, Fernstroem I. An arteriographic study of the blood flow through the uterus and the placenta at midpregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 44: 22–31, 1965.

Boulis TS, Rochelson BL, Williamson AK. Massive Subchorionic Placental Cyst and Poor Fetal Growth: A Case Report. *J Reprod Med*. 2015 Sep-Oct;60(9-10):458-60.

Bower S, Vyas S, Campbell S, Nicolaidis KH. Color Doppler imaging of the uterine artery in pregnancy: normal ranges of impedance to blood flow, mean velocity and volume of flow. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1992 Jul 1;2(4):261-5.

Brace RA. Fetal blood volume responses to acute fetal hemorrhage. *Circ Res*. 1983 Jun;52(6):730-4.

Browne VA, Toledo-Jaldin L, Davila RD, Lopez LP, Yamashiro H, Cioffi-Ragan D, Julian CG, Wilson MJ, Bigham AW, Shriver MD, Honigman B, Vargas E, Roach R, Moore LG. High-end arteriolar resistance limits uterine artery blood flow and restricts fetal growth in preeclampsia and gestational hypertension at high altitude. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011 May;300(5):R1221-9.

Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyssen L, Romero R. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Mar;204(3):193-201.

Bulmer JN, Lash GE. Human uterine natural killer cells: a reappraisal. *Mol Immunol* 42: 511–521, 2005.

Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. Placental Origins of Chronic Disease. *Physiol Rev*. 2016 Oct;96(4):1509-65.

Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E. Nutrition of the human fetus during the first trimester--a review. *Placenta*. 2001 Apr;22 Suppl A: S70-7. Review.

Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JCP. Rheological and physiological consequences of Conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 2009;30:473e82.

Burton GJ, Jauniaux E, Watson AL. Maternal arterial connections to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: the Boyd collection revisited. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Sep;181(3):718-24.

Burton GJ, Jauniaux E. The cytotrophoblastic shell and complications of pregnancy. *Placenta*. 2017 Dec;60:134-139.

Campbell S, Thoms A. Ultrasound measurement of the fetal head to abdomen circumference ratio in the assessment of growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol* 1977;84(3):165–74.

Carbillon L. First trimester uterine artery Doppler for the prediction of preeclampsia and foetal growth restriction. *J Matern Fetal Neonatal Med* 25: 877–883, 2012.

Carter AM. Placental Gas Exchange and the Oxygen Supply to the Fetus. *Compr Physiol*. 2015 Jul 1;5(3):1381-403

Cartwright JE, Fraser R, Leslie K, Wallace AE, James JL. Remodelling at the maternal-fetal interface: relevance to human pregnancy disorders. *Reproduction* 140: 803–813, 2010.

Chauhan SP, Magann EF, Doherty DA, Ennen CS, Niederhauser A, Morrison JC. Prediction of small for gestational age newborns using ultrasound estimated and actual amniotic fluid volume: published data revisited. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol* 2008;48(2):160–4.

Chernyavsky IL, Jensen OE, Leach L. A mathematical model of intervillous blood flow in the human placenta. *Placenta* 31: 44–52, 2010.

- Clapp JF 3rd, Szeto HH, Larrow R, Hewitt J, Mann LI. Umbilical blood flow response to embolization of the uterine circulation. *Am J Obstet Gynecol.* 1980 Sep 1;138(1):60-7.
- Collins SL, Birks JS, Stevenson GN, Papageorghiou AT, Noble JA, Impey L. Measurement of spiral artery jets: general principles and differences observed in small-for-gestational-age pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 40:171–178, 2012.
- Collins SL<sup>1</sup>, Stevenson GN, Noble JA, Impey L. Developmental changes in spiral artery blood flow in the human placenta observed with colour Doppler ultrasonography. *Placenta.* 2012 Oct;33(10):782-7.
- Creasy RK, Barrett CT, de Swiet M, Kahanpää KV, Rudolph AM. Experimental intrauterine growth retardation in the sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 1972 Feb 15;112(4):566-73.
- Crispi F<sup>1</sup>, Domínguez C, Llurba E, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Jul;195(1):201-7. Epub 2006 Mar 20.
- de Paula CF<sup>1</sup>, Ruano R, Campos JA, Zugaib M. Placental volumes measured by 3-dimensional ultrasonography in normal pregnancies from 12 to 40 weeks' gestation. *J Ultrasound Med.* 2008 Nov;27(11):1583-90.
- Delbecque K, Tebache M, Collignon L, Retz MC, Foidart JM. Shunting the intervillous space: new concepts in human uteroplacental vascularization. *Am J Obstet Gynecol* 192: 323–332, 2005.
- Dickey RP<sup>1</sup>, Hower JF. Ultrasonographic features of uterine blood flow during the first 16 weeks of pregnancy. *Hum Reprod.* 1995 Sep;10(9):2448-52.
- Di Naro E, Raio L, Ghezzi F, Franchi M, Romano F, Addario VD. Longitudinal umbilical vein blood flow changes in normal and growth-retarded fetuses. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2002 Jun;81(6):527-33.
- Dua A, Schram C. An investigation into the applicability of customised charts for the assessment of fetal growth in antenatal population at Blackburn, Lancashire, UK. *J Obstet Gynaecol.* 2006 Jul;26(5):411-3.
- Ebbing C, Rasmussen S, Godfrey KM, Hanson MA, Kiserud T. Redistribution pattern of fetal liver circulation in intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009;88(10):1118–23.
- Erskine RL, Ritchie JW. Quantitative measurement of fetal blood flow using Doppler ultrasound. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985 Jun;92(6):600-4.
- Everett TR, Lees CC. Beyond the placental bed: placental and systemic determinants of the uterine artery Doppler waveform. *Placenta* 33: 893–901, 2012.
- Ferrazzi E, Bulfamante G, Mezzopane R, Barbera A, Ghidini A, Pardi G. Uterine doppler velocimetry and placental hypoxic-ischemic lesion in pregnancies with fetal intrauterine growth restriction. *Placenta*, 1999, pp. 20: 389 -394

Ferrazzi E, Rigano S, Padoan A, Boito S, Pennati G, Galan HL. Uterine artery blood flow volume in pregnant women with an abnormal pulsatility index of the uterine arteries delivering normal or intrauterine growth restricted newborns. *Placenta*. 2011 Jul;32(7):487-92.

Ferrazzi E, Bellotti M, Galan H, Pennati G, Bozzo M, Rigano S, Battaglia FC. Doppler investigation in intrauterine growth restriction--from qualitative indices to flow measurements: a review of the experience of a collaborative group. *Ann N Y Acad Sci*. 2001 Sep;943:316-25. Review.

Ferrazzi E, Rigano S, Bozzo M, Bellotti M, Giovannini N, Galan H, Battaglia FC. Umbilical vein blood flow in growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000 Oct;16(5):432-8.

Ferrazzi E, Bozzo M, Rigano S, Bellotti M, Morabito A, Pardi G, Battaglia FC, Galan HL. Temporal sequence of abnormal Doppler changes in the peripheral and central circulatory systems of the severely growth-restricted fetus. 2002, *Ultrasound Obstet Gynecol*, Vol. 19, pp. 140 -146.

Figueras F, Fernández S, Hernández-Andrade E, Gratacós E. Umbilical venous blood flow measurement: accuracy and reproducibility. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Sep;32(4):587-91.

Figueras F, Eixarch E, Melre E, Iraola A, Figueras J, Puerto Bienvenido, Gratacos E. Small-for-gestational-age fetuses with normal umbilical artery Doppler have suboptimal perinatal and neurodevelopmental outcome. 2007, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, Vol. 136, pp. 34 -38.

Figueras F, Oros D, Cruz-Martinez R, Padilla N, Hernandez-Andrade E, Botet F, Costas-Moragas, Gratacos E. Neurobehavior in term, small-for-gestational age infants with normal placental function. Neurobehavior in term, small-for-gestational age infants with normal placental function. 2009, *Pediatrics*, Vol. 124, p. e934.

Figueras F, Gardosi J. Should we customize fetal growth standards? *Fetal Diagn Ther* 2009;25(3):297–303.

Flo K, Wilsgaard T, Acharya G. Agreement between umbilical vein volume blood flow measurements obtained at the intra-abdominal portion and free loop of the umbilical cord. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009 Aug;34(2):171-6.

Flo K, Wilsgaard T, Acharya G. Longitudinal reference ranges for umbilical vein blood flow at a free loop of the umbilical cord. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010 Nov;36(5):567-72.

Flo K, Widnes C, Vårtun Å, Acharya G. Blood flow to the scarred gravid uterus at 22-24 weeks of gestation. *BJOG*. 2014 Jan;121(2):210-5.

Flo K, Wilsgaard T, Acharya G. Relation between utero-placental and fetoplacental circulations: a longitudinal study. *Acta Obstet Gynecol*; 2010:1e6.

Flo K, Wilsgaard T, Vaartun Å, Acharya G. A longitudinal study of the relationship between maternal cardiac output measured by impedance cardiography and uterine artery blood flow in the second half of pregnancy. *BJOG* 2010;117:837e44.

Francis ST, Duncan KR, Moore RJ, Baker PN, Johnson IR, Gowland PA. Non-invasive mapping of placental perfusion. *Lancet* 351: 1397–1399, 1998.

- Frias AE, Schabel MC, Roberts VH, Tudorica A, Grigsby PL, Oh KY, Kroenke CD. Using dynamic contrast-enhanced MRI to quantitatively characterize maternal vascular organization in the primate placenta. *Magn Reson Med* 73: 1570–1578, 2015.
- Galan HL, Jozwik M, Rigano S, Regnault TR, Hobbins JC, Battaglia FC, Ferrazzi E. Umbilical vein blood flow determination in the ovine fetus: comparison of Doppler ultrasonographic and steady-state diffusion techniques. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Nov;181(5 Pt 1):1149-53.
- Gardosi J<sup>1</sup>, Kady SM, McGeown P, Francis A, Tonks A. Classification of stillbirth by relevant condition at death (ReCoDe): population based cohort study. *BMJ.* 2005 Nov 12;331(7525):1113-7. Epub 2005 Oct 19.
- Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new standards for assessing adverse outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2009 Dec;23(6):741-9.
- Gardosi J<sup>1</sup>. Fetal growth standards: individual and global perspectives. *Lancet.* 2011. 28;377(9780):1812-4.
- Gerada M, Struijk PC, Stewart PA, Guerriero S, Melis GB, Wladimiroff JW. Comparison between color Doppler cineloop- and conventional spectral Doppler-derived maximum velocity and flow in the umbilical vein. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006 Aug;28(2):156-61.
- Gerson AG, Wallace DM, Stiller RJ, Paul D, Weiner S, Bolognese RJ. Doppler evaluation of umbilical venous and arterial blood flow in the second and third trimesters of normal pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1987 Oct;70(4):622-6.
- Ghosh GS, Gudmundsson S. Uterine and umbilical artery Doppler are comparable in predicting perinatal outcome of growth-restricted fetuses. *BJOG.* 2009 Feb;116(3):424-30.
- Giles WB, Trudinger BJ, Baird PJ. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: pathological correlation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985 Jan;92(1):31-8.
- Giles WB, Lingman G, Marsál K, Trudinger BJ. Fetal volume blood flow and umbilical artery flow velocity waveform analysis: a comparison. *Br J Obstet Gynaecol.* 1986 May;93(5):461-5.
- Gill RW, Trudinger BJ, Garrett WJ, Kossoff G, Warren PS. Fetal umbilical venous flow measured in utero by pulsed Doppler and B-mode ultrasound. I. Normal pregnancies.
- Gill RW, Kossoff G, Warren PS, Garrett WJ. Umbilical venous flow in normal and complicated pregnancy. *Ultrasound Med Biol.* 1984 May-Jun;10(3):349-63.
- Gill RW, Kossoff G. Pulsed doppler combined with B-mode imaging for blood flow measurement. *Contrib Gynecol Obstet.* 1979;6:139-41.
- Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Aug;32(2):128-32.

- Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorgiou A, Baschat AA, Baker PN, Silver RM, Wynia K, Ganzevoort W. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Sep;48(3):333-9.
- Gramellini D, Folli MC, Raboni S, Vadora E, Merialdi A. Cerebral-umbilical Doppler ratio as a predictor of adverse perinatal outcome. *Obstet Gynecol* 1992;79(3):416–20.
- Guimarães Filho HA, Araujo Júnior E, Mattar R, Da Costa LL, de Mello Júnior CF, Nardoza LM, Moron AF. Placental blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound at 26 to 35 weeks gestation in normal pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010 Jan;23(1):69-73.
- Guiot C, Gaglioti P, Oberto M, Piccoli E, Rosato R, Todros T. Is three-dimensional power Doppler ultrasound useful in the assessment of placental perfusion in normal and growth-restricted pregnancies? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Feb;31(2):171-6.
- Guiot C, Piantà PG, Todros T. Modelling the fetoplacental circulation: 1. A distributed network predicting umbilical haemodynamics throughout pregnancy. *Ultrasound Med Biol.* 1992;18(6-7):535-44.
- Greenfield AD, Shepherd jt, Whelan rf. The rate of blood-flow in the umbilical cord. *Lancet.* 1951 Sep 8;2(6680):422-4.
- Gudmundsson S. Importance of venous flow assessment for clinical decision-making. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999 Jun;84(2):173-8. Review.
- Guzin K<sup>1</sup>, Tomruk S, Tuncay YA, Naki M, Sezginsoy S, Zemheri E, Yucel N, Kanadikirik F. The relation of increased uterine artery blood flow resistance and impaired trophoblast invasion in pre-eclamptic pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2005 Oct;272(4):283-8. Epub 2005 Oct 13.
- Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur. Measurements a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151(3):333e7.
- Hadlock FP, Harrist RB, Martinez-Poyer J. In utero analysis of fetal growth: a sonographic weight standard. *Radiology.* 1991 Oct;181(1):129-33.
- Hale SA, Jones CW, Osol G, Schonberg A, Badger GJ, Bernstein IM. Sildenafil increases uterine blood flow in nonpregnant nulliparous women. *Reprod Sci* 2010 Apr;17(4):358e652.
- Harris LK. IFPA Gabor Than Award lecture: Transformation of the spiral arteries in human pregnancy: key events in the remodelling timeline. *Placenta* 32, Suppl 2: S154–S158, 2011.
- Hecher K, Snijders R, Campbell S, Nicolaides K. Fetal venous, intracardiac, and arterial blood flow measurements in intrauterine growth retardation: relationship with fetal blood gases. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Jul;173(1):10-5.
- Hendricks SK, Sorensen TK, Wang KY, Bushnell JM, Seguin EM, Zingheim RW. Doppler umbilical artery waveform indices--normal values from fourteen to forty-two weeks. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 Sep;161(3):761-5.

- Hernandez-Andrade E, Stampalija T, Figueras F. Cerebral blood flow studies in the diagnosis and management of intrauterine growth restriction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2013; 25: 138-144.
- Hofstaetter C, Dubiel M, Gudmundsson S. Two types of umbilical venous pulsations and outcome of high-risk pregnancy. *Early Hum Dev*. 2001 Mar;61(2):111-7.
- Hoskins PR. A comparison of single- and dual-beam methods for maximum velocity estimation. *Ultrasound Med Biol*. 1999 May;25(4):583-92.
- Huckabee WE. Uterine blood flow. *Am J Obstet Gynecol*. 1962 Dec 1;84:1623-33.
- Jacobsson B, Ahlin K, Francis A, Hagberg G, Hagberg H, Gardosi J. Cerebral palsy and restricted growth status at birth: population-based case-control study. *BJOG*. 2008 Sep;115(10):1250-5.
- Jackson MR, Mayhew TM, Boyd PA. Quantitative description of the elaboration and maturation of villi from 10 weeks of gestation to term. *Placenta*. 1992 Jul-Aug;13(4):357-70.
- Jaffe R<sup>1</sup>, Jauniaux E, Hustin J. Maternal circulation in the first-trimester human placenta--myth or reality? *Am J Obstet Gynecol*. 1997 Mar;176(3):695-705.
- Jaffe R, Woods JR Jr. Color Doppler imaging and in vivo assessment of the anatomy and physiology of the early uteroplacental circulation. *Fertil Steril* 60: 293–297, 1993.
- Jaffe R, Genbacev O. In vivo assessment of the early uteroplacental circulation. *Am J Obstet Gynecol*. 1993 Oct;169(4):1077.
- James JL, Chamley LW, Clark AR. Feeding your baby in utero: how the uteroplacental circulation impacts pregnancy. *Physiology* 2017; 32:234-245
- James JL, Stone PR, Chamley LW. The regulation of trophoblast differentiation by oxygen in the first trimester of pregnancy. *Hum Reprod Update* 12: 137–144, 2006.
- Jauniaux E, Hempstock J, Greenwold N, Burton GJ. Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies. *Am J Pathol* 162: 115–125, 2003.
- Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update*. 2006 Nov-Dec;12(6):747-55.
- Jeffreys RM<sup>1</sup>, Stepanchak W, Lopez B, Hardis J, Clapp JF 3rd. Uterine blood flow during supine rest and exercise after 28 weeks of gestation. *BJOG*. 2006 Nov;113(11):1239-47. Epub 2006 Sep 15.
- Jouppila P, Kirkinen P. Umbilical vein blood flow in the human fetus in cases of maternal and fetal anemia and uterine bleeding. *Ultrasound Med Biol*. 1984 May-Jun;10(3):365-70.
- Jouppila P, Kirkinen P, Puukka R. Correlation between umbilical vein blood flow and umbilical blood viscosity in normal and complicated pregnancies. *Arch Gynecol*. 1986;237(4):191-7.
- Julian CG, Galan HL, Wilson MJ, Desilva W, Cioffi-Ragan D, Schwartz J, et al. Lower uterine artery blood flow and higher endothelin relative to nitric oxide metabolite levels are associated with

- reductions in birth weight at high altitude. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008 Sep;295(3):R906e915.
- Julian CG, Wilson MJ, Lopez M, Yamashiro H, Tellez W, Rodriguez A, Bigham AW, Shriver MD, Rodriguez C, Vargas E, Moore LG. Augmented uterine artery blood flow and oxygen delivery protect Andeans from altitude-associated reductions in fetal growth. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009 May;296(5):R1564-75.
- Junaid TO, Brownbill P, Chalmers N, Johnstone ED, Aplin JD. Fetoplacental vascular alterations associated with fetal growth restriction. *Placenta* 35: 808–815, 2014.
- Karsdorp VH, van Vugt JM, van Geijn HP, Kostense PJ, Arduini D, Montenegro N, et al. Clinical significance of absent or reversed end diastolic velocity waveforms in umbilical artery. *Lancet* 1994;344(8938):1664–8.
- Kiserud T, Acharya G. The fetal circulation. *Prenat Diagn* 2004; 30 (24):1049-59.
- Kiserud T, Ebbing C, Kessler J, Rasmussen S. Fetal cardiac output, distribution to the placenta and impact of placental compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006 Aug;28(2):126-36
- Kiserud T, Hellevik LR, Eik-Nes SH, Angelsen BA, Blaas HG. Estimation of the pressure gradient across the fetal ductus venosus based on Doppler velocimetry. *Ultrasound Med Biol*. 1994;20(3):225-32.
- Kiserud T, Eik-Nes SH, Blaas HG, Hellevik LR, Simensen B. Ductus venosus blood velocity and the umbilical circulation in the seriously growth-retarded fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1994 Mar 1;4(2):109-14.
- Kiserud T, Saito T, Ozaki T, Rasmussen S, Hanson MA. Validation of diameter measurements by ultrasound: intraobserver and interobserver variations assessed in vitro and in fetal sheep. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999 Jan;13(1):52-7.
- Kiserud T, Rasmussen S. How repeat measurements affect the mean diameter of the umbilical vein and the ductus venosus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998 Jun;11(6):419-25.
- Kiserud T, Hellevik LR, Hanson MA. Blood velocity profile in the ductus venosus inlet expressed by the mean/maximum velocity ratio. *Ultrasound Med Biol*. 1998 Nov;24(9):1301-6.
- Konje JC, Taylor DJ, Rennie MJ. Application of ultrasonic transit time flowmetry to the measurement of umbilical vein blood flow at caesarean section. *Br J Obstet Gynaecol*. 1996 Oct;103(10):1004-8.
- Konje CS, Howarth ES, Kaufmann P, Taylor DJ. Longitudinal quantification of uterine artery blood volume flow changes during gestation in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *BJOG* March 2003;110:301e5.
- Konje CS, Kaufmann P, Bell SC, Taylor DJ. A longitudinal study of quantitative uterine blood flow with the use of color power angiography in appropriate for gestational age pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:608e13.

- Kostourou V, Cartwright JE, Johnstone AP, Boulton JK, Cullis ER, Whitley G, Robinson SP. The role of tumour-derived iNOS in tumour progression and angiogenesis. *Br J Cancer*. 2011 Jan 4;104(1):83-90.
- Kovo M<sup>1</sup>, Schreiber L, Ben-Haroush A, Cohen G, Weiner E, Golan A, Bar J. The placental factor in early- and late-onset normotensive fetal growth restriction. *Placenta*. 2013 Apr;34(4):320-4.
- Lang U, Baker RS, Khoury J, Clark KE. Fetal umbilical vascular response to chronic reductions in uteroplacental blood flow in late-term sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Jul;187(1):178-86.
- Laurin J, Marsál, Persson PH, Lingman G. Ultrasound measurement of fetal blood flow in predicting fetal outcome. *Br J Obstet Gynaecol*. 1987 Oct;94(10):940-8.
- Lazarević B, Ljubić A, Stević R, Sulović V, Rosić B, Radunović N, Ilić S. The influence of anemia on respiratory gases and acid base parameters of the fetus. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 1991;18(2):85-9.
- Lees C, Albaiges G, Deane C, Parra M, Nicolaides KH. Assessment of umbilical arterial and venous flow using color Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999 Oct;14(4):250-5.
- Lees C et al; Truffle group. Perinatal morbidity and mortality in early-onset fetal growth restriction: cohort outcomes of the trial of randomized umbilical and fetal flow in Europe (TRUFFLE). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42:400-8.
- Lin M, Mauroy B, James JL, Tawhai MH, Clark AR. A multiscale model of placental oxygen exchange: The effect of villous tree structure on exchange efficiency. *J Theor Biol* 408: 1–12, 2016.
- Link G, Clark KE, Lang U. Umbilical blood flow during pregnancy: evidence for decreasing placental perfusion. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 May;196(5):489.e1-7.
- Lyall F, Robson SC, Bulmer JN. Spiral artery remodeling and trophoblast invasion in preeclampsia and fetal growth restriction: relationship to clinical outcome. *Hypertension* 62: 1046–1054, 2013.
- Madazli R, Somunkiran A, Calay Z, Ilvan S, Aksu MF. Histomorphology of the placenta and the placental bed of growth restricted foetuses and correlation with the doppler velocimetries of the uterine and umbilical arteries. *Placenta*, 2003, Vol. 24, pp. 510 -516.
- Marconi AM, Ronzoni S, Bozzetti P, Vailati S, Morabito A, Battaglia FC. Comparison of fetal and neonatal growth curves in detecting growth restriction. *Obstet Gynecol* 2008 Dec;112(6):1227e34.
- Mari G, Abuhamad AZ, Keller M, Verpaarjkit B, Ment L, Copel JA. Is the fetal brain-sparing effect a risk factor for the development of intraventricular hemorrhage in the preterm infant? *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996;8(5):329–32.
- Marsál K, Lindblad A, Lingman G, Eik-Nes SH. Blood flow in the fetal descending aorta; intrinsic factors affecting fetal blood flow, i.e. fetal breathing movements and cardiac arrhythmia. *Ultrasound Med Biol*. 1984 May-Jun;10(3):339-48.
- McKelvey A, Pateman K, Balchin I, Peebles DM, Rodeck CH, David AL. Total uterine artery blood volume flow rate in nulliparous women is associated with birth weight and gestational age at delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Jan;49(1):54-60.

Meekins JW, Luckas MJ, Pijnenborg R, Mc-Fadyen IR. Histological study of decidual spiral arteries and the presence of maternal erythrocytes in the intervillous space during the first trimester of normal human pregnancy. *Placenta* 18: 459– 464, 1997.

Merce LT, Barco MJ, Alcazar JL, Sabatel R, and Troyano J. Intervillous and uteroplacental circulation in normal early pregnancy and early pregnancy loss assessed by 3-dimensional power Doppler angiography. *Am J Obstet Gynecol* 200: 315 e311669–318, 2009.

Metcalf J, Romney SL, Ramsey LH, Reid DE, Burwell CS. Estimation of uterine blood flow in normal human pregnancy at term. *J Clin Invest* 1955 Nov;34(11):1632e8.

Mitra SC. Umbilical venous Doppler waveform without fetal breathing: its significance. *Am J Perinatol*. 1995 May;12(3):217-9.

Morales-Roselló J, Khalil A, Morlando M, Hervás-Marín D, Perales-Marín A. Doppler reference values of the fetal vertebral and middle cerebral arteries, at 19-41 weeks gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015 Feb;28(3):338-43.

Morel O, Grangé G, Fresson J, Schaaps JP, Foidart JM, Cabrol D, Tsatsaris V. Vascularization of the placenta and the sub-placental myometrium: feasibility and reproducibility of a three-dimensional power Doppler ultrasound quantification technique. A pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 24: 284–290, 2011.

Moore RJ, Strachan BK, Tyler DJ, Duncan KR, Baker PN, Worthington BS, Johnson IR, Gowland PA. In utero perfusing fraction maps in normal and growth restricted pregnancy measured using IVIM echo-planar MRI. *Placenta* 21: 726–732, 2000.

Morris JA, Hustead RF, Robinson RG, Haswell GL Measurement of fetoplacental blood volume in the human previable fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 1974 Apr 1;118(7):927-34.

Myers LJ, Capper WL. A transmission line model of the human foetal circulatory system. *Med Eng Phys*. 2002 May;24(4):285-94.

Najafzadeh A<sup>1</sup>, Dickinson JE. Umbilical venous blood flow and its measurement in the human fetus. *J Clin Ultrasound*. 2012 Oct;40(8):502-11. doi: 10.1002/jcu.21970. Epub 2012 Aug 1.

Nakai Y, Miyazaki Y, Matsuoka Y, Matsumoto M, Imanaka M, Ogita S. Pulsatile umbilical venous flow and its clinical significance. *Br J Obstet Gynaecol*. 1992 Dec;99(12):977-80.

Nakai A, Oya A. Accuracy and reproducibility of ultrasound measurements in obstetric management. *Gynecol Obstet Invest*. 2002;54(1):31-6.

Nelson JP, Alfirevic Z. Doppler ultrasound for fetal assessment in high risk pregnancies. [Systematic Review] *Cochrane Pregnancy and Childbirth Group Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005;4.

National Institute for Health and Clinical Excellence (2014). National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. Intrapartum care - Care of healthy women and their babies during childbirth. Guideline No 190., London (UK). Available from URL

<http://www.nice.org.uk/guidance/cg190/resources/guidance-intrapartum-care-care-of-healthy-women-and-their-babies-during-childbirth-pdf>

Nicolaides KH, Economides DL, Soothill PW. Blood gases, pH, and lactate in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Oct;161(4):996-1001.

Novy MJ, Metcalfe J. Measurements of umbilical blood flow and vascular volume by dye dilution. *Am J Obstet Gynecol*. 1970 Mar 15;106(6):899-906.

Nyberg MK<sup>1</sup>, Johnsen SL, Rasmussen S, Kiserud T. Fetal breathing is associated with increased umbilical blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010 Dec;36(6):718-23.

Olofsson P, Laurini RN, Marsál K. A high uterine artery pulsatility index reflects a defective development of placental bed spiral arteries in pregnancies complicated by hypertension and fetal growth retardation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1993 May;49(3):161-8.

Osol G, Mandala M. Maternal uterine vascular remodeling during pregnancy. *Physiology (Bethesda)* 24: 58–71, 2009.

Ozcan T, Sbracia M, d'Ancona RL, Copel JA, Mari G. Arterial and venous Doppler velocimetry in the severely growth-restricted fetus and associations with adverse perinatal outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998 Jul;12(1):39-44.

Padoan A, Rigano S, Ferrazzi E, Beaty BL, Battaglia FC, Galan HL. Differences in fat and lean mass proportions in normal and growth-restricted fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(4):1459–64.

Palmer SK, Zamudio S, Coffin C, Parker S, Stamm E, Moore LG. Quantitative estimation of human uterine artery blood flow and pelvic blood flow redistribution in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992;80(6):1000e6.

Pardi G, Cetin I, Marconi AM, Lanfranchi A, Bozzetti P, Ferrazzi E, Buscaglia M, Battaglia FC. Diagnostic value of blood sampling in fetuses with growth retardation. 1993, *N Engl J Med*, Vol. 328, pp. 692-6

Parra-Saavedra M, Crovetto F, Triunfo S, Savchev S, Peguero A, Nadal A, Parra G, Gratacos E, Figueras F. Placental findings in late-onset SGA births without Doppler signs of placental insufficiency. *Placenta*. 2013 Dec;34(12):1136-41.

Parra-Saavedra M<sup>1</sup>, Crovetto F, Triunfo S, Savchev S, Parra G, Sanz M, Gratacos E, Figueras F. Added value of umbilical vein flow as a predictor of perinatal outcome in term small-for-gestational-age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013 Aug;42(2):189-95.

Pennati G, Bellotti M, De Gasperi C, Rognoni G. Spatial velocity profile changes along the cord in normal human fetuses: can these affect Doppler measurements of venous umbilical blood flow? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004 Feb;23(2):131-7.

Pennati G, Succi L, Rigano S, Boito S, Ferrazzi E. Computational patient-specific models based on 3-D ultrasound data to quantify uterine arterial flow during pregnancy. *IEEE Trans Med Imaging* 2008 Dec;27(12):1715e22.

- Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Dixon G, Brosens I. The pattern of interstitial trophoblastic invasion of the myometrium in early human pregnancy. *Placenta* 2: 303–316, 1981.
- Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta* 1: 3–19, 1980.
- Pijnenborg R, Vercruyssen L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta* 27: 939–958, 2006.
- Pinter SZ, Kripfgans OD, Treadwell MC, Kneitel AW, Fowlkes JB, Rubin JM. Evaluation of Umbilical Vein Blood Volume Flow in Preeclampsia by Angle-Independent 3D Sonography. *J Ultrasound Med.* 2017 Dec 15.
- Prefumo F, Sebire NJ, Thilaganathan B. Decreased endovascular trophoblast invasion in first trimester pregnancies with high-resistance uterine artery Doppler indices. *Hum Reprod* 19:206–209, 2004.
- Prior T, Mullins E, Bennett P, Kumar S. Umbilical venous flow rate in term fetuses: can variations in flow predict intrapartum compromise? *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Jan;210(1):61.e1-8.
- Radaelli T, Boito S, Taricco E, Cozzi V, Cetin I. Estimation of fetal oxygen uptake in human term pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Feb;25(2):174-9
- Rankin JH, Goodman A, Phernetton T. Local regulation of the uterine blood flow by the umbilical circulation. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1975 Dec;150(3):690-4.
- Rasmussen K. Quantitative blood flow in the fetal descending aorta and in the umbilical vein in normal pregnancies. Longitudinal and cross-sectional studies. *Scand J Clin Lab Invest.* 1987 Jun;47(4):319-24.
- Regnault TR, de Vrijer B, Galan HL, et al. Development and mechanisms of fetal hypoxia in severe fetal growth restriction. *Placenta* 2007; 28:714-23.
- Reijnders IF, Mulders AGMGJ, Koster MPH, Koning AHJ, Frudiger A, Willemsen SP, Jauniaux E, Burton GJ, Steegers-Theunissen RPM, Steegers EAP. New imaging markers for preconceptional and first-trimester utero-placental vascularization. *Placenta.* 2018 Jan;61:96-102.
- Resnik R. One size does not fit all. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Sep;197(3):221-2.
- Resnik R. Intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol.* 2002 Mar;99(3):490-6.
- Reynolds SR. Formation of fetal cotyledons in the hemochorial placenta. A theoretical consideration of the functional implications of such an arrangement. *Am J Obstet Gynecol* 94: 425–439, 1966.
- Ribbert LS, Snijders RJ, Nicolaides KH, Visser GH. Relation of fetal blood gases and data from computer-assisted analysis of fetal heart rate patterns in small for gestation fetuses. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98(8):820–3.
- Rigano S, Ferrazzi E, Boito S, Pennati G, Padoan A, Galan H. Blood flow volume of uterine arteries in human pregnancies determined using 3D and bi-dimensional imaging, angio-Doppler, and fluid-dynamic modeling. *Placenta*, 2010, Vol. 31, pp. 37-43.

- Rigano S, Bozzo M, Padoan A, Mustoni P, Bellotti M, Galan HL, Ferrazzi E. Small size-specific umbilical vein diameter in severe growth restricted fetuses that die in utero. *Prenat Diagn.* 2008 Oct;28(10):908-13.
- Rigano S, Bozzo M, Ferrazzi E, Bellotti M, Battaglia FC, Galan HL. Early and persistent reduction in umbilical vein blood flow in the growth-restricted fetus: a longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol* 2001 Oct;185(4):834e8.
- Rizzo G, Arduini D, Romanini C. Umbilical vein pulsations: a physiologic finding in early gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Sep;167(3):675-7.
- Rizzo G, Capponi A, Vendola M, Pietrolucci ME, Arduini D. Relationship between aortic isthmus and ductus venosus velocity waveforms in severe growth restricted fetuses. *Prenat Diagn.* 2008 Nov;28(11):1042-7.
- Rizzo G, Rizzo L, Aiello E, Allegra E, Arduini D. Modelling umbilical vein blood flow normograms at 14-40 weeks of gestation by quantile regression analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016 Mar;29(5):701-6.
- Rizzo G, Capponi A, Cavicchioni O, Vendola M, Arduini D. Low cardiac output to the placenta: an early hemodynamic adaptive mechanism in intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Aug;32(2):155-9.
- Rizzo G, Capponi A, Soregaroli M, Arduini D, Romanini C. Umbilical vein pulsations and acid-base status at cordocentesis in growth-retarded fetuses with absent end-diastolic velocity in umbilical artery. *Biol Neonate.* 1995;68(3):163-8.
- Roberts V, Lo J, Salati J, Lewandowski K, Lindner J, Morgan T, Frias A. Quantitative assessment of placental perfusion by contrast enhanced ultrasound in macaques and human. *Am J Obstet Gynecol* 214: 369, 2016.
- Roma E<sup>1</sup>, Arnau A<sup>2</sup>, Berdala R<sup>1</sup>, Bergos C<sup>1</sup>, Montesinos J<sup>2</sup>, Figueras F<sup>3</sup>. Ultrasound screening for fetal growth restriction at 36 vs 32 weeks' gestation: a randomized trial (ROUTE). *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Oct;46(4):391-7.
- Romney SL, Metcalfe J, Reid DE, Burwell CS. Blood flow of the gravid uterus. *Ann N Y Acad Sci.* 1959 Jan 9;75:762-9.
- Roth S, Chang TC, Robson S, Spencer JA, Wyatt JS, Stewart AL. The neurodevelopmental outcome of term infants with different intrauterine growth characteristics. *Early Hum Dev* 1999;55(1):39–50.
- Rühle W, Ertan AK, Gnirs J, Schmidt W. Doppler ultrasound in obstetrics--contribution to understanding reverse flow in the umbilical artery. *Ultraschall Med.* 1991 Jun;12(3):134-8. German.
- Sağol S, Ozkinay E, Oztekin K, Ozdemir N. The comparison of uterine artery Doppler velocimetry with the histopathology of the placental bed. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1999 Aug;39(3):324-9.
- Savchev S, Sanz-Cortes M, Cruz-Martinez R, Arranz A, Botet F, Gratacos E, Figueras F. Neurodevelopmental outcome of full-term small-for-gestational-age infants with normal placental function. 2013, *Ultrasound Obstet Gynecol*, Vol. 42, pp. 201 -206).

Schabel MC, Roberts VH, Lo JO, Platt S, Grant KA, Frias AE, Kroenke CD. Functional imaging of the nonhuman primate Placenta with endogenous blood oxygen level-dependent contrast. *Magn Reson Med* 76: 1551–1562, 2016.

Scherjon SA, Kok JH, Oosting H, Zondervan HA. Intra-observer and inter-observer reliability of the pulsatility index calculated from pulsed Doppler flow velocity waveforms in three fetal vessels. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993 Feb;100(2):134-8.

Scholbach T, Heien C, Eggebø TM. Umbilical vein vasomotion detected in vivo by serial three-dimensional pixelwise spatially angle-corrected volume flow measurements. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016 May;47(5):623-8.

Sebire NJ, Talbert DG. The dynamic placenta: a closer look at the pathophysiology of placental hemodynamics in uteroplacental compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol* 18: 557–561, 2001.

Sebire NJ, Talbert DG. The dynamic placenta: a closer look at the pathophysiology of placental hemodynamics in uteroplacental compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol* 18: 557–561, 2001.

Shand AW, Hornbuckle J, Nathan E, Dickinson JE, French NP. Small for gestational age preterm infants and relationship of abnormal umbilical artery Doppler blood flow to perinatal mortality and neurodevelopmental outcomes. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol* 2009;49(1):52–8.

Shepard MJ, Richards VA, Berkowitz RL, Warsof SL, Hobbins JC. An evaluation of two equations for predicting fetal weight by ultrasound. *Am J Obstet Gynecol* 1982;142(1):47–54.

Shen G, Huang Y, Jiang L, Gu J, Wang Y, Hu B. Ultrasound prediction of abnormal infant development in hypertensive pregnant women in the second and third trimester. *Sci Rep*. 2017 Jan 16;7:40429.

Siauve N, Chalouhi GE, Deloison B, Alison M, Clement O, Ville Y, Salomon LJ. Functional imaging of the human placenta with magnetic resonance. *Am J Obstet Gynecol* 213, Suppl: S103–S114, 2015.

Simpson NA, Nimrod C, De Vermette R, Fournier J. Determination of intervillous flow in early pregnancy. *Placenta* 18: 287–293, 1997.

Sinding M, Peters DA, Frøkjær JB, Christiansen OB, Uldbjerg N, Sørensen A. Reduced placental oxygenation during subclinical uterine contractions as assessed by BOLD MRI. *Placenta* 39:16–20, 2016.

Smith SD, Dunk CE, Aplin JD, Harris LK, Jones RL. Evidence for immune cell involvement in decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy. *Am J Pathol* 174: 1959–1971, 2009.

Sørensen A, Peters D, Fründ E, Lingman G, Christiansen O, Uldbjerg N. Changes in human placental oxygenation during maternal hyperoxia estimated by blood oxygen level-dependent magnetic resonance imaging (BOLD MRI). *Ultrasound Obstet Gynecol* 42: 310–314, 2013.

Sovio U<sup>1</sup>, White IR<sup>2</sup>, Dacey A<sup>1</sup>, Pasupathy D<sup>3</sup>, Smith GCS<sup>4</sup>. Screening for fetal growth restriction with universal third trimester ultrasonography in nulliparous women in the Pregnancy Outcome Prediction (POP) study: a prospective cohort study. *Lancet*. 2015 Nov 21;386(10008):2089-2097.

- Stampalija T, Gyte GM, Alfirevic Z. Utero-placental Doppler ultrasound for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Sep 8;(9):CD008363.
- Stevenson G, Welsh A, Impey L, Noble JA, Collins S. An image processing technique for the visualization and quantification of blood flow entering the placenta using 3D power Doppler ultrasound. (Abstract)*Placenta*. 45: 85, 2016.
- Sutton MS<sup>1</sup>, Theard MA, Bhatia SJ, Plappert T, Saltzman DH, Doubilet P. Changes in placental blood flow in the normal human fetus with gestational age. *Pediatr Res*. 1990 Oct;28(4):383-7.
- Talbert DG. Uterine flow velocity waveform shape as an indicator of maternal and placental development failure mechanisms: a model-based synthesizing approach. *Ultrasound Obstet Gynecol* 6: 261–271, 1995.
- Tarzamni MK, Kefayati M, Maleki M, Fouladi DF. Placental laterality and uterine blood flow at 20-40 weeks' gestation in low-risk pregnancies. *J Obstet Gynaecol*. 2016;36(1):24-30.
- Tchirikov M, Strohner M, Scholz A. Cardiac output and blood flow volume redistribution during acute maternal hypoxia in fetal sheep. *J Perinat Med*. 2010 Jul;38(4):387-92.
- Tchirikov M, Strohner M, Förster D, Hüneke B. A combination of umbilical artery PI and normalized blood flow volume in the umbilical vein: venous-arterial index for the prediction of fetal outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009 Feb;142(2):129-33.
- Tchirikov M, Rybakowski C, Hüneke B, Schoder V, Schröder HJ. Umbilical vein blood volume flow rate and umbilical artery pulsatility as 'venous-arterial index' in the prediction of neonatal compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002 Dec;20(6):580-5.
- Tchirikov M, Rybakowski C, Hüneke B, Schröder HJ. Blood flow through the ductus venosus in singleton and multifetal pregnancies and in fetuses with intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 May;178(5):943-9.
- Tchirikov M, Eisermann K, Rybakowski C, Schröder HJ. Doppler ultrasound evaluation of ductus venosus blood flow during acute hypoxemia in fetal lambs. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998 Jun;11(6):426-31.
- Thaler I, Manor D, Itskovitz J, Rottem S, Levit N, Timor-Tritsch I, et al. Changes in uterine blood flow during human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162(1):121e5.
- Thompson RS, Stevens RJ. Mathematical model for interpretation of Doppler velocity waveform indices. *Med Biol Eng Comput*. 1989 May;27(3):269-76.
- Thompson RS, Trudinger BJ. Doppler waveform pulsatility index and resistance, pressure and flow in the umbilical placental circulation: an investigation using a mathematical model. *Ultrasound Med Biol* 1990;16(5):449–58.
- Thornton JG, Hornbuckle J, Vail A, Spiegelhalter DJ, Levene M. Infant wellbeing at 2 years of age in the Growth Restriction Intervention Trial (GRIT): multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2004;364(9433):513–20.

- Todros T, Adamson SL, Guiot C, Bankowski E, Raio L, Di Naro E, Schneider H. Umbilical cord and fetal growth--a workshop report. *Placenta*. 2002 Apr;23 Suppl A:S130-2.
- Todros T, Ronco G, Fianchino O, Rosso S, Gabrielli S, Valsecchi L, Spagnolo D, Acanfora L, Biolcati M, Segnan N, Pilu GL. Accuracy of the umbilical arteries Doppler flow velocity waveforms in detecting adverse perinatal outcomes in a high-risk population. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996; 75: 113-9.
- Triunfo S, Crispi F, Gratacos E, Figueras F. Prediction of delivery of small-for-gestational-age neonates and adverse perinatal outcome by fetoplacental Doppler at 37 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Mar;49(3):364-371. doi: 10.1002/uog.15979.
- Trudinger B. Doppler: more or less? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Mar;29(3):243-6.
- Turan OM, Turan S, Gungor S, Berg C, Moyano D, Gembruch U, Nicolaides KH, Harman CR, Baschat AA. Progression of Doppler abnormalities in intrauterine growth restriction. 2008, *Ultrasound Obstet Gynecol*, Vol. 32, pp. 160 -167
- Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, Hunter A, Morrison JJ, Burke G, Dicker P, Tully EC, Malone FD. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Apr;208(4):290.e1-6.
- Valensise H, Vasapollo B, Gagliardi G, Novelli GP. Early and late preeclampsia: two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. *Hypertension*. 2008 Nov;52(5):873-80.
- Valentin L, Sladkevicius P, Laurini R, Söderberg H, Marsal K. Uteroplacental and luteal circulation in normal first-trimester pregnancies: Doppler ultrasonographic and morphologic study. *Am J Obstet Gynecol* 174: 768–775, 1996.
- van Splunder IP, Huisman TW, Stijnen T, Wladimiroff JW. Presence of pulsations and reproducibility of waveform recording in the umbilical and left portal vein in normal pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1994 Jan 1;4(1):49-53.
- Van Splunder P, Huisman TW, DeRidder MA, Wladimiroff JW. Fetal venous and arterial flow velocity wave forms between eight and twenty weeks of gestation. *Pediatr Res*. 1996 Jul;40(1):158-62.
- Velauthar L<sup>1</sup>, Plana MN, Kalidindi M, Zamora J, Thilaganathan B, Illanes SE, Khan KS, Aquilina J, Thangaratinam S. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis involving 55,974 women. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014 May;43(5):500-7.
- Villar J, de Onis M, Kestler E, Bolanos F, Cerezo R, Bernedes H. The differential neonatal morbidity of the intrauterine growth retardation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:151–7.
- Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the newborn cross-sectional study of the INTERGROWTH-21st project. *Lancet* 2014;384:857-68.
- Ville Y, Sideris I, Hecher K, Snijders RJ, Nicolaides KH. Umbilical venous pressure in normal, growth-retarded, and anemic fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 1994 Feb;170(2):487-94.

Vimpeli T, Huhtala H, Wilsgaard T, Acharya G. Fetal cardiac output and its distribution to the placenta at 11-20 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 Mar;33(3):265-71

Vossbeck S, de Camargo OK, Grab D, Bode H, Pohlandt F. Neonatal and neurodevelopmental outcome in infants born before 30 weeks of gestation with absent or reversed end-diastolic flow velocities in the umbilical artery. *Eur J Pediatr* 2001;160(2):128–34.

Yu CH, Chang CH, Ko HC, Chen WC, Chang FM. Assessment of placental fractional moving blood volume using quantitative three-dimensional power doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 2003 Jan;29(1):19-23.

Ward MR, Pasterkamp G, Yeung AC, Borst C. Arterial remodeling. Mechanisms and clinical implications. *Circulation* 102: 1186–1191, 2000.

World Health Organization International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Geneva 1992.

Widnes C, Flo K, Acharya G. Exploring sexual dimorphism in placental circulation at 22-24 weeks of gestation: A cross-sectional observational study. *Placenta.* 2017 Jan;49:16-22.

Widnes C, Flo K, Wilsgaard T, Odibo AO, Acharya G. Sexual Dimorphism in Umbilical Vein Blood Flow During the Second Half of Pregnancy: A Longitudinal Study. *J Ultrasound Med.* 2017 Dec;36(12):2447-2458.

Willink R, Evans DH. A mean blood velocity statistic for the Doppler signal from a narrow ultrasound beam. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1994 Apr;41(4):322-31.

Wilson MJ, Lopez M, Vargas M, Julian C, Tellez W, Rodriguez A, et al. Greater uterine artery blood flow during pregnancy in multigenerational (Andean) than shorter-term (European) high-altitude residents. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;293(3):R1313e1324.

Yao AC, Moinian M, Lind J. Distribution of blood between infant and placenta after birth. *Lancet.* 1969 Oct 25;2(7626):871-3.