

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

Scuola di Dottorato in Scienze Fisiopatologiche, Neuropsicobiologiche ed

Assistenziali del Ciclo della Vita - ciclo XXVII -

**THREE STEPS METHOD TO SCREEN CONGENITAL
HEART DISEASE AT 11-13+6 WEEKS:
VALIDATION OF A NEW HIGH DEFINITION IMAGING MODE
TO DETECT FETAL CARDIAC STRUCTURES**

Relatore: Chiar.ma Prof. Anna Maria MARCONI

Correlatore: Chiar.ma Dott.sa Maria BELLOTTI

Tesi di Dottorato della:

Dott.ssa Arianna Prada

*A Sergio, Giorgio ed Irene,
la mia famiglia*

INDICE

1. Introduzione	pag.4
1.1. Il sistema cardiocircolatorio fetale	pag.5
1.2. Fisiologia del sistema cardiocircolatorio fetale	pag.8
1.2.1. Il preload	pag.9
1.2.2. La compliance ventricolare	pag.10
1.2.3. L'afterload	pag.10
1.2.4. Il miocardio	pag.11
1.2.5. La funzionalità cardiaca	pag.11
1.2.6. Le dimensioni ventricolari	pag.13
1.3. Misurazioni quantitative e qualitative del flusso nel feto umano	pag.13
1.3.1. Riproducibilità della valutazione quantitativa dei flussi	pag.15
1.3.2. La metodica e-flow	pag.16
1.4. Le Cardiopatie congenite in epoca prenatale	pag.16
1.4.1. Incidenza delle cardiopatie congenite	pag.16
1.4.2. Fisiopatologia cardiocircolatoria in feti affetti da cardiopatia congenita	pag.16
1.5. L'ecocardiografia in feti con cardiopatia congenita	pag.18
1.5.1. Ruolo dell'ecocardiografia nella diagnosi delle cardiopatie congenite	pag.18
1.5.2. Accuratezza diagnostica dell'ecografia nelle cardiopatie congenite	pag.19
1.5.3. Impatto della diagnosi di cardiopatia congenita in epoca prenatale	pag.20
2. Scopo della tesi	pag.23
3. Materiali e metodi	pag.24
4. Risultati	pag.27
5. Conclusioni	pag.34
6. Bibliografia	pag.36

INTRODUZIONE

La valutazione del benessere e della normalità morfologica fetale a fine diagnostico e terapeutico ha assunto una sempre maggior importanza nell'ostetricia moderna. Da qui la necessità di indagare tramite metodiche non invasive gli aspetti sia morfologici che funzionali del feto e della placenta. L'introduzione della tecnica ecografica negli anni '70-'80, potenziata in seguito dalla metodica Doppler, ha permesso importanti passi avanti nello studio della morfologia fetale e nella comprensione e interpretazione dei meccanismi fisiopatologici alla base della crescita e delle patologie fetali. Inoltre ha anche consentito di indagare da un punto di vista funzionale la circolazione fetale e il distretto feto-placentare mediante analisi sia qualitative sia quantitative.

La metodologia Doppler rappresenta a oggi la metodica non invasiva di scelta nel feto umano per la valutazione in vivo della circolazione fetale e utero-placentare, consentendo una valutazione del cuore fetale non solo morfologica, ma anche funzionale.

La tecnica di velocimetria Doppler si basa sul principio fisico secondo il quale un fascio di ultrasuoni che incontra un oggetto in movimento è riflesso in modo tale che la differenza di frequenza tra l'onda emessa dalla sonda e quella riflessa varia con il variare della velocità dell'oggetto stesso (Effetto Doppler). Per la sua intrinseca complessità la tecnologia Doppler è, infatti, considerata una metodica di II livello.

Le potenzialità diagnostiche e cliniche proprie dell'ecografia trovano la loro massima espressione sia nella patologia dell'accrescimento fetale che in quella cardiaca. In questi casi l'integrazione dell'ecografia bidimensionale con la metodica Doppler costituisce uno strumento decisivo per la diagnosi, divenuta negli anni sempre più accurata, per il monitoraggio dell'andamento clinico e per la corretta impostazione del timing del parto.

Le anomalie cardiache rappresentano una delle più frequenti malformazioni congenite, con una prevalenza compresa tra 4 e 8 casi per 1000 nati vivi, e sono responsabili di circa il 20% delle morti endouterine e del 30% delle morti neonatali dovute ad anomalie congenite [1].

Numerosi studi hanno dimostrato però come la mortalità e la morbilità associata a queste patologie siano suscettibili di variazioni significative in relazione alla capacità di identificare una cardiopatia congenita durante l'epoca prenatale, in quanto la diagnosi in utero permette la programmazione di un'adeguata assistenza al neonato dopo il parto che implica la scelta del luogo del parto per un'eventuale rianimazione con supporto emodinamico e/o ventilatorio. È stato evidenziato che la pianificazione della nascita o del trasferimento immediato di un neonato con una cardiopatia congenita presso una struttura in grado di offrire assistenza neonatale adeguata e competenze dal punto di vista cardiocirurgico sono fattori associati con un

miglioramento in termini di morbilità e mortalità neonatali [2,3,4,5]. Di conseguenza, la diagnosi prenatale delle cardiopatie congenite riveste un ruolo molto importante nell'ambito della cardiologia e della cardiochirurgia neonatale ed è in grado di avere un impatto significativo sulla storia naturale di queste patologie e sulle loro conseguenze a breve e medio termine.

In passato la diagnosi delle anomalie cardiache era limitata all'ecografia della ventesima settimana atta a valutare la morfologia fetale in accordo con le linee guida di I livello. Tuttavia negli ultimi anni, con l'introduzione dello screening ecografico per le aneuploidie fetali a 11-13 settimane (misurazione della translucenza nucale) in associazione alla disponibilità di apparecchiature ad alta risoluzione, si è aperta una nuova e precoce finestra per la valutazione dell'anatomia cardiaca fetale.

Le dimensioni veramente piccole del cuore fetale nel I trimestre, 5-10 mm, hanno però reso questa valutazione molto difficile per un operatore di I livello con le tradizionali metodiche B-mode e color Doppler.

Nel 2010 Bellotti et al ha dimostrato come un ginecologo esperto in ecocardiografia fetale a 20 settimane sia in grado di valutare l'anatomia cardiaca già nel I trimestre con l'utilizzo di una sonda ad alta frequenza [6] e come la sensibilità della diagnosi possa migliorare con l'applicazione della metodologia Doppler [7].

Our results provide evidence that obstetricians, trained to study the heart in the second trimester, can also differentiate reliably between normal and abnormal heart findings in the first trimester, when using a high-frequency transabdominal ultrasound probe

Nel I trimestre la detection rate delle principali cardiopatie congenite varia tra il 29 ed il 50% in relazione al tipo di malformazione (51% ipoplasia del cuore sinistro, 16% coartazione aortica e 18% nella tetralogia di Fallot o nella trasposizione dei grossi vasi) e alla capacità dell'operatore [8].

Bisogna anche considerare l'epoca gestazionale, infatti la probabilità di diagnosi di un operatore esperto a 11 settimane è del 45% mentre sale a 90% a 13 settimane [9].

In un recente studio si afferma che la capacità di valutare correttamente la morfologia fetale nel I trimestre è possibile ma necessita di un operatore esperto in ecocardiografie fetali e l'utilizzo della sonda transvaginale o di nuove metodiche ecografiche transaddominali [8].

1.1 Il sistema cardiocircolatorio fetale

Nel feto, a differenza di quanto avviene nella vita extrauterina, gli scambi dei gas respiratori si verificano a livello della placenta e non nei polmoni. Dalla placenta, dove avviene la rimozione

della CO₂ e dei cataboliti e l'approvvigionamento dell'ossigeno e dei nutrienti, il sangue torna al feto, all'ilo epatico, attraverso la vena ombelicale. Essendo il sangue della vena ombelicale quello a maggior saturazione di O₂ (80-85%) nel circolo fetale, la distribuzione del ritorno venoso ombelicale è il più importante fattore nel determinare il rilascio di ossigeno e nutrienti ai tessuti fetali [10,11].

Nel fegato la vena ombelicale, dopo aver fornito rami al lobo destro, si divide nel Dotto Venoso di Aranzio e in un ramo arcuato (seno ombelicale) che confluisce a destra nella vena porta [10,11]. La presenza del Dotto Venoso permette lo shunt di una parte del sangue ricco di ossigeno proveniente dalla vena ombelicale, direttamente nel cuore fetale, bypassando così gran parte del distretto epatico. Questo sangue ben ossigenato passa poi, attraverso il forame ovale, nell'atrio sinistro, dove si unisce al sangue refluo dalle vene polmonari. Attraverso la valvola mitrale entra quindi nel ventricolo sinistro e infine nell'aorta ascendente.

Gli studi di Eldestone e Rudolph condotti sui feti di pecora con la tecnica delle microsfero marcate, riportano che la percentuale di sangue che dalla vena ombelicale passa direttamente nel Dotto Venoso è pari a circa il 53% [12]. Inoltre osservarono che, nell'animale, il sangue proveniente dal dotto venoso confluiva nella vena cava inferiore immediatamente di sotto il diaframma, in un orifizio d'entrata comune con le vene epatiche. Nel tratto toracico della vena cava inferiore evidenziarono una parziale separazione tra il flusso della porzione anteriore destra, proveniente dalla vena cava inferiore addominale e dalle vene epatiche destre (sangue a bassa saturazione di ossigeno) e il flusso della porzione posteriore sinistra della cava toracica, proveniente dal Dotto Venoso e dalla vena epatica sinistra (sangue a elevata saturazione di ossigeno) [11,13].

Confluendo nell'atrio destro, le due componenti del flusso della vena cava si mantengono separate: il sangue a bassa saturazione di ossigeno (20-30%) proveniente dalla vena cava inferiore e dalla vena epatica destra, insieme alla maggior parte del sangue refluo dal distretto brachiocefalico, passa preferenzialmente nel ventricolo destro attraverso la valvola tricuspide, mentre il sangue a più alta saturazione di ossigeno, proveniente dal dotto venoso e dal fegato sinistro (65-70% del ritorno venoso all'atrio destro), passa attraverso il forame ovale nell'atrio sinistro.

Nel feto umano il sangue proveniente dal Dotto venoso rappresenta la maggior parte del ritorno venoso all'atrio destro. Questo sangue ben ossigenato passa, attraverso il forame ovale direttamente in atrio sinistro, dove si unisce al flusso proveniente dalle quattro vene polmonari.

Dal ventricolo sinistro il sangue entra nell'aorta ascendente e per la maggior parte si distribuisce alle coronarie, alla testa, al circolo cerebrale e agli arti superiori. Solo una quantità irrilevante

arriva invece, attraverso l'istmo aortico, all'aorta discendente dove si unisce al flusso proveniente dal Dotto Arterioso di Botallo; questo sangue va ora, da una parte a nutrire i restanti distretti fetali attraverso rami forniti da questo tratto dell'aorta, dall'altra alla placenta, attraverso le arterie iliache interne e quindi le arterie ombelicali, per subire il processo di ossigenazione ed eliminazione dell'anidride carbonica.

Il forame ovale rappresenta il primo shunt intracardiaco del feto che influenza in maniera importante la sua crescita, il suo sviluppo, nonché la funzionalità del suo cuore.

Il secondo shunt è rappresentato dal Dotto Arterioso di Botallo che, come già detto, bypassa la maggior parte del sangue che esce dal ventricolo destro direttamente in aorta discendente. Infatti, tornando all'atrio destro, il sangue proveniente dalla vena cava superiore e inferiore che viene qui a trovarsi, passa in ventricolo destro attraverso la valvola tricuspide. La saturazione del sangue presente in ventricolo destro è quindi inferiore a quella del sangue che si trova nel ventricolo di sinistra e che va a irrorare preferenzialmente gli organi "nobili", cervello e cuore; il sangue presente nel ventricolo destro, andrà alla restante parte del corpo fetale: distretto toracico, splancnico, pelvi e arti inferiori. Dal ventricolo destro solo il 20% del sangue passa nell'arteria polmonare e da qui nel circolo polmonare, mentre il restante 80 % raggiunge l'aorta discendente attraverso il Dotto di Botallo [10,14,15]. Se nel feto di pecora il flusso di sangue che è diretto ai polmoni rappresenta il 6-8% della portata cardiaca combinata e il 10% della portata destra, nel feto umano è stato stimato che il flusso di sangue che passa nell'arteria polmonare rappresenta l'11% della portata cardiaca combinata e il 22% della portata cardiaca destra [16].

La bassa percentuale di flusso che va al circolo polmonare è spiegata dal fatto che, nel feto, il circolo polmonare non ha la funzione di scambio dei gas respiratori (funzione svolta dalla placenta) ed è inoltre un circolo ad altissima resistenza vascolare, a differenza di quanto avviene nella vita extrauterina.

Immediatamente dopo la nascita iniziano le modificazioni a carico del sistema cardio-polmonare. Al primo respiro i polmoni si riempiono di aria, le resistenze vascolari polmonari si riducono e il flusso di sangue nelle vene e nell'arteria polmonare aumenta enormemente. La caduta di pressione nel tronco polmonare è seguita da un'inversione e riduzione del flusso attraverso il Dotto Arterioso di Botallo, che inizia a chiudersi. Il flusso nella vena ombelicale decresce e così il flusso attraverso il dotto venoso, vene epatiche di sinistra e mediale. Il dotto venoso si oblitera entro 3 mesi.

L'effetto netto sta nella caduta del flusso attraverso il forame ovale e in un'inversione del gradiente pressorio a livello degli atri, con apposizione del lembo del forame ovale sul setto atriale, che si chiuderà permanentemente.

La circolazione cardiaca fetale è rappresentata schematicamente nella figura 1.

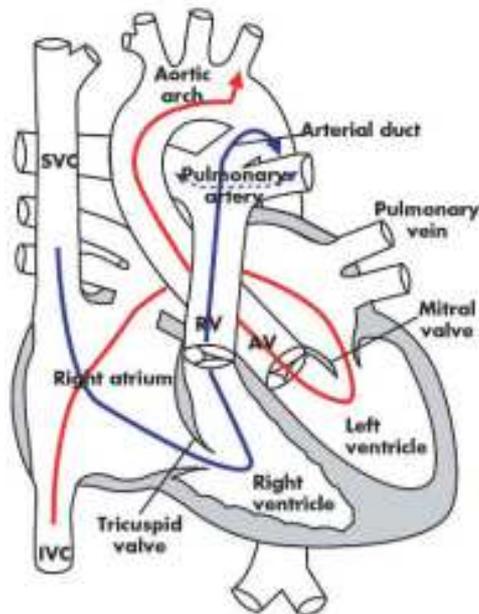


Figura 1.

1.2 Fisiologia del sistema cardiocircolatorio fetale

La funzione cardiovascolare è il risultato dell'interazione tra diversi elementi tra cui il volume sanguigno, il preload ventricolare e l'afterload, le proprietà inotrope del miocardio (contrattilità miocardica intrinseca) e la capacità di rilasciamento del miocardio stesso, la funzione valvolare, il ritmo cardiaco e l'accoppiamento atrio-ventricolare e ventricolo-arterioso [17].

In particolare la funzione cardiaca può quindi essere considerata l'espressione di quattro fattori fondamentali che regolano la portata cardiaca:

- il preload, cioè la quantità di sangue che arriva al cuore.
- la compliance, cioè la distensibilità del miocardio in diastole
- la contrattilità miocardica
- l'afterload, rappresentato dalle resistenze a valle delle eiezioni ventricolari, ovvero quelle resistenze che i ventricoli devono superare per espellere il sangue.

Le conoscenze concernenti la circolazione fetale umana erano supportate, fino a due decenni fa, da studi condotti su feti animali. Tuttavia, le differenze sia anatomiche sia funzionali ne hanno in parte limitato l'applicazione diretta a scopo clinico. Il vantaggio nell'animale è rappresentato dal fatto che tutti i parametri possono essere indagati grazie all'impiego di metodi invasivi. Questo non è ovviamente possibile nei feti umani. Sono state quindi utilizzate tecniche non invasive

ultrasonografiche che hanno permesso di valutare alcuni parametri emodinamici. Nel feto umano non è possibile misurare le pressioni con il solo utilizzo delle apparecchiature ecografiche.

1.2.1 Il preload

La valutazione del ritorno venoso al cuore fetale si è basata inizialmente sull'analisi dei profili velocimetrici Doppler ottenuti a livello della vena cava inferiore e del dotto venoso [18]. Nel feto umano una struttura vestibolare comune accoglie il sangue proveniente dalla vena cava inferiore, dalle vene sovraepatiche e dal dotto venoso. Per ottenere informazioni Doppler velocimetriche attendibili relative ai diversi elementi del preload è necessario porre il volume campione a livello dei singoli vasi, così da evitare che segnali provenienti da diversi distretti sanguigni si possano sovrapporre [19]. Nella vena cava la forma d'onda ottenuta presenta tre parti: due picchi di velocità di flusso anterogrado corrispondente alla sistole (onda S) e alla fase iniziale della diastole ventricolare (onda D), e un flusso retrogrado in corrispondenza dell'aumento di pressione durante l'inizio della sistole atriale (onda A). E' stato sperimentalmente osservato nel feto di pecora che la percentuale di flusso retrogrado rispetto al flusso totale è correlata al gradiente pressorio tra atrio e ventricolo destro a fine diastole (durante la contrazione atriale il forame ovale è, infatti, chiuso)[20]. Il gradiente pressorio è a sua volta correlato alla compliance ventricolare e alla pressione ventricolare telediastolica. Poiché in feti fisiologici con il progredire della gravidanza si osserva una riduzione significativa del flusso retrogrado rispetto alla sistole atriale [21], si potrebbe ipotizzare una modificazione di entrambe le componenti: da un lato un aumento della compliance ventricolare, dall'altro una riduzione delle resistenze periferiche che determinano la diminuzione delle pressioni telediastoliche ventricolari. Per il dotto venoso il sito di campionamento più riproducibile è risultato l'istmo. A questo livello le velocità di flusso sono le più elevate rispetto a tutto il vaso (Pennati, Ultrasound 1997). Sfruttando il fenomeno Doppler dell'aliasing, è possibile identificare con il color Doppler il punto preciso dove sono localizzate le massime velocità: questo punto corrisponde all'istmo (Kiserud). Il profilo velocimetrico del dotto venoso presenta un flusso anterogrado durante tutta la durata del ciclo ed è caratterizzato da due picchi: un corrispondente alla sistole ventricolare (onda S) e il secondo alla fase iniziale della diastole ventricolare (onda D). Le velocità nel dotto sono elevate e aumentano nel corso della gravidanza [22,23,24]. Conseguentemente alla sua forma peculiare, nel dotto venoso si verifica un'emodinamica di flusso complessa che è stata studiata tramite un modello matematico che ha permesso di ottenere il valore di hDV e di calcolarne il flusso [25,26,27].

1.2.2 Compliance ventricolare

La compliance ventricolare rappresenta la proprietà del miocardio di distendersi durante la fase diastolica. Nel cuore fetale si può studiare questa funzione attraverso l'analisi delle velocità di flusso atrio-ventricolare, ottenute mediante lo studio Doppler [28]. In entrambi gli osti si ottengono forme

D'onda con due picchi di velocità: il primo (picco E) rappresenta la velocità di riempimento passivo della fase iniziale della diastole ventricolare; il secondo, picco A, corrisponde alla contrazione atriale. Nel feto umano, a differenza di quanto avviene nell'adulto, la velocità di contrazione atriale è più elevata rispetto a quella di riempimento passivo. Questo probabilmente si verifica a causa di una compliance ventricolare ridotta nel cuore fetale. Nelle gravidanze fisiologiche lo studio della funzione diastolica è effettuato valutando il rapporto E/A mitralico e tricuspide (E= Early diastole; A= fase di contrazione atriale del riempimento ventricolare). Questo rapporto tende all'unità con il progredire della gravidanza per l'aumento progressivo della velocità di riempimento passivo. Questa modificazione starebbe significando una progressiva maturazione della compliance diastolica [29,30], associata a un aumento della volemia e del preload. Inoltre il comportamento del rapporto E/A a destra e a sinistra è sostanzialmente simile, espressione di una funzionalità diastolica e di uno sviluppo simile tra i due ventricoli [30,31].

1.2.3 Afterload

Rappresenta le resistenze contro cui deve lavorare il muscolo cardiaco. I diversi elementi sono stati oggetto di vari studi sperimentali. Frequentemente è stato fatto riferimento all'afterload considerandolo come le resistenze periferiche contro cui lavora il ventricolo ed è stato evidenziato come queste resistenze possano influenzare lo sviluppo morfologico ventricolare [32,33].

Più accuratamente possiamo però parlare di afterload come il "carico" contro cui il ventricolo deve contrarsi, includendo così anche la pressione e la sua distribuzione "attraverso" le pareti ventricolari [34,35]. Una ancor più accurata "rappresentazione" dell'afterload sarebbe lo stress di parete durante la sistole [36] che tiene in considerazione la pressione, lo spessore della parete miocardica e le resistenze periferiche [34]. Due sono i parametri ecocardiografici inizialmente utilizzati nei feti umani per valutare le resistenze periferiche: la velocità massima di eiezione sistolica o Peak Velocity (PV) e il Time to Peak Velocity (TPV). Il TPV, in altre parole il tempo di accelerazione, rappresenta l'intervallo di tempo tra l'inizio della sistole e il picco sistolico. In studi condotti su neonati e adulti, con ipertensione polmonare è stato visto che il TPV era inversamente proporzionale alle pressioni arteriose medie. Quindi possiamo dire che tanto

minore sarà il TVP, tanto maggiore saranno le resistenze a valle. Il Time to Peak Velocity è stato proposto anche nel feto umano come indicatore indiretto delle pressioni in aorta e in arteria polmonare [37]. Ricordiamo che nel feto le pressioni in aorta ascendente e in arteria polmonare sono pressoché identiche conseguentemente agli shunt presenti. Il flusso diretto ai vari organi del corpo fetale e al distretto feto placentare è quindi determinato dal fattore periferico delle resistenze vascolari locali. Questo parametro viene a sua volta influenzato dalle dimensioni del letto vascolare e dal grado di vasocostrizione o vasodilatazione dei vasi periferici. Il PV (velocità di picco) è influenzato dall'afterload e dalla superficie valvolare del vaso. In feti fisiologici le velocità di picco sistolico in aorta sono state più elevate rispetto a quelle riscontrate in arteria polmonare [38], nonostante la gittata del ventricolo destro sia maggiore rispetto a quella del ventricolo sinistro [39]. La prevalenza delle velocità di picco in aorta può essere spiegata considerando le minori dimensioni dell'ostio valvolare aortico e le ridotte resistenze periferiche presenti nel circolo cerebrale, che determinano un afterload sinistro inferiore rispetto al destro. In sintesi la velocità di picco è inversamente proporzionale sia alle dimensioni dell'ostio valvolare che alle resistenze periferiche determinanti l'afterload del vaso considerato. La velocità di picco aumenta per entrambi gli efflussi durante il corso della gravidanza. Diversi possono essere i meccanismi alla base di queste modificazioni: aumento del flusso attraverso gli osti valvolari proporzionato alle modificazioni della massa corporea; aumento della contrattilità miocardica; riduzione progressiva dell'afterload.

1.2.4 Il miocardio

Differenze tra il cuore fetale e quello adulto sono state riscontrate anche nella struttura del miocardio stesso. Il cuore fetale cresce progressivamente durante la gravidanza, come per adattarsi alle variazioni di richiesta di lavoro che occorrono durante la vita fetale. La densità delle miofibrille aumenta particolarmente durante l'inizio della gravidanza, ma la capacità contrattile continua a migliorare durante la seconda metà della gestazione [40]. Il miocardio fetale differisce da quello adulto. Innanzitutto contiene un numero maggiore di elementi non contrattili (il 60% circa contro il 30% dell'adulto), in altre parole una minor quantità di tessuto contrattile. Vari studi hanno dimostrato che c'è complessivamente una minor compliance ventricolare [41]. Come conseguenza il cuore fetale, per aumentare la portata cardiaca, agisce prevalentemente sull'heart rate piuttosto che sullo "stroke volume". Il cuore fetale ha, infatti, una ridotta capacità di aumentare la portata cardiaca [42].

1.2.5 La funzionalità cardiaca

La funzione cardiaca durante la vita intrauterina differisce sensibilmente da quella dell'adulto e anche del neonato. In virtù delle caratteristiche anatomiche cardiache i due ventricoli lavorano in parallelo, anziché in serie come avviene nella vita extrauterina. Le due gittate cardiache possono quindi essere diverse. Inoltre il circolo in parallelo permetterebbe al cuore fetale di adattarsi a "shiftare" il sangue da un ventricolo all'altro, così da consentire al feto di sopravvivere anche alla presenza di alterazioni anatomiche cardiache quali l'ipoplasia ventricolare o la trasposizione delle grosse arterie [43].

Nella fisiologia fetale, dunque, il termine "portata cardiaca" è frequentemente utilizzato per definire la portata cardiaca combinata dei due ventricoli. Con i due ventricoli che lavorano in parallelo verso la circolazione sistemica, la differenza di pressione tra i due ventricoli è minima, soprattutto se comparata con la differenza presente [44,45] in epoca post-natale. I primi studi per valutare la portata cardiaca e le relative differenze tra quella destra e quella sinistra furono condotti su animali. I risultati evidenziarono una dominanza della parte destra del cuore fetale rispetto alla sinistra. Nei feti di pecora il 60-65% della portata cardiaca combinata è espulso dal ventricolo destro e solo il 35-40% dal ventricolo sinistro. E' stato inoltre calcolato, in conformità a queste proporzioni, il rapporto tra portata cardiaca destra e portata cardiaca sinistra, risultato essere pari a 1,5-1,85 [46]. Anche nel feto umano sono stati condotti diversi studi. La portata cardiaca di entrambi i ventricoli è stata misurata in epoca prenatale utilizzando le metodiche Doppler ecocardiografiche e sono stati valutati sia i flussi attraverso le valvole atrioventricolari sia attraverso le valvole semilunari [47]. Questi studi hanno effettivamente confermato la dominanza del cuore destro evidenziando una maggior portata cardiaca destra rispetto alla sinistra. La prevalenza destra riscontrata è stata comunque meno marcata di quanto non fosse nell'animale. Il rapporto tra portata cardiaca destra e sinistra è, infatti, risultato essere minore rispetto a quello calcolato nella pecora: 1,0-1,5 [48,49,50,51,52]. Poiché la portata cardiaca sinistra si distribuisce in maggior misura alla testa al cuore e agli arti superiori, il minor rapporto tra le portate nei feti umani rispetto a quelli nei feti di pecore, può essere spiegato da un maggior volume relativo dell'encefalo umano rispetto a quello animale [53]. Tutti gli studi hanno anche riscontrato un significativo aumento della portata cardiaca con l'epoca gestazionale. Rasanen [50] ha calcolato una portata cardiaca combinata a metà della gravidanza di circa 210 mL, aumentata notevolmente verso la fine (circa 1900 mL). Mentre alcuni studi (Allan et al. 1987) hanno evidenziato un rapporto tra la portata cardiaca destra e quella sinistra approssimativamente costante, altri [48] hanno evidenziato una diminuzione del rapporto (portata destra/portata sinistra) con l'aumentare dell'epoca gestazionale. Rasanen ha riportato [50] un aumento percentuale della portata cardiaca destra rispetto alla portata cardiaca combinata

e una diminuzione di quella sinistra da 28 a 38 settimane di gestazione. Nello studio a 38 settimane la portata cardiaca destra in percentuale alla portata cardiaca combinata è risultata essere maggiore rispetto a quella sinistra: 60% contro 40%. Secondo gli autori questo potrebbe giustificare il riscontro di una sproporzione tra ventricolo destro e il sinistro presente in alcuni feti durante il terzo trimestre. I risultati di Rasanen riprendono e in parte confermano quanto affermato da studi precedenti. Tali studi [54] evidenziavano un aumento esponenziale delle portate cardiache e delle aree di efflusso rispetto all'epoca gestazionale e inoltre una prevalenza dell'efflusso destro rispetto a quello sinistro. Questo dato supporta l'importanza della valutazione dei parametri quantitativi riguardo alla massa corporea piuttosto che all'epoca gestazionale. Un ampio lavoro condotto nel 2001 [55] ha confermato che le gittate e le portate cardiache aumentano con il progredire della gravidanza, mentre entrambe le gittate corrette per unità di peso fetale non si modificano significativamente con l'avanzare dell'epoca gestazionale. La circolazione polmonare è strettamente correlata con lo sviluppo del sistema cardiovascolare fetale. Un normale flusso arterioso polmonare è importante per assicurare un adeguato sviluppo e crescita polmonare [42]. Inizialmente si pensò che il flusso polmonare rimanesse costante durante tutta la gravidanza [49] e che rappresentasse meno del 20 % della portata cardiaca combinata. Rasanen et al. [50] ha dimostrato che dopo il secondo trimestre s'inizia a osservare un aumento nella quantità di sangue diretta al circolo polmonare. E' stato inoltre evidenziato un aumento della percentuale di flusso polmonare verso la portata cardiaca combinata dalla ventesima settimana di gestazione (13%) alla trentesima (25%), per rimanere poi costante. Lo studio di Mielke, già citato in precedenza [55], ha osservato un'analogia distribuzione dei flussi, ma con una minor percentuale di flusso diretta ai polmoni (11%) rispetto a quella riscontrata da Rasanen, più in linea con gli studi precedenti [45].

1.2.6 Dimensioni ventricolari

Le dimensioni dei ventricoli e dei tratti di efflusso sono state oggetto di più studi che hanno utilizzato l'ecocardiografia M-mode e quella "cross sectional" [47]. Tutti gli studi hanno rilevato un aumento lineare delle dimensioni cardiache con il progredire della gravidanza. Il rapporto tra il ventricolo destro e quello sinistro è stato costante secondo alcuni studi (Wladimiroff et al 1982; St. John Sutton et al., 1984), mentre in altri è stato dimostrato un aumento di dimensioni maggiore per il destro rispetto al ventricolo sinistro (Sharland and Allan, 1992)[47], con conseguente incremento del loro rapporto. Se inizialmente le strutture cardiache destre e sinistre sono approssimativamente uguali [56] tuttavia, come riscontrato in più studi, con il progredire della gravidanza può comparire una lieve prevalenza delle sezioni destre [57]. A volte può essere

difficile distinguere una prevalenza destra fisiologica, da una patologica che potrebbe, per esempio, essere espressione di una coartazione aortica [58].

1.3 Misurazioni quantitative e qualitative del flusso nel feto umano

Il Doppler pulsato consente di indagare la circolazione fetale da un punto di vista funzionale mediante analisi qualitative e quantitative.

L'**analisi qualitativa** della forma d'onda di un flusso sanguigno permette di ottenere indici indipendenti dall'angolo d'insonazione, importanti nella pratica clinica. Tra questi ci sono il Pulsatility Index (PI) e il Resistance Index (RI). Il PI e il RI sono espressione dell'impedenza vascolare a valle del distretto indagato [59], oltre che delle caratteristiche anatomiche del vaso stesso. Gli indici qualitativi stimano quindi l'entità delle resistenze al passaggio del sangue, ma non sono direttamente collegati con la quantità effettiva di sangue presente nel vaso.

Analisi quantitativa: consente la misurazione effettiva della portata attraverso un vaso. Permette quindi una valutazione globale della distribuzione circolatoria nei vari distretti sanguigni. Per calcolare la portata ematica di flusso (Q) si possono usare le misurazioni Doppler velocimetriche. Per ottenere il valore del flusso volumetrico Q in un vaso al tempo t in teoria si potrebbe utilizzare la velocità media istantanea nell'area attraversata, che è misurata automaticamente dall'apparecchiatura ecografica. Questo valore è, però, ritenuto inaccurato poiché non è possibile incorporare direttamente la componente relativa alle basse velocità derivanti dalle pareti dei vasi adiacenti. La portata è invece calcolata applicando la seguente formula:

$$Q \text{ (ml/min)} = \pi D^2/4 \text{ (cm}^2\text{)} * V_{\text{max}}(t) \text{ (cm/sec)} * h * 60$$

Dove $\pi D^2/4=S$, ovvero l'area del vaso nella sezione di campionamento in cui D rappresenta il diametro misurato; $V_{\text{max}}(t)$ è la media delle velocità massime temporali lungo, il profilo del flusso di quel determinato vaso. La $V_{\text{max}}(t)$ è una misura accurata e riproducibile qualora venga ottenuta seguendo una procedura standardizzata per le misurazioni Doppler (angolo di insonazione $<30^\circ$, volume campione adeguato al calibro del vaso esaminato, stato di quiete fetale). È importante ricordare che la misurazione della velocità a livello di un vaso è strettamente dipendente dall'ampiezza dell'angolo d'insonazione. L'angolo d'insonazione è l'angolo compreso tra la direzione del fascio ultrasonoro incidente e la direzione del flusso o l'asse maggiore del vaso. Di conseguenza, la misurazione delle velocità è tanto più accurata e

precisa quanto più quest'angolo è prossimo a zero. È comunque ritenuta accettabile un'ampiezza fino a 30°. Misurando la quantità di sangue che passa attraverso la valvola aortica e la valvola polmonare, possono essere determinate le portate cardiache destra e sinistra. La proporzione delle due portate ci consente di avere un'indicazione sulla distribuzione del circolo al distretto splancnico e brachiocefalico del feto. "h" è un coefficiente che dipende dall'emodinamica del vaso e rimane costante durante tutto il ciclo cardiaco. Per i flussi sanguigni in vasi approssimativamente cilindrici il coefficiente h è teoricamente definibile in relazione al tipo di vaso (arteria = 0,9; vena ombelicale=0,5). Per contro, non bisogna dimenticare che la valutazione quantitativa dei flussi è gravata da molte possibili fonti di errore e ha dunque problemi di riproducibilità [60]. L'affidabilità dipende innanzitutto dall'accuratezza nella misurazione del diametro del vaso e nell'ottenimento del valore della velocità media spaziale nello stesso punto.

1.3.1 Riproducibilità della valutazione quantitativa dei flussi

Condizioni essenziali per eseguire studi sulle valutazioni quantitative sono rappresentate dall'utilizzo di apparecchiature ecografiche ad alta risoluzione implementate con tecnica Doppler velocimetrica, dall'applicazione di una metodologia d'indagine accurata e descritta in precedenza [27] e dalla conoscenza dell'emodinamica specifica del vaso da campionare deducibile o da simulazioni matematiche (Pennati) o da osservazioni sperimentali (Kiserud)[61]. I problemi metodologici riguardano essenzialmente due variabili coinvolte nel calcolo delle portate: il diametro del vaso e la velocità media del flusso nella sezione considerata. La misurazione ecografica del diametro dei vasi è un passaggio fondamentale. Per ottenere l'area del vaso, secondo la formula $S=2R^2\pi$, è evidente come anche piccoli errori nella misurazione del diametro del vaso.

per eccesso o per difetto, possano avere importanti ripercussioni sul calcolo totale [54] del volume ematico. Per ridurre al minimo il possibile errore sono stati proposti da Kiserud [61] alcuni accorgimenti metodologici cui attenersi:

- a) Usare una sezione perpendicolare al vaso in esame
- b) Utilizzare il massimo ingrandimento possibile
- c) Eseguire misurazioni ripetute così da ottenere una media che rispecchi meglio le reali dimensioni del vaso e dunque una misurazione più attendibile
- d) Posizionare i calibri a livello delle parete interna dei vasi campionati

Sono stati condotti degli studi per valutare la riproducibilità di queste misurazioni [27]. Poiché le misurazioni dei calibri di vasi di dimensioni molto piccole quali il dotto venoso è risultate accurate e riproducibili [27], a maggior ragione è verosimile pensare che sia possibile misurare

con accuratezza e riproducibilità anche vasi con diametri maggiori, quali l'aorta e l'arteria polmonare. La seconda variabile coinvolta è la velocità media. Teoricamente si potrebbe utilizzare la velocità media spaziale che è calcolata automaticamente dall'apparecchiatura ecografica. Abbiamo però preferito non utilizzare questa velocità perché inaccurata e suscettibile di un alto fattore di errore, poiché non è possibile scorporare direttamente la componente relativa alle basse.

Velocità presenti vicino alle pareti dei vasi. Abbiamo invece usato la media delle velocità massime temporali ($V_{max}(t)$) calcolata utilizzando un volume campione adeguato, che avesse, cioè, dimensioni corrispondenti al lume del vaso considerato. Trattandosi di una media di velocità massime, abbiamo introdotto un fattore di correzione h diverso da 1, poiché le lamelle concentriche del flusso laminare non hanno tutte la medesima velocità, ma sono caratterizzate da una diminuzione verso la periferia a causa dell'attrito con le pareti del vaso. Quindi il fattore di correzione più correlabile con la fisiologia della fluido dinamica è $h=0,9$ nell'aorta e nell'arteria polmonare, poiché la riduzione della velocità è minima alle pareti nei vasi in uscita dalla pompa cardiaca.

1.3.2 La metodica e-FLOW

Negli ultimi anni accanto alla metodica bidimensionale e Doppler si sono sviluppate delle nuove tecniche per migliorare la qualità dell'immagine ecografica.

L'eFLOW è una nuova metodologia ad alta definizione atta a indagare il sistema cardiocircolatorio potenziata da un'alta risoluzione spaziale e temporale. Con questa metodica è possibile una maggiore risoluzione rispetto alle metodiche tradizionali. Questa tecnica permette di individuare flussi laminari a bassa velocità e di rappresentare come un'immagine a calco molto precisa la cavità entro cui il flusso scorre separando in modo netto le cavità cardiache contigue.

Pertanto con questa tecnica possono essere indagati distretti vascolari molto piccoli e con una velocità di flusso molto bassa. Utilizzando il Colour Flow o il Power Flow la rappresentazione per i vasi di piccolo calibro o con flusso lento non appare altrettanto precisa.

1.4 Le cardiopatie congenite in epoca prenatale

1.4.1 Incidenza delle cardiopatie congenite

L'incidenza di Cardiopatie congenite gravi che richiedono specifiche cure cardiologiche è di circa il 2,5-3/1000 nati vivi. Un altro 3/1000 nati vivi sono rappresentati dalle forme considerate

moderatamente gravi. L'incidenza complessiva di forma moderata o severa è circa 6/1000 nati vivi (19/1000 se sono incluse anche le valvole aortiche bicuspidali gravi). La maggior parte delle forme minori non richiede cure cardiologiche e alcune di queste possono anche risolversi spontaneamente, come lievi difetti del setto interventricolare o interatriale [52]. Altri studi [53,54] riportano un'incidenza attorno all'8/1000 nati vivi. Seppure possano sembrare incidenze limitate, le cardiopatie congenite rappresentano una tra le più frequenti malformazioni fetali. Inoltre, nonostante la relativa bassa incidenza, sono malformazioni correlate con elevata mortalità o morbilità perinatali [53]. Le cardiopatie congenite sono malattie evolutive e coinvolgono secondariamente, danneggiandoli, anche il miocardio e i polmoni, oltre ad essere caratterizzate da un'anomala circolazione cerebrale [55].

1.4.2 Modificazioni cardiocircolatorie in feti con malformazioni cardiache

Nei feti fisiologici, sebbene prevalga la gittata cardiaca destra rispetto a quella sinistra [56,39], le velocità di picco sono più elevate in aorta che in arteria polmonare [38]. Tale dato è inversamente correlato alle dimensioni (calibri) delle due grandi arterie. Nel corso della gravidanza si osserva un aumento non solo delle velocità di picco per entrambi gli efflussi, ma anche un incremento nella forza di eiezione del ventricolo destro e sinistro. Quest'ultimo occorre soprattutto nella seconda parte della gravidanza, senza particolari differenze tra i due ventricoli [56]. Una delle principali caratteristiche della circolazione fetale è il lavoro in parallelo, anziché in serie, svolto dai due ventricoli. Questo determina, nei feti sani, una differenza nell'output dei due ventricoli. Oltre al lavoro in parallelo, c'è anche una continua comunicazione tra il ventricolo destro e quello sinistro, quindi il deterioramento della funzione di un ventricolo può ripercuotersi direttamente anche sull'altro [17]. Per esempio una qualunque ostruzione all'efflusso da un lato può comportare uno shunt del sangue nell'altra parte del cuore attraverso il forame ovale o, se presente, un difetto interventricolare, alterando così la normale distribuzione del flusso cardiaco. Un'importante riduzione nel flusso di uscita del ventricolo destro causa un'inversione di flusso nel dotto arterioso dall'aorta verso la circolazione polmonare. Se a essere ostruito è invece l'efflusso sinistro, sarà il flusso nell'arco aortico a essere invertito, così da mantenere la perfusione a livello brachiocefalico oltre che cerebrale e coronarico [17]. Nei feti affetti da malformazioni congenite cardiache ci sono significative differenze emodinamiche rispetto ai feti "normali": alterazioni dell'output cardiaco, della gittata cardiaca e nel volume di eiezione [63]. L'assetto della circolazione fetale permette di compensare buona parte delle anomalie di flusso connesse con le malformazioni cardiache [43]. Ampie comunicazioni interventricolari, ad esempio, non compromettono in modo significativo lo sviluppo delle camere

ventricolari perché l'elevata resistenza polmonare in parte previene un eccessivo aumento dello shunt da un ventricolo all'altro. Anche nei casi con lievi ostruzioni valvolari o lievi coartazioni aortiche sembrano esserci solo lievi ripercussioni, determinati dalla cardiopatia stessa, sulle dimensioni delle camere ventricolari. Il dotto arterioso permette di mantenere pressioni sistoliche verosimilmente uguali nei ventricoli e nei grandi vasi. Talvolta, per esempio, l'unico segno ecocardiografico evidente di una lieve coartazione aortica può essere la presenza di un ventricolo destro dilatato [58], reperto osservato qualora il flusso si sposti verso il ventricolo destro in risposta ad un aumento dell'impedenza [67]. Un'ostruzione lieve di una valvola semilunare può essere svelata da una dilatazione poststenotica dei vasi fetali [68]. La presenza di malformazioni cardiache richiede, in effetti, un adattamento del cuore fetale alle nuove condizioni emodinamiche instauratesi: sovraccarichi di volume o pressori. Qualora vi sia un aumento cronico di volume, come nella sindrome del ventricolo sinistro ipoplasico, il ventricolo destro cerca di compensare aumentando la forza di eiezione. Questo dimostra la capacità del ventricolo destro di adattare la sua performance sistolica così da mantenere un adeguato output cardiaco, tale da garantire una normale crescita fetale [66]. In quei feti in cui invece si verifica un relativo sovraccarico acuto di pressione, come un'ostruzione o una restrizione del dotto arterioso, è evidente una diminuzione della forza di eiezione del ventricolo destro [66]. Prima che la forza di eiezione diminuisca, l'aumento di pressione "contro" il ventricolo destro deve essere notevolmente aumentato. Per lievi o moderati incrementi la forza di eiezione rimane, infatti, invariata. Ne consegue che il ventricolo destro è in grado di conservare la sua funzione sistolica e anche di adattarla a un eventuale sovraccarico cronico di volume. Un incremento del carico pressorio e alterazioni emodinamiche può determinare un progressivo danno (fibrosi e calcificazione) a carico del cuore fetale ancora in sviluppo e del letto vascolare [69]. Il trattamento in epoca fetale, per casi selezionati, potrebbe rappresentare una possibile alternativa per ridurre i danni secondari del miocardio fetale e del letto vascolare polmonare [70]. Uno studio del 1999 [63] ha riportato una riduzione dell'output cardiaco combinato rispetto a quello di feti con anatomia cardiaca nella norma fornendo due diverse spiegazioni possibili: un aumento dell'afterload, una diminuzione della contrattilità cardiaca o una combinazione dei due fattori [63].

1.5 L'ecocardiografia in feti affetti da cardiopatia congenita

1.5.1 Il ruolo dell'ecografia nella diagnosi delle malformazioni cardiache congenite

L'introduzione della metodica Doppler, avvenuta nei primi anni '80, consentì di indagare

l'emodinamica dei distretti vascolari in modo non invasivo. Questo permise di aggiungere alla valutazione morfologica cardiaca, la valutazione funzionale, ampliando notevolmente le possibilità diagnostiche [71]. A oggi la sensibilità nella diagnosi delle malformazioni cardiache congenite è significativamente aumentata se confrontata con quella di un decennio fa [72]. Questo può essere attribuito sia al fatto sia la valutazione ecocardiografica è stata estesa anche ai tratti di efflusso, sia ai progressi tecnologici e alla maggior esperienza acquisita dagli operatori. L'utilizzo di apparecchi ecocardiografici ad alta risoluzione permette di ottenere valutazioni cardiache durante le diverse epoche gestazionali in pazienti a rischio di malformazioni cardiache congenite. Ciò consente di ottenere una diagnosi precoce di malformazioni che hanno importanti conseguenze patofisiologiche, oltre alla possibilità di organizzare adeguati e tempestivi trattamenti per il neonato qualora fossero necessari. Già in passato, è stata riconosciuta da più studi l'importanza di uno screening di routine per le malformazioni cardiache congenite (CHD) [73,74,75].

L'utilità dello screening è evidente da due fattori:

1. L'elevata incidenza delle cardiopatie congenite nella popolazione e l'elevata mortalità e morbilità correlata;
2. Circa il 90% delle malformazioni cardiache occorrono, di fatto, in una popolazione a basso rischio.

Uno studio del 1996 [76] ha visto nell'ecocardiografia prenatale uno strumento utile soprattutto per la diagnosi precoce delle malformazioni cardiache, rilevando come sintomi secondari ad alcune malformazioni, quali ritardo di crescita e anomalie del liquido amniotico, si verificano solo tardivamente e talvolta non vengano neppure considerati come indicatori della necessità di un'indagine più approfondita del cuore fetale. Tutto ciò è stato ripreso e ripetuto anche da studi più recenti. E' stato dimostrato che già precocemente, per esempio a 12-15 settimane [77] o comunque nel primo trimestre [78], l'ecocardiografia permette un'accurata diagnosi delle malformazioni maggiori. D'altra parte è importante ricordare che alcune malformazioni, non sono evidenziabili a un'epoca gestazionale così precoce. In una review del 2007 [79] è stato confermato che, grazie alle innovazioni tecnologiche, si è abbassata l'epoca gestazionale cui è possibile eseguire accuratamente un'ecocardiografia. Di conseguenza l'ecocardiografia fetale in epoca gestazionale precoce potrebbe effettivamente essere offerta come esame di screening non solo per una popolazione ad alto rischio ma, eventualmente, anche a basso rischio. Questo, però, a patto che, per i casi risultati negativi, sia ripetuta un'ecografia in epoca più avanzata per escludere lo sviluppo di lesioni tardive.

Le lesioni cardiache possono, infatti, avere aspetti diversi durante le diverse epoche di sviluppo

fetale e possono evolvere in utero durante l'intero decorso della gravidanza [80]. Per esempio un'ipoplasia dell'arco aortico e delle arterie polmonari può evolvere rispettivamente in una coartazione aortica e in una Tetralogia di Fallot [81]. Ecco perché potrebbe essere necessario eseguire altre indagini tra la fine del secondo e l'inizio del terzo trimestre.

1.5.2 Accuratezza diagnostica dell'ecografia nelle cardiopatie congenite

Uno studio del 1997 [82] riportava che la visualizzazione delle quattro camere cardiache permetteva la diagnosi di circa il 40% delle anomalie cardiache in un gruppo a basso rischio. La percentuale saliva al 65-70% se era aggiunta anche l'indagine dei tratti di efflusso e delle grandi arterie. Lo stesso studio, tuttavia, rilevava che non era stata ancora raggiunta la piena potenzialità dell'ecocardiografia. Altri studi [76,80] hanno riscontrato una buona sensibilità di circa 88,5% [66]: 90% per i casi dello screening, ovvero senza fattori di rischio fetali o materni, e 87,5% per il gruppo di feti che presentavano delle anomalie fetali.

La specificità nella capacità dell'ecocardiografia di diagnosticare le malformazioni cardiache era vicina al 100%. L'accuratezza dell'ecocardiografia come indagine di routine in una popolazione a basso rischio è stata invece analizzata in una review del 2004 che ha preso in considerazione cinque studi dal 1992 al 1995 [83]. Tutti gli studi esaminati hanno evidenziato un'elevata specificità (99,9-100%). Più contrastanti i risultati riguardanti la sensibilità: variabile dal 35% circa (studio del 1995) all'85% circa (intervallo 80,9-89,2%) riscontrato nello studio del 2002. Bisogna comunque tenere presente che alcune malformazioni sviluppano manifestazioni ecograficamente evidenziabili, diventando diagnosticabili, solo tardivamente durante la gravidanza o addirittura dopo la nascita [80]. Sicuramente nell'ultimo decennio la maggior parte dei difetti cardiaci maggiori è diventata indagabili e riconoscibili con l'ecocardiografia prenatale grazie ai progressi tecnologici e alla maggior esperienza degli operatori. E' diventata sempre più evidente la necessità di aggiungere all'indagine delle quattro camere cardiache (four-chamber view) quella dei tratti di efflusso e delle grandi arterie [84]. Nel secondo e nel terzo trimestre l'ecocardiografia fetale rappresenta un buon metodo per indagare le malformazioni cardiache, poiché vi sono importanti correlazioni tra i riscontri ecocardiografici e l'outcome [82,85]. In letteratura sono state proposte tre possibili causa del ritardo nella diagnosi di alcune cardiopatie congenite [80,86,87]: la prima comprende la risoluzione ecocardiografica limitata ottenibile al primo trimestre, le piccole dimensioni del feto e la sua posizione; la seconda fa riferimento all'aspetto evolutivo delle malformazioni durante la gravidanza che determina manifestazioni tardive; e, terzo, una diagnosi errata. L'applicazione del color Doppler può sicuramente aiutare a diagnosticare difetti cardiaci in un cuore risultato apparentemente normale quando indagato con

la sola ecografia bidimensionale [88].

1.5.3 Impatto della diagnosi delle CHD in epoca prenatale

Vari dati pubblicati evidenziano come le malformazioni cardiache possano ormai essere diagnosticate con accuratezza nel feto. E' ormai accertato che nel secondo e nel terzo trimestre l'ecocardiografia fetale rappresenta un buon metodo per indagare le malformazioni cardiache, poiché vi sono importanti correlazioni tra i riscontri ecocardiografici e l'outcome [82,85]. Tuttavia è stato invece difficile dimostrare in modo statisticamente significativo i vantaggi in termini di sopravvivenza apportati dalla diagnosi prenatale [89]. Per esempio, in un lavoro [90] sulla sindrome del ventricolo sinistro ipoplasico (HLHS) e sulla trasposizione delle grandi arterie (TGA) non sono riusciti a evidenziare da un punto di vista statistico la differenza di mortalità preoperatoria e di outcome operatorio tra i pazienti in cui la diagnosi era stata fatta in epoca prenatale e pazienti con diagnosi post-natale. Questo nonostante gli autori riscontrassero, nel gruppo diagnosticato prima della nascita, condizioni preoperatorie sicuramente più favorevoli. Gli autori stessi rilevano, però, un possibile bias nella selezione della popolazione in studio. Vari studi hanno cercato di paragonare la sopravvivenza tra feti con diagnosi d'ipoplasia del ventricolo sinistro ottenuta in epoca pre e post-natale. Sebbene in alcuni ci sia delle evidenze positive in termini di sopravvivenza nei casi con diagnosi prenatale [91,92], la maggior parte degli studi [93,94,95,96] non ha evidenziato importanti diversità. Le spiegazioni possono essere diverse: potrebbe non essere in realtà appropriato comparare direttamente i due gruppi; i pazienti diagnosticati prima della nascita potrebbero essere gravati da casi più complessi, per esempio per la presenza di fattori di rischio aggiuntivi come altre malformazioni cardiache o extracardiache che potrebbero averne condizionato gli esiti; non sono stati presi in considerazione quei casi di neonati deceduti in cui la diagnosi non era stata fatta ante-morte. Si può dire che la difficoltà nel dimostrare l'impatto sull'outcome della diagnosi prenatale possa essere determinato largamente dal bias di selezione della popolazione studiata poiché i casi diagnosticati precocemente tendono anche a essere quelli più gravi.

Un altro studio [97] condotto nel 2002 su neonati con coartazione aortica, ha riportato una minor mortalità nel gruppo in cui la diagnosi era stata posta prima della nascita. Indipendentemente da quanto detto prima, è opinione largamente diffusa che la diagnosi di malformazioni cardiache in epoca prenatale abbia dei vantaggi, soprattutto per le cardiopatie Datto Dipendenti e per la trasposizione delle grosse arterie a setto intatto. Prima di tutto è stato osservato che questi neonati si presentano con migliori condizioni preoperatorie come evidenziato da una migliore funzionalità renale e dal riscontro meno frequente di acidosi metabolica. Anche le conseguenze

neurologiche sembrano essere minori qualora la diagnosi sia fatta in epoca prenatale [98], e si è visto che, generalmente, hanno un minor tempo di degenza nei reparti di cura intensiva [89,90]. Da questi e dagli ultimi dati emergenti, se ne può dedurre che l'outcome in termini di complicanze post-natali e di sviluppo neurologico a lungo termine sarà migliore in quei bambini in cui la diagnosi è stata posta in epoca prenatale.

In uno studio condotto in Francia, è stato riportato un aumento nel corso degli anni del numero di pazienti che hanno avuto accesso a un servizio di diagnosi prenatale. Parallelamente è stata osservata una diminuzione nella mortalità perinatale nei nuovi nati con malformazioni cardiache, sebbene gli stessi autori pongano l'accento che non sia corretto dedurre direttamente una correlazione con la diagnosi prenatale [43]. La sopravvivenza postnatale in feti con cardiopatie congenite dipende largamente dalla tempistica con cui sono sottoposti alle cure specifiche del caso [99,100]. Per contro in letteratura sono descritti molti esempi di evoluzione di malformazioni cardiache con la comparsa di sintomi pericolosi ingravescenti o fatali, qualora l'accesso alle cure appropriate sia stato ritardato o non sia stato possibile [101].

La diagnosi sul feto permette di indirizzare le pazienti verso un appropriato centro di riferimento così che le cure perinatali, quando necessarie, siano appropriate e siano fornite il più precocemente possibile [84]. Alcuni autori hanno suggerito che i benefici apportati dalla diagnosi prenatale potrebbero essere ricercati non tanto in una diminuzione della mortalità, bensì in altri aspetti quali gli effetti positivi sui risultati neurologici a lungo termine [43]. Già nel 1998 uno studio [102] evidenziava come la diagnosi prenatale potesse diminuire la morbilità postnatale in bambini con lesioni ostruttive del tratto di efflusso sinistro, nonostante non ci fossero significative differenze nella mortalità operatoria.

Alcuni studi hanno recentemente riportato un miglior outcome, una maggior sopravvivenza postoperatoria e minor complicanze in quei neonati in cui la diagnosi era stata posta prima della nascita [91,92,98,101]. I dati riportati evidenziano un impatto positivo della diagnosi prenatale sia per quanto riguarda la mortalità che per le possibili complicanze, soprattutto in alcune malformazioni cardiache come la trasposizione delle grosse arterie o la coartazione aortica [97,103]. Altro aspetto importante è il counseling. Diagnosticare in epoca fetale una malformazione cardiaca permette di avere già un colloquio con i genitori. Un counseling svolto in modo appropriato consente ai genitori di essere adeguatamente informati, di poter prendere decisioni più consapevoli sul futuro e sulla gestione della gravidanza [93,43] e di avere eventualmente anche un colloquio con medici che saranno poi coinvolti nella gestione del neonato quali cardiologi, neonatologi e cardiocirurghi pediatrici.

SCOPO DELLA TESI

Porre diagnosi di cardiopatia congenita durante la vita fetale è di fondamentale importanza per ottimizzare l'assistenza post-natale e migliorare la prognosi fetale, per offrire alla coppia la scelta di un aborto terapeutico nei casi associati ad anomalie cromosomiche, genetiche e malformazioni extra cardiache.

In questo periodo lo screening delle cardiopatie è concentrato durante l'ecografia morfologica della 20° settimana che utilizza due sezioni fondamentali: la sezione quattro camere cardiache e la sezione tre vasi. Tuttavia quest'epoca, nei paesi in cui l'aborto terapeutico è permesso fino alla 22° settimana, è spesso troppo tardiva lasciando poco tempo all'approfondimento diagnostico e alla scelta ponderata della coppia in merito alla prosecuzione della gestazione.

La possibilità di anticipare l'epoca della diagnosi può rappresentare un contributo importante nella gestione clinica di ogni singolo caso.

La disponibilità di apparecchiature ecografiche con tecniche innovative d'imaging e di sonde a elevata risoluzione rende possibile una valutazione diretta delle strutture cardiache durante l'esame di routine del primo trimestre di gravidanza.

Nella nostra esperienza e-FLOW, tecnologia non Doppler a elevata risoluzione spaziale e temporale, consente la rappresentazione dei flussi a bassa velocità e pertanto una visualizzazione delle strutture vascolari e cardiache di piccole dimensioni, tipiche del I trimestre.

Nessuno dei lavori a oggi pubblicati in merito alla valutazione diretta delle strutture cardiache nel I trimestre allo scopo di eseguire uno screening precoce al tempo della translucenza nucale, è stato elusivamente condotto da veri operatori di I livello.

Il primo scopo di questa tesi è stato valutare se l'uso della tecnica e-FLOW da parte di operatori di I livello consentisse l'identificazione delle due sezioni base dello screening malformativo cardiaco fetale.

In seguito un ecocardiografista esperto ha validato la metodica attraverso la valutazione diretta a posteriori delle immagini ottenute e l'affidabilità dell'interpretazione da parte dell'operatore di I livello.

Il secondo scopo di questa tesi è stato verificare se l'uso dell'e-FLOW consentisse l'identificazione delle sezioni "non normali" (veri positivi).

MATERIALI E METODI

Abbiamo disegnato uno studio prospettico condotto tra il Gennaio 2012 e il Gennaio 2013 presso il centro di Diagnosi Prenatale del reparto di Ginecologia ed Ostetricia dell'Azienda Ospedaliera San Paolo, Università degli Studi di Milano, Milano.

Tutte le donne giunte alla nostra osservazione a 11-13+6 settimane di gestazione per eseguire l'ecografia di routine del I trimestre sono state arruolate nello studio. Un consenso informato all'esecuzione dell'esame è stato ottenuto da tutte le pazienti prima di eseguire il controllo ecografico.

Tutti i feti sono stati valutati da un operatore di I livello (specializzando in via di formazione) utilizzando esclusivamente una sonda convex transaddominale ad alta risoluzione (5.0 -7.5 MHz) Aloka prosound SSD alpha 10.

Sono stati considerati criteri di esclusione un CRL < a 45 mm oppure > a 84 mm e la presenza di malformazioni fetali extracardiache e cardiache note prima dell'esame.

Per ciascun feto sono state valutate la biometria (BPD, CC, CA, femore e omero), la translucenza nucale e la morfologia extracardiaca e cardiaca.

Per quanto riguarda la morfologia extracardiaca abbiamo valutato:

- Estremo cefalico: è stata valutata l'integrità della scatola cranica, la presenza della falce mediale e le dimensioni e la simmetria dei plessi corioidei.
- Massiccio facciale: è stata esaminata la presenza delle orbite, il profilo e la presenza dell'osso nasale in un piano longitudinale.
- Torace: è stata valutata la presenza del diaframma e l'omogeneità del parenchima polmonare.
- Addome: è stata esaminata la presenza dello stomaco e la sua localizzazione nel quadrante superiore sinistro della cavità addominale, l'integrità della parete addominale e la base d'impianto del cordone ombelicale.
- Apparato urinario: è stata ricercata la presenza dei reni e delle arterie renali, è stata valutata la vescica e le due arterie ombelicali poste ai suoi lati.
- Arti: sono stati esaminati tutti e quattro gli arti con la misurazione di omero e femore. Anche radio e ulna, tibia e perone, mani e piedi sono stati documentati.
- Colonna vertebrale: analizzata per quanto valutabile per epoca gestazionale.

Per quanto riguarda la valutazione della morfologia cardiaca abbiamo utilizzato i criteri e le sezioni routinarie previste durante l'ecografia della 20° settimana come previsto dalle linee guida di I livello SIEOG.

Per valutare l'anatomia cardiaca a ciascun operatore è stato chiesto di ottenere tre sezioni:

1. Sezione situs addominale: sezione trasversa dell'addome a livello dello stomaco e della vena ombelicale (tratto intermedio) per valutare il situs viscerale.
2. Sezione quattro camere cardiache: per la definizione del situs cardiaco e della morfologia cardiaca.
3. Sezione tre vasi: per definire l'emergenza dei grossi vasi arteriosi.

L'operatore ha cercato di ottenere le sezioni cardiache sia con il tradizionale B-mode sia con la tecnica e-FLOW (figura 2). Per valutare l'incrocio dei grossi vasi è stata ottenuta la sezione tre vasi con il B-mode e il segno della P (la polmonare visualizzata fino al dotto arterioso circondata dall'arco aortico) con l'e-FLOW. In alternativa al segno della P sono stati ricercati il segno della X (l'incrocio tra l'aorta e l'arteria polmonare) o il segno della V (la confluenza dell'arco aortico e del dotto arterioso).



Figura 2

Tutte le immagini ottenute sono state archiviate e in seguito valutate separatamente dall'operatore di I, livello e dall'operatore esperto che in doppio cieco hanno osservato le immagini ed hanno espresso una valutazione in merito alla qualità dell'immagine ottenuta (buona, sufficiente e insufficiente) e in merito alla normalità della morfologia cardiaca fetale rappresentata dalla sezione (normale, incerta, anormale).

I risultati sono stati raccolti in apposite schede separatamente.

Poi è stata analizzata la concordanza del giudizio tra i due operatori sia per la qualità sia per la

normalità di entrambe le sezioni. I casi in cui la morfologia cardiaca è stata definita incerta o anormale sono stati inviati a un'ecografia di II livello con ecocardiografia. Sono stati valutati poi gli outcome neonatali.

RISULTATI

E' stato analizzato un totale di 703 donne a 11-13+6 settimane di gestazione. L'età materna mediana era di 35.4 ± 4.7 anni (intervallo compreso tra 21 e 47), il BMI di 23.2 Kg/m² (intervallo 15-55), il CRL di 66 mm (intervallo compreso tra 45 e 84) e l'epoca gestazionale 12+4 settimane.

Sono state perse al follow-up e quindi escluse dallo studio il 9.5% delle pazienti (67/703).

Sono state analizzate un totale di 636 gravide (90.5%) utilizzando unicamente una sonda transaddominale ad alta risoluzione.

L'anatomia fetale è stata rivalutata e completata successivamente anche alla 20° e alla 32° settimana.

Sezione quattro camere

Visualizzazione

La sezione quattro camere è stata ottenuta dall'operatore di I livello usando il B-mode in 569/636 pazienti (89.5%) e con la tecnica e-FLOW in 635/636 (99.8%).

L'operatore ha poi commentato la qualità della visualizzazione con le due metodiche come mostrato in tabella e nel grafico 1.

Sezione quattro camere		
	B-MODE	E-FLOW
Total visualization	569/636 (89.5%)	635/636 (99.8%*)
Quality of visualization		
<i>Good</i>	258/569 (45,3%)	497/635 (78.3%*)
<i>Sufficient</i>	199/569 (35%)	132/635 (20.8%*)
<i>Insufficient</i>	112/569 (19.7%)	6/635 (0.9%*)

Tabella 1. Valutazione dell'operatore di I livello ($p < 0.01$)

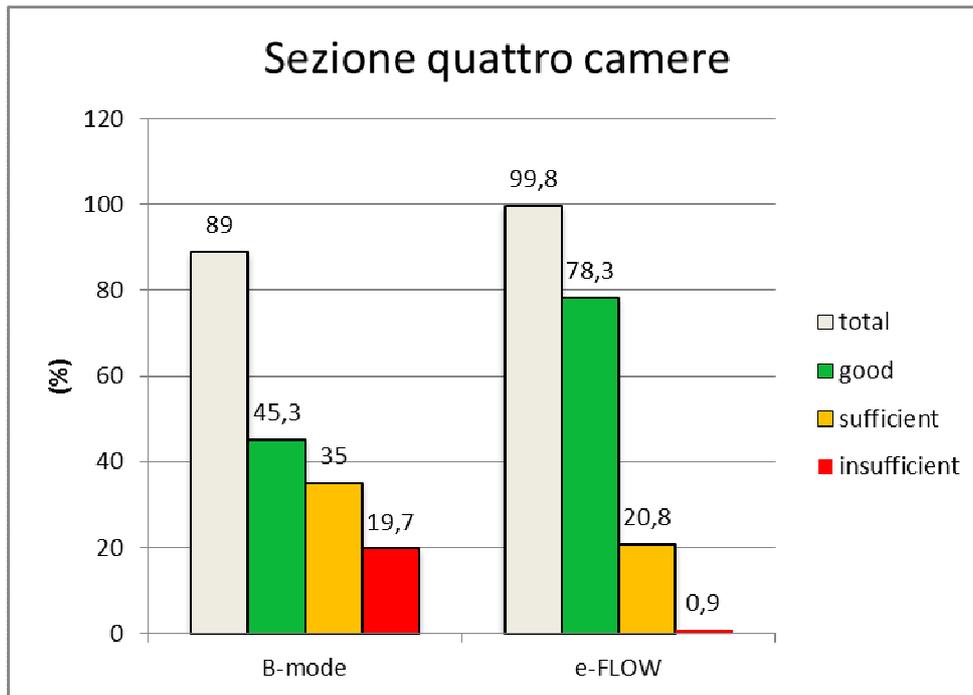


Grafico 1.

La concordanza nel giudizio in merito alla qualità delle immagini tra operatore di I livello e operatore esperto è stata del 47.01% (299/636) nelle sezioni raccolte utilizzando il B-mode e del 75.15% (478/636) con la tecnica e-FLOW ($p < 0.001$) come mostrato nel grafico 2.

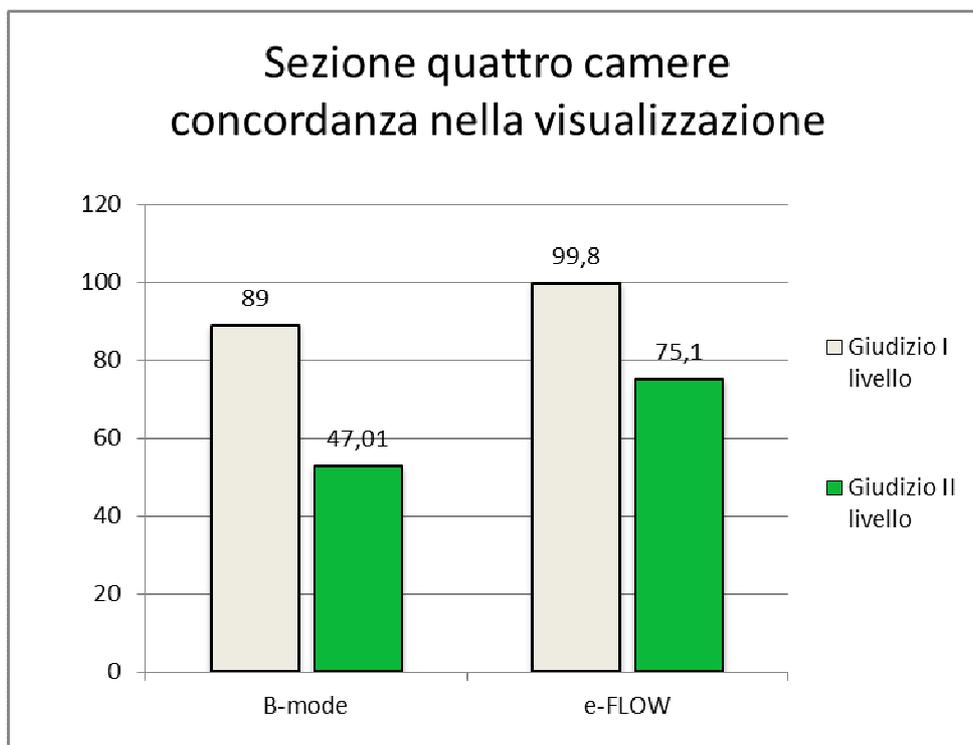


Grafico 2.

Valutazione della morfologia cardiaca

L'operatore di I livello è stato in grado di valutare la morfologia cardiaca nel 71.5% (455/636) usando il B-mode e nel 99,6% (630/636) con l'e-FLOW ed ha definito l'anatomia cardiaca come mostrato in tabella 2. La tabella mostra anche la concordanza dell'operatore esperto con la valutazione dell'operatore di I livello.

Morphology			I livello	II livello
	Normal	B Mode	408/455 (89,7%)	261/408 (64%)
		E flow	618/630 (98,1%*)	550/618 (89%*)
	Abnormal	B Mode	4/455 (0,8%)	2/4 (50%)
E flow		3/630 (0.5%)	2/3 (66,7%)	

Tabella 2. Valutazione dell'operatore di I livello ($p<0.01$)

Sezione tre vasi

La sezione tre vasi è stata ottenuta dall'operatore di I livello in 534/636 pazienti (84%) con la tecnica B-mode e in 619/636 (97.3%) con la tecnica e-FLOW.

Il giudizio in merito alla qualità dell'immagine è mostrato nella tabella 3 e nel grafico 3.

Sezione tre vasi		
	B-MODE	E-FLOW
Total visualization	534/636 (84%)	619/636 (97.3%*)
Quality of visualization		
<i>Good</i>	150/534 (20.1%)	460/619 (74.3%*)
<i>Sufficient</i>	167/534 (31.3%)	146/619 (23.6%*)
<i>Insufficient</i>	217/455 (40.6%)	13/630 (2.1%)

Tabella 3. Valutazione dell'operatore di I livello ($p<0.01$)

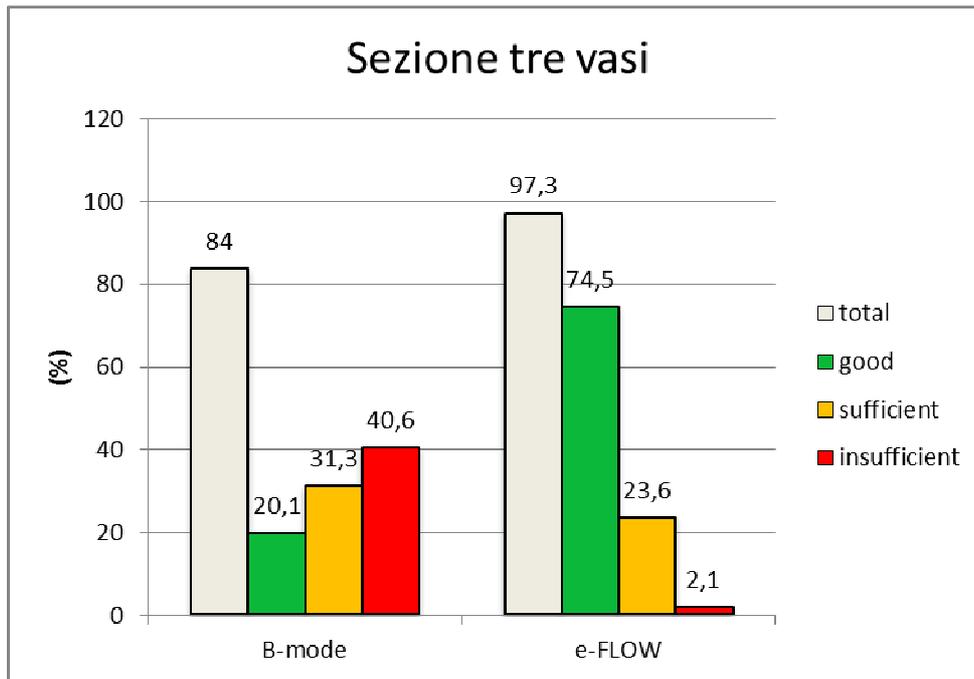


Grafico 3.

L'operatore esperto che ha visionato le immagini è stato in accordo con l'operatore di I livello in merito alla qualità delle immagini nel 43.3 % (276/636) in quelle ottenute con il B-mode e nel 69.9% (433/636) di quelle ottenute con la tecnica e-FLOW come mostrato nel grafico 4.

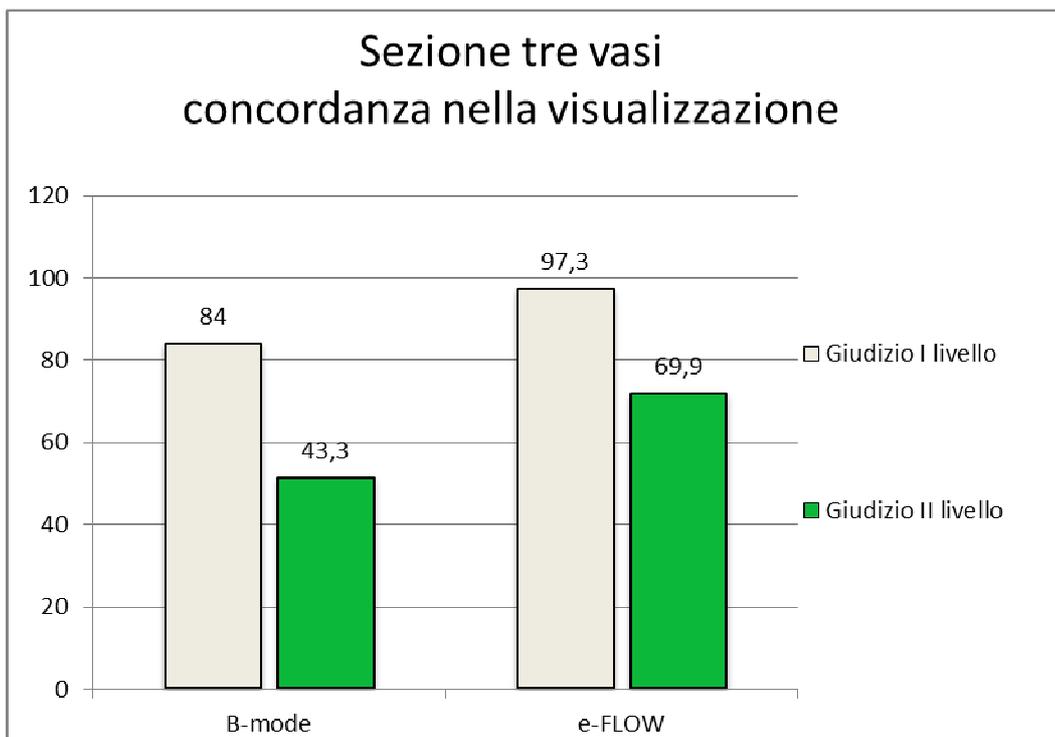


Grafico 4.

Valutazione della morfologia cardiaca

L'operatore di I livello è stato in grado di valutare la morfologia cardiaca dell'incrocio dei tre vasi nel 68.5% (436/636) usando il B-mode e nel 94.3% (600/636) con l'e-FLOW ed ha definito l'anatomia cardiaca come mostrato in tabella 4.

Morphology			I livello	II livello
	Normal	B Mode	262/436 (60,1%)	148/262 (56,5%)
		E flow	579/600 (96,5%*)	514/579 (88,8%*)
	Abnormal	B Mode	2/436 (0,4%)	0%
E flow		2/600 (0.3%)	2/2 (100%*)	

Tabella 4. Valutazione dell'operatore di I livello ($p < 0.01$)

L'operatore di primo livello non è riuscito a definire la morfologia cardiaca nel 39.5% (172/436) con il B-mode e nel 3.2% (19/600) con l'e-FLOW.

Le cardiopatie congenite diagnosticate nella nostra popolazione sono state 8 (1.3%) e 3 di queste gravidanze sono state interrotte per scelta della madre.

Di queste anomalie solamente 4/8 (50%) sono state sospettate dall'operatore di I livello.

Anomalie cardiache sospettate dall'operatore di I livello

Le anomalie sospettate dall'operatore di I livello sono state:

- Una malformazione cardiaca complessa (cuore sinistro ipoplasico, DIA ed aorta a cavaliere)
- Una tetralogia di Fallot
- Una trasposizione dei grossi vasi
- Una destrocardia

Di questi casi due feti avevano una translucenza nucale aumentata al controllo ecografico mentre le altre due non avevano marker di rischio associati (tabella 5). La destrocardia si è dimostrata associata a un'ernia diaframmatica nei controlli ecografici successivi.

La malformazione cardiaca complessa è stata sospettata a 11 +2 settimane. L'operatore di I livello ha definito anormale la sezione quattro camere con la tecnica e-FLOW giacché la proporzione dei ventricoli era sbilanciata e l'operatore esperto era in accordo con questo parere aggiungendo il sospetto di un canale atrio-ventricolare utilizzando le stesse immagini.

L'esame autoptico ha confermato la complessità della malformazione (cuore sinistro ipoplasico, DIA e aorta a cavaliere).

La tetralogia di Fallot non è stata sospettata con il B-mode che però è stato definito insufficiente nella sua qualità mentre con la tecnica e-FLOW è stato posto il sospetto dall'operatore di I livello grazie alla sproporzione del calibro dei grossi vasi.

L'operatore esperto ha confermato l'anomalia della sezione tre vasi e dopo un'ecocardiografia completa ha diagnosticato una tetralogia di Fallot. La patologia è stata poi confermata all'esame autoptico.

La trasposizione dei grossi vasi è stata sospettata dall'operatore di I livello utilizzando la tecnica e-FLOW e sia l'operatore esperto sia l'autopsia ha confermato la diagnosi.

La destrocardia con prevalenza delle sezioni destre è stata sospettata utilizzando entrambe le metodiche ma solo grazie a delle ecografie di II livello successive è stata posta diagnosi della sua associazione con ernia diaframmatica.

CHD	US markers associated	w.g.	First level operator		Second level operator	
			4 chambers	3 vessel view	4 chambers	3 vessel view
TGA	None	12+4	Normal	Abnormal	Uncertain	Uncertain
FALLOT	NT	12	Normal	Abnormal	Uncertain	Abnormal
COMPLEX	NT	11+2	Abnormal	Not Evaluable	Abnormal	Not Evaluable
D. HERNIA	None	13+6	Abnormal	Normal	Abnormal	Normal

Anomalie cardiache non sospettate dall'operatore di I livello

Le anomalie non sospettate dall'operatore di I livello sono state:

- Una trasposizione dei grossi vasi
- Due DIV
- Una coartazione aortica

In tutti questi casi l'operatore di I livello ha definito normali le sezioni quattro camere e tre vasi.

Due di queste (la trasposizione dei grossi vasi e il DIV) sono state sospettate dall'operatore esperto mediante la valutazione a posteriori delle sezioni ottenute con e-FLOW (tabella 6).

Mentre gli altri due casi non sono stati sospettati neanche dall'operatore esperto ma è stata posta diagnosi in epoca neonatale.

CHD	US markers associated	w.g.	First level operator		Second level operator	
			4 chambers	3 vessel view	4 chambers	3 vessel view
TGA	None	12+1	Normal	Normal	Normal	Uncertain
DIV	None	11+3	Normal	Normal	Uncertain	Normal
CoA	None	13+3	Normal	Normal	Normal	Normal
DIV	None	12	Normal	Normal	Normal	Normal

DISCUSSIONE

Dai dati di letteratura e grazie alla nostra esperienza sappiamo che è possibile eseguire un'ecocardiografia precoce già dalla 11^a-13^a settimane gestazionale.

La sensibilità dell'ecografia nella diagnosi della patologia malformativa cardiaca aumenta nella popolazione ad alto rischio per cardiopatie (feti con translucenza nucale aumentata) e se l'esame è eseguito da un operatore esperto raggiungendo anche il 90%.

Tuttavia in una popolazione a basso rischio e se l'operatore è di I livello la sensibilità può scendere addirittura al 48%.

La metodica Doppler è sicuramente di ausilio nella valutazione morfologica e funzionale del cuore fetale ma il suo utilizzo implica un'ottima conoscenza della tecnica ecografica. Il vero test di screening, per motivi economici e organizzativi, è eseguito da operatori addestrati ma non esperti. Per migliorare la capacità di questi operatori occorre mettere a loro disposizione un metodo semplice da usare e facile da interpretare.

Con i nostri dati dimostriamo come l'e-FLOW può rappresentare questo metodo.

La metodica e-FLOW consente di ottenere un'immagine del cuore fetale semplice da ricavare e intuitiva da interpretare e quindi si presta in maniera ottimale per uno screening nel I trimestre da parte di un operatore di I livello. Con questa metodica basta il minimo movimento del battito cardiaco fetale per ottenere delle immagini che permettono di avere il dubbio di cardiopatia congenita.

Con la tecnica e-FLOW abbiamo ottenuto una sezione quattro camere nel 99,8% che è stata definita ottima nel 78,3% e sufficiente nel 20,8%. L'operatore esperto concorda con questa valutazione nel 75% dei casi. Grazie a questa sezione l'operatore di I livello è riuscito a esprimersi in merito alla morfologia cardiaca fetale nel 98,1% dei casi con un accordo da parte dell'operatore esperto nell'89%.

La sezione tre vasi è stata ottenuta con la metodica e-Flow nel 97,3% ed è stata definita ottima nel 74% dei casi e sufficiente nel 24%. Grazie a questa sezione è stato possibile definire normale l'incrocio dei grossi vasi nel 96,5% con parere favorevole da parte dell'ecografista esperto nell'88,8%.

Nella nostra popolazione ci sono stati 8 casi di anomalie cardiache (1,3%) e il dubbio di cardiopatia congenita è stato posto dall'ecografista di I livello solo in 4 casi su 8 (50%) mentre solamente mediante le immagini ottenute l'operatore esperto ha posto diagnosi in 6 casi su 8 (75%).

Il nostro studio mostra come la metodica e-FLOW permette di ottenere delle sezioni cardiache in maniera più immediata ma evidenzia anche come solo un operatore esperto sia in grado di porre diagnosi di cardiopatia congenita.

Questo è quello che ci si aspetta da un test di screening, individuare in una popolazione a basso rischio le situazioni con un campanello di allarme da inviare poi a un centro di II livello. L'operatore di I livello non deve porre diagnosi di cardiopatia ma deve cogliere il dubbio laddove si presenta. La tecnica e-FLOW si presta dunque ottimamente a un esame di screening il cui compito non è eseguire diagnosi ma trovare in una popolazione a basso rischio tutte quelle gravidanze ad alto rischio per avere un problema malformativo a carico del cuore fetale.

I nostri dati ci mostrano anche come la tecnica eFLOW migliora la sensibilità diagnostica di un operatore esperto durante il primo trimestre di gravidanza.

BIBLIOGRAFIA

1. Office for National Statistics. Mortality Statistics. Childhood, infancy and perinatal. Series DH3. 2007; 40.
2. Daubeney P, Wand D, Delany DJ, Keeton BR, Anderson RH, Slavik Z, Flather M, Webber SA; UK and Ireland Collaborative Study of Pulmonary Atresia and Intact Ventricular Septum. Pulmonary atresia with intact ventricular septum: Predictors of early and medium-term outcome in a populationbased study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130:1071.
3. Bonnet D, Coltri A, Butera G, Fermont L, Le Bidois J, Kachaner J, Sidi D. Detection of transposition of great arteries in fetuses reduces neonatal morbidity and mortality. *Circulation* 1999; 99:916-918.
4. Tworetzky W, McElhinney DB, Reddy MV, Brook MM, Hanley FM, Silverman NH. Improved surgical outcome after fetal diagnosis of hypoplastic left heart syndrome. *Circulation* 2001; 103:1269-1273.
5. Franklin O, Burch M, Manning N, Sleeman K, Gould S, Archer N. Prenatal diagnosis of coarctation of the aorta improves survival and reduces morbidity. *Heart* 2002; 87:67-69.
6. Bellotti M, Fesslova V, De Gasperi C, Rognoni GC, Bee V, Zucca I, Cappellini A, Bulfamante G, Lombardi CM. Reliability of the first-trimester cardiac scan by ultrasound-trained obstetricians with high-frequency transabdominal probes in fetuses with increased nuchal translucency. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2010; 36:272-278.
7. Lombardi CM, Bellotti M, Fesslova V, Cappellini A. Fetal echocardiography at the time of the nuchal translucency scan. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2007; 29:249-257.
8. Khalil A, Nicolaides KH. Fetal heart defect: potential and pitfalls of first-trimester detection. *Seminars in fetal and neonatal medicine*. 2013; 18:251-260.
9. Votino C, Kacem Y, Dobrescu O, Dessy H, Cos T, Foulon W, Jani J. Use of high-frequency linear transducer and MTI filtered color flow mapping in the assessment of fetal heart anatomy at the routine 11 to 13+6-week scan: a randomized trial. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2012; 39:145-151.
10. Eldestone DI, Rudolph AM, Heymsn MA. Liver and ductus venosus blood flows in fetal lambs in utero. *Circ. Res.* 1978; 42(3):426.

11. Rudolph AM. Distribution and regulation of blood flows during fetal life. *Hepat* 1983; 3(2): 254-258.
12. Eldestone DI, Rudolph AM, Preferenzial streaming of ductus venosus blood to the brain and heart in fetal lambs; *Am J Physiol* 1979; 237:724-729.
13. Rudolph AM, Distribution and regulation of blood flow in the fetal and neonatal lamb; *Circ.Res.*1985; 57:811.
14. Rudolph AM, Heyman MA, Circulatory changes during growth in the fetal lamb, *Circ. Res.* 1970; 26: 289
15. Rudolph AM, Heynam MA, The circulation of the fetus in utero: methods for studying distribution of blood flow, cardiac output and organ blood flow; *Circ Res.* 1967; 21: 163
16. Mielke, Gunther , Benda, Norbert, Cardiac output and central distribution of blood flow in the human fetus; *Circulation* 2001; 103(12): 1662-1668
17. Cohen MS. "Fetal diagnosis and management of congenital heart disease". [Review] 2001 *Clinics in Perinatology.* 28(1):11-29
18. Reed K.L., Appleton C.P., Anderson C.F., Shenker L., Sahn D.J."Doppler studies of vena cava flows in human fetuses - insight into normal and abnormal cardiac physiology" *Circulation* 1990; 81: 849
19. Rizzo G., Arduini D, Romanicni C, "Effects of sampling sites on inferior vena cava. Flow velocità waveform" *J. Matern. Fetal Invest.* 1992; 2:153
20. Reuss M.L., Rudolph A.M., Dae M.W. "Phasic blood flow patterns in the superior and inferior venae cavae and umbelical vein of fetal sheep." *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1983; 145: 70
21. Rizzo G., Arduini D, Romanicni C, "Inferior vena cava flow velocity waveforms in appropriate and small-for-gestational-age fetuses" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1992; 166: 1271.
22. 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.* 2000; 279: H1256-H1263
23. Kiserud T, Eik-Nes SH, Hellevik LR, Blaas HG, "Ductus venosus. A longitudinal Doppler velocimetry study of the human fetus" *J. Matern. Fetal Invest.* 1992B; 11: 2
24. Kiserud T, Eik-Nes SH, Hellevik LR, Blaas HG, "Ultrasonographic velocimetry of the fetal ductus venosus" *Lancet* 1991;L 338: 1412

25. Pennati G, Bellotti M, Terrazzi E, Rigano S, Garberi A, "Hemodynamic changes across the human ductus venosus: a comparison between clinical findings and mathematical calculations" *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 1997; 9: 383(4)
26. Pennati G, Redaelli A, Bellotti M, Ferrazzi E, "Computational analysis of the ductus Venosus fluid dynamics based on doppler measurements; *Ultrasound Med Biol* 1996; 22 (8):1017-1029
27. Pennati G, Bellotti M, Ferrazzi E, Bozzo M, Pardi G, Fumero R, " Blood flow through the ductus venosus in human fetus: calculation using Doppler velocimetry and computational findings" *Ultrasound Med. Biol.* 1998; 24(4): 477
28. Stoddard M.F., Pearson A.C., Kem M.J., Ratcliff J., Mrosek D.G., Labovitz A.J. "Influence of alteration in preload of left ventricular diastolic filling as assessed by Doppler echocardiography in humans." *Circulation* 1989; 79: 1226
29. Rizzo G, Arduini D, Romanini C, Mancuso S, "Doppler echocardiographic assessment of atrioventricular velocity waveforms in normal and small-for-gestational-age fetuses" *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1988; 95: 65
30. Reed KL, Sahn DJ, Scagnelli S, Anderson CF, Shenker L, "Doppler echocardiographic studies of diastolic function in the human fetal heart: changes during gestation" *J. Am. Coll. Cardiol.* 1986; 8: 391
31. Appleton CP, Hatle LK, Popp RL "Relation of transmitral flow velocity patterns to left ventricular diastolic function: new insight from a combined hemodynamic and doppler echocardiography study" *J. Am. Coll. Cardiol.* 1988; 12:462
32. Sedmera D, Pexieder T, Rychterova V, et al. " Remodelling of chick embryonic ventricular myoarchitecture under experimentally changed loading conditions" *Anat Rec* 1999, 254: 238-252
33. Phoon, Colin KL, MPhil MD "Circulation physiology in the developing embryo" *Ped. Card. Prog.*, NY 2001; 13(5): 456-464
34. Clark EB, Hu N "Developmental hemodynamic changes in the chick embryo from stage 18 to 27" *Circ. Res.* 1982, 51: 810-815
35. Colan SD, Parness IA, Spevak PJ, et al. "Developmental modulation of myocardial mechanics: age- and growth-related alterations in afterload and contractility" *J. Am. Coll. Cardiol* 1992, 19: 619-629
36. Machado MVL, Chita SC, Alln LD, "Acceleration time in the aorta and pulmonary artery measured by doppler echocardiography in the midtrimester normal fetus" *Br. Heart J.* 1987; 58: 15

37. Van Der Mooren K, Barendregt G, Wladimiroff JW "Fetal atrioventricular and outflow tract flow velocity waveforms during second half of pregnancy" *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 165: 668
38. Carreler Blanchard AM, Fouron JC "Determinants of the Doppler flow velocity profile through the mitral valve of the human fetus" *Br. Heart J.* 1993; 70: 457
39. Thornburg KL, Morton MJ, "Development of cardiovascular system" in *Textbook of Fetal Physiology.* Oxford University Press: Oxford
40. Anderson P.A.W., "Myocardial development" in : W.A. Long Editor *Fetal and Neonatal Cardiology,* WB Saunders, Philadelphia (1990), p.17
41. Szwast A, Rychik J. "Current concepts in fetal cardiovascular disease." *2005 Clinics in Perinatology.* 32(4):857-75, 2005 Dec.
42. Acharya G, Archer N, Huhta J, " Functional assessment of the evolution of congenital heart disease in utero" *Current Opinion in Pediatrics,* 2007 Oct; 19(5): 533-537
43. Johnson P, Maxwell DJ, Tynan MJ, Allan LD, "Intracardiac pressure in the human fetus" *2000 Heart* 84: 59-63
44. Kiserud T, Acharya G, " The fetal circulation" *Prenat. Diagn.* 2004; 24: 1049-1059
45. Acharya G, Archer N, Huhta J, " Functional assessment of the evolution of congenital heart disease in utero" *Current Opinion in Pediatrics.* 19(5):533-7, 2007 Oct.
46. Rudolph AM, Heynam MA,. "The circulation of the fetus in utero: methods for studying distribution of blood flow, cardiac output and organ blood flow." *Circ Res.* 1967; 21:163
47. Simpson J "Echocardiographic evaluation of cardiac function in the fetus" review article; *Prenatal Diagn.* 2004; 24: 1081-1091
48. De Smedt MCH, Visser GHA, Meijboom EJ, "Fetal cardiac output estimated by Doppler echocardiography during mid-late gestation" *Am. J. Cardiol* 1987; 60: 338
49. St. John Sutton M, Groves A, MacNeil A, et al., " Assessment of changes in blood flow through the lungs and foramen ovale in the normal human fetus with gestational age: a prospective Doppler echocardiography study" *Br. Heart J.* 1994; 71:232
50. Rasanen J, Wood DC, Weiner S et al., "Role of the pulmonary circulation in the distribution of the human fetal cardiac output during the second half of pregnancy" *Circulation* 1996; 94: 1068
51. Reed KL, Meijboom EJ, Sahn DJ et al., "Cardiac Doppler flow velocities in human fetuses" *Circulation* 1986; 73: 41

52. St. John Sutton M, Gill T, Plappert T, et al. "Assessment of right and left ventricular function in terms of force development with gestational age in the normal human fetus" *Br. Heart J.* 1991; 66: 285
53. Kleiman CS, Copel JA, "Fetal cardiovascular physiology and therapy" *Fetal Diagn. Ther* 1992; 7:147
54. Maryse CH, De Smedt MD, Gerard HA et al. "Fetal cardiac output Estimated by Doppler echocardiography during mid- and late gestation" *Am. J. Cardiol.* 1987; 60: 338-342
55. Mielke, Gunther, Benda, Norbert., "Cardiac output and central distribution of blood flow in the human fetus" *Circulation* 2001; 103(12): 1622-1668
56. Gregory RD, John PM, "Cardiac anatomy and sonographic approach" 2003. In *Diagnostic Imaging of Fetal Anomalies*, David AN, John PM et al. Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia; 425
57. Sharland GK, Allan LD "Normal fetal cardiac measurements derived by cross-sectional echocardiography" *Ultrasound Obstet Gynecol* 1992; 2: 175- 181
58. Eui Jung, Hye-Sung Won, Pil Ryang Lee, Ahm Kim, In-Sook Park, "Clinical implication of isolated right dominant heart in the fetus" *Prenat. Diagn.* 2007; 695-698
59. Gosling RG, King DH – *Ultrasound Angiology* - In: "Arteries and Veins" Marcus AW, Adamson L, Edimburgh, Churchill-Livingstone, 1975: 61
60. Ferrazzi E, Rigano S, Bozzo M, Bellotti M, Giovannini N, Gala H, Battaglia FC, "Umbelical vein blood flow in groth-restricted fetuses" *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000; 16(5): 432-438
61. Kiserud T, Acharya G. The fetal circulation. *Prenatal Diagn* 2004;24:1049
62. Julien IE Hoffman, Kaplan S, "The incidence of Congenital Heart Disease" 2002 *Am J Coll Cardiol*; 39(12): 1890-1900
63. Lutin WA, Brumund MR, Jones C, Tharpe CE, Montgomery M, McCaffrey FM, "Hemodynamic abnormalities in fetus with congenital heart disease" 1999 *Pediatric Cardiol*; 20: 390-395
64. Garne E, Stoll C, Clement M, Euroscan Group "Evaluation of prenatal diagnosis of congenital heart disease by ultrasound: experience from 20 European registries" 2001 *Ultrasound Obstet Gynecol*; 17: 386-391
65. Gardiner HM "Progression of the fetal heart disease and rationale for fetal intracardiac interventions" 2005 *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*; 10: 578-585

66. Rasanen J, Debbs RH, Wood DC, Weiner S, Weil SR, Huhta JC, "Human fetal right ventricular ejection force under abnormal loading conditions during the second half of pregnancy" 1997 *Ultrasound Obstet Gynecol*; 10: 325-332
67. Hornberger LK, Kleinman S and CS, et al., "Antenatal diagnosis of coarctation of the aorta: a multicentre experience" 1994 *J Am Coll Cardiol*; 23: 417
68. Hornberger LK, Sanders SP, Rein AJJT, et al, "Left heart obstructive lesions and left ventricular growth in the midtrimester fetus" 1995 *Circulation*; 92: 153
69. Gardiner HM, "Response of the fetal heart to changes in load: from hyperplasia to heart failure" 2005 *Heart*; 91: 871-873
70. Tulzer G, Artz W, Franklin RC et al, "Fetal pulmonary valvuloplasty for critical pulmonary stenosis or atresia with intact septum" 2002 *Lancet*; 360:1567-68
71. Devore GR, Horenstein J, Siassi B, Platt LD "Fetal echocardiography: Doppler color flow mapping: a new technique for the diagnosis of congenital heart disease" *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 1054-1064
72. Ogge G, Gaglioti P, Maccanti S, Faggiano F, Todros T. "Prenatal screening for congenital heart disease with four-chamber and outflow-tract views: a multicentre study" 2006 *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 28(6): 779-784
73. D'Alton ME, DeCherney AH "Prenatal diagnosis" 1993 *N.Engl. J. Med*; 328: 114-20
74. Allan LD, Crawford DC, Chita K, Tynen MJ , "Prenatal screening for congenital heart disease" *BMJ* 1986; 292: 1717-19
75. Copel JA, Pilu G, Green J, Hobbins JC, Kleinman CS, "Fetal echocardiographic screening for congenital heart disease: the importance of the four chamber view" *Am J. Obstet. Gynecol.* 1987; 1987; 157: 648-655
76. Strümpflen I, Strümpflen A, Wimmer M, Bernaschek G, "Effect of detailed fetal echocardiography as part of routine prenatal ultrasonographic screening on detection of congenital heart disease" 1996; 348: 854-857
77. Simpson JM, Jones A, Callaghan N, Sharland GK, "Accuracy and limitations of transabdominal fetal echocardiography at 12-15 weeks of gestation in a population at high risk for congenital heart disease" 2000 *BJOG* 107(12): 1492-7
78. Rasiah SV, Publicover M, Ewer AK, Khan KS, Kilby MD, Zamora J, "Asystematic review of the accuracy of the first-trimester ultrasound examination for detecting major congenital heart disease" 2006 *Ultras. Obstet. Gynecol*; 28(1)110-6
79. Yagel S, Cohen SM, Messing B, "First and early second trimester fetal heart screening" 2007 *Curr. Opinion in Obstet. Gynecol.* 19(2): 183-90

80. Yagel Smincha MD, Weissman A.MD., Rotstein Z.MD, et al. "Congenital Heart Defects: Natural course and in utero development" 1997 *Circulation*; 96(2): 550-555
81. Fyler DC, ed. Coarctation of the aorta. In: Nadas' *Pediatric Cardiology*. Philadelphia, Pa. Mosby Year Book; 1992; 535-556
82. Gembruch U, "Prenatal diagnosis of congenital heart disease" 1997 *Prenat. Diagn.* 17(13): 1283-1298
83. Randall P, Brealey S, Hahn S, Khan KS, Parsons JM, "Accuracy of fetal echocardiography in the routine detection of congenital heart disease in unselected and low risk populations: a systematic review"
84. Jaeggi ET, Sholler GF, Jones DH, Cooper SG, "Comparative analysis of pattern, management and outcome of pre- versus postnatally diagnosed major congenital heart disease: a population-based study" 2001 *Ultrasound Obstet Gynecol*; 17: 380-385
85. Carvalho J "Early prenatal diagnosis of major congenital heart defects" *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13:155-159
86. Smrcek JM, Gembruch U, Krokowski M, et al. "The evaluation of cardiac biometry in major cardiac defects detected in early pregnancy" *Arch Gynecol Obstet* 2003; 268: 94-101
87. Fong K, Toi A, Salem S, et al. "Detection of fetal structural abnormalities with US during early pregnancy" 2004 *Radiographics*; 24: 157- 174
88. Smrcek JM, Berg C, Geipel A, Fimmers R, Axt-Fliedner R, Diedrich K, Gembruch U "Detection rate of early fetal echocardiography and in utero development of congenital heart defects" 2006 *J US Med*; 25: 187-196
89. Yates R.S., "The influence of prenatal diagnosis on postnatal outcome in patients with structural congenital heart disease" 2004 *Prenat diagn*; 24: 1143-1149
90. Kumar K, Newburger JW, Gauvreau K, Kamenir SA, Hornberger LK, "Comparison of Outcome when Hypoplastic Left Heart Syndrome and Transposition of the Great Arteries are diagnosed prenatally versus when diagnosis of these two conditions is made only postnatally". *Am J Cardiol* 1999; 83: 1649-1653
91. Tworetzky W. McElhinney DB. Reddy VM. Brook MM. Hanley FL. Silverman NH. "Improved surgical outcome after fetal diagnosis of hypoplastic left heart syndrome" *Circulation*. 103(9):1269-73, 2001 Mar 6.
92. Bonnet D, Coltri A, Butera G, et al. "Detection of transposition of the great arteries in fetuses reduces neonatal morbidity and mortality" 1999 *Circulation*; 99: 916-918

93. Brackley KJ. Kilby MD. Wright JG. Brawn WJ. Sethia B. Stumper O. Holder R. Wyldes MP. Whittle MJ. Outcome after prenatal diagnosis of hypoplastic left-heart syndrome: a case series. [Journal Article] *Lancet*. 356(9236):1143-7, 2000 Sep 30
94. Andrews R. Tulloh R. Sharland G. Simpson J. Rollings S. Baker E. Qureshi S. Rosenthal E. Austin C. Anderson D. "Outcome of staged reconstructive surgery for hypoplastic left heart syndrome following antenatal diagnosis." *Archives of Disease in Childhood*. 85(6):474-7, 2001 Dec.
95. Fraisse A. Nassi C. Sigaudy S. Liprandi A. Piercecchi-Marti MD. Ligi I. Bonnet JL. Camboulives J. Metras D. Guillaumont S. "Outcome of infants with hypoplastic left heart syndrome diagnosed in utero". *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*. 95(5):473-7, 2002 May
96. Plantinga RF. Frohn-Mulder IM. Takkenberg HJ. Bennink GB. Meijboom EJ. Bogers AJ. "Surgical treatment of hypoplastic left heart syndrome: limited success". *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*. 145(2):85-90, 2001 Jan 13.
97. Franklin O, Burch M, Manning N, Sleeman K, Gould S, Archer N "Prenatal diagnosis of coarctation of the aorta improves survival and reduces morbidity" 2002 *Heart*; 87: 67-69
98. Mahle WT, Clancy RR, McGaurn SP, Goin JE, Clark BJ," Impact of prenatal diagnosis on survival and early neurologic morbidity in neonates with hypoplastic left heart syndrome", *Pediatrics* 2001; 6: 1277-1282
99. (Wheller JJ,"Diagnosis of arrhythmias and congenital heart disease" In: *Heart Disease in Infants Children and Adolescents Including Fetus and the Young Adult*"" 5th ed. Baltimore::; William and Wilkins, 1995; 554-568
100. Chang AC, Huhta JC, Yoon GY, Wood DC, Tulzer G, Cohen A, et al., "Diagnosis, transport and outcome in fetuses with left ventricular outflow tract obstruction" *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 841-848
101. Sklansky M, "New dimensions and directions in fetal cardiology" 2003 *Current Opinion in Pediatrics*. 15(5):463-71, 2003 Oct.
102. Eapen RS, Rowland DG, Franklin WH, "Effect of prenatal diagnosis of critical left heart obstruction on perinatal morbidity and mortality" 1998 *Am J Perinat*; 15(4): 237-42
103. Soongswang J, Adatia I, Newman C, Smallhorn JF, Williams WG, Freedom RM "Mortality in potential arterial switch candidates with transposition of the great arteries" *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 753-7