

Estudio de la vascularización placentaria mediante Power Doppler tridimensional en la semana 20 en gestaciones espontáneas y tras técnicas de reproducción asistida

Study of placental vascularization using 3D Power Doppler on week 20 of spontaneous pregnancies and after assisted reproductive techniques

Francisco Sellers López¹, Belén Moliner Renau, Ana Palacios Marqués, Rafael Bernabeu Pérez¹
Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología de Alicante. España.

¹Cátedra de Medicina Comunitaria y Salud Reproductiva. Universidad Miguel Hernández Elche.

RESUMEN

Objetivo: Comprobar si hay diferente vascularización placentaria en gestaciones espontáneas comparadas con las conseguidas tras técnicas de reproducción asistida (TRA).

Métodos: Se realizó un estudio observacional de casos y controles retrospectivo, de embarazos únicos en semana 20, mediante ecografía transvaginal con Tridimensión y power Doppler. Los volúmenes adquiridos fueron analizados utilizando el programa de imagen VOCAL (Virtual Organ Computer Aided Analysis), para evaluar el Índice de Vascularización (IV), el Índice de Flujo (IF) y el Índice de Vascularización de Flujo (IVF).

Resultados: De 130 gestantes incluidas en el estudio, 55 de ellas se habían sometido a tratamientos de esterilidad y 75 eran gestaciones espontáneas. En un análisis comparativo, la vascularización placentaria en el grupo de TRA mostró diferencias estadísticamente significativas, siendo menores, tanto para el IF ($p=0,033$) como para el IVF ($p=0,038$), acercándose a la significación estadística el IV ($p=0,076$).

Conclusiones: El estudio de la vascularización placentaria, podría ser de utilidad para comprender al-

Certificado en el CEIC Hospital Universitario San Juan de Alicante con N° Código Comité: 14/325

Aceptado: Octubre 2016
Correspondencia: Francisco Sellers López
Avda. de La Albufereta, 31 03016 Alicante (España)
965154000
fsellers@institutobernabeu.com
SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

gunas diferencias entre gestaciones espontáneas y tras TRA que explicarían algunos resultados perinatales adversos en este tipo de gestaciones.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2016; 33; 20-27 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Palabras Clave: *Vascularización placentaria, Power Doppler Tridimensional, Técnica de reproducción asistida, Placenta.*

SUMMARY

Aim: Check for different placental vascularization in spontaneous pregnancies compared with those obtained after assisted reproduction techniques (ART).

Methods: An observational retrospective study of cases and controls, on singleton pregnancies at week 20, performed by tridimensional transvaginal sonographer and Power Doppler. The volumes acquired were analyzed using the program image VOCAL (Virtual Organ Computer Aided Analysis), to assess the vascularization index (VI), the flow index (FI) and vascularization index Flow (VIF).

Outcome: Of 130 pregnant women included in the study, 55 of them had undergone a fertility treatment and 75 were spontaneous pregnancies. In a comparative analysis, placental vascularization in the ART group showed statistically significant differences, being lower for both the FI ($p = 0.033$) and for VIF ($p = 0.038$), approaching the VI statistical significance ($p = 0.076$).

Conclusions: The study of placental vascularization could be useful to understand some differences between spontaneous and after ART pregnancies, to explain some adverse perinatal outcomes in those pregnancies.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2016; 33; 20-27 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Key words: *Placental vascularization, Three-dimensional power Doppler, Assisted reproductive technology, Placenta*

INTRODUCCIÓN

Tras el primer nacimiento tras fecundación in vitro publicado en 1978, millones de parejas de todo el mundo, han conseguido un embarazo con alguna de las técnicas derivadas de la misma.

La mayor parte de la morbilidad neonatal observada en gestaciones conseguidas con tratamientos de reproducción asistida, se debe a las consecuencias derivadas de los embarazos múltiples (1-4). Pero también se ha comprobado en revisiones recientes y examinando un elevado número de casos (5, 6), que los embarazos simples presentan igualmente un mayor riesgo de resultados adversos: partos prematuros, bajo peso, anomalías congénitas y cualquier tipo de complicación perinatal. Y dado el gran número y complejidad actual en los diversos tratamientos, es difícil achacar el riesgo a aspectos concretos: fármacos de inducción, manipulación de gametos y embriones, cultivos y entorno hormonal alterado en la implantación.

El conocimiento de los mecanismos que regulan el desarrollo de los nuevos vasos, es básico para la comprensión del desarrollo del embarazo precoz (7). El principal objetivo del proceso de angiogénesis es asegurar el flujo sanguíneo con

la formación y mantenimiento de la red vascular placentaria, condición de vital importancia. Variaciones agudas en la perfusión, produce alteraciones en el flujo, y por consiguiente, en la presión parcial de oxígeno, y como consecuencia alteraciones en el metabolismo de las células endoteliales, y un déficit en el desarrollo del árbol vascular y en la maduración de los vasos (8, 9). Esta circunstancia, está presente en la preeclampsia y en casos de retardo de crecimiento fetal (10, 11).

De manera reciente, se permite la observación, estudio y medición exacta de la vascularización así como el volumen de cualquier órgano, mediante la utilización de la ecografía en Tridimensión simultaneada con el Power Doppler y el manejo de los datos mediante el sistema VOCAL.

Multitud de publicaciones recientes, hacen referencia mediante esta técnica al déficit de vascularización placentaria en casos que han evolucionado posteriormente con preeclampsia (12-16) y retardos de crecimiento fetal (17). Todos ellos, evalúan la vascularización a partir de la semana 20. Recientemente, aparecen trabajos con gestantes del primer trimestre. (18-20).

Nos proponemos pues estudiar mediante esta tecnología la

vascularización placentaria, tanto en gestaciones espontáneas y su comparación con las conseguidas tras TRA para así intentar añadir más datos sobre la existencia de diferencias anatomofisiológicas en este tipo de gestaciones y la explicación del mayor número de resultados adversos perinatales que llevan asociados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se practica ecografía utilizando el ecógrafo Voluson 730 Expert (GE Medical System) equipado con sonda volumétrica 4.0-8.0 MHz transabdominal. Todas las exploraciones fueron realizadas por un único observador. Son gestantes cursando la semana 20, siendo excluidas del estudio las pacientes con antecedentes de infertilidad (trombofilias, anomalías uterinas y abortos de repetición), la gestación múltiple, el sangrado activo en el momento de la exploración, la evidencia de despegamientos o hematomas y anomalías morfológicas fetales.

Al inicio de la exploración, se realiza el correspondiente estudio bidimensional de situación fetal y placentaria, valoración de líquido amniótico, biometría y estudio de toda la anatomía fetal, que en todos los casos ha resulta normal. Con Doppler Color, se localiza la inserción del cordón umbilical y cerca de esa zona se estudia la onda de flujo de la

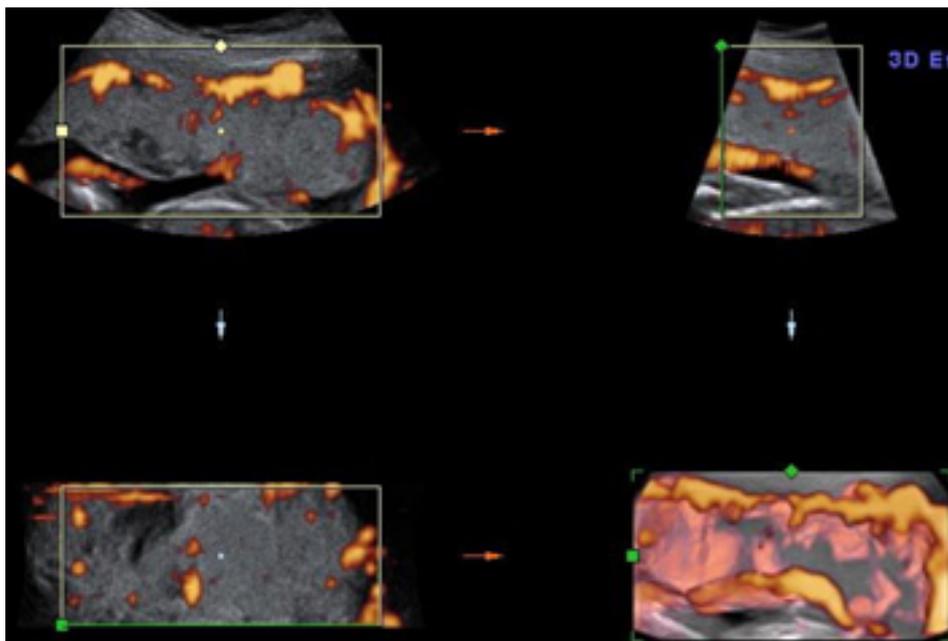
arteria umbilical, con índices igualmente dentro de la normalidad en todas las pacientes.

Seguidamente, mediante bidimensión, se vuelve a localizar sobre el abdomen materno el mayor volumen placentario y se activa en ese momento la función de power Doppler y tridimensión. Para unificar resultados, no se han variado los parámetros utilizados en el equipo, siendo la frecuencia de repetición de pulsos no excesivamente baja (0,9 kHz) para evitar artefactos de color y el ángulo de barrido pequeño (40°) para que la adquisición fuera lo más rápida posible. Harmónico alto, potencia 97 %, ganancia 3, mapa de grises 5, calidad del power doppler normal, frecuencia baja y filtro de pared Bajo1. El análisis en off, de todas las imágenes captadas se realizó por un único observador, el mismo que realizó la captación del volumen placentario.

Una vez activado el power Doppler, se va acomodando su tamaño y forma a la imagen que aparece en la pantalla, intentando abarcar todo el espesor placentario desde la placa corial hasta la basal y procurando que sea lo más pequeña posible para que el tiempo de barrido sea menor. En los segundos que coinciden con ausencia de movimientos materno y fetal e incluso de respiración materna, se activa la adquisición del volumen, manteniendo la sonda firme e inmóvil (Figura 1). El tiempo de adquisición de los volúmenes osciló entre 15 y 20 segundos.

FIGURA 1

Adquisición de un volumen placentario con power Doppler tridimensional, abarcando todo el espesor entre placa basal y placa corial.



Una vez obtenido satisfactoriamente, se almacena en el software de archivo (Sonoview II), integrado en la informática del aparato. Para el análisis en off de los volúmenes almacenados, se utiliza el programa informático VOCAL (virtual organ computer-aided analysis) incorporado en el equipo. Cada volumen recuperado, es representado en la pantalla en la forma multiplanar. Utilizando únicamente el Plano A, obtenido en el corte longitudinal, se colocan los límites de un hipotético eje de rotación justamente en la placa corial y en la basal. De esta manera, y rotando sobre ese eje, se genera una esfera de tejido de distinto volumen, considerándola válida para el estudio si comprende todo el espesor y no incluye las grandes arterias presentes tanto en la placa basal como en la corial (Figura 2).

El análisis cuantitativo de la vascularización, se realiza mediante la aplicación del histograma color incorporado en el sistema VOCAL. Este sistema calcula automáticamente los valores de escalas de grises y colores sobre la esfera obtenida, y de esta manera, se obtienen los tres índices vasculares: Índice de Vascularización (IV), índice de Flujo (IF) y el Índice de Vascularización-Flujo (IVF).

El IV, medido en porcentaje, es una medición de la cantidad

de vasos que hay en el interior del área seleccionada. El IF, se mide en una escala de 0-100, representa la potencia media de color: es una medición de la intensidad del flujo en el área seleccionada. El IVF, se mide en una escala de 0-100, se obtiene a partir de una relación matemática de los índices anteriores: estima la perfusión del órgano.

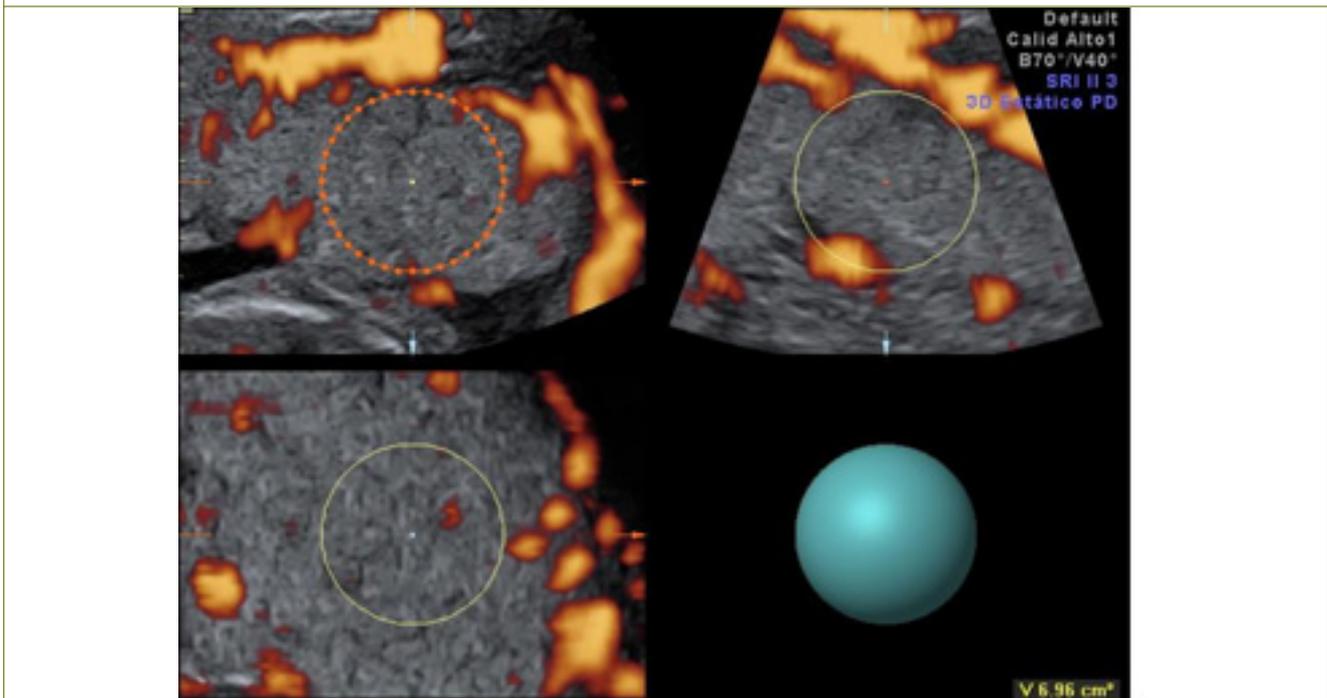
Respecto al análisis estadístico, en la descripción de los datos numéricos se ha usado la media junto con la desviación estándar. Para valorar un factor de confusión se ha requerido el cumplimiento de los tres criterios clásicos (relación con la variable dependiente, relación con la variable independiente, descartar ser un intermediario). El análisis de Kruskal-Wallis ha sido realizado para evaluar la relación estadística entre la variable dependiente, la esterilidad, y las variables independientes: Volumen, IV, IF Y el IVF. Se ha considerado como una diferencia estadísticamente significativa una $p < 0,05$. Este análisis estadístico ha sido realizado mediante el paquete estadístico SPSS 20.1.

RESULTADOS

En este estudio realizado en nuestro departamento de Obstetricia, de casos-controles, se han evaluado de forma re-

FIGURA 2

Cada volumen recuperado, es representado en la pantalla en la forma multiplanar. Utilizando el Plano A, se obtiene una "biopsia placentaria" en forma de esfera en el espesor del volumen placentario almacenado y sin incluir las grandes arterias presentes tanto en la placa basal como en la corial



prospectiva 130 pacientes de las cuales 75 pertenecían al grupo control, pacientes no estériles con embarazo espontáneo. Se compararon frente a 55 pacientes, con esterilidad previa que necesitaron tratamiento de reproducción asistida para su concepción, con ciclos de Fecundación in Vitro convencional o con Microinyección Intracitoplasmática.

Comparadas todas las gestantes, presentaban una gran discordancia con respecto a la edad entre los controles y los casos ($33,7 \pm 3,2$ vs $37 \pm 4,2$; $p=0,000$) por lo que en un primer momento se evaluaron los criterios de confusión para la variable edad. Tras comprobar (Tabla 1), que no existía correlación significativa ($r > 0,2$) entre la edad y las variables independientes en los pacientes sin esterilidad (es decir, en los controles), se descarta definitivamente que la edad pueda actuar como un valor confusional en nuestro estudio.

Con ello realizamos un estudio univariante mediante pruebas no paramétricas (Tabla 2), para la evaluación de la relación estadística entre la esterilidad y los parámetros de volumen y vascularización trofoblástica. El volumen trofoblástico estudiado en cada paciente es muy similar en ambos grupos (10,11 ml. de media en los embarazos espontáneos y 7,8 ml. en las gestaciones tras TRA), sin existir pues diferencias significativas ($p=0,646$).

Sí se aprecian diferencias estadísticamente significativas a favor de una mejor vascularización en el grupo de las gestaciones espontáneas, en concreto con el IF, con una media de 37,33 frente a 34,67 ($p=0,033$) y el IVF, con media de 3,78 frente a 3,16 ($p=0,038$), acercándose a la significación estadística el IV sin alcanzarla ($p=0,076$) con un 9,65 % frente a 8,24%. En la Figura 3 se ilustran estos resultados.

DISCUSIÓN

La placenta es un órgano con unas características genéticas, morfológicas y funcionales únicas y complejas, con rápidos cambios a lo largo del embarazo y que sin embargo, se desconocen con exactitud algunos aspectos de su fisiología en la que subyacen patologías obstétricas de diversos ordenes.

La placenta histológicamente separa feto y útero, modifica los sistemas endocrinos e inmunitario materno y establece las conexiones vasculares entre la madre y el embrión. Sin duda, es la perfusión placentaria, la función primordial para comprender la fisiología del desarrollo y nutrición del feto. Muy posiblemente, se sustentan en las anomalías del árbol placentario muchas de las patologías obstétricas: hipertensión, oligoamnios, retardo de crecimiento, trombosis placentaria, síndrome de perfusión entre gemelos, infarto o desprendimientos de placenta. Se ha comprobado que la mayor parte del volumen placentario consiste en la circulación de la sangre materna y fetal (21). Una reducción de

TABLA 1

Evaluación de la edad como factor de confusión. Se establece que no existe relación entre los factores de volumen y vascularización y la edad en el grupo control.

		CORRELACIONES			
		Vol	IV	IF	IVF
Edad	Correlación de Pearson	0,1	-0,071	-0,075	0,071
P (bilateral)		0,402	0,548	0,526	0,552
N		75	75	75	75

Vol: Volumen placentario; IV: Índice de Vascularización; IF: Índice de Flujo; IVF: Índice de Vascularización-Flujo

TABLA 2

Análisis estadístico para evaluación la relación entre los parámetros ecográficos a estudio y nuestro grupo de controles (pacientes con gestación espontánea) y casos (pacientes sometidas a tratamiento de reproducción asistida (TRA) por esterilidad previa

	Gestaciones espontáneas N=75	Gestación tras TRA N=55	p
Vol (ml.)	10,11 ± 12,52	7,8 ± 4,9	0,646
IV(%)	9,65 ± 6,17	8,24 ± 6,85	0,076
IF(U)	37,33 ± 7,12	34,67 ± 7,06	0,033
IVF(U)	3,78 ± 2,62	3,16 ± 3,0	0,038

Vol: Volumen placentario; IV: Índice de Vascularización; IF: Índice de Flujo; IVF: Índice de Vascularización-Flujo

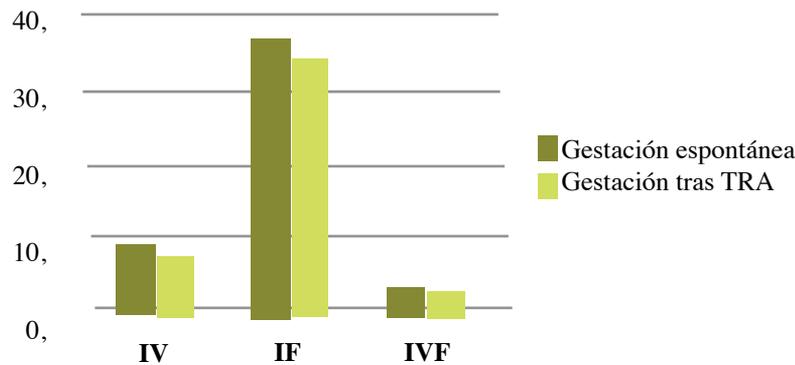
este volumen, y por tanto de su árbol vascular y un déficit en su función, ya en estadios precoces, deben estar presentes en estas situaciones (22, 23).

La oxigenación placentaria es un factor importante para el control de los factores de crecimiento angiogénico y, por tanto para la angiogénesis y vasculogénesis fetoplacentaria así como para la diferenciación de las vellosidades. En la vasculatura fetoplacentaria, numerosos factores angiogénicos y anti-angiogénicos están presentes pero la forma en la que ellos interactúan y las consecuencias moleculares de tales interacciones aún no son comprendidas en su totalidad (8, 9).

La preeclampsia es la principal causa de morbilidad y mortalidad perinatal. Aunque su etiología es desconocida, la regulación del crecimiento vascular en la unidad materno fetal

FIGURA 3

Relación visual entre los parámetros ecográficos a estudio entre los casos y los controles. Se puede observar que todos los parámetros de vascularización son menores en los embarazos tras reproducción asistida.



está alterada, llevando a defectos de la placentación. Se ha demostrado que existe una correlación entre la presencia de lesiones vasculares uteroplacentarias y preeclampsia (12-16). E igualmente, estudios morfológicos han presentado un pobre desarrollo de la vasculatura en la placenta en asociación con retardos de crecimiento fetal intrauterino (10, 11, 17).

Hasta ahora, el método disponible para detectar precozmente anomalías de la perfusión placentaria antes de que derivaran en compromiso fetal, era tan sólo la valoración, muy subjetiva, del aspecto placentario en imágenes bidimensionales o bien Doppler convencional y análisis del flujo de una sola arteria, la umbilical. No obstante, las alteraciones detectadas en esta arteria, reflejan cambios vasculares ya tardíos del árbol vellositario; además, no se detectan las anomalías en los pequeños vasos, origen probable de la patología anteriormente comentada. La reciente tecnología power Doppler combinada con la ecografía tridimensional, con reproducibilidad y aplicación clínica ya validadas tanto en ginecología (24-27) como en obstetricia (28-35) nos ofrece la posibilidad de conocer de una manera más objetiva toda la red vascular de la placenta. Posee la sensibilidad suficiente para detectar los vasos sanguíneos más pequeños con menor velocidad de flujo y la obtención de mapas de flujo sanguíneo de todo el parénquima placentario, con su posterior análisis mediante el histograma color incluido en el sistema VOCAL, igualmente validado para su aplicación clínica. La técnica power Doppler es la más sensible y útil para el estudio vascular en órganos parenquimatosos, pues es capaz de visualizar los vasos sanguíneos de pequeño diámetro con menor velocidad de flujo, característica específica de los vasos placentarios (36-38).

En la literatura mundial de estos últimos años, sigue en controversia, si realmente, las TRA aumentan la incidencia de anomalías en los niños nacidos. Encontramos publicaciones que no encuentran incrementos (39-41) y otras que sí (6, 42-46). Especialmente relevantes y clarificadores resultan los últimos metaanálisis publicados con un alto número de casos y un seguimiento a largo plazo, como el de Davies (47), confirmando de nuevo que las TRA incrementan el riesgo de malformaciones (6-8 % frente al esperado 2-3 % de la población general). Aunque este trabajo, junto con otros también recientes, abre una nueva vía de debate, al comprobar que en parejas con su correspondiente etapa de esterilidad que consiguen gestación espontánea, igualmente resultan con un aumento de anomalías similar a los niños tras TRA (48-50) y en general, reportan resultados adversos perinatales en estas gestaciones (51). Incluso, se comprueba bajo peso en gestaciones espontáneas en las subfértiles (52, 53) y también la tasa de malformaciones fetales varían según el tiempo de espera hasta conseguir la gestación correspondiente como ya se había comprobado con anterioridad (54).

La discusión sigue abierta y es por tanto imprescindible y necesaria la investigación para intentar conocer los posibles factores que influyen y contribuyen al aumento de la morbilidad en niños nacidos tras TRA.

Intentando arrojar luz sobre todas estas cuestiones, diseñamos el presente trabajo, con el fin de demostrar si existen diferencias en la placentación entre gestaciones espontáneas y las conseguidas tras los diversos de tratamientos de fertilidad, mediante el estudio de los tres parámetros de vascularización. Y efectivamente, encontramos diferencias

significativas en ambos grupos, y en concreto con dos índices de vascularización: el IF y el IVF y cercano a la significación en el IV. Además, se comprueba la no influencia del factor edad materna en los resultados obtenidos.

Consideramos pues, que posiblemente muchos de los resultados obstétricos adversos encontrados en las gestaciones tras TRA, junto con el aumento de anomalías en los niños nacidos tras estos tratamientos, podrán ser explicadas o al menos sugerir por los cambios íntimos y precoces ya en el trofoblasto temprano. Y además, independientemente de otros factores ya conocidos como la edad materna y la multifetalidad. Por ello, deben considerarse ya desde un principio, embarazos de alto riesgo, subsidiarios de un control obstétrico más exhaustivo.

Se abre pues la posibilidad de intentar resolver las importantes entidades clínicas ya comentadas y originadas muy posiblemente en el seno del tejido placentario. Finalmente podría contribuir al estudio de los diferentes y complejos mecanismos de la placenta todavía no resueltos: sus características inmunológicas de adaptación, la contribución de los genomas materno y paterno, los intercambios bioquímicos y endocrinos feto-maternos, la placenta como injerto, etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Buitendijk SE.** Children after in vitro fertilization. An overview of the literature. *Int J Technol Assess Hlth Care* winter. 1999;15:52-65.
2. **Olivennes F.** Avoiding multiple pregnancies in ART Double trouble: yes a twin pregnancy is an adverse outcome. *Human Reproduction*. 2000;15:1663-5.
3. **Koudstaal J, Bruinse HW, Helmerhorst FM, Vermeiden JP, Willemsen WN, Visser GH.** Obstetric outcome of twin pregnancies after in-vitro fertilization: a matched control study in four Dutch university hospitals. *Hum Reprod*. 2000;15:935-40.
4. **Pinborg A, Loft A, Rasmussen S, Schmidt L, Langhoff-Roos J, Greisen G, et al.** Neonatal outcome in a Danish national cohort of 3438 IVF/ICSI and 10,362 non-IVF/ICSI twins born between 1995 and 2000. *Hum Reprod*. 2004;19:435-41.
5. **Wen J, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y, et al.** Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *FertilSteril* 2012;97:1331-1337.
6. **Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk J.** Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects – a systematic review. *Hum Reprod*. 2004;20:328-388.
7. **Bauer S, Bauer R, Velazquez O.** Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *VascEndovascularSurg*. 2005;39:293-306.
8. **Demir R, Kayisli U, Seval Y, Celik-Ozenci C, Korgun E, Demir-Weusten A, et al.** Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: Differences between placental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta*. 2004;25:560-572.
9. **Kayisli U, Cayli S, Seval Y, Tertemiz F, Huppertz B, Demir R.** Spatial and temporal distribution of Tie-1 and Tie-2 during very early development of the human placenta. *Placenta*. 2006;27:648-659.
10. **Briceño-Pérez C, Briceño-Sanabria L, Vigil-De Gracia P.** Prediction and prevention of preeclampsia. *HypertensPregnancy*. 2009;28:138-155.
11. **Salafia C, Pezzullo J, López-Zeno J, Simmens S, Minior V, Vintzileos A.** Placental pathologic features of preterm preeclampsia. *Am J ObstetGynecol*. 1995;173:1097-1105.
12. **Costa J, Rice H, Cardwell C, Hunter A, Ong S.** An assessment of vascularity and flow intensity of the placenta in normal pregnancy and pre-eclampsia using three-dimensional ultrasound. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010;23:894-9.
13. **Odibo AO, Goetzinger KR, Huster KM, Christiansen JK, Odibo L, Tuuli MG.** Placental volume and vascular flow assessed by 3D power Doppler and adverse pregnancy outcomes. *Placenta* 2011;32:230-4.
14. **Hafner E, Metznerbauer M, Stümpflen I, Waldhör T, Philipp K.** First trimester placental and myometrial blood perfusion measured by 3D power Doppler in normal and unfavourable outcome pregnancies. *Placenta* 2010;31:756-63.
15. **Mihu CM, Drugan T, Mihu D.** Contribution of 3D power Doppler ultrasound to the evaluation of placental circulation in normal pregnancies and pregnancies complicated by preeclampsia. *J PerinatMed* 2012;40:359-64.
16. **Odeh M, Ophir E, Maximovsky O, Grinin V, Bornstein J.** Placental volume and three-dimensional power Doppler analysis in prediction of pre-eclampsia and small for gestational age between Week 11 and 13 weeks and 6 days of gestation. *PrenatDiagn* 2011;31:367-71.
17. **Pomorski M, Zimmer M, Florjanski J, Michniewicz J, Wiatrowski A, Fuchs T, Milnerowicz-Nabzdyk E.** Comparative analysis of placental vasculature and placental volume in normal and IUGR pregnancies with the use of three-dimensional Power Doppler. *ArchGynecolObstet* 2012;285:331-7.
18. **Yigiter AB, Kavak ZN, Durukan B, Isci H, Uzuner A, Uyar E, Gokaslan H.** Placental volume and vascularization flow indices by 3D power Doppler US using VOCAL technique and correlation with IGF-1, free beta-hCG, PAPP-A, and uterine artery Doppler at 11-14 weeks of pregnancy. *J PerinatMed* 2011;39:137-41.
19. **Dar P, Gebb J, Reimers L, Bernstein PS, Chazotte C, Merkatz IR.** First-trimester 3-dimensional power Doppler of the uteroplacental circulation space: a potential screening method for preeclampsia. *Am J ObstetGynecol* 2010;203:238-47.
20. **Bozkurt N, Başgülyigiter A, Gokaslan H, Kavak ZN.** Correlations of fetal-maternal outcomes and first trimester 3-D placental volume/3-D power Doppler calculations. *ClinExpObstetGynecol* 2010;37:26-8.
21. **Wolf H, Oosting H, Treffers PE.** Second trimester placental volume measurement by ultrasound: prediction of fetal outcome. *Am J ObstetGynecol* 1989;160:121-6.
22. **Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I.** Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta* 1983; 4: 397-414.
23. **Pijnenborg R, Anthony J, Davey DA, Rees A, Tiltman A, Vercauysse L.** Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J ObstetGynaecol*. 1991; 98: 648-55.
24. **Mercé LT, Gómez B, Engels V, Bau S, Bajo JM.** Intraobserver and interobserver reproducibility of ovarian volume, astral follicle count, and vascularity indices obtained with transvaginal 3-dimensional ultrasonography, power Doppler angiography, and the virtual organ computer-aided analysis imaging program. *J UltrasoundMed* 2005; 24:1279-87.
25. **Jarvela IY, Sladkevicius P, Tekay AH, Campbell S, Nargund G.** Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, grayscale and color flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *UltrasoundObstetGynecol* 2003; 21:277-82.
26. **Yaman C, Ebner T, Jesacher K.** Three-dimensional power Doppler

- in the diagnosis of ovarian torsión. *UltrasoundObstetGynecol* 2002;20: 513-5.
27. **Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Clewes JS, Kendall NR, Jhonson IR.** The reliability of virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) for the semiquantification of ovarian, endometrial and subendometrial perfusion. *UltrasoundObstetGynecol* 2003;22:633-9.
 28. **Jauniaux E, Greenwold N, Hempstock J, Burton GJ.** Comparison of ultrasonographic and Doppler mapping of intervillous circulation in normal and abnormal early pregnancies. *FertilSteril* 2003;79:100-6.
 29. **Dubiel M, Breborowicz GH, Ropacka M, Pietryga M, Maulik D, Gudmundsson S.** Computer analysis of three-dimensional power angiography images of foetal cerebral, lung and placental circulation in normal and high-risk pregnancy. *UltrasoundMedBiol* 2005;31:321-7.
 30. **Yu CH, Chang CH, Ko HC, Chen WC, Chang FM.** Assessment of placental fractional moving blood volume using quantitative three-dimensional power doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2003;29:19-23.
 31. **Chaoui R, Kalache KD, Hartung J.** Application of three-dimensional power Doppler ultrasound in prenatal diagnosis. *UltrasoundObstetGynecol* 2001;17:22-9.
 32. **Mercé LT, Barco MJ, Bau S, Kupesic S, Kurjak A.** Assessment of placental vascularization by three-dimensional power Doppler "vascular biopsy" in normal pregnancies. *CroatMed J.* 2005;46:765-71.
 33. **Chang CH, Yu CH, Ko HC, Chang FM, Chen HY.** Assessment of normal fetal liver blood flow using quantitative three-dimensional power Doppler ultrasound. *UltrasoundMedBiol* 2003;29:943-9.
 34. **Araujo Júnior E, Nardoza LM, Nowak PM, Rolo LC, Guimarães Filho HA, Moron AF.** Three-dimensional power Doppler placental vascularisation indices in early pregnancy: a pilot study. *J ObstetGynaecol* 2011;31:283-5.
 35. **Morel O, Grange G, Fresson J, Schaaps JP, Foidart JM, Cabrol D, Tsatsaris V.** Vascularization of the placenta and the sub-placental myometrium: feasibility and reproducibility of a three-dimensional power Doppler ultrasound quantification technique. A pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011;24:284-90.
 36. **Welsh AW, Humphries K, Cosgrove DO, Taylor MJ, Fisk NM.** Development of three-dimensional power Doppler ultrasound imaging of fetoplacental vasculature. *UltrasoundMedBiol* 2001;27:1161-70
 37. **Konje JC, Huppertz B, Bell SC, Taylor DJ, Kaufmann P.** 3-dimensional colour power angiography for staging human placental development. *Lancet.* 2003;362:1199-201.
 38. **Schaaps JP, Tsatsaris V, Goffin F, Bricchant JF, Delbecque K, Tebache M, Collignon L, Retz MC, Foidart JM.** Shunting the intervillous space: new concepts in human uteroplacental vascularization. *Am J ObstetGynecol* 2005;192:323-32.
 39. **De Mouzon J, Lancaster P.** International working group for registers on assisted reproduction. *J AssistReprod Gen* 1997;14:2515-55.
 40. **Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde MP, Camus M, Devroey P, et al.** Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod* 2002;17:671-94.
 41. **Pinborg A, Loft A, Nyboe Andersen A.** Neonatal outcome in a Danish national cohort of 8602 children born after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection: the role of twin pregnancy. *Acta ObstetGynecolScand* 2004;83: 1071-8.
 42. **Buckett WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL.** Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *ObstetGynecol* 2007;110:885-91.
 43. **Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S.** The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002;346:725-30.
 44. **McDonald SD, Murphy K, Beyene J, Ohlsson A.** Perinatal outcomes of singleton pregnancies achieved by in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *J ObstetGynaecol Can* 2005;27:449-59.
 45. **Ludwig M, Katalinic A.** Malformation rate fetuses and children conceived after ICSI: result of a prospective cohort study. *ReprodBiomed Online* 2002;5:171-8.
 46. **Mau C, Juul A, Main KM, Loft A.** Children conceived after intracytoplasmic sperm injection (ICSI): is there a role for paediatrician? *Acta Paediatr* 2004;93:1238-44.
 47. **Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van EP, Priest K, Scott H, et al.** Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med* 2012;366:1803-1813.
 48. **Edwards RG, Ludwig M.** Are major defects in children conceived in vitro due to innate problems in patients or to induced genetic damage?. *ReprodBiomed Online* 2003;7:131-138.
 49. **Ludwig M.** Is there an increased risk of malformations after assisted reproductive technologies?. *ReprodBiomed Online* 2005;10:83-89.
 50. **Romundstad LB, Romundstad PR, Sunde A, von Düring V, Skjaerven R, Gunnell D, et al.** Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation: a population-based cohort study. *Lancet* 2008;372:737-743.
 51. **Masako H, Akihito N, Shoji S, Yoshio M.** Adverse obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies may be related to maternal factors associated with infertility rather than the type of assisted reproductive technology procedure used. *FertilSteril* 2012;98:922-928.
 52. **Williams MA, Goldman MB, Mitterdorf R, Monson RR.** Subfertility and the risk of low birth weight. *FertilSteril* 1991;56:668-71.
 53. **Jackson RA, Gibson KA, Croughan MS.** Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: A meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2004;103:551-63.
 54. **Ghazi HA, Spielberg C, Kallen B.** Delivery outcome after infertility - a registry study. *FertilSteril* 1991;55:726-732.