



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Estudi del desenvolupament cerebral en els fetus afectes de cardiopatia congènita

Narcís Masoller Casas

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

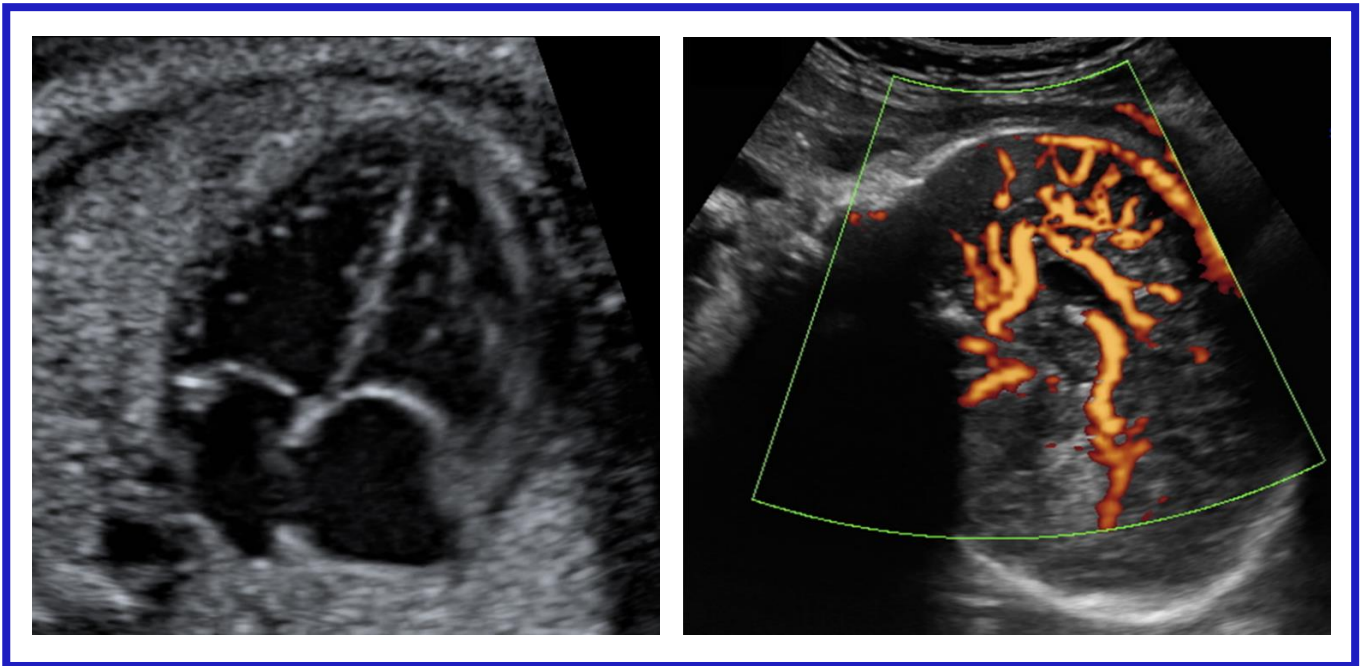
**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

# ESTUDI DEL DESENVOLUPAMENT CEREBRAL EN ELS FETUS AFECTES DE CARDIOPATIA CONGÈNITA



**TESI DOCTORAL**

**NARCÍS MASOLLER CASAS**



## TESI DOCTORAL

Departament d'Obstetrícia i Ginecologia, Pediatria, Radiologia i Anatomia.  
Programa Doctorat Medicina RD 1393/2007

# ESTUDI DEL DESENVOLUPAMENT CEREBRAL EN ELS FETUS AFECTES DE CARDIOPATIA CONGÈNITA

Presentada per

**Narcís Masoller Casas**

Per obtenir el grau de "Doctor en Medicina"

GENER, 2016

**Directors:**

**Professor Eduard Gratacós Solsona**

**Professor Josep M Martínez Crespo**



---

## AGRAÏMENTS

Resulta difícil expressar amb paraules l'agraïment que sento cap a cada una de les persones que m'han donat el seu suport i ajuda a l'hora de realitzar aquest projecte. Per això, moltes gràcies a tots.

En primer lloc, gràcies als directors de la tesi. A l'Eduard, per haver-me brindat l'oportunitat de formar part d'aquest extraordinari grup de recerca i sobretot per haver supervisat el meu projecte, amb la qualitat professional que ell hi aporta. A en Josep M, per guiar-me des del primer moment que vaig arribar a l'hospital com a resident, per haver confiat en mi a l'hora de proposar-me realitzar aquest projecte i, sobretot, per haver-me ensenyat tant sobre el món de l'Ecocardiografia i la Medicina Fetal. A l'Olga, per acollir-me com un més de l'equip d'ecocardio, per tot els coneixements que ha aportat a la meva formació i, sobretot, per transmetrem aquest afany de millora incansable que fa que siguis una referència per mi. A la Mar, per la paciència i la persistència que va tenir ensenyant-me a fer ecografies des del primer moment, per ser una immillorable companya de guàrdies i sobretot gràcies per acompanyar-nos a l'Aina i a mi en aquesta nova aventura que tenim entre mans. A la Fàtima i a la Magda, per totes les hores desinteressades que heu dedicat en ajudar-me a tirar endavant aquest projecte i, sobretot, per transmetrem el vostre entusiasme per la recerca. A en Bienve i l'Elisenda, per acollir-me i ensenyar-me tantes coses sobre el cervell fetal. A la Montse, en Francesc, en Toni, la Virginia i en Jose Miguel, gràcies per tot el que han aportat en la meva formació, i per la seva qualitat tant professional com, sobretot, personal. A tots els altres companys de la Maternitat amb qui he compartit feina i amistat durant tots aquest anys. Als meus CoR's, Raquel, Cris, Iñaki i José Luis, perquè l'amistat que va començar ara fa deu anys es prolongarà durant totes les nostres vides. A tu Sònia, perquè aquelles tardes d'estiu aprenent a enfrontant-nos a aquelles llargues llistes d'ecos em van permetre conèixer una persona extraordinària que m'acompanyarà la resta de la meva vida.

Gràcies a la meva família, als meus pares i la Berta, per tot el suport i ajuda que m'han donat sempre de manera incondicional; gràcies a ells sóc la persona que sóc. Finalment, gràcies a tu Aina, per la paciència que has tingut en totes aquelles nits i caps de setmana davant l'ordinador que has aguantat i que sens dubte han permès que aquest projecte hagi arribat

---

fins aquí. Gràcies per ser-hi sempre i per compartir amb mi la il·lusió pel nou projecte que tenim entre mans i que aviat es farà realitat.

---

Barcelona, 11 gener 2016

**Professor Eduard Gratacós Solsona**

Cap de Servei de Medicina Materno-Fetal. Hospital Clínic.

Professor Titular. Universitat de Barcelona.

**Professor Josep M Martínez Crespo**

Cap de Secció de Medicina Fetal. Servei de Medicina Materno-Fetal. Hospital Clínic.

Professor Associat Mèdic (acreditat Titular ANECA). Universitat de Barcelona

Declarem que **Narcís Masoller Casas** ha realitzat sota la nostra supervisió els estudis presentats en la tesi “**Estudi del desenvolupament cerebral en els fetus afectes de cardiopatia congènita**”.

Aquesta tesi s'estructura seguint la normativa per a tesis doctorals com a compendi d'articles, per a l'obtenció del grau de **Doctor en Medicina**. Els treballs esmentats estan preparats per ser presentats en el dia d'avui al Tribunal.

**Eduard Gratacós Solsona**

Director de Tesi

**Josep M Martínez Crespo**

Director de Tesi





---

## PRESENTACIÓ

La present tesi s'estructura seguint la normativa per a tesis doctorals com a compendi d'articles, per a l'obtenció del grau de **Doctor en Medicina**. Aquesta va ser aprovada per la *Comissió de Doctorat de la Facultat de Medicina* el 22 de Novembre de 2013. Els projectes inclosos en aquesta tesi pertanyen a una mateixa línia de recerca, que ha conduït a tres articles publicats en revistes internacionals:

1. Masoller N, Martínez JM, Gómez O, Bennasar M, Crispi F, Sanz-Cortés M, Egaña-Ugrinovic G, Bartrons J, Puerto B, Gratacós E. Evidence of second trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44:182-187.

*Estat: publicat. Factor d'impacte de la revista: 3.56, 1<sup>er</sup> quartil.*

2. Masoller N, Sanz-Cortés M, Crispi F, Gómez O, Bennasar M, Egaña-Ugrinovic G, Bargalló N, Martínez JM, Gratacós E. Severity of fetal brain abnormalities in congenital heart disease in relation with the main expected pattern of in utero brain blood supply. *Fetal Diagn Ther* 2015 Nov 15.

*Estat: publicat on-line. Factor d'impacte de la revista: 2.94, 2<sup>on</sup> quartil.*

3. Masoller N, Sanz-Cortés M, Crispi F, Gómez O, Bennasar M, Egaña-Ugrinovic G, Bargalló N, Martínez JM, Gratacós E. Mid-gestation brain Doppler and head biometry in fetuses with congenital heart disease predict abnormal brain development at birth. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47:65-73.

*Estat: publicat. Factor d'impacte de la revista: 3.85, 1<sup>er</sup> quartil.*



---

# TAULA DE CONTINGUTS

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>11</b>
1.1. Importància de les cardiopaties congènites	13
1.2. Anomalies del sistema nerviós central en els infants amb cardiopatia congènita	13
1.3. Alteracions neurològiques en nadons amb cardiopatia congènita abans de la cirurgia cardíaca	16
1.4. Fisiopatologia de l'alteració del desenvolupament cerebral en l'època prenatal: canvis en la circulació fetal en les cardiopaties congènites	19
1.5. Canvis en la circulació i el desenvolupament cerebral durant l'època prenatal en els fetus amb cardiopatia congènita	21
1.6. Rellevància i justificació de l'estudi	22
<b>2. HIPÒTESIS</b>	<b>25</b>
2.1. Hipòtesi principal	27
2.2. Hipòtesis específiques	27
<b>3. OBJECTIUS</b>	<b>29</b>
3.1. Objectiu principal	31
3.2. Objectius específics	31
<b>4. MÈTODES</b>	<b>33</b>
4.1. Disseny de l'estudi	35
4.2. Variables de l'estudi	36
4.2.1. Variables basals	36
4.2.2. Variables de l'avaluació ecogràfica	36

---

4.2.3. Variables de l'avaluació per RMN	40
4.2.4. Resultats perinatals	45
4.2.5. Avaluació del neuro-desenvolupament postnatal	46
4.3. Aprovació del comitè ètic	46
4.4. Anàlisi estadístic	46
<b>5. ESTUDIS</b>	<b>49</b>
5.1. Estudi 1: Evidence of second trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease	51
5.2. Estudi 2: Severity of fetal brain abnormalities in congenital heart disease in relation with the main expected pattern of in utero brain blood supply	59
5.3. Estudi 3: Mig-gestation brain Doppler and head biometry in fetuses with congenital heart disease predict abnormal brain development at birth	71
<b>6. RESULTATS</b>	<b>83</b>
6.1. Estudi 1	85
6.2. Estudi 2	89
6.3. Estudi 3	96
<b>7. DISCUSSIÓ</b>	<b>107</b>
<b>8. CONCLUSIONS</b>	<b>119</b>
<b>9. REFERÈNCIES</b>	<b>123</b>

---

# 1. INTRODUCCIÓ

---



---

# 1. INTRODUCCIÓ

## 1.1 Importància de les cardiopaties congènites

Les cardiopaties congènites (CC) constitueixen les malformacions congènites severes més freqüents afectant, en xifres globals, al 0.8-1% dels recents nascuts vius<sup>1</sup>. Aproximadament el 35-50% de les CC diagnosticades durant la vida prenatal seran defectes severes que requeriran un tractament quirúrgic durant els primers anys de vida. Tampoc és gens menyspreable la relació de les CC amb la mortalitat infantil, essent la principal causa de la mortalitat infantil per anomalia congènita en el primer any de vida. Actualment, fins i tot en els millors centres hospitalaris del nostre àmbit, el 15% dels nens afectes de CC moriran abans de l'adolescència i, per tant, només un 80-85% d'aquests infants arribaran a l'edat adulta<sup>2,3</sup>.

Fins fa relativament pocs anys, les alteracions en el neurodesenvolupament dels nens afectes de CC quedaven totalment eclipsades pel repte que significava aconseguir unes xifres de supervivència adequades. En les últimes dècades, gràcies a l'arribada de noves tècniques diagnòstiques i amb els grans avenços en les tècniques quirúrgiques, el cateterisme intervencionista i les millores en les mesures de suport postoperatòries amb l'aparició de tècniques com l'ECMO (oxigenació amb membrana extracorporal) s'ha produït un dràstic increment de la supervivència d'aquest infants<sup>2,3</sup>. Paral·lelament a aquesta millora de la supervivència, ha sorgit una consciència creixent de que els nens que sobreviuen a aquestes cirurgies presenten, en un nombre gens menyspreable, morbiditat a nivell del sistema nerviós central. En conseqüència, des de fa pocs anys hem passat, de centrar-nos únicament en el resultat a nivell cardíac, a centrar-nos també en el resultat a nivell neurològic i del neurodesenvolupament.

## 1.2 Anomalies del sistema nerviós central en els infants amb cardiopatia congènita.

Actualment sabem que una àmplia proporció d'infants amb CC, que segons alguns registres arriba al 25-50%, presenten un resultat advers en el seu neurodesenvolupament i



---

també està àmpliament acceptat que existeixen una gran varietat de possibles factors contribuents en el desenvolupament del sistema nerviós central d'aquests nens<sup>3-8</sup>. Així doncs, aquests factors els podem agrupar en dos grans grups: factors relacionats amb la correcció quirúrgica de la CC (causes perioperatòries) i factors no relacionats amb la correcció quirúrgica i que estan presents des de l'època prenatal fins al moment de la cirurgia correctora (causes preoperatòries).

### 1.2.1 Causes perioperatòries

En relació a l'etiologia de la lesió neurològica després de la cirurgia cardíaca hi ha varis factors contribuents. El by-pass cardiopulmonar permet una perfusió contínua dels òrgans vitals durant la reparació de la CC, però aquest presenta efectes potencialment deleteris com ara complicacions de tipus embòlic o activació de les vies inflamatòries. Diversos estudis han demostrat una correlació positiva entre el temps de by-pass cardiopulmonar y les alteracions del neurodesenvolupament<sup>9-11</sup>. La parada circulatòria amb hipotèrmia profunda s'utilitza en alguns casos en els que es necessita realitzar una reparació quirúrgica complexa. La duració del període de seguretat d'aquest procediment no està ben definida, però temps que superin els 45-60 minuts s'han relacionat amb una elevada mortalitat i amb l'aparició d'un retard psicomotor important<sup>10,11</sup>.

La transposició de grans artèries (TGA) és una de les CC més estudiades des del punt de vista del resultat neurològic, ja que són nadons que se sotmeten a la intervenció quirúrgica per restaurar la circulació normal durant les dues primeres setmanes de vida. Un estudi realitzat en nadons amb TGA reparada mitjançant "swicth" arterial utilitzant by-pass cardiopulmonar posa de manifest la presència d'anomalies neurològiques en més d'un 30% dels casos<sup>12</sup>. Aquestes alteracions es manifesten al llarg de tota la infància y repercuteixen de manera important en el rendiment escolar d'aquest infants. Als 8 anys d'edat, els nens amb TGA reparada quirúrgicament presenten puntuacions significativament inferiors a les de la població general en habilitats motores fines, visuo-espacials, cognitives (incloent memòria i atenció) i habilitats lingüístiques avançades<sup>13</sup>. Però aquestes alteracions en el desenvolupament neurològic no es limiten únicament als infants amb TGA. En una cohort de 131 recent nascuts amb múltiples tipus de CC que van requerir correcció quirúrgica precoç

---

es va evidenciar la presència d'alteracions motores en el 42% dels casos i un retard global en el neurodesenvolupament en el 23% d'aquests<sup>14</sup>. Per altre banda, un estudi amb més de cent casos sotmesos a la intervenció de Fontan, mostrava que aquests infants presentaven un coeficient intel·lectual (CI) significativament inferior al de la població general, i fins a un 7,8% dels casos tenien puntuacions inferiors a 70<sup>15</sup>. Encara que en la majoria de casos la disminució del CI pot semblar modesta, aquesta es tradueix en una càrrega important, no només per a l'individu i la seva família, sinó també per al conjunt de la societat. Hi ha estudis que demostren que per cada punt de CI perdut, la productivitat de l'individu al llarg de la seva vida disminueix en un 1.8-2.4%<sup>12</sup>.

Un altre moment important és el postoperatori de la cirurgia cardíaca, ja que és en aquest moment quan poden aparèixer diverses complicacions tractables o evitables que poden tenir un impacte important en el resultat a llarg termini. El patró més comú de dany neurològic que podem trobar-nos en el postoperatori és l'alteració de la substància blanca, que és més freqüent en les correccions quirúrgiques de tipus univentricular o en els casos d'obstrucció de l'arc aòrtic<sup>12</sup>. Aquesta lesió de la substància blanca està directament relacionada amb la hipotensió arterial o la baixa saturació d'oxigen durant el primer dia del postoperatori<sup>16</sup>. També està demostrat que la presència de convulsions clíniques o a l'electroencefalograma o la presència d'hipertèrmia en situacions d'hipòxia o isquèmia estan altament associades a un pitjor neurodesenvolupament a l'any i als 4 anys<sup>9</sup>. La necessitat d'ECMO durant el postoperatori de casos greus es relaciona, no només amb una elevada mortalitat, sinó també amb un alt grau de discapacitat, amb un supervivència intacta de només un 13% dels casos<sup>9</sup>.

### 1.2.2 Causes preoperatories

Durant l'última dècada, ha anat creixent l'evidència de que la cirurgia cardíaca per la correcció les CC en els primers dies de vida no és l'únic factor contribuent en les alteracions del neurodesenvolupament que presenten aquests infants. Hi ha diversos estudis que han demostrat la presència d'alteracions neurològiques significatives en els recents nascuts amb CC abans de la cirurgia cardíaca i, per tant, cada vegada hi ha més evidència a favor de que

---

la condició prenatal, en aquests infants, pot contribuir també de manera significativa en el resultat neurològic final<sup>17-20</sup>.

### **1.3 Alteracions neurològiques en nadons amb CC abans de la cirurgia cardíaca**

En els últims anys diversos estudis han demostrat que més de la meitat dels recent nascuts amb CC presenten anomalies neurològiques i neuroconductuals immediatament després de néixer i abans de la cirurgia cardíaca. Un dels primers estudis realitzats en aquests nadons mostrava com el 56% eren classificats com “anormals” i entre les anomalies més freqüents trobàvem<sup>21</sup>: hipotonia difusa (40%), hipertonia (12%), disminució de la força motora a extremitats superiors o inferiors (10%), estupor o letàrgia (14%), agitació o nerviosisme (8%), convulsions (7%), alteracions de la fixació visual (50%) o auditiva (55%), microcefàlia (36%), disminució de la succió (23%). Estudis posteriors van obtenir resultats similars<sup>12,17,22</sup>. A més, diversos estudis han demostrat una alta prevalença de microcefàlia al naixement en recents nascuts amb CC, proporcionant una evidència objectiva de que la lesió neurològica d'aquests nens pot tenir un origen durant la vida fetal<sup>12,23,24</sup>.

#### **1.3.1 Anomalies preoperatòries detectables per neuroimatge**

Varis estudis en els últims anys han avaluat el desenvolupament cerebral dels recents nascuts mitjançant tècniques de neuroimatge amb l'objectiu de posar de manifest signes de lesió cerebral prèvies a la cirurgia correctora. L'ecografia cerebral i la ressonància magnètica nuclear (RMN) convencional han posat de manifest la magnitud del dany cerebral en els nadons amb CC, objectivant-se imatges compatibles amb lesió neurològica en el 28-59% dels casos<sup>20,25-28</sup>.

Amb l'ecografia cerebral s'han detectat un ampli espectre d'anomalies, entre les quals les més freqüents són: ventriculomegàlia i augment de l'espai subaracnoïdal (26%), atròfia cerebral (27%), calcificacions en els ganglis basals i el tàlem (20%) i hemorràgia intraventricular (16%). Com a troballes menys freqüents podem trobar-hi l'infart cerebral, l'edema cerebral o l'hemorràgia subaracnoïdal. Aquestes alteracions en l'ecografia s'han documentat més freqüentment en els nadons amb coartació d'aorta severa, TGA o hipoplàsia de cavitats esquerres<sup>25-27</sup>.

---

De manera similar, els estudis amb RMN també han posat de manifest una alta incidència de lesió neurològica preoperatòria incloent lesions isquèmiques, hemorràgia intracranial, retard en la maduració cortical i disminució del volum cerebral<sup>20,22,25,28</sup>. Les lesions isquèmiques apareixien en el 21-41% dels recents nascuts amb CC i són degudes a un aportació de sang deficient, tan quantitativa com qualitativament, a alguna regió cerebral, ja sigui durant l'etapa fetal o la neonatal immediata<sup>25</sup>. Un altre tipus de lesió isquèmica freqüent en aquesta població de recent nascuts és el dany en la substància blanca, que pot aparèixer de manera lleu en un 57-94% dels casos i de forma moderada o severa en un 6-36% dels mateixos. Dins d'aquest grup de lesions de la substància blanca s'inclouen un ampli espectre de lesions, com per exemple, la leucomalàsia periventricular (LPV), les lesions focals no quístiques i les alteracions difuses de la mielinització. La LPV representa el grau més sever d'aquestes lesions i consisteix en la presència de lesions quístiques necròtiques que van acompanyades d'atròfia de la substància blanca adjacent, reflectint-se aquest punt en forma d'un augment de la mida dels ventricles laterals. Aquestes lesions es localitzen habitualment al voltant de les banyes anteriors o posteriors dels ventricles laterals i es poden evidenciar en un 17-38% dels recents nascuts amb CC ja abans de la cirurgia correctora<sup>12,18</sup>.

### 1.3.2 Canvis cerebrals detectats amb tècniques de neuroradiologia avançada

La Diffusion Tensor Imaging (DTI) estudia la difusió de les molècules d'aigua en els teixits i permet obtenir informació sobre la microestructura del sistema nerviós central. S'hi avaluen dos paràmetres: el coeficient de difusió i l'anisotropia fraccional<sup>12</sup>. El coeficient de difusió mesura el grau de difusió de les molècules d'aigua dins el sistema nerviós central. En condicions normals aquest valor va disminuint a mesura que avança la gestació degut a la maduració de les membranes cel·lulars del teixit cerebral en desenvolupament<sup>20</sup>. L'anisotropia fraccional informa de la direccionalitat dels tractes nerviosos de substància blanca segons el moviment de les molècules d'aigua a través d'ells. En condicions normals, l'anisotropia fraccional augmenta progressivament durant la gestació, de forma fisiològica, gràcies a un moviment més lineal de les molècules d'aigua degut al procés de mielinització que es produeix durant la maduració del sistema nerviós central<sup>20</sup>. En un estudi realitzat en

---

nadons amb CC es va observar com el canvi en l'anisotropia fraccional al llarg del temps era significativament menor en els recent nascuts amb CC respecte els nens sans<sup>29</sup>. Un altre estudi demostrava un coeficient de difusió significativament augmentat i una anisotropia funcional significativament disminuïda en els recent nascuts amb CC abans de la cirurgia<sup>22</sup>.

L'espectroscòpia permet un estudi no invasiu dels metabòlits cerebrals "*in vivo*" per seguir-ne l'evolució durant la progressió d'una malaltia o identificar els canvis normals durant el desenvolupament cerebral<sup>22</sup>. El N-acetil-aspartat (NAA), el lactat i la colina són els metabòlits més estudiats. El NAA és un marcador neuronal i, per tant, és esperable que els seus valors es vagin incrementant durant el procés de maduració cerebral. Així doncs, un NAA disminuït és indicatiu de lesió cerebral<sup>25</sup>. El lactat, per la seva banda, és producte del metabolisme anaerobi i, per tant, pot ser utilitzat com a marcador de lesió de tipus hipòxic-isquèmica. Finalment la colina és un component essencial de les membranes cel·lulars i és fonamental per la fabricació de l'acetil-colina (neurotransmissor). Els seus nivells en el teixit cerebral es mantenen constants al llarg dels temps<sup>25</sup>. Mahale et al. va demostrar que el 53% dels recents nascuts amb CC tenien nivells de lactat elevats abans de la cirurgia i, a més a més, els nivells elevats de lactat presentaven una elevada correlació amb la presència d'anomalies en la RMN convencional<sup>28</sup>. Un altre estudi investigava el metabolisme cerebral en nadons amb TGA o hipoplàsia de cavitats esquerres i va demostrar que aquests nadons presentaven nivells de NAA significativament inferiors respecte els nadons sans<sup>20</sup>. A més, aquestes troballes es van donar en pacients en els que la RMN convencional no havia detectat cap anomalia, indicant així que els recent nascuts amb CC, tot i que no presentin anomalies estructurals evidents en el moment del naixement, en moltes ocasions presenten canvis en el metabolisme cerebral que els farà més vulnerables a la lesió neurològica durant el seu desenvolupament<sup>25</sup>.

---

#### **1.4 Fisiopatologia de l'alteració del desenvolupament cerebral en l'època prenatal: Canvis en la circulació fetal en les cardiopaties congènites.**

La presència d'alteracions del sistema nerviós central en els nounats, justament després de néixer i abans de passar per la cirurgia cardíaca, suggereix que molt probablement aquestes anomalies tenen un origen prenatal.

El desenvolupament cerebral durant la vida fetal és un procés molt delicat, en el qual és molt important que hi hagi una aportació adequada d'oxigen i nutrients per tal que el cervell fetal es desenvolupi de manera correcta. Per això, en condicions normals, durant la vida fetal la sang altament oxigenada procedent de la placenta, i que arriba al fetus per la vena umbilical, es canalitza a través del ductus venós fins a l'aurícula dreta, prioritant el seu pas cap a l'aurícula esquerra a través del foramen oval i d'aquí cap al ventricle esquerre, aorta i troncs supraoàrtics. D'aquesta manera s'assegura que la sang que irriga el cervell en desenvolupament tingui una elevada concentració de oxigen i nutrients.

Quan existeix una CC la circulació fetal normal pot alterar-se, en major o menor grau, de manera que al cervell fetal no hi arribi la mateixa quantitat d'oxigen i nutrients que en condicions normals. És aquest estat d'hipoperfusió i hipòxia crònica durant tota l'època prenatal el que pot condicionar el creixement i desenvolupament cerebral normal d'aquests individus explicant així les diferents anomalies que apareixen en aquests nadons després de néixer<sup>12</sup>.

Diversos estudis han aportat dades a favor d'aquesta teoria. Rosenthal et al. va avaluar diferents paràmetres de creixement en 251 nens amb CC comparant-los amb nens sans<sup>12,23</sup>:

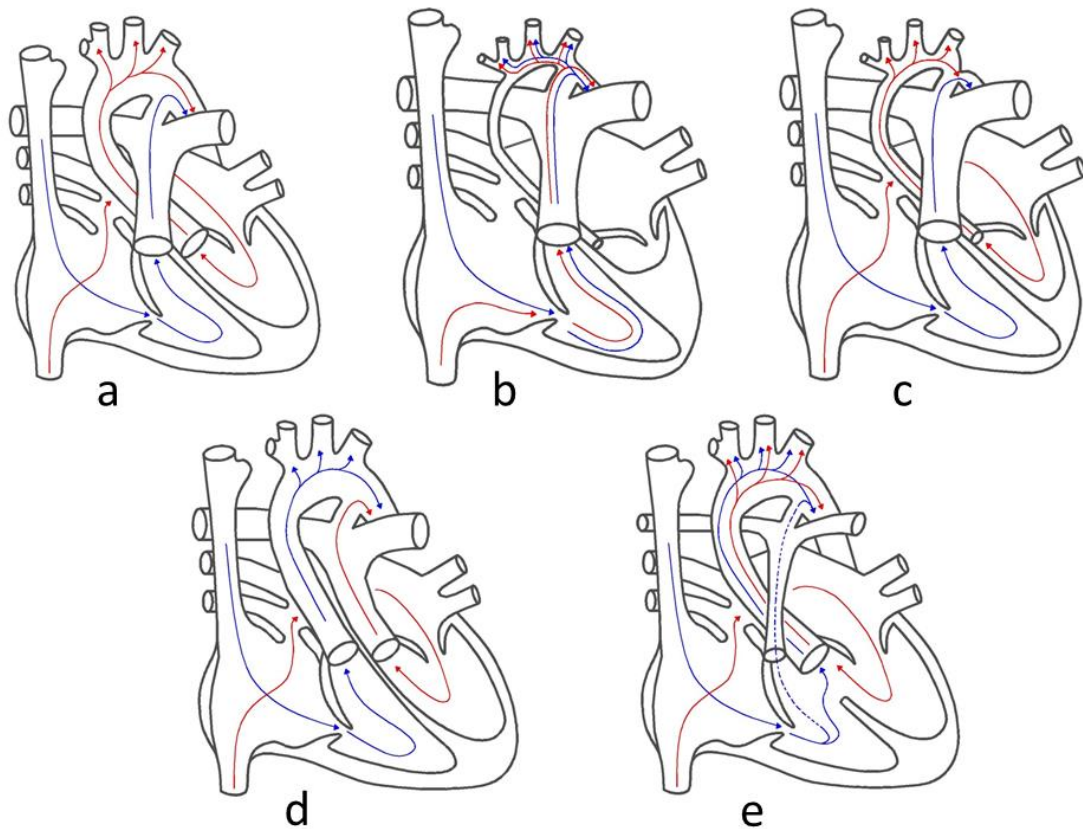
- Els nens amb TGA tenien un pes al néixer similar al dels controls però cridava l'atenció que el perímetre cefàlic d'aquests nadons era desproporcionadament més petit del que corresponia pel seu pes. En la TGA, l'aorta neix del ventricle dret i transporta sang pobrament oxigenada. Així, el contingut d'oxigen que arriba al cervell és molt inferior al normal i això pot condicionar el seu desenvolupament. Com hem vist

---

anteriorment, la microcefàlia es una de les anomalies del sistema nerviós central més freqüents en els nens amb CC.

- Els nens amb tetralogia de Fallot tenien un pes, talla i circumferència cefàlica al néixer significativament disminuïts respecte els controls. En aquesta CC es produeix una mescla de sang oxigenada i desoxigenada a nivell cardíac, com a conseqüència del defecte, de manera que la sang que finalment és ejectada a través de l'aorta ascendent també conté una concentració inferior d'oxigen i nutrients.

**Figura 1. Patró d'irrigació cerebral en els diferents tipus de CC**



a, Circulació fetal normal. b, Hipoplàsia de cavitats esquerres. c, Coartació d'aorta. d, Transposició de grans artèries. e, Tetralogia de Fallot.

- Els nens amb hipoplàsia de cavitats esquerres també eren més petits que els controls en tots els paràmetres de creixement, però la circumferència cefàlica era significativament més petita que el pes. En el cor esquerre hipoplàsic el ventricle

---

esquerre i l'aorta ascendent estan anul·lats i es produeix un mescla de sang al costat dret del cor. La sang s'ejecta a través del tronc pulmonar, recorre el ductus arteriós i des d'aquest, i de forma retrògrada per l'istme aòrtic, arriba als troncs supraaòrtics i al cervell. Així doncs, el subministrament de nutrients al cervell és insuficient tant per la disminució del volum de sang que hi arriba com per la baixa concentració d'oxigen que transporta aquesta sang.

- Finalment, els nens amb coartació d'aorta tenen un pes i una talla inferiors als controls. En la coartació d'aorta hi ha una hipoplàsia de l'aorta ascendent i per tant el volum de sang oxigenada que arriba al cervell a través d'aquesta també està disminuït.

### **1.5 Canvis en la circulació i el desenvolupament cerebral durant l'època prenatal en els fetus amb CC**

Tal com s'ha comentat anteriorment, els recent nascuts amb una CC presenten alteracions en el neurodesenvolupament abans de la cirurgia cardíaca i aquest fet, que s'ha demostrat amb diferents estudis, apunta cap a un origen prenatal de la lesió neurològica que presenten aquest infants.

Els primers estudis a nivell prenatal es van basar en l'estudi dels canvis en la circulació cerebral fetal que presentaven els fetus amb CC. Així, diversos estudis van avaluar la perfusió cerebral mitjançant l'estudi, amb Doppler convencional, del flux a nivell de l'artèria cerebral mitja i l'arteria umbilical i van demostrar que els fetus amb CC presentaven signes de redistribució hemodinàmica cerebral durant el tercer trimestre de la gestació en forma d'una disminució de l'índex de pulsatilitat de l'artèria cerebral mitja i de la ràtio cerebro-placentària<sup>30-35</sup>. A més, alguns estudis també mostraven que els fetus amb CC presentaven una disminució de les biometries cefàliques al tercer trimestre respecte els fetus normals<sup>34-36</sup>. La disminució de les resistències vasculars cerebrals en els fetus amb CC recolza la teoria de que els mecanismes autoregulators del fetus intenten compensar la disminució en el subministrament d'oxigen i nutrients al cervell en desenvolupament mitjançant l'increment del volum total del flux sanguini cerebral<sup>12</sup>.



---

En els últims anys el desenvolupament cerebral dels fetus amb CC també s'ha avaluat amb tècniques avançades de neuroimatge. *Limperopoulos et al.* va publicar el primer estudi sobre creixement i metabolisme cerebral en fetus amb CC mitjançant tècniques de RMN i espectroscòpia. En aquest estudi va mostrar com el grup de fetus amb CC presentava una disminució progressiva del volum cerebral global respecte els fetus sans durant el tercer trimestre de la gestació. A més, aquest grup de fetus també mostraven canvis en el perfil metabòlic cerebral en forma d'una disminució progressiva dels valors de NAA respecte els controls i amb una detecció de la presència de lactat en aquells casos que presentaven els volums cerebrals i els valors de NAA més disminuïts<sup>37</sup>. Posteriorment *Clouchoux et al.* va avaluar el desenvolupament cortical intrauterí en fetus amb hipoplàsia de cavitats esquerres (una de les CC amb més risc de hipoperfusió i hipoxèmia cerebral cròniques durant la vida fetal) comparant-lo amb el de fetus sans. Així, va demostrar un retard significatiu en el desenvolupament cortical de les àrees frontal, temporal, cingular, calcarina, occipital i parietooccipital, detectant una disminució del volum de substància gris cortical i subcortical i de substància blanca en aquestes àrees<sup>38</sup>. Totes aquestes troballes recolzen, altre vegada, la teoria de la hipòxia crònica durant l'etapa prenatal com a factor contribuent en el desenvolupament cerebral anormal dels fetus amb CC.

## **1.6 Rellevància i justificació de l'estudi**

Durant les últimes dues dècades, l'augment progressiu de la supervivència dels infants amb CC ha desplaçat el focus d'atenció cap a l'elevada taxa de morbiditat a nivell neurològic que presenten aquests infants en les diferents etapes de la seva vida<sup>4-7,12</sup>. Mentre que inicialment es creia que la principal causa del dany neurològic d'aquests nens era la cirurgia cardíaca i les seves complicacions<sup>11,12</sup>, actualment està àmpliament acceptat que la lesió neurològica i la conseqüent alteració en el neurodesenvolupament que presenten aquest nens és conseqüència d'una combinació de factors tant de l'època postnatal (cirurgia cardíaca i les seves complicacions) com també de l'època prenatal<sup>12</sup>.

Cada vegada està més acceptada la teoria de que el defecte anatòmic en el cor fetal altera la circulació fetal de tal manera que hi ha una reducció significativa de l'aportació d'oxigen i nutrients al cervell. Aquest fet és recolzat, per exemple, per un estudi molt recent

---

que demostra la presència d'una reducció en la concentració d'oxigen a nivell de l'aorta ascendent dels fetus amb CC<sup>39</sup>. Aquest ambient d'hipòxia crònica en el que es desenvolupa el cervell fetal durant tota la gestació condiona una sèrie de canvis, demostrables per diferents tècniques de neuroimatge durant el tercer trimestre, que seran els responsables de que aquests infants siguin més susceptibles a patir algun tipus de dany neurològic o alteració del neurodesenvolupament. Així doncs, sembla evident que uns dels factors prenatals a tenir més en compte és el tipus de CC, però també és evident que no és l'únic factor important ja que les alteracions neurològiques no només afecten al grup de CC que presenten, teòricament, una reducció més severa en l'aportació d'oxigen al cervell, com per exemple la hipoplàsia de cavitats esquerres, sinó que també s'han demostrat alteracions en altres tipus de CC majors.

En aquesta tesi s'avaluen diferents paràmetres de la perfusió i el desenvolupament cerebral prenatal com a predictors de l'alteració del desenvolupament neurològic que presenten els fetus i infants amb CC. Per tal d'aconseguir-ho es presenten els següents estudis:

- Estudi 1: s'investiga si els canvis en les biometries cefàliques i en la perfusió cerebral dels fetus amb CC es poden detectar de manera precoç durant el segon trimestre de la gestació.
- Estudi 2: s'investiga si l'alteració anatòmica cardíaca condiona el patró de perfusió cerebral, i per tant, aquelles CC amb un patró de reducció més sever de l'aportació d'oxigen al cervell són les que presenten canvis més significatius en el desenvolupament cerebral prenatal.
- Estudi 3: s'investiga si, a part del tipus de CC, hi ha altres variables de l'avaluació precoç durant el segon trimestre que puguin ajudar a predir quins fetus amb CC presentaran més risc de presentar lesió neurològica.



---

## **2. HIPÒTESIS**

---



---

## 2. HIPÒTESIS

### **HIPÒTESI PRINCIPAL:**

Alguns dels infants afectes de CC que sobreviuen amb retard en el neurodesenvolupament, presenten alteracions del desenvolupament cerebral ja abans de néixer degut a un estat de hipoperfusió i hipòxia cerebral crònica.

### **HIPÒTESIS ESPECÍFIQUES:**

1. Les anomalies en la perfusió cerebral que presenten els fetus amb CC poden ser detectades mitjançant tècniques de neuroimatge (ecografia i RMN) durant el període fetal, en el moment del diagnòstic de la CC i ja des del segon trimestre de la gestació.
2. El tipus de CC determina el patró de circulació cerebral, i per tant, el tipus i grau de la lesió.
3. Els fetus amb CC que presenten aquestes alteracions en els estudis de neuroimatge prenatal tenen major risc de desenvolupar lesió neurològica i retard del neurodesenvolupament en l'època postnatal.
4. És possible identificar variables obtingudes per neuroimatge que ajudin a predir quins fetus afectes de CC tenen major risc de presentar seqüeles neurològiques, independentment de la cirurgia cardíaca.



---

## **3. OBJECTIUS**

---





---

## 3. OBJECTIUS

### OBJECTIU PRINCIPAL:

Avaluar els paràmetres de perfusió i desenvolupament cerebral durant el període fetal mitjançant tècniques de neuroimatge.

### OBJECTIUS ESPECÍFICS:

1. Investigar la presència d'anomalies del desenvolupament cerebral per neuroimatge en fetus amb CC, avaluant els següents paràmetres:
  - 1.1. El creixement cranial mitjançant les biometries cefàliques.
  - 1.2. La circulació cerebral mitjançant l'estudi Doppler polsat i l'anàlisi de les ones de velocitat de flux.
  - 1.3. La perfusió cerebral mitjançant Doppler no direccional (*power-Doppler*) i el càlcul del volum de la fracció sanguínia en moviment (FMBV).
  - 1.4. La neuroestructura i el metabolisme cerebral mitjançant RMN i espectroscòpia.
2. Analitzar si existeixen diferències en els paràmetres avaluats en funció del tipus de CC i el seu patró de perfusió cerebral.
3. Investigar la possible associació entre les troballes en neuroimatge prenatal i l'evolució neurològica i el desenvolupament psico-motor postnatal.
4. Identificar quines variables poden ser utilitzades en la pràctica clínica habitual com a predictores precoces de l'alteració de desenvolupament cerebral fetal.



---

# 4. MÉTODES

---



---

## 4. MÈTODES

### 4.1 DISSENY DE L'ESTUDI

Entre juny de 2010 i juny de 2013 es va crear una cohort prospectiva de casos consecutius de fetus amb diagnòstic de CC major, al servei de Medicina Materno-Fetal de l'Hospital Clínic, Barcelona, Espanya. El grup de CC era una mostra consecutiva de gestacions amb diagnòstic de CC major entre les 20 i les 24 setmanes durant el període d'estudi. Com a criteris d'exclusió s'entengueren: presència de malformacions extra-cardíacques, anomalies cromosòmiques, gestació múltiple, presència d'arrítmies associades a la cardiopatia, infeccions perinatals, anèmia fetal, signes d'insuficiència placentària (estudi Doppler de les artèries uterines anormal) o condicions maternes que puguin condicionar l'estat hemodinàmic fetal, com la diabetis pregestacional, l'hipertiroïdisme o la preeclàmpsia.

Els controls van ser reclutats a les 20 setmanes de gestació d'entre les pacients amb una gestació de baix risc controlades al nostre servei de Medicina Materno-Fetal i que presentaven un curs normal de la gestació fins aquell moment. Els controls es van aparellar amb els casos per edat gestacional en el moment de la ecografia del segon trimestre (+/- 1 setmana). Els criteris d'exclusió i el protocol de seguiment pels controls va ser el mateix que en el cas dels casos.

Amb l'objectiu d'analitzar l'efecte sobre el desenvolupament cerebral del tipus de CC en funció del patró de sang correctament oxigenada i rica en nutrients procedent de la placenta amb què es perfora el cervell durant la vida fetal, es va dividir el grup dels casos en diferents subgrups:

#### Estudi 1:

- Grup 1: el cervell fetal es perfora amb una baixa proporció de sang provinent de la placenta. S'inclouen els casos d'obstrucció severa del tracte de sortida del ventricle esquerre amb flux revertit a nivell de l'istme aòrtic i, per tant, amb perfusió cerebral retrògrada des del ductus arteriós; i, els casos de TGA, amb el flux de l'aorta originant-se del ventricle dret.
- Grup 2: el cervell fetal es perfora amb un volum intermedi de sang provinent de la placenta i de nivell sistèmic fetal com a conseqüència de les derivacions

---

intracardíaques del defecte. S'inclouen les anomalies septals i els defectes conotruncals, a excepció de la TGA.

- Grup 3: el cervell fetal es perfon amb una alta proporció de sang provinent de la placenta, és a dir, des del ventricle esquerre a través un aorta correctament desenvolupada. S'inclouen les cardiopaties dretes.

#### Estudis 2 i 3:

- Classe A: cervell fetal perfós amb un baix contingut de sang provinent de la placenta, incloent: obstrucció severa del tracte de sortida del ventricle esquerre (hipoplàsia de cavitats esquerres, estenosi aòrtica crítica o hipoplàsia d'arc aòrtic) o TGA.
- Classe B: cervell fetal perfós amb un contingut intermedi de sang provinent de la placenta i de nivell sistèmic fetal, incloent la resta de CC (defectes septals, defectes conotruncals diferents de la TGA, cardiopaties dretes i cardiopaties complexes amb dos o més defectes en un mateix cor fetal).

## **4.2 VARIABLES DE L'ESTUDI**

### **4.2.1 Variables basals**

En el moment del diagnòstic o de la primera avaluació ecogràfica es van recollir: edat materna, alçada, pes, índex de massa corporal, tabaquisme, ètnia, nivell socioeconòmic, antecedents de CC, antecedents patològics personals, antecedents obstètrics i data de l'última regla corregida per la longitud cranio-caudal a l'ecografia del primer trimestre.

### **4.2.2 Variables de l'avaluació ecogràfica**

L'avaluació ecogràfica completa de cada fetus es va realitzar utilitzant un ecògraf Voluson E8 (GE Healthcare Ultrasound, Milwaukee, WI, EUA) o un Siemens Sonoline Antares (Siemens Medical Systems, Malvern, PA, EUA) equipats amb una sonda convexa corba de 2-6 MHz.

L'avaluació morfològica i la ecocardiografia fetal es van realitzar d'acord amb les guies de la International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology<sup>40,41</sup>.

---

Les biometries fetals avaluades en el moment del diagnòstic i a terme van ser: diàmetre biparietal (DBP), perímetre cefàlic (PC), perímetre abdominal (PA) i longitud del fèmur (LF). El pes fetal estimat (PFE) i el seu corresponent percentil es va calcular d'acord amb el mètode de Hadlock et al. i utilitzant les corbes de normalitat de la nostra població<sup>42,43</sup>.

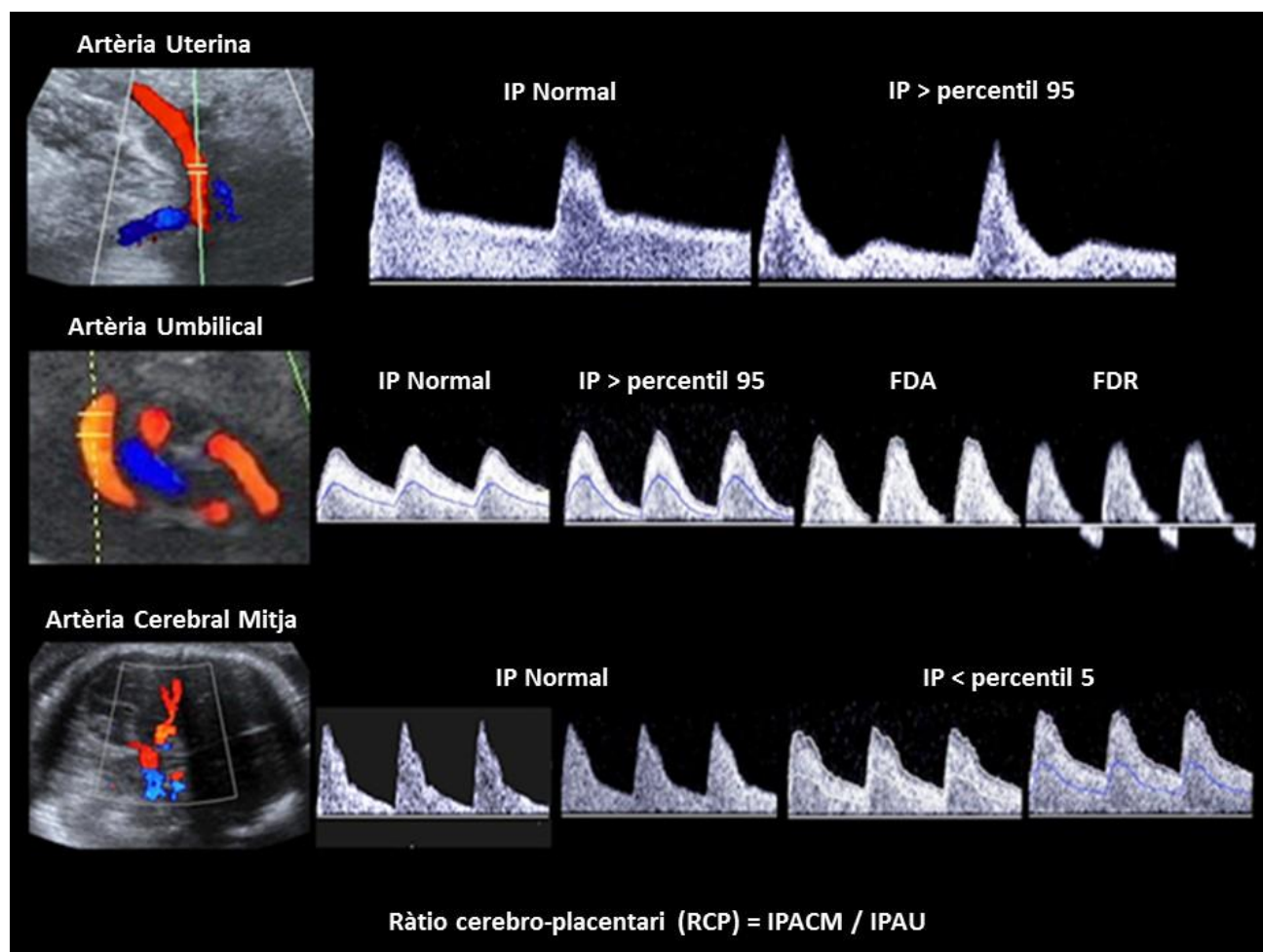
L'avaluació Doppler es va realitzar sempre en absència de moviments fetals i en absència de moviments respiratoris voluntaris de la pacient. Les mesures del Doppler polsat es realitzaren de manera automàtica en 3 o més ones de velocitat de flux consecutives, amb un angle d'insonació el més proper a 0° possible.

Paràmetres de l'estudi Doppler feto-placentari convencional: artèries uterines, artèria umbilical, artèria cerebral mitja i ràtio cerebro-placentari (figura 1).

- ❖ **Índex de pulsatilitat (IP) de l'artèria uterina (AUt):** s'obté col·locant el transductor longitudinalment a la fossa ilíaca, de forma paral·lela a la cresta ilíaca i a la paret uterina, identificant els vasos ilíacs. Amb un moviment subtil en sentit medial s'identifica l'AUt en una falsa imatge de creuament amb l'artèria ilíaca externa. L'AUt s'ha d'estudiar 1-2 cms distal a aquest punt. S'obté l'IP de les dues AUt (dreta i esquerra) i es calcula la mitja dels dos (IPmAUt). El flux es considera anormal quan  $IPmAUt > \text{percentil } 95$  (segons les corbes de normalitat de la nostra població)<sup>44</sup>.
- ❖ **IP de l'artèria umbilical (AU):** es mesura a nivell d'una nansa lliure del cordó umbilical, evitant realitzar-ho a nivell de la inserció fetal o placentària del mateix. Es considera un flux anormal quan  $l'IP \text{ de l'AU} > \text{percentil } 95$ <sup>45</sup>.
- ❖ **IP de l'artèria cerebral mitja (ACM):** s'obté en un tall transversal del cap fetal a nivell del seu origen en el polígon de Willis. Considerarem el flux anormal quan  $l'IP \text{ de l'ACM} < p5$ <sup>45</sup>.
- ❖ **Ràtio cerebro-placentària (RCP):** es calcula dividint l'IP de l'ACM entre l'IP de l'AU. Es considera anormal quan el seu valor és inferior al percentil 5, i és indicatiu de redistribució del flux de sang cerebral<sup>46</sup>.



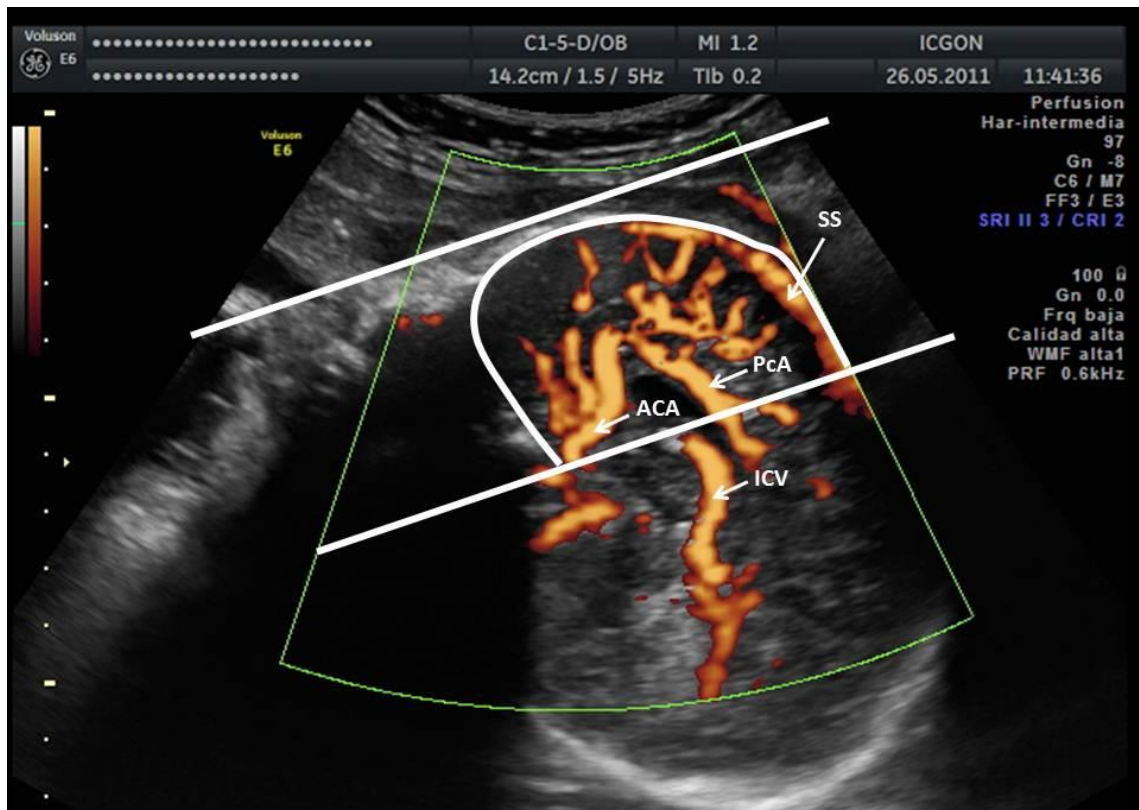
**Figura 1. Estudi Doppler fetoplacentari convencional**



IP, índex de pulsilitat; FDA, flux diastòlic absent; FDR, Flux diastòlic revertit; ACM, artèria cerebral mitja; AU, artèria umbilical.

Volum de la fracció sanguínia en moviment (FMBV) a nivell del lòbul frontal fetal: el FMBV utilitza el Doppler no direccional o *power-Doppler* per estimar la perfusió tissular de manera quantitativa en diferents teixits<sup>47</sup>. L'avaluació del FMBV a nivell del lòbul frontal del cervell fetal es va realitzar en un tall sagital mig del cap fetal, col·locant la mostra del *power-Doppler* incloent completament l'àrea de lòbul frontal fetal. Es van guardar tres imatges consecutives d'alta qualitat obtingudes amb els ajustaments de l'ecògraf pertinents per a l'adquisició del FMBV: escala de grisos per obstetrícia, persistència mitja, filtre de paret de 1, guany del color de 1 i freqüència de repetició del Doppler polsat de 610 Hz<sup>47</sup>.

**Figura 2.** Límits de la regió d'interès (ROI) per a la mesura del FMBV en un tall sagital mig del cap fetal



ACA, artèria cerebral anterior; PcA, artèria pericallosa; ICV, vena cerebral interna; SS, si sagital.

Totes les imatges van ser analitzades en un segon temps (*anàlisi offline*) amb el programari MATLAB 7.5 (The Math Works, Natick, MA, EUA). La regió d'interès (ROI) per a realitzar la mesura del FMBV es va delinear manualment, i té els següents límits<sup>47</sup> (figura 2):

- Anteriorment, la paret interna del crani.
- Inferiorment, la base del crani.
- Posteriorment, una línia imaginària dibuixada amb un angle de 90° des de l'origen de l'artèria cerebral anterior, que creua amb l'origen de la vena cerebral interna, i que és paral·lela a una línia imaginària que segueix el front del fetus.

El FMBV, expressat com un percentatge, es va calcular com la mitja del valor resultant de la mesura de les tres imatges prèviament obtingudes. Es va considerar que la perfusió del lòbul

---

frontal cerebral estava augmentada quan el FMBV era superior al percentil 95, segons les corbes de normalitat de la nostra població<sup>48</sup>.

#### **4.2.3 Variables de l'avaluació per RMN**

Totes les pacients que van continuar la gestació, i que van arribar a terme, es van realitzar una RMN a les 36-38 setmanes d'embaràs utilitzant un *3.0 Tesla Siemens Magnetom Trio Tim syngo MR B15 (Siemens, Munich, Alemanya)*. La RMN es va realitzar sense utilitzar sedació i seguint les guies de la *American College of Radiology* per l'ús de proves d'imatge durant la gestació<sup>49</sup>. La duració total de l'exploració no va superar en cap cas els 45 minuts. Es van obtenir seqüències anatòmiques en els tres plans ortogonals de l'espai (HASTE: Half Fourier Acquisition Single shot Turbo spin echo). Per obtenir imatges amb la màxima qualitat, la bobina receptora de radiofreqüència es va situar al voltant de l'abdomen matern, tan a prop del fetus com fos possible, i les adquisicions es van repetir sempre que presentaven interferències com a conseqüència dels moviments fetals.

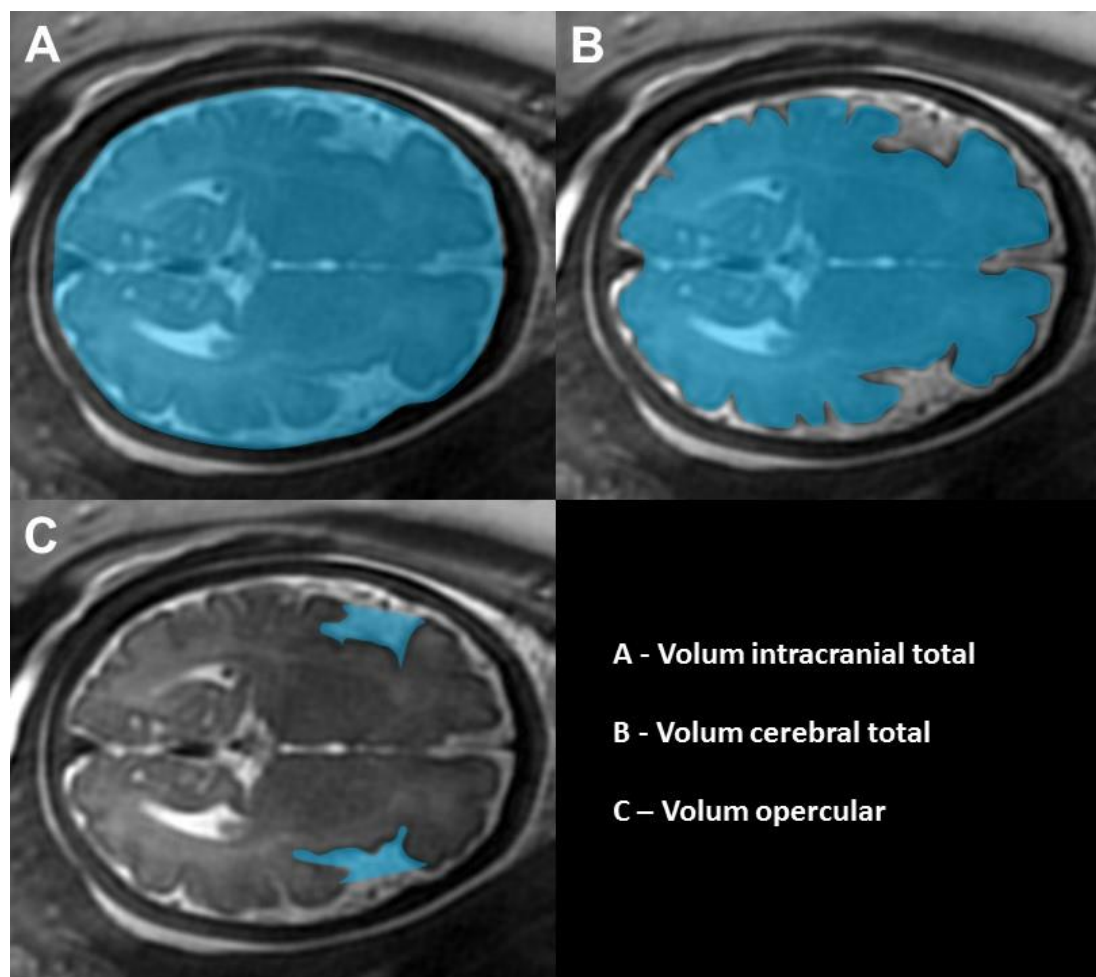
Les imatges estructurals de la RMN van ser revisades per un neuroradiòleg especialista per descartar la presència de malformacions estructurals.

#### **ANÀLISI VOLUMÈTRIC I BIOMÈTRIC CEREBRAL FETAL**

L'anàlisi volumètric i biomètric cerebral fetal es va realitzar en un segon temps (*anàlisi offline*) utilitzant el programari semi-automàtic *Analyse 9.0 (Biomedical Imaging Resource; Mayo Clinic, Kansas City, KS, EUA)* sobre les imatges prèviament adquirides.

Anàlisi volumètric cerebral: totes les estimacions volumètriques es van obtenir utilitzant el principi de Cavalieri, que es basa en un anàlisi multiplanar considerant que cada tall té un gruix de 3,5 mm sense espai entre tall i tall, tal i com s'havia reportat prèviament<sup>50</sup>. De cares a l'anàlisi estadístic, el volum intracranial total i el volum cerebral total es van ajustar pel pes al néixer, i els volums operculars es va ajustar pel volum intracranial total (figura 3).

**Figura 3.** Anàlisi volumètric cerebral mitjançant delineació semi-automàtica utilitzant el programari *Analyze 9.0*



- ❖ **Volum intracranial total (VIT):** es va delinear successivament en els diferents talls incloent cervell, cerebel, tronc de l'encèfal i líquid cefaloraquidi intra- i extraventricular<sup>37</sup>.
- ❖ **Volum cerebral total (VCT):** es va delinear successivament en els diferents talls incloent cervell, cerebel, tronc de l'encèfal i líquid cefaloraquidi intraventricular, excloent el líquid cefaloraquidi extraventricular<sup>37</sup>.
- ❖ **Volums operculars (VOp):** es van delinear bilateralment en tots els talls en els que s'identificava l'*operculum*, seguint el còrtex opercular fins al marge extern de

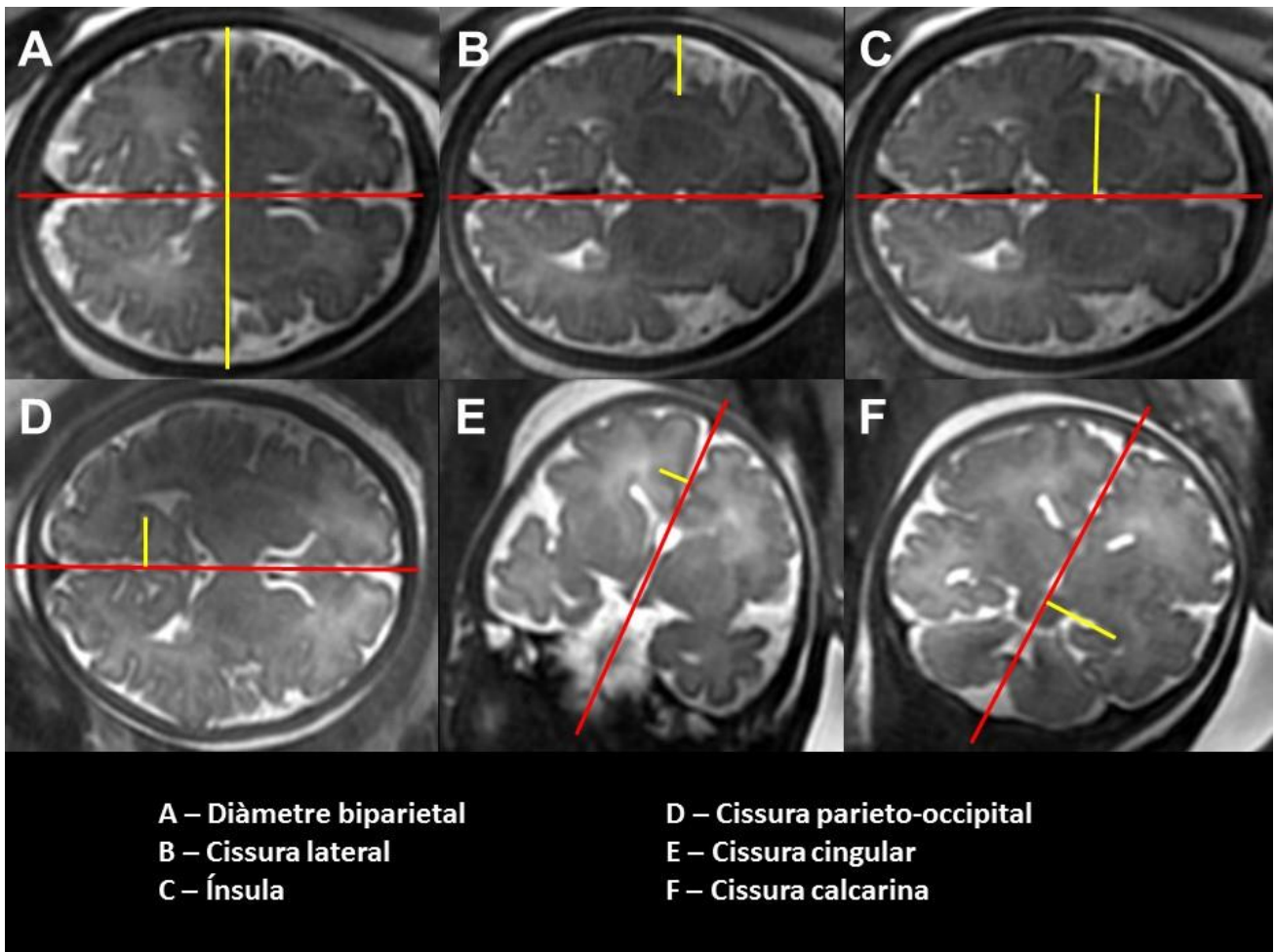
---

la cissura lateral i tancant el volum amb una línia recta que uneix les vores anterior i posterior de la cissura<sup>51</sup>.

Anàlisi biomètric de les cissures corticals: es va realitzar mitjançant la delineació de diferents cissures corticals utilitzant la metodologia descrita i validada prèviament<sup>52,53</sup>. La profunditat de les cissures es va mesurar de forma bilateral, mitjançant la metodologia que es mostra a la figura 4, i el resultat es va expressar en forma de ràtio respecte el DBP (profunditat de la cissura / DBP)<sup>54</sup>.

- ❖ **DBP**: mesurat en un pla axial transtalàmic, tal com es descriu en les guies per la seva mesura, per ecografia, en la International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology<sup>55,56</sup>.
- ❖ **Profunditat de la ínsula (Ins)**: mesurada en un tall axial immediatament per sota de la comissura anterior i del *cavum del septum pellucidum*, traçant una línia perpendicular des del centre de la cissura inter-hemisfèrica al marge més extern de còrtex de la ínsula<sup>52,54</sup>.
- ❖ **Cissura lateral o de Silvio (CLat)**: mesurada en el pla descrit anteriorment per a la mesura de la ínsula, amb una línia (que es continua amb la descrita anteriorment) des del marge més extern del còrtex insular fins a la interfase formada per l'espai subaracnoïdal i la cara interna del crani<sup>52,57</sup>.
- ❖ **Cissura parieto-occipital (CP-O)**: mesurada en el tall axial immediatament anterior, en direcció cranial, al tall axial transtalàmic utilitzat per a la mesura del DBP, traçant una línia perpendicular des del centre de la cissura inter-hemisfèrica fins a l'àpex de la CP-O<sup>52,55</sup>.
- ❖ **Cissura cingular (CCing)**: mesurada en un tall coronal mig, traçant una línia perpendicular des del centre de la a cissura inter-hemisfèrica fins a l'àpex de la CCing<sup>53,55</sup>.
- ❖ **Cissura calcarina (CCalc)**: mesurada en el tall coronal transcerebel·lar descrit per a la seva mesura per ecografia per la International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, traçant un línia perpendicular des del centre de la cissura inter-hemisfèrica fins a l'àpex de la CCalc<sup>52,55</sup>.

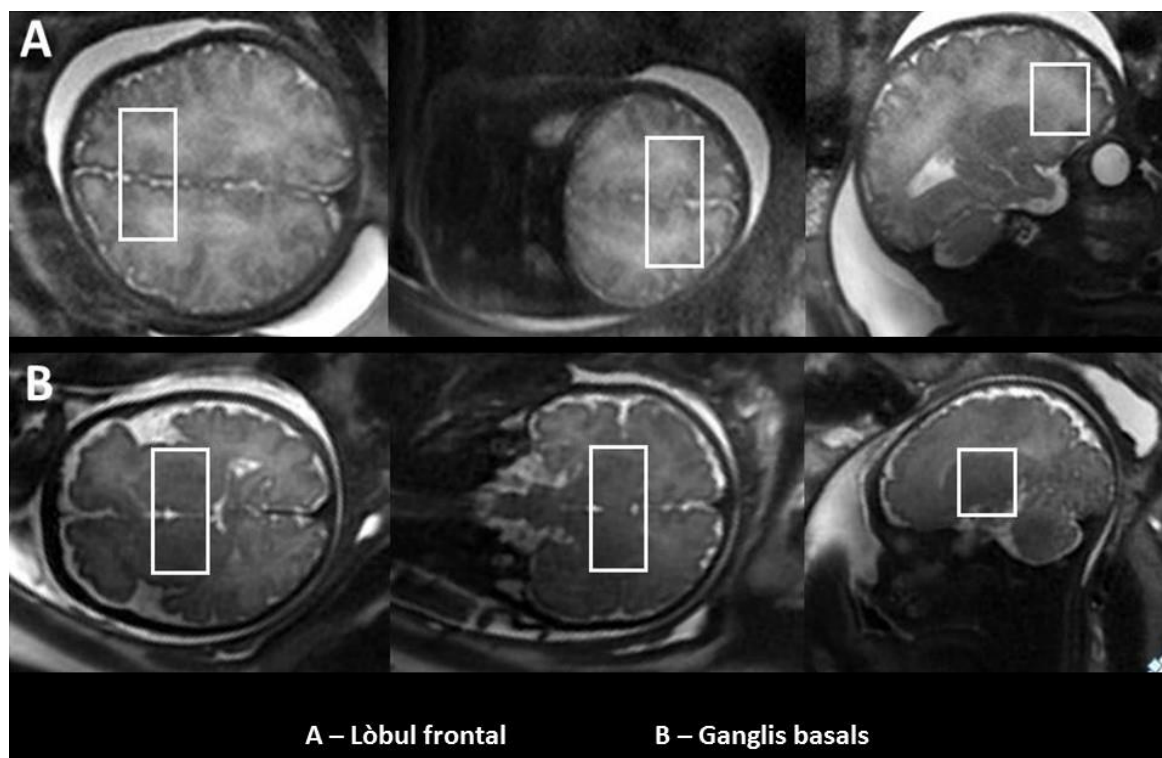
**Figura 4.** Anàlisi biomètric del desenvolupament cortical mitjançant la mesura de la profunditat de les cissures corticals fetals



### ANÁLISI DEL METABOLISME CEREBRAL MITJANÇANT ESPECTROSCÒPIA

L'avaluació del metabolisme cerebral es va realitzar a nivell del lòbul frontal i dels ganglis basals mitjançant espectroscòpia. L'adquisició de les dades espectroscòpiques es va realitzar amb PRESS (*Point resolved spectroscopy*) utilitzant un vòxel de 40x20x20 mm localitzat a la regió del lòbul frontal i dels ganglis basals en un tall axial T2 HASTE (figura 5).

**Figura 5.** Localització del vòxel a nivell del lòbul frontal i dels ganglis basals per a l'adquisició de les dades de l'espectroscòpia



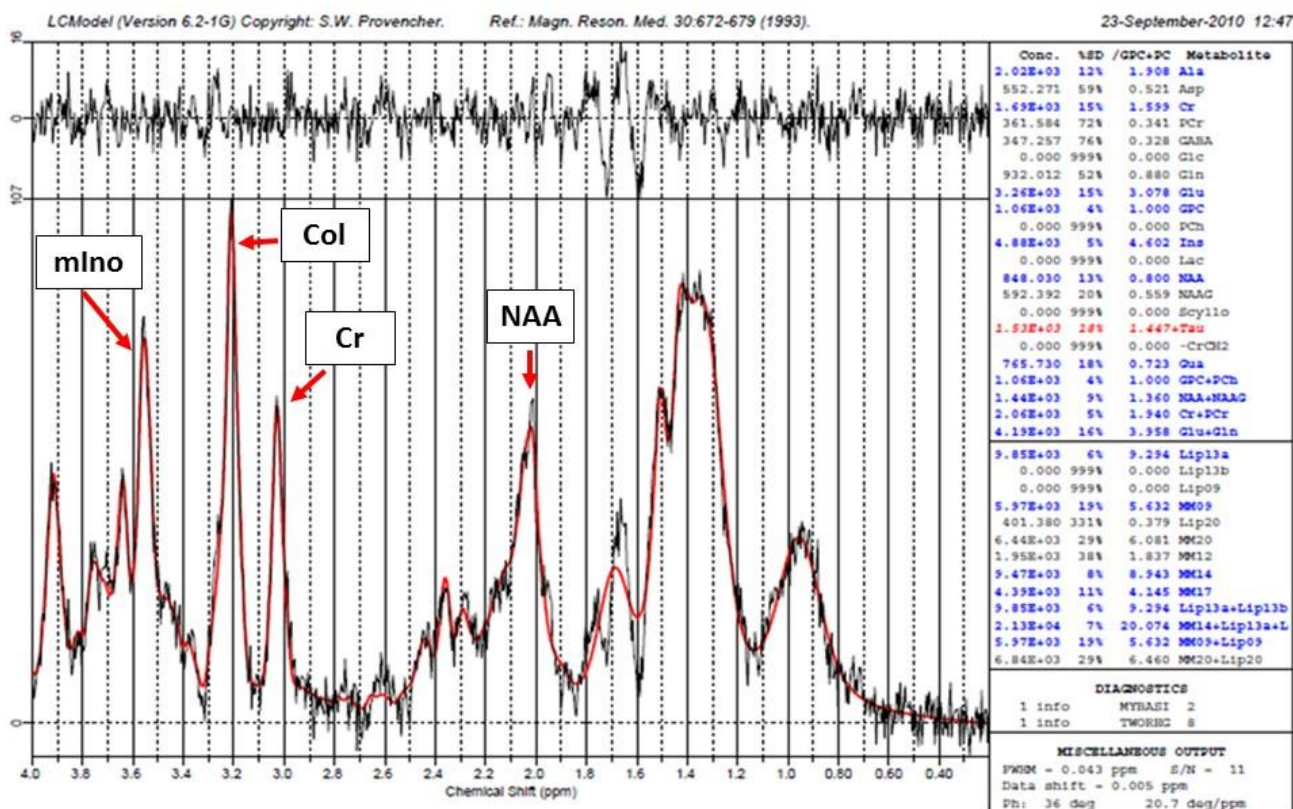
El post-processat de les dades adquirides en l'espectroscòpia es va realitzar mitjançant el programari *Linear Combination Model-Fitting (LCModel)* versió 6.2-1G<sup>58-60</sup>.

Es van utilitzar uns criteris de qualitat estrictes a l'hora de seleccionar quines espectroscòpies eren susceptibles de ser analitzades:

- SNR (relació senyal a soroll) > 5.
- Coeficient de variació per a la concentració de LCModel < 20%.
- Pics dels metabòlits fàcilment identificables en la gràfica.

Es van calcular les concentracions dels següents metabòlits cerebrals: colina (Col), mioinositol (mlno), N-acetil-aspartat (NAA) i creatina (Cr) (figura 6). Les dades es van expressar en forma de les següents ràtios: mlno / Col, NAA / Col i Col / Cr.

**Figura 6.** Gràfica resultat del post-processat de les dades de l'espectroscòpia: s'identifica la concentració dels diferents metabòlits en forma de diferents pics.



mIno – Mioinosital  
Cr – Creatina

Col – Colina  
NAA – N-acetil aspartat

#### 4.2.4 Resultats perinatals

Postnatalment es van recollir les següents variables:

- Variabls perinatals: preeclàmpsia, diabetis gestacional, part prematur espontani, placenta prèvia, despreniment precoç de placenta, exposició prenatal a glucocorticoides, inducció del part, tipus d'anestèsia durant el part, edat gestacional al part, tipus de part, risc de pèrdua del benestar fetal intrapart.
- Variabls neonatals: sexe, pes al naixement, percentil de pes al naixement, alçada del recent nascut, perímetre cranial al naixement, APGAR als 5 minuts de vida, pH de l'artèria umbilical al néixer, dies d'ingrés a la unitat de cures intensives neonatal,



---

lactància materna a l'alta hospitalària, presència de morbiditat neonatal major (displàsies broncopulmonars, enterocolitis necrotitzant, hemorràgia intraventricular, leucomalàsia periventricular, retinopatia o sèpsia) i mort neonatal (mort del recent nascut en els primers 28 dies de vida).

#### **4.2.5. Avaluació del neurodesenvolupament postnatal**

L'avaluació del neurodesenvolupament va ser realitzada per psicòlogues especialitzades en aquesta àrea, mitjançant el test *Bayley Scales of infant and Toddler Development, 3rd Edition (BSID-III)* als 4-6 mesos de vida, en aquells casos que no van requerir cirurgia cardíaca durant els primers sis mesos de vida.

El test avalua cinc àrees diferents del desenvolupament: cognitiva, motora, llenguatge, socio-emocional i adaptativa<sup>61</sup>.

#### **4.3 APROVACIÓ DEL COMITÈ D'ÈTICA**

El protocol d'estudi va ser aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica de l'Hospital Clínic el 28/01/2010 (registre 2010/5521). Es va obtenir el consentiment informat de totes les pacients que van participar en el projecte.

#### **4.4 ANÀLISI ESTADÍSTIC**

Les dades van ser analitzades utilitzant el programari *SPSS Statistics, versió 18.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc, Chicago, IL, EUA)*. La normalitat de les variables es va avaluar amb la prova de Shapiro-Wilk.

Per tal de poder fer comparacions independentment de l'edat gestacional, les biometries fetals i els paràmetres de l'estudi Doppler es van normalitzar a *valors Z*, utilitzant els valors de referència publicats per a cada paràmetre en població de referència<sup>43-46,48</sup>.

Per la comparació de les diferents variables qualitatives i quantitatives es van utilitzar les proves T-Student, ANOVA, khi-quadrat ( $X^2$ ) de Pearson o la prova exacte de Fisher, segons convingués. Es van considerar estadísticament significatius valors de  $P < 0.05$ .

---

❖ **Estudi 1: Evidence of second trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease.**

Les comparacions múltiples entre els diferents subgrups de l'estudi es van realitzar mitjançant ANOVA, amb la correcció de Bonferroni.

❖ **Estudi 2: Severity of fetal brain abnormalities in congenital heart disease in relation with the main expected pattern of in utero brain blood supply.**

Les comparacions múltiples entre els diferents subgrups de l'estudi es van realitzar mitjançant ANOVA, amb correcció de Bonferroni. La hipòtesi d'una associació lineal entre els paràmetres ecogràfics i els de la RMN a través del diferents subgrups de l'estudi en funció del grau de severitat de la CC es va avaluar mitjançant un contrast ortogonal polinomial lineal, ajustant per les següents covariables (tabaquisme, índex de massa corporal, edat gestacional a la ecografia o la RMN i pes al néixer).

❖ **Estudi 3: Mid-gestation brain Doppler and head biometry in fetuses with congenital heart disease predict abnormal brain development at birth.**

Pel càlcul de la mida de la mostra es van utilitzar el valor Z de l'IP de l'ACM i el VCT, com a paràmetres representatius dels canvis cerebrals prèviament descrits en els fetus amb CC<sup>37,62</sup>. La mida de la mostra es va calcular amb la intenció d'observar una diferència del 25% en el valor Z de l'IP de la ACM i del 10% en el volum cerebral total en els fetus amb CC respecte els fetus controls. Per un poder estadístic del 80% i un error  $\alpha$  de 0.05, un mínim de 55 pacients havien de ser inclosos al grup d'estudi. Amb l'objectiu de detectar diferències entre els dos grup d'estudi en els volums cerebrals, l'anàlisi de cissures i les ràtios metabòliques es va realitzar una anàlisi multivariat de la covariança, ajustant pels potencials factors confusors com són: l'edat gestacional en el moment de la RMN, tabaquisme matern i l'índex de massa corporal. Per avaluar la relació entre els paràmetres de la RMN prenatal i l'avaluació postnatal del neurodesenvolupament mitjançant el test de BSID-III es va utilitzar la prova de correlació lineal de Pearson. Per avaluar el valor predictiu independent dels paràmetres de l'estudi ecogràfic al segon trimestre per predir un desenvolupament cerebral anormal a terme, es va crear un índex

---

resultat de puntuació composta. Amb aquest propòsit, i amb l'objectiu de seleccionar aquelles variables que representessin millor els canvis cerebrals observats, es va realitzar una reducció dimensional mitjançant un anàlisi de components principals incloent tots els paràmetres volumètrics, biomètrics i metabòlics, i es va crear un índex resultat de puntuació composta incloent les variables que millor representaven els canvis cerebrals observats. Finalment es va realitzar un anàlisi de regressió logística per avaluar la capacitat predictiva independent i combinada dels paràmetres de la ecografia de les 20-24 setmanes per predir el desenvolupament cerebral anormal a terme en el grup de fetus amb CC.

---

# 5. ESTUDIS

---



---

## **ESTUDI 1**

### **Evidence of second trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease.**

Masoller N, Martínez JM, Gómez O, Bennasar M, Crispi F, Sanz-Cortés M, Egaña-Ugrinovic G, Bartrons J, Puerto B, Gratacós E.

*Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44:182-187.

doi: 10.1002/uog.13373.

Estat: Publicat

Factor d'impacte: 3.56

Quartil: 1<sup>er</sup>



# Evidence of second-trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease

N. MASOLLER\*, J. M. MARTÍNEZ\*, O. GÓMEZ\*, M. BENNASAR\*, F. CRISPI\*, M. SANZ-CORTÉS\*, G. EGAÑA-UGRINOVIC\*, J. BARTRONS†, B. PUERTO\* and E. GRATACÓS\*

\*BCNatal – Barcelona Center for Maternal–Fetal and Neonatal Medicine (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Déu), IDIBAPS, University of Barcelona, and Centre for Biomedical Research on Rare Diseases (CIBER-ER), Barcelona, Spain; †Pediatric Cardiology, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

**KEYWORDS:** brain perfusion; congenital heart defect; echocardiography; head biometry; second trimester

## ABSTRACT

**Objectives** To evaluate the associations between congenital heart disease (CHD) and head biometry and cerebrovascular blood flow dynamics at the time of diagnosis of CHD in the second trimester of pregnancy.

**Methods** This was a study of 95 consecutive fetuses diagnosed with CHD. At the time of diagnosis, fetal biometry was performed and brain perfusion was assessed by middle cerebral artery pulsatility index (MCA-PI), cerebroplacental ratio (CPR) and fractional moving blood volume (FMBV). The results were compared with those of 95 normal fetuses matched for gestational age.

**Results** Median gestational age at diagnosis was 22 + 3 (range, 20 + 0 to 23 + 5) weeks. Fetuses with CHD showed significantly lower MCA-PI and CPR Z-scores (−0.23 vs 0.34 and −0.37 vs 0.30, respectively; both  $P < 0.001$ ) and higher FMBV Z-scores (2.35 vs 0.15;  $P < 0.001$ ). FMBV  $> 95^{\text{th}}$  percentile was observed in 81.1% of cases as compared with 10.5% in controls ( $P < 0.001$ ). Moreover, cases showed significantly smaller biparietal diameter (BPD) and head circumference (HC) Z-scores (−1.61 vs −0.43 and −0.89 vs 0.09, respectively; both  $P < 0.001$ ), with a higher proportion of BPD and HC measurements below the 5<sup>th</sup> percentile compared with controls (51.6% vs 13.7% and 26.3% vs 4.2%, respectively; both  $P < 0.001$ ). These findings were more pronounced in those cases with types of CHD associated with compromised oxygenated blood delivery to the brain, such as left outflow tract obstruction and transposition of the great arteries.

**Conclusions** A high proportion of fetuses with CHD have a smaller head and increased brain perfusion already in the second trimester, suggesting an early onset of the mechanisms leading to poorer neurodevelopment later in life. Copyright © 2014 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.

## INTRODUCTION

Congenital heart disease (CHD) affects up to 1% of all live births, and among congenital anomalies it is the leading cause of mortality and morbidity during childhood<sup>1</sup>. Advances in early diagnosis and postnatal management have made it possible for the majority of patients with CHD to survive<sup>2</sup>. However, a notable number of survivors will have impaired neurodevelopmental outcome across a wide spectrum of domains<sup>3–6</sup>. This high rate of disability had long been attributed to postnatal brain injury associated with surgery and support procedures<sup>7</sup>. However, recent studies have shown that a substantial percentage of newborns have signs of brain injury on magnetic resonance imaging<sup>5,6,8–11</sup> and reduced cranial size<sup>8,12–14</sup> before cardiac surgery is performed. These findings point to a fetal origin of abnormal neurodevelopment associated with CHD, and open potential opportunities for prenatal intervention.

Under normal conditions, the fetal circulation ensures that well oxygenated and nutrient-rich blood from the placenta is largely shifted to the brain. Conversely, one of the main contributors to abnormal neurodevelopment in fetuses with CHD is very probably the presence of altered cerebral perfusion, although this has not yet been proven. In support of this notion, fetuses with CHD display reduced cranial biometry during the third trimester of pregnancy<sup>13,15</sup>. In addition, fetuses with CHD have an increased rate of brain vasodilatation, a known sign of fetal hypoxia<sup>12,15–19</sup>, and this sign correlates with poorer postnatal neurodevelopment<sup>20</sup>. Therefore, changes in brain biometry and vasodilatation can be early prognostic markers for later abnormalities in neurodevelopment. All previous fetal studies on this topic have been performed in the third trimester, and the precise timing of *in-utero* brain changes associated with CHD has not been established. We postulated that since the brain's blood supply

Correspondence to: Dr N. Masoller, Maternal–Fetal Medicine Department, Hospital Clínic – Maternitat, Sabino de Arana, 1, 08028 Barcelona, Spain (e-mail: masoller@clinic.ub.es)

Accepted: 14 March 2014



is abnormal from early pregnancy, CHD should already be associated with changes in brain development at the time of diagnosis, normally early in the second trimester.

The aim of this study was to evaluate brain biometry and hemodynamics in a series of 95 cases of CHD diagnosed during the second trimester of pregnancy, in comparison with a group of gestational age-matched control fetuses.

## METHODS

This was a matched case–control study carried out at our institution. The study population consisted of pregnant women referred to our fetal cardiology unit for fetal echocardiography from June 2010 to December 2012. The inclusion criterion was the diagnosis of major CHD. Exclusion criteria were: gestational age below 20 weeks or above 24 weeks; associated extracardiac malformation; presence of chromosomal abnormality; associated arrhythmia; maternal condition that might affect fetal hemodynamics, such as diabetes, thyroid disease or pre-eclampsia; multiple pregnancy; fetal anemia; and signs of uteroplacental dysfunction, such as abnormal uterine artery Doppler flow-velocity waveforms. Gestational age-matched fetuses with normal structural heart evaluation at the second-trimester ultrasound screening scan were randomly selected as controls. The protocol was approved by the hospital ethics committee and written consent was obtained from all women for participation in the study.

A complete ultrasound exam was performed on each fetus using a Voluson E8 (GE Healthcare Ultrasound, Milwaukee, WI, USA) or a Siemens Sonoline Antares (Siemens medical Systems, Malvern, PA, USA) ultrasound machine equipped with a 9–2-MHz convex curved transducer. Fetal echocardiography examination was performed according to the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology guidelines<sup>21</sup>. Briefly, cardiac axis and situs, pericardial effusions, ventricular morphology, venoatrial, atrioventricular and ventriculoarterial connections, size and relationships of the left and right ventricular outflow tracts, ductal and aortic arches, atrial and interventricular septum and flow across atrioventricular and semilunar valves were evaluated using two-dimensional, color and pulsed Doppler ultrasound. The prenatal diagnosis of CHD was confirmed using postnatal echocardiography or autopsy in cases of termination of pregnancy or neonatal death.

In order to analyze the effect on cerebral hemodynamics according to the expected main pattern of placental (oxygenated, nutrient-rich) *vs* systemic (deoxygenated, nutrient-poor) mix of blood supply to the brain in different types of CHD, we stratified the study cases as follows:

- Group 1: low placental blood content, including severe left outflow tract obstruction with reversed flow in the aortic isthmus (and thus retrograde cerebral blood perfusion from the ductus arteriosus) and transposition of the great vessels (TGV), with the aortic blood flow originating from the right ventricle.
- Group 2: intermediate placental and systemic blood content due to intracardiac shunts of the defect (septal defects, conotruncal defects other than TGV and complex CHD).
- Group 3: high placental blood content, in which there was brain perfusion originating from the left ventricle via a correctly formed aorta (right CHD).

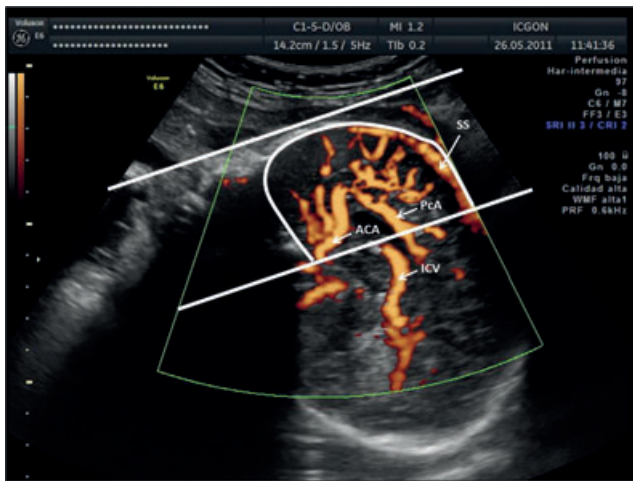
Fetal biometric parameters assessed at the time of diagnosis were: biparietal diameter (BPD), head circumference (HC), abdominal circumference (AC) and femur length (FL).

Doppler recordings were performed in the absence of fetal movements with voluntarily suspended maternal breathing. Measurements of pulsed Doppler parameters were performed automatically from three or more consecutive waveforms, with an angle of insonation as close to 0° as possible. Umbilical artery (UA) flow assessment was performed from a free-floating cord loop. The middle cerebral artery (MCA) evaluation was performed in a cross-sectional view of the fetal head, at the level of its origin from the circle of Willis. From the UA and MCA Doppler waveforms the pulsatility index (PI) was obtained. Abnormal UA-PI and MCA-PI values were defined as being above the 95<sup>th</sup> percentile for gestational age for the UA and as being below the 5<sup>th</sup> percentile for gestational age for the MCA<sup>22</sup>. The cerebroplacental ratio (CPR) was derived as a ratio of the MCA-PI divided by the UA-PI, with values less than the 5<sup>th</sup> percentile for gestational age considered abnormal<sup>23</sup>.

Fractional moving blood volume (FMBV) uses power Doppler to estimate quantitatively tissue perfusion<sup>24</sup>. To evaluate frontal tissue perfusion, a mid-sagittal view of the fetal head was obtained. The power Doppler color voxel was placed to include the entire frontal area of the brain. The region of interest was delineated as described elsewhere<sup>24</sup>: anteriorly by the internal wall of the skull, inferiorly by the base of the skull and posteriorly by an imaginary line drawn at 90° from the origin of the anterior cerebral artery and parallel to an imaginary line in the front of the face and crossing at the origin of the internal cerebral vein (Figure 1). Three consecutive high-quality images with no artifacts were recorded using the following fixed ultrasound settings: gray-scale image for obstetrics, medium persistence, wall filter of 1, gain level of 1 and pulsed repetition frequency of 610 Hz. All images were examined offline and FMBV was estimated with the MATLAB software 7.5 (The MathWorks, Natick, MA, USA) as previously described<sup>24</sup>. The mean FMBV from all three images was considered as representative of that specific case and expressed as a percentage. Increased frontal perfusion was considered as an FMBV above the 95<sup>th</sup> percentile according to local standards<sup>25</sup>.

## Statistical analysis

In order to make comparisons independent of gestational age, all parameters were converted into Z-scores using



**Figure 1** Power Doppler image (mid-sagittal view) of the fetal head showing landmarks used to define region of interest for assessment of fractional moving blood volume. ACA, anterior cerebral artery; ICV, internal cerebral vein; PCA, pericallosal artery; SS, sagittal sinus.

published normative data from a large population of healthy fetuses<sup>22,23,25–27</sup>. A Z-score of 0 is at the mean of the normal data and Z-scores of ±1 and ±2 are at 1 and 2 SD from the mean, respectively.

Continuous variables are expressed as mean ± SD or median and range. Qualitative variables are expressed as *n* (%). Doppler indices and biometric parameters were compared between diagnostic groups using Student's *t*-test to determine differences between two groups. For multiple comparisons we used one-way ANOVA. To control for type-1 error inflation, *post-hoc* pairwise comparisons between diagnostic groups were carried out by applying a Bonferroni correction to the *P*-value of each test. Dichotomous variables were analyzed using the chi-square test and Fisher's exact test, and *P* < 0.05 was considered statistically significant.

**RESULTS**

During the study period, a total of 159 fetuses met the inclusion criteria. Twenty-one cases with extracardiac anomalies, 30 cases with aneuploidy, five cases diagnosed before 20 weeks' gestation and three multiple pregnancies were excluded from the study, leaving a total population of 100 cases. In five cases (5%), brain perfusion could not be evaluated because of the position of the fetus, leaving 95 cases for the analysis, which were matched with 95 controls. Median gestational age at diagnosis of CHD was 22 + 3 (range, 20 + 0 to 23 + 5) weeks. Normal karyotype was confirmed in six controls after amniocentesis because of maternal anxiety, while the rest of the controls showed a completely normal postnatal clinical evaluation.

The distribution of types of CHD in the study group is shown in Table 1. Maternal and perinatal data are displayed in Table 2. Among the 95 cases with CHD, the parents in 43 cases (45.3%) requested termination of

**Table 1** Distribution of types of congenital heart disease (CHD) in the study population

CHD group	n
Group 1: low placental blood content	
HLHS	12
Ao-S	7
Co-A	13
TGV	10
Group 2: intermediate placental and systemic blood content	
AVSD	4
DISV	2
TOF	13
Truncus arteriosus	4
Complex CHD	
Right isomerism: AVSD + TGV + PS	1
Right isomerism: Tr-A + DORV + TGV + PS	1
Right isomerism: AVSD + DORV + PA + MAPCA	1
Right isomerism: AVSD + SV + TGV + PS	1
Right isomerism: AVSD + DORV + TGV + PS	1
Right isomerism: AVSD + DORV + TGV + AAI	1
AVSD + TGV	1
Tr-A + Ao-A	1
DISV + TGV + Co-A	1
Mi-A + DORV	1
Group 3: high placental blood content	
Tr-A	12
EbsA	4
PS	3
PA	1

AAI, aortic arch interruption; Ao-A, aortic atresia; Ao-S, critical aortic stenosis; AVSD, atrioventricular septal defect; Co-A, coarctation of the aorta; DISV, double inlet single ventricle; DORV, double outlet right ventricle; EbsA, Ebstein's anomaly; HLHS, hypoplastic left heart syndrome; MAPCA, major aortopulmonary collateral arteries; Mi-A, mitral atresia; PA, pulmonary atresia; PS, severe pulmonary stenosis; SV, single ventricle; TGV, transposition of great vessels; TOF, tetralogy of Fallot; Tr-A, tricuspid atresia.

pregnancy (at a median gestational age of 22 + 0 weeks). Among the 52 cases that continued pregnancy, three (5.8%) died *in utero* (one severe Ebstein anomaly, one pulmonary atresia and one critical aortic stenosis). Of the 49 liveborns, three (6.1%) died during cardiac surgery in the first week of postnatal life (one case of severe Ebstein anomaly with coarctation of the aorta, one case of tricuspid atresia with hypoplastic right ventricle and one case of critical aortic stenosis with hypoplastic left heart syndrome (HLHS)). The remaining 46 cases were live-born at term and survived surgery. There were no differences in gestational age at delivery (Table 2). As expected, birth weight was significantly lower in CHD cases, owing to a higher proportion of infants born small for gestational age.

According to the matched design, gestational age at ultrasound exploration was similar between cases and controls (22 + 2 *vs* 22 + 3 weeks, respectively). Fetuses with CHD had significantly smaller mean BPD and HC Z-scores, and a higher proportion of fetuses with BPD and HC below the 5<sup>th</sup> percentile. No differences in AC and FL were observed (Table 3). When we classified the fetuses in groups in relation to the expected pattern of brain blood supply, all the groups had abnormal values in

**Table 2** Maternal features and perinatal outcome in the study population of cases of congenital heart disease (CHD) and controls matched for gestational age (GA)

Parameter	CHD group (n = 95)	Control group (n = 95)	P
Age (years)	32.5 ± 5.3	32.4 ± 5.1	0.933
Height (m)	1.64 ± 0.05	1.65 ± 0.06	0.429
Weight (kg)	61.6 ± 7.1	62.6 ± 6.4	0.309
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	22.9 ± 2.5	23.1 ± 2.8	0.507
Smoker	4 (4.2)	2 (2.1)	0.682
Nulliparous	57 (60.0)	52 (54.7)	0.463
Caucasian	67 (70.5)	70 (73.7)	0.627
Live delivery	49 (51.6)	95 (100.0)	
Labor induction	12/49 (24.5)	14 (14.7)	0.098
Regional anesthesia	46/49 (93.9)	89 (93.7)	0.875
Vaginal delivery	35/49 (71.4)	75 (78.9)	0.245
GA at delivery (weeks)	39 + 1 (37 + 1 to 41 + 2)	39 + 5 (37 + 4 to 41 + 6)	0.134
Birth weight (g)	3175 ± 607	3312 ± 699	0.021*
Birth weight < 10 <sup>th</sup> percentile	11/49 (22.4)	8 (8.4)	0.031*
5-min Apgar score < 7	1/49 (2.0)	1 (1.1)	0.520
Umbilical artery pH < 7.10	1/49 (2.0)	2 (2.1)	0.877
Neonatal demise	3/49 (6.1)	—	0.015*

\*P < 0.05. Data are given as mean ± SD, median (range) or n (%).

**Table 3** Comparison of biometric and Doppler parameters in the study population of cases of congenital heart disease (CHD), classified into groups according to expected pattern of brain blood supply, and controls

Parameter	CHD group (n = 95)				Controls (n = 95)	P*
	Group 1 (n = 42)	Group 2 (n = 33)	Group 3 (n = 20)	All (n = 95)		
GA at ultrasound (weeks)	21 + 6 (20 + 5 to 23 + 4)	22 + 1 (20 + 0 to 23 + 5)	22 + 3 (20 + 5 to 23 + 2)	22 + 3 (20 + 0 to 23 + 5)	22 + 2 (20 + 2 to 23 + 6)	0.922
Biometric variables						
BPD Z-score	-1.68 ± 0.73†	-1.48 ± 0.92†	-1.49 ± 0.81†	-1.61 ± 0.82	-0.43 ± 1.15	< 0.001
HC Z-score	-0.92 ± 0.98†	-0.84 ± 1.29†	-0.80 ± 1.83†	-0.89 ± 1.43	0.09 ± 0.74	< 0.001
AC Z-score	0.14 ± 0.74	0.26 ± 0.84	0.25 ± 0.78	0.27 ± 0.79	0.17 ± 0.54	0.300
FL Z-score	0.23 ± 1.01	0.05 ± 1.01	0.18 ± 1.71	-0.09 ± 1.26	-0.19 ± 0.88	0.506
Abn. BPD (< p5)	25 (59.5)†	15 (45.5)†	9 (45.0)†	49 (51.6)	13 (13.7)	< 0.001
Abn. HC (< p5)	11 (26.2)†	7 (21.2)†	4 (20.0)†	25 (26.3)	4 (4.2)	< 0.001
Abn. AC (< p5)	1 (2.4)	—	—	1 (1.1)	1 (1.1)	0.751
Abn. FL (< p5)	—	2 (6.1)	—	1 (1.1)	3 (3.2)	0.312
Doppler variables						
UA-PI Z-score	-0.37 ± 0.81	-0.49 ± 0.54	-0.41 ± 0.54	-0.41 ± 0.62	-0.19 ± 0.59	0.105
MCA-PI Z-score	-0.28 ± 1.07†	-0.22 ± 1.13†	-0.28 ± 1.08†	-0.23 ± 1.09	0.34 ± 1.07	< 0.001
CPR Z-score	-0.51 ± 1.41†	-0.37 ± 1.14†	-0.35 ± 1.10†	-0.37 ± 1.29	0.30 ± 1.10	< 0.001
FMBV Z-score	2.53 ± 0.97†	2.42 ± 0.78†	1.73 ± 1.30†	2.35 ± 1.01	0.15 ± 1.34	< 0.001
Abn. UA-PI (> p95)	—	1 (3.0)	—	1 (1.1)	—	0.316
Abn. MCA-PI (< p5)	7 (16.7)†	4 (12.1)†	2 (10.0)	10 (10.5)	2 (2.1)	0.017
Abn. CPR (< p5)	7 (16.7)†	4 (12.1)†	2 (10.0)	13 (13.7)	3 (3.2)	0.009
Abn. FMBV (> p95)	38 (90.5)†	26 (78.8)†	13 (65.0)†	77 (81.1)	10 (10.5)	< 0.001

Data are given as mean ± SD, n (%) or median (range). Group 1: low placental blood content; Group 2: intermediate placental and systemic blood content; Group 3: high placental blood content. \*All CHD group vs controls. †P < 0.05, Group 1, 2 or 3 vs controls. AC, abdominal circumference; BPD, biparietal diameter; CPR, cerebroplacental ratio; FL, femur length; FMBV, fractional moving blood volume; GA, gestational age; HC, head circumference; MCA, middle cerebral artery; p5, 5<sup>th</sup> percentile; p95, 95<sup>th</sup> percentile; PI, pulsatility index; UA, umbilical artery.

relation to controls, but there were no differences among CHD cases (Table 3).

Fetuses with CHD showed significantly lower MCA-PI and CPR mean Z-scores, and significantly higher FMBV Z-scores than did controls (Table 3). Similarly, there was a significant increase in the proportion of cases with MCA-PI and CPR < 5<sup>th</sup> percentile and with FMBV > 95<sup>th</sup> percentile. Again, when data were compared in relation to the type of CHD and expected pattern of brain blood

supply, there were no clear differences. All groups had abnormal values in relation to controls, but there was a significant linear trend for better values in FMBV from Group 1 to Group 3 (Table 3).

## DISCUSSION

This study confirms the findings of previous studies that fetuses with CHD have changes in head biometry and

brain Doppler ultrasound in comparison with controls. The main finding of the study is that these changes are already present in the second trimester. In addition, the study demonstrated that fetuses with CHD are at risk of abnormal brain findings irrespective of the type of defect and the expected pattern of brain blood supply.

Several authors have recently reported an increased prevalence of microcephaly, from 12% to 14%, in CHD newborns before open heart surgery<sup>8,12–14</sup>. Donofrio *et al.*<sup>17</sup> were the first to report reduced HC measurements in fetuses with CHD in the third trimester. Similarly, Arduini *et al.*<sup>15</sup> found lower HC at 34 weeks. Our study reports for the first time that a remarkable fraction of fetuses with CHD already have BPD and HC values below the 5<sup>th</sup> percentile (50% and 25%, respectively) in the second trimester of pregnancy.

Concerning brain circulation, our results are comparable with those of previous studies. For instance, as in the present study, Kaltman *et al.*<sup>16</sup> reported that fetuses with HLHS had lower MCA-PI in the third trimester of gestation. However, these authors found that fetuses with right-sided obstructive lesions (mostly pulmonary stenosis and tetralogy of Fallot (TOF)) had similar cerebrovascular resistance to that of controls<sup>16</sup>. In contrast, we found decreased cerebrovascular impedance in right CHD also, which can be explained because our population had more severe forms of right CHD (mostly tricuspid atresia or severe Ebstein anomaly). Donofrio *et al.*<sup>17</sup> used CPR as a measure of cerebral autoregulation, and found a decreased CPR in 44% of CHD fetuses in the third trimester. Cases associated with single ventricle morphology had more profound alterations of Doppler parameters, whereas the changes were less pronounced in aortic stenosis, TOF and TGV. However, owing to the small number of cases, the study was underpowered to demonstrate more differences in the other types of CHD. Similarly, other groups have reported decreased cerebrovascular impedance in fetuses with CHD<sup>12,15,16,19</sup>. Our study adds to previous research showing that around 10–15% of fetuses with CHD already have signs of brain vasodilatation in the second trimester. We could not demonstrate differences in brain perfusion in relationship to different groups of CHD with a different expected mix of blood supply to the brain. However, these results should be interpreted with caution because of the relatively small size of the resulting groups.

An additional contribution of the present study is the use of FMBV. This method is highly sensitive and can detect changes in brain blood perfusion in fetuses with intrauterine growth restriction earlier than can conventional Doppler ultrasound<sup>24,28</sup>. Interestingly, 81% of CHD fetuses had FMBV values above the 95<sup>th</sup> percentile in the frontal lobe. These findings strongly suggest that despite normal values of MCA Doppler indices, the proportion of CHD fetuses with subtle brain circulatory changes could be very high. Whether these subtle changes have an influence on later neurodevelopment requires studies with a larger sample size and postnatal follow-up. Finally, FMBV detected subtle differences, which had not

been detected by pulsed Doppler ultrasound, between cases of right CHD and both the other types of CHD cases and controls. Again, the relevance of these findings should be confirmed in larger studies. The results support the use of FMBV to improve the accuracy of the detection of changes in brain perfusion in CHD.

In view of the growing evidence pointing to an increased risk of brain injury, prediction of neurodevelopment will soon become a major challenge in the contemporary management of CHD. From a clinical perspective, the existence of very early changes in head remodeling and brain perfusion opens the way for further investigation to characterize the natural history of brain reorganization in these fetuses. Such knowledge could pave the way for pre- or postnatal interventions aimed at altering the mechanisms leading to brain remodeling and abnormal neurodevelopment. If our results are confirmed by others, longitudinal Doppler follow-up could be a useful index for the identification of fetuses at highest risk.

Almost half of the CHD cases underwent termination of pregnancy after the diagnosis, which would reduce the statistical power of any analysis to assess the contribution of Doppler ultrasound and biometry findings in the prediction of postnatal neurological development. We consider the main limitation of our study to be the small number of cases in each of the CHD groups, which were not large enough to draw strong conclusions regarding the differences between them, and therefore it is possible that increasing the number of CHD cases in the series might have changed the results to some degree. In addition, though we believe that FMBV is a good parameter for the evaluation of cerebral perfusion, we acknowledge that image acquisition necessitates a considerable learning curve, and offline post-processing of the images is necessary, which may limit its use in clinical practice.

In conclusion, fetuses with CHD presented changes in head biometry and cerebrovascular redistribution that could be demonstrated in the second trimester. Further studies will be required to determine the longitudinal evolution of the changes described here and their relationship to later neurodevelopment. If confirmed, these changes could be used as biomarkers of neurodevelopmental risk, allowing early postnatal intervention and eventually further research to clarify the mechanisms and develop potential prenatal interventions.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (ref. PI12/02230) and Fondo Europeo de Desarrollo Regional de la Unión Europea 'Una manera de hacer Europa'.

## REFERENCES

1. Hoffman JL, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; **39**: 1890–1900.
2. Bakiler AR, Ozer EA, Kanik A, Kanit H, Aktas FN. Accuracy of prenatal diagnosis of congenital heart disease with fetal echocardiography. *Fetal Diagn Ther* 2007; **22**: 241–244.

3. Majnemer A, Limperopoulos C, Shevell M, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C. Long-term neuromotor outcome at school entry of infants with congenital heart defects requiring open-heart surgery. *J Pediatr* 2006; **148**: 72–77.
4. Limperopoulos C, Majnemer A, Shevell M, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C. Neurodevelopmental status of newborns and infants with congenital heart defects before and after open heart surgery. *J Pediatr* 2000; **137**: 638–645.
5. Donofrio MT, Massaro AN. Impact of congenital heart disease on brain development and neurodevelopmental outcome. *Int J Pediatr* 2010; **2010**: 359–390.
6. Khalil A, Suff N, Thilaganathan B, Hurrell A, Cooper D, Carvalho JS. Brain abnormalities and neurodevelopmental delay in congenital heart disease: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; **43**: 14–24.
7. Bellinger DC, Jonas RA, Rappaport LA, Wypij D, Wernovsky G, Kuban KC, Barnes PD, Holmes GL, Hickey PR, Strand RD, Walsh AZ, Helmers SL, Constantinou JE, Carrazana EJ, Mayer JE, Hanley FL, Castaneda AR, Ware JH, Newburger JW. Developmental and neurologic status of children after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass. *N Eng J Med* 1995; **332**: 549–555.
8. Miller SP, McQuillen PS, Hamrick S, Xu D, Glidden DV, Charlton N, Karl T, Azakie A, Ferriero DM, Barkovich AJ, Vigneron DV. Abnormal brain development in newborns with congenital heart disease. *N Eng J Med* 2007; **357**: 1928–1938.
9. McQuillen P, Miller SP. Congenital heart disease and brain development. *Ann N Y Acad Sci* 2009; **1184**: 68–86.
10. Mahle WT, Tavani F, Zimmerman RA, Nicolson SC, Galli KK, Gaynor JW, Clancy RR, Montenegro LM, Spray TL, Chiavacci RM, Wernovsky G, Kurth CD. An MRI study of neurological injury before and after congenital heart surgery. *Circulation* 2002; **106**: I109–I114.
11. Miller SP, McQuillen PS, Vigneron DB, Glidden DV, Barkovich AJ, Ferriero DM, Hamrick SE, Azakie A, Karl TR. Preoperative brain injury in newborns with transposition of great arteries. *Ann Thorac Surg* 2004; **127**: 692–704.
12. Berg C, Gembruch O, Gembruch U, Eipel A. Doppler indices of the middle cerebral artery in fetuses with cardiac defects theoretically associated with impaired cerebral oxygen delivery *in utero*: is there a brain-sparing effect? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; **34**: 666–672.
13. Hinton RB, Andelfinger G, Sekar P, Hinton AC, Gendron RL, Michelfelder EC, Robitaille Y, Benson DW. Prenatal head growth and white matter injury in hypoplastic left heart syndrome. *Pediatr Res* 2008; **64**: 364–369.
14. Shillingford AJ, Ittenbach RF, Marino BS, Rychik J, Clancy RR, Spray TL, Gaynao JW, Wernovsky G. Aortic morphometry and microcephaly in hypoplastic left heart syndrome. *Cardiol Young* 2007; **17**: 189–195.
15. Arduini M, Rosati P, Cafori L, Guariglia L, Clerici G, Di Renzo GC, Scambia G. Cerebral blood flow autoregulation and congenital heart disease: possible causes of abnormal prenatal neurologic development. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; **24**: 1208–1211.
16. Kaltman JR, Di H, Tian Z, Rychik J. Impact of congenital heart disease on cerebrovascular blood flow dynamics in the fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; **25**: 32–36.
17. Donofrio MT, Bremer YA, Schieken RM, Gennings C, Morton LD, Eidem BW, Cetta F, Falkensammer CB, Huhta JC, Kleinman CS. Autoregulation of cerebral blood flow in fetuses with congenital heart disease: the brain sparing effect. *Pediatr Cardiol* 2003; **24**: 436–443.
18. Modena A, Horan C, Visintine J, Chanthasenanont A, Wood D, Weiner S. Fetuses with congenital heart disease demonstrate signs of decreased cerebral impedance. *Am J Obstet Gynecol* 2006; **195**: 706–710.
19. Szwaast A, Tian Z, McCann M, Soffer D, Rychik J. Comparative analysis of cerebrovascular resistance in fetuses with single-ventricle congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; **40**: 62–67.
20. Williams IA, Tarullo AR, Grieve PG, Wilpers A, Vignola EF, Myers MM, Fifer WP. Fetal cerebrovascular resistance and neonatal EEGG predict 18-month neurodevelopmental outcome in infants with congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; **40**: 304–309.
21. International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. Cardiac screening examination of the fetus: guidelines for performing the ‘basic’ and ‘extended basic’ cardiac scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; **27**: 107–113.
22. Arduini D, Rizzo G. Normal values of pulsatility index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med* 1990; **18**: 165–172.
23. Baschat A, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; **21**: 124–127.
24. Hernandez-Andrade E, Jansson T, Figueroa-Diesel H, Rangel-Nava H, Acosta-Rojas R, Gratacós E. Evaluation of fetal regional cerebral blood perfusion using power Doppler ultrasound and the estimation of fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; **29**: 556–561.
25. Cruz-Martinez R, Figueras F, Hernandez-Andrade E, Benavides-Serralde A, Gratacós E. Normal reference ranges of fetal regional cerebral blood perfusion using power Doppler ultrasound as measured by fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; **37**: 196–201.
26. Kurmanavicius J, Wright EM, Royston P, Wisser J, Huch R, Huch A, Zimmermann R. Fetal ultrasound biometry: 1. Head reference values. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; **106**: 126–135.
27. Kurmanavicius J, Wright EM, Royston P, Zimmermann R, Huch R, Huch A, Wisser J. Fetal ultrasound biometry: 2. Abdomen and femur length reference values. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; **106**: 136–143.
28. Hernandez-Andrade E, Figueroa-Diesel H, Jansson T, Rangel-Nava H, Gratacós E. Changes in regional fetal cerebral blood flow perfusion in relation to hemodynamic deterioration in severely growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **32**: 71–76.

---

## **ESTUDI 2**

### **Severity of fetal brain abnormalities in congenital heart disease in relation with the main expected pattern of in utero brain blood supply heart.**

Masoller N, Sanz-Cortés M, Crispi F, Gómez O, Bennasar M, Egaña-Ugrinovic G, Bargalló N, Martínez JM, Gratacós E.

*Fetal Diagn Ther.* 2015 Nov 15.

doi: 10.1159/000439527.

Estat: Publicat on-line

Factor d'impacte: 2.94

Quartil: 2<sup>on</sup>



# Severity of Fetal Brain Abnormalities in Congenital Heart Disease in Relation to the Main Expected Pattern of in utero Brain Blood Supply

Narcís Masoller<sup>a, b</sup> Magda Sanz-Cortés<sup>a, b</sup> Fàtima Crispí<sup>a, b</sup>  
Olga Gómez<sup>a, b</sup> Mar Bennasar<sup>a, b</sup> Gabriela Egaña-Ugrinovic<sup>a, b</sup> Núria Bargalló<sup>c</sup>  
Josep María Martínez<sup>a, b</sup> Eduard Gratacós<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup>BCNatal – Barcelona Center for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Déu), IDIBAPS, University of Barcelona, <sup>b</sup>Centre for Biomedical Research on Rare Diseases (CIBER-ER), and <sup>c</sup>Department of Radiology, Centre de Diagnostic per la Imatge, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

## Key Words

Congenital heart disease · Fetal magnetic resonance imaging · Spectroscopy · Fetal neurodevelopment · Brain development

## Abstract

**Objectives:** We evaluated the hypothesis that in fetuses with congenital heart disease (CHD) there is a correlation between the expected pattern of in utero brain blood supply and the severity of neurodevelopmental impairment. **Methods:** A total of 58 fetuses with CHD and 58 controls underwent a Doppler ultrasound and fetal MRI at 36–38 weeks. Fetuses with CHD were divided into two functional classes: class A with an expected severe reduction in oxygenated brain blood supply (left outflow tract obstruction and transposition of great vessels) and class B with theoretically near-normal or mildly impaired oxygenated brain blood supply (other CHD). Head biometry and cerebroplacental Doppler were assessed by ultrasound, and brain volumetry, cortical development and metabolism by MRI. **Results:** Both class A and B CHD fetuses had significant differences in head biometry, brain perfusion, cortical development and brain metabolism compared with controls. However, there was a significant linear tendency for head biometry, cerebral Doppler,

volumes, cortical sulcation and metabolic ratios across the three clinical groups, with signs of more severe brain alterations in type A CHD fetuses. **Conclusions:** All fetuses with CHD showed significant brain developmental changes, but differences were more pronounced in CHD associated with an expected severe reduction in oxygenated blood supply to the brain.

© 2015 S. Karger AG, Basel

## Introduction

Congenital heart disease (CHD) affects up to 1% of all live births [1, 2]. Infants affected with complex CHD requiring cardiac surgery have a reported 23–60% risk of abnormal neurodevelopment [3–5]. It was long assumed that neurological impairment was the result of open-heart surgical repair and the implicit hypothermic circulatory arrest [3–5]. However, recent neuroimaging [6, 7], neuropathological [8] and clinical [9] studies have consistently demonstrated that fetuses and infants with CHD before postnatal surgery have evidence of abnormal neurodevelopment [10]. Moreover, we and others have shown how fetuses affected with CHD during the third trimester present brain metabolic [11, 12] and structural



alterations [12, 13] by means of magnetic resonance imaging (MRI) and  $^1\text{H}$ -magnetic resonance spectroscopy (MRS) studies. The identification of prenatal factors predicting neurodevelopmental impairment in CHD would facilitate future research on disease mechanisms and the introduction of early targeted interventions.

While the precise causes of fetal brain injury in CHD are not conclusively identified, impaired brain supply of oxygen and nutrients due to the abnormal cardiac mix of placental and systemic blood has long been proposed among the main mechanisms [14]. This notion is supported by recent evidence that CHD fetuses have significant reductions in  $\text{O}_2$  content in the ascending aorta and in brain oxygen consumption [15]. From a clinical perspective, if reduced placental blood supply is involved in brain injury in CHD, those cardiac defects causing the most severe reductions in the mix of oxygenated blood to the brain should be associated with a higher risk of neurological injury [16]. Thus, several studies have reported more pronounced changes in head biometry and brain Doppler parameters in cases with hypoplastic left heart syndrome (HLHS) or transposition of the great arteries (TGA) in comparison with right heart defects [17–19]. In a previous study, Limperopoulos et al. [11] reported that some types of CHD were independently associated with more pronounced changes in MRI brain total volume. More recently, Zeng et al. reported that HLHS and TGA were associated with more pronounced changes in total intracranial volume, frontal lobe volume and cerebellar volume [20].

In this study we evaluated prospectively whether CHD forms causing the most severe reduction in placental blood brain supply are associated with more pronounced neurodevelopmental changes prenatally. To this end, we prospectively recruited 58 women with CHD pregnancies and classified them according to the expected mix of oxygenated blood delivered to the brain into two classes: A (low oxygen content) and B (near-normal oxygen content). We evaluated fetal neurodevelopment at term in these two subgroups and in a matched cohort of normal fetuses, by means of head biometry, brain Doppler, and MRI/MRS brain microstructure and metabolism.

## Subjects and Methods

### *Study Population and Study Protocol*

This was a prospective cohort study carried out at Hospital Clínic Barcelona (Spain) from June 2010 to June 2013. The CHD group was a consecutive sample of pregnancies with major CHD, diagnosed between 20 and 24 weeks and continuing pregnancy until term during the study period. In all cases, fetal karyotype was

assessed by amniocentesis at the moment of diagnosis. Exclusion criteria were the following: presence of extracardiac malformations, chromosomal abnormalities, associated arrhythmias, perinatal infections, fetal anemia, signs of uteroplacental insufficiency (abnormal uterine artery Doppler) or maternal conditions that could affect fetal hemodynamics, such as pregestational diabetes, thyroid disease or preeclampsia, or a noncephalic presentation at term. The control group was recruited at 36–38 weeks of gestation among women with low-risk pregnancies attending our maternal-fetal medicine unit for normal pregnancy follow-up. Controls were matched with cases for gestational age. Exclusion criteria for controls were the same as for cases.

Figure 1 shows a flow diagram of the study population. During the study period, a total of 184 fetuses with the diagnosis of CHD met the inclusion criteria. Twenty-four cases with extracardiac anomalies, 35 cases with aneuploidies, 5 multiple pregnancies, 46 terminations of pregnancy and 5 stillbirths were excluded from the study, leaving a total population of 69 cases. Among the 69 cases with CHD that reached term, in 9 cases the women decided not to undergo the MRI examination, and in 2 cases the MRI could not be performed due to maternal claustrophobia, leaving a total population of 58 cases for the analysis. Sixty women with normal pregnancies were eventually recruited as controls. In 2 of them, fetal MRI could not be performed due to maternal claustrophobia, leaving a population of 58 controls. The study protocol included a Doppler ultrasound scan at term, a fetal brain MRI at 36–38 weeks and the collection of baseline and perinatal data by parental interview and hospital record review.

### *Study Subgroups*

In order to analyze the effect on brain development according to the expected main pattern of placental (oxygenated, nutrient-rich) versus systemic (deoxygenated, nutrient-poor) mix of blood supply to the brain in different types of CHD, we stratified the study cases as following:

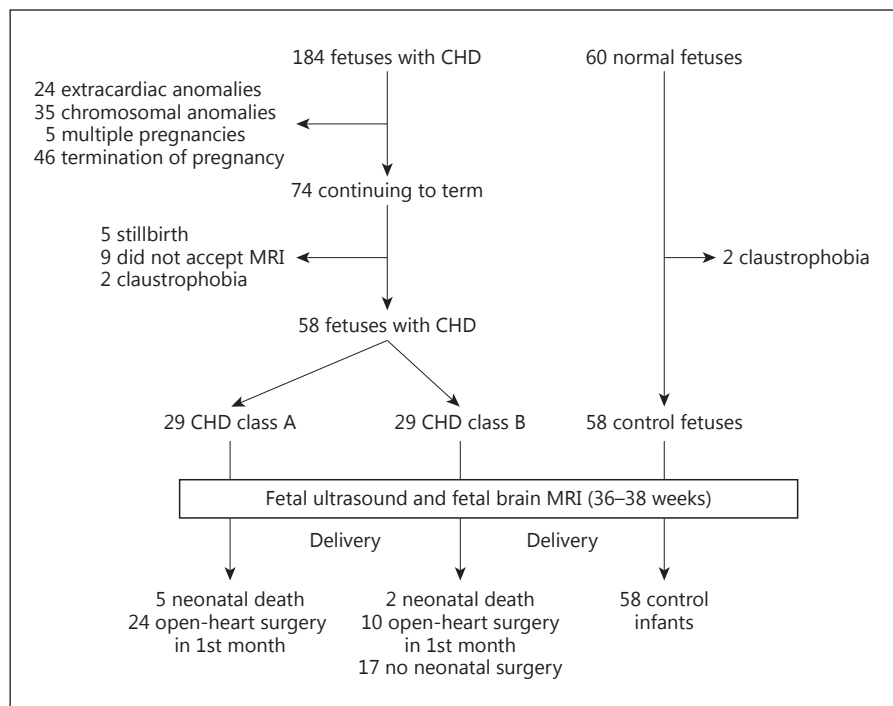
- CHD class A: cases with low placental blood delivered to the brain, including severe left outflow tract obstruction (HLHS, critical aortic stenosis or hypoplastic aortic arch) with reverse flow in the aortic isthmus (thus retrograde cerebral blood perfusion from the ductus arteriosus with systemic blood), and cases of TGA, with the aorta blood flow coming from the right ventricle also with a high proportion of systemic blood
- CHD class B: with mixed placental and systemic blood delivered to the brain due to intracardiac shunts of the defect (septal defects, right CHD, conotruncal defects other than TGA and complex CHD)

In addition, we considered a group of normal healthy fetuses as controls.

### *Fetal Ultrasound and Doppler*

A complete ultrasound examination including fetal biometry (biparietal diameter, head circumference, abdominal circumference, femur length and estimated fetal weight) and fetoplacental Doppler [umbilical artery pulsatility index (PI), middle cerebral artery (MCA) PI, cerebroplacental ratio (CPR) and brain frontal fractional moving blood volume (FMBV) [21]] were performed at 36–38 weeks of gestational age using a Voluson E8 (GE Medical, Waukesha, Wis., USA) or Siemens Sonoline Antares (Siemens Medical Systems, Malvern, Pa., USA) ultrasound machine equipped with a 9- to 2-MHz convex curved transducer [22].

**Fig. 1.** Study population flowchart. CHD class A represents an expected low oxygenated blood supply to the brain and consists of severe left outflow tract obstruction and transposition of great vessels. CHD class B represents an expected more oxygenated blood supply to the fetal brain and consists of other CHD types.



**Fetal Brain MRI**

All patients were scanned at 36–38 weeks of gestational age on a clinical magnetic resonance system (3.0-Tesla Siemens Magnetom Trio Tim syngo MR B15; Siemens, Munich, Germany) without sedation and following the American College of Radiology guidelines for the use of medical imaging during pregnancy [23]. A receiver radiofrequency coil was wrapped around the mother’s abdomen, as near as possible to the fetus. The total length of each MRI examination did not exceed 45 min. Anatomical acquisitions were obtained in three orthogonal planes with half-Fourier acquisition single-shot turbo spin-echo (HASTE) sequences, using the following parameters: 990 ms repetition time (TR); 137 ms echo time (TE); 3.5 mm slice thickness; 260 mm isotropic field of view; voxel size 1.4 × 1.4 × 3.5 mm; in-plane resolution 192 × 192; 80° flip angle, and 24 s acquisition time. Single-voxel point resolved spectroscopy <sup>1</sup>H-MRS data were acquired from a 40 × 20 × 20 mm voxel positioned in the frontal lobe region and the basal ganglia according to the T2 HASTE images, and using the following parameters: 2,000 ms TR; 30 ms TE; 98 averages; chemical shift selective water suppression, and 3 min 24 s acquisition time. An anatomical T2 HASTE image was obtained after each <sup>1</sup>H-MRS acquisition to confirm the position of the fetal head. If the obtained spectrum was distorted by fetal movements, it was repeated.

Structural MR images were reviewed for the presence of anatomical abnormalities by an experienced neuroradiologist blinded to group membership. Volumetric parameters (brain, intracranial and opercular volumes) and fissure depths (sylvian, parietooccipital, cingulate, calcarine and insular) [24] were blindly assessed by manual and semiautomated delineation using Analyze<sup>®</sup> software and corrected creating ratios for total intracranial volume and biparietal diameter, respectively, as previously described elsewhere

[25]. Spectroscopic data were processed using the user-independent frequency domain-fitting program Linear Combination Model-Fitting (LCModel) version 6.1-4A [26, 27], applying an eddy current correction [28], considering the metabolic ratios inositol (Ino)/choline (Cho), N-acetylaspartate (NAA)/Cho and Cho/creatine (Cr) using a previously reported methodology as well [29]. A strict quality control was carried out in order to select those spectra that were considered for further analysis: the signal-to-noise ratio had to be above 5, the coefficient of variation for the estimated concentrations (Cramér-Rao lower bounds) had to be below 20% (which indicates that these metabolites could be reliably estimated [28]), the estimated full width at half maximum of the metabolite peaks had to be below 0.095 ppm, and the main metabolic peaks had to be clearly identified visually.

#### Statistical Analysis

All statistical calculations were done using SPSS statistical software version 18.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., Chicago, Ill., USA). Results were considered to be significant at a p value <0.05. Continuous variables are expressed as means ± SD. Qualitative variables are expressed as n (%). In order to make comparisons independent of the gestational age, all ultrasound parameters were converted into Z-scores using published normative data from a large population of healthy fetuses [21, 30–33]. For multiple comparisons between the different subgroups of the study, we used one-way ANOVA with Bonferroni correction. A linear polynomial orthogonal contrast was constructed to test the hypothesis of a linear association across severity groups for Doppler ultrasound values in which maternal smoking, maternal body mass index, gestational age at ultrasound and birth weight were considered as covariates. Likewise, a linear polynomial orthogonal contrast was

**Table 1.** Baseline characteristics of the study populations

	CHD class A (n = 29)	CHD class B (n = 29)	Controls (n = 58)	p <sup>a</sup>
<i>Maternal characteristics</i>				
Maternal age, years	33±4	32±6	32±4	0.76
Maternal body mass index	23±3	23±3	23±4	0.88
Previous history of CHD, %	3	3	0	0.49
Smoking, %	3	7	5	0.83
Primiparity, %	66	66	62	0.92
Caucasian ethnicity, %	72	62	69	0.69
Low socioeconomic status, % <sup>b</sup>	48	45	43	0.73
<i>Type of CHD</i>				
Hypoplastic aortic arch	13	0	NA	
Critical aortic stenosis	5	0	NA	
HLHS	1	0	NA	
TGA	10	0	NA	
Atrioventricular septal defect	0	3	NA	
Tetralogy of Fallot	0	9	NA	
Truncus arteriosus	0	1	NA	
Tricuspid atresia	0	4	NA	
Ebstein's anomaly	0	5	NA	
Severe pulmonary stenosis or atresia	0	5	NA	
Complex CHD	0	2	NA	

Values are expressed as means ± SD or numbers unless specified otherwise. NA = Not applicable. <sup>a</sup> p value calculated by one-way ANOVA, Pearson's  $\chi^2$  test or Fisher's exact test, as appropriate. <sup>b</sup> Routine occupations, long-term unemployment or never worked (UK National Statistics Socio-Economic Classification).

constructed to test the hypothesis of a linear association across severity groups for fetal brain MRI variables in which maternal smoking, maternal body mass index, gestational age at MRI and birth weight were considered as covariates.

#### Statement of Ethics

The protocol was approved by the Ethics Committee of Hospital Clínic Barcelona (2010/5521), and written consent for the study was obtained from all pregnant women.

## Results

### Study Population

The baseline maternal characteristics and the distribution of CHD forms in each study group are shown in table 1. No differences in baseline characteristics across the three study groups were found. As shown in table 2, no differences in pregnancy outcomes were observed between the study groups, excepting a higher rate of low birth weight and neonatal death in CHD cases.

Among the 58 neonates diagnosed with CHD, 5 neonates of class A (3 with HLHS, 1 with a hypoplastic aortic

arch and 1 with TGA) and 2 neonates of class B (1 with tricuspid atresia and 1 with Ebstein's anomaly) died during the first week of life before, during or after open-heart surgery. The remaining 24 infants of CHD class A and 10 infants of CHD class B required open-heart surgery during the first month of life; 17 infants of CHD class B did not require cardiac surgery during the first 6 months of life (fig. 1).

### Fetal Brain Doppler Ultrasound

The results are displayed in table 3 and figure 2. As compared with controls, both CHD classes had significantly smaller mean biparietal diameter and head circumference Z-scores, as well as a higher proportion of cases with measures below the 5th percentile. However, there was a significant linear tendency toward more pronounced differences in CHD class A (fig. 2). Abdominal circumference, femur length and estimated fetal weight were similar between the study groups.

Concerning Doppler measures, both class A and B CHD cases showed significantly lower MCA PI and CPR mean Z-scores and significantly higher FMBV Z-scores

**Table 2.** Perinatal characteristics of the study groups

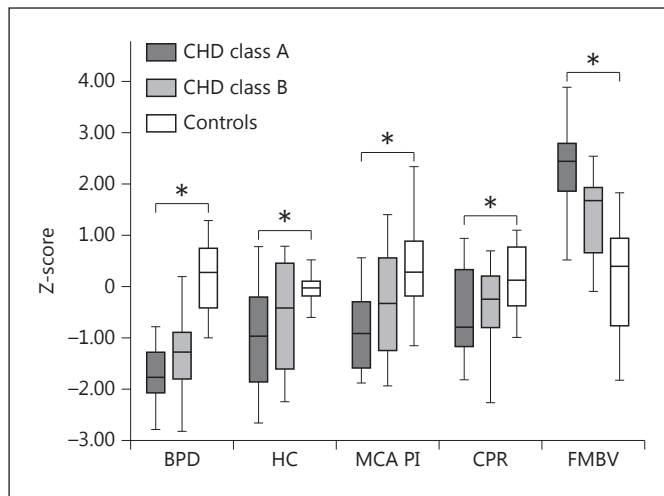
	CHD class A (n = 29)	CHD class B (n = 29)	Controls (n = 58)	p <sup>a</sup>
Labor induction	35	35	19	0.17
Regional anesthesia during labor	90	100	90	0.20
Gestational age at delivery, weeks	39.4±1.1	39.3±1.6	39.6±1.0	0.32
Cesarean section	14	24	16	0.51
Birth weight, g	3,313±612	3,164±580	3,415±349	0.11
Birth weight percentile	49±38	40±30	53±25	0.14
Birth weight <p10	17 <sup>b</sup>	17 <sup>b</sup>	2	0.02
Birth height, cm	50±2	50±3	50±1	0.24
Birth head circumference, mm	327±13 <sup>b, c</sup>	338±14 <sup>b</sup>	349±11	<0.01
5-min Apgar score <7	7	0	3	0.36
Umbilical artery pH <7.10	0	0	2	0.60
Neonatal death <sup>d</sup>	17 <sup>b</sup>	7	0	<0.01

Data are expressed as means ± SD or percentages. <p10 = Below the 10th percentile. <sup>a</sup> p value calculated by one-way ANOVA, Pearson's  $\chi^2$  test or Fisher's exact test, as appropriate. Differences between study groups calculated by one-way ANOVA with post hoc Bonferroni testing. <sup>b</sup> p < 0.05, controls vs. CHD class A or CHD class B. <sup>c</sup> p < 0.05, CHD class A vs. CHD class B. <sup>d</sup> Neonatal mortality defined as newborn death within the first 28 days of life.

**Table 3.** Term fetoplacental ultrasound results in the study populations

	CHD class A (n = 29)	CHD class B (n = 29)	Controls (n = 58)	p <sup>a</sup>
Gestational age at fetal ultrasound, weeks	37.2±0.3	37.1±0.5	37.3±0.4	0.25
<i>Fetal biometry</i>				
Biparietal diameter Z-score	-1.76±0.64 <sup>b, c</sup>	-1.25±0.75 <sup>b</sup>	0.21±0.97	<0.01
Biparietal diameter <p5	59 <sup>b, c</sup>	28 <sup>b</sup>	3	<0.01
Head circumference Z-score	-0.99±1.07 <sup>b, c</sup>	-0.39±0.10 <sup>b</sup>	-0.03±0.47	<0.01
Head circumference <p5	41 <sup>b, c</sup>	21 <sup>b</sup>	3	<0.01
Abdominal circumference Z-score	0.48±0.83	0.27±0.97	0.15±0.80	0.12
Abdominal circumference <p5	0	3	0	0.21
Femur length Z-score	-0.30±1.07	-0.25±0.88	-0.16±0.64	0.17
Femur length <p5	0	7	2	0.31
Estimated fetal weight, g	2,922±387	2,858±337	3,012±311	0.13
Estimated fetal weight <p10	10	7	0	0.06
<i>Fetoplacental Doppler</i>				
Umbilical artery PI Z-score	-0.04±0.64	-0.08±0.46	-0.06±0.44	0.83
Umbilical artery PI >p95	0	0	0	1.00
MCA PI Z-score	-0.95±0.95 <sup>b, c</sup>	-0.29±1.14 <sup>b</sup>	0.18±1.06	<0.01
MCA PI <p5	38 <sup>b, c</sup>	17 <sup>b</sup>	0	<0.01
CPR Z-score	-0.87±1.10 <sup>b, c</sup>	-0.26±1.00 <sup>b</sup>	0.05±1.01	<0.01
CPR <p5	35 <sup>b, c</sup>	14 <sup>b</sup>	0	<0.01
Brain FMBV Z-score	2.30±0.80 <sup>b, c</sup>	1.57±0.93 <sup>b</sup>	0.27±1.12	<0.01
Brain FMBV >p95	86 <sup>b, c</sup>	59 <sup>b</sup>	7	<0.01

Data are expressed as means ± SD or percentages. </>p5/p10/p95 = Below/above the 5th/10th/95th percentile. <sup>a</sup> Linear tendency p value calculated by multivariate ANCOVA, adjusting for gestational age at ultrasound, maternal smoking, maternal body mass index and birth weight. Differences between study groups calculated by one-way ANOVA with post hoc Bonferroni testing. <sup>b</sup> p < 0.05, controls vs. CHD class A or CHD class B. <sup>c</sup> p < 0.05, CHD class A vs. class B.



**Fig. 2.** Term Doppler ultrasound results. BPD = Biparietal diameter; HC = head circumference. \* Significant linear tendency ( $p < 0.05$ ).

than controls. Accordingly, the proportion of cases with abnormal values in these indices was significantly higher among CHD cases than among controls. Again, there was a significant linear tendency toward more marked differences in CHD class A.

#### *MRI Brain Volume, Cortical Development and Metabolic Evaluation*

No structural brain anomalies were detected in the anatomic evaluation of the MR images. Fetuses with CHD showed significantly smaller total brain volume (TBrV), total intracranial volume (TICV) and opercular volume than controls, with a significant linear trend across severity groups (table 4; fig. 3). Furthermore, when we evaluated cortical sulcation, CHD fetuses presented significantly decreased depths for the left and right parietooccipital, cingulate and calcarine fissures, and of the left insular lobe, as compared with controls. Again, a significant linear tendency across the three subgroups was observed, with CHD class A fetuses showing more pronounced differences.

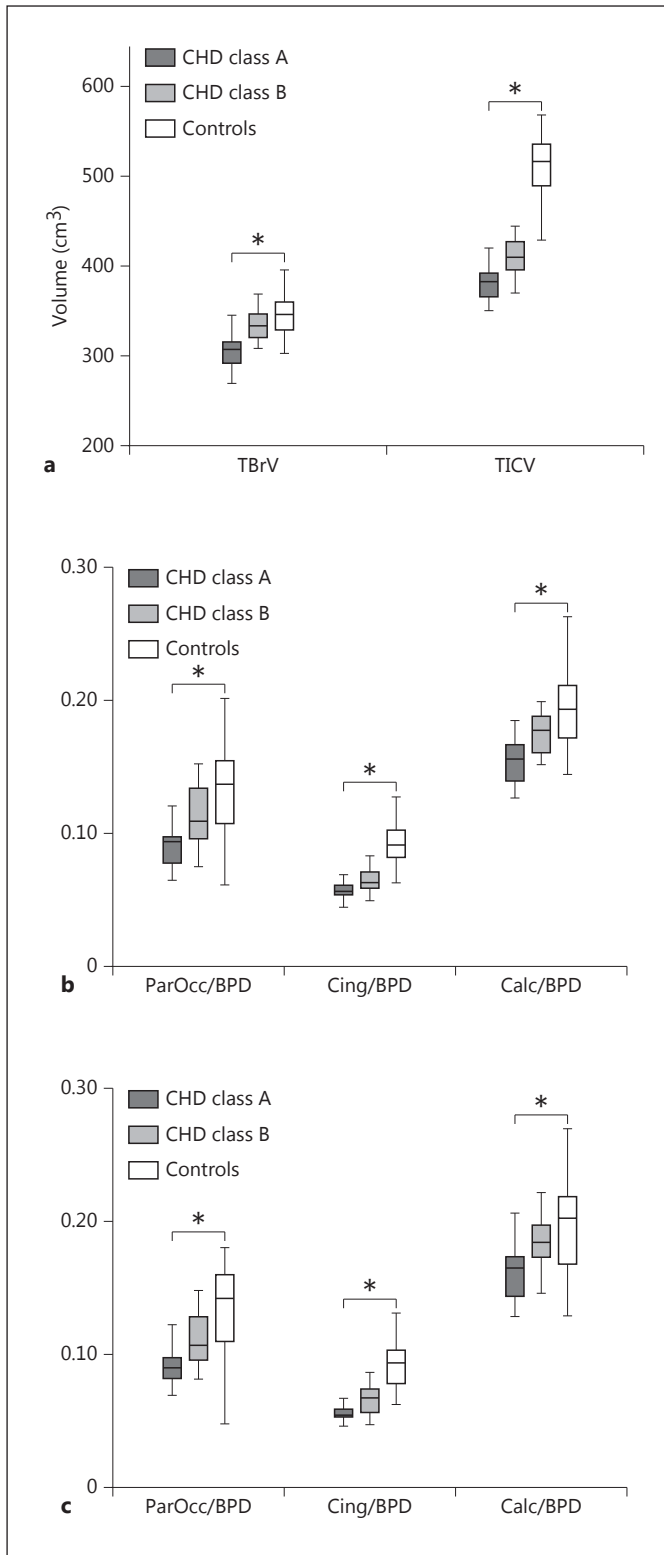
Regarding the spectroscopic analysis, from a total of 116 fetuses, 94 cases – 48 (83%) CHD (25 class A and 23 class B) and 46 (79%) controls – presented good-quality spectra and were considered for further analysis. Overall, CHD cases showed increased Ino/Cho values and decreased values for NAA/Cho and Cho/Cr ratios in the frontal lobe and basal ganglia when compared with controls. A significant linear tendency for more pronounced metabolic changes in CHD class A fetuses was observed (table 4; fig. 4).

## Discussion

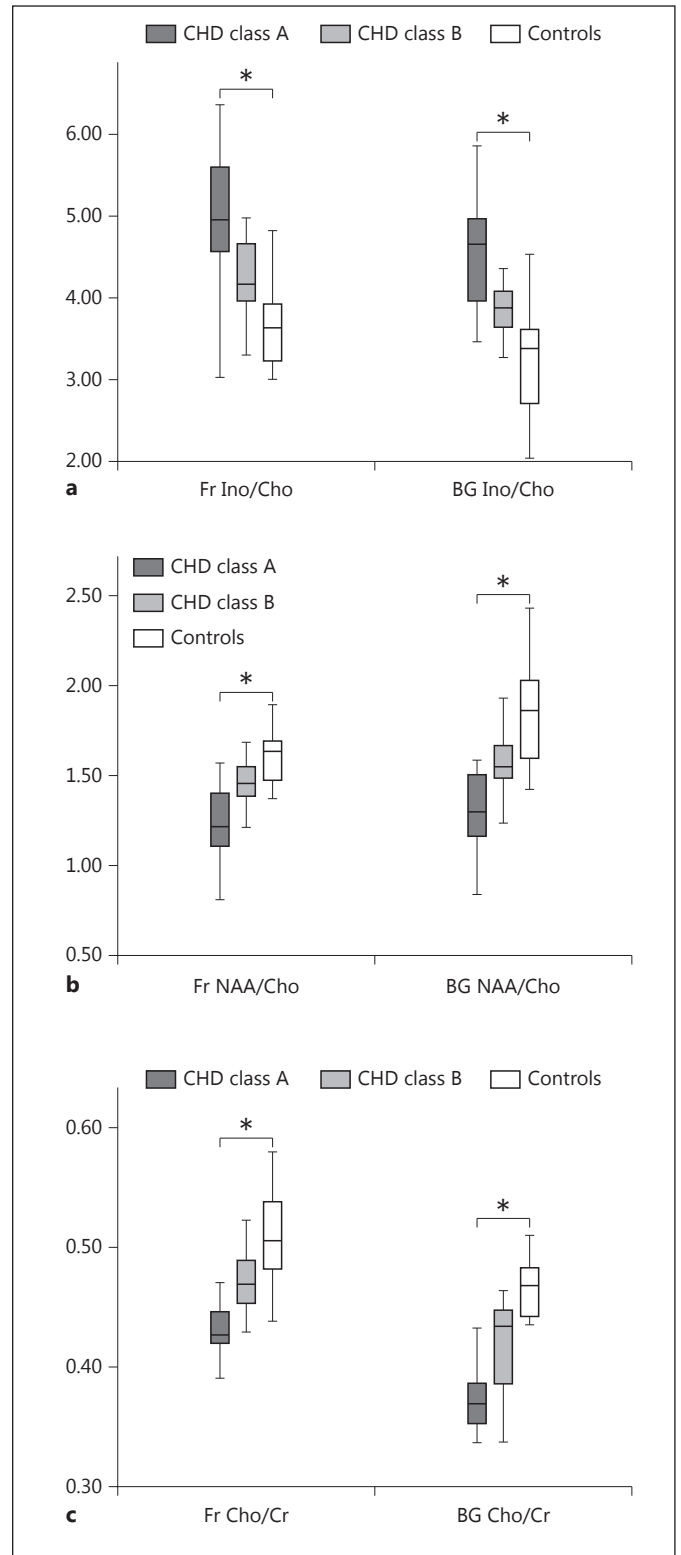
This study provides evidence that abnormal neurodevelopmental features are present in the majority and across all types of CHD. However, the data confirm the finding from previous studies that changes are more remarkable in CHD with an expected severe impairment in oxygenated blood supply to the brain.

The results also confirm previous data suggesting impaired neurodevelopment in fetuses with CHD, including a significantly smaller head biometry at diagnosis [34] or in the third trimester [35, 36], brain redistribution [16, 17, 34, 35, 37, 38], smaller MRI TBrV and TICV [11, 12] and a delay in cortical gyrification [12, 13]. Finally, we found similar MRI spectroscopic results to those previously reported for neonates [10] and third-trimester fetuses [11] with CHD, showing decreased mean NAA/Cho ratios in several brain areas. Concerning the association between the type of CHD and the degree of neurological injury, previous reports had already described more pronounced brain findings in specific types of CHD, particularly in HLHS [13, 39]. In this study, we systematically subdivided CHD according to the expected brain oxygenation pattern, which allowed providing further conclusive evidence in support of this notion. Remarkably, the high-risk group in this study (class A) only included 1 case of HLHS, revealing that other CHDs with better cardiac surgical prognoses, such as coarctation of the aorta with a hypoplastic aortic arch or TGA, constitute a high-risk group for impaired brain development.

From a pathophysiological standpoint, the data here reported support the long-held hypothesis that abnormal brain oxygen and nutrient supply plays an important role in neurological injury associated with CHD [14]. It is interesting that – as happens with other conditions associated with impaired brain oxygenation, such as fetal growth restriction – brain vasodilation is a physiological response with limited protective effects [40]. Thus, more pronounced vasodilation normally indicates a more severe reduction in brain oxygen and/or nutrient supply and, probably, a poorer neurodevelopmental outlook. Moreover, the use of FMBV as a highly sensitive method of detecting subtle changes in blood perfusion strongly suggests that, despite normal values of MCA Doppler indices, the proportion of fetuses with CHD with brain circulatory changes might be even higher. From a clinical point of view, identifying CHD types associated with the more severe spectrum of brain alterations would allow better counseling to parents and targeting those cases that could benefit from early neurological follow-up and



**Fig. 3.** Term MRI volumetry (a) and cortical development results (b left; c right). ParOcc = Parietooccipital fissure; BPD = biparietal diameter; Cing = cingulate fissure; Calc = calcarine fissure. \* Significant linear tendency ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 4.** Term MRS results in the frontal lobe and basal ganglia for Ino (a), NAA (b) and Cho (c). Fr = Frontal; BG = basal ganglia. \* Significant linear tendency ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Results on fetal brain MRI at term in the study populations

	CHD class A (n = 29)	CHD class B (n = 29)	Controls (n = 58)	p <sup>a</sup>
Gestational age at MRI, weeks	37.2±0.4	37.1±0.4	37.3±0.4	–
<i>Brain volumetry</i>				
TBrV, cm <sup>3</sup>	306.7±21.9 <sup>b, c</sup>	329.7±32.3 <sup>b</sup>	344.4±22.0	<0.01
TICV, cm <sup>3</sup>	382.2±22.1 <sup>b, c</sup>	406.2±40.0 <sup>b</sup>	514.1±36.1	<0.01
Left opercular volume/TICV (×1,000)	3.33±0.62 <sup>b</sup>	3.62±0.57 <sup>b</sup>	5.79±1.27	<0.01
Right opercular volume/TICV (×1,000)	3.20±0.77 <sup>b</sup>	3.59±0.60 <sup>b</sup>	5.55±1.59	<0.01
Total opercular volume/TICV (×1,000)	6.53±1.24 <sup>b</sup>	7.20±1.03 <sup>b</sup>	11.33±2.65	<0.01
<i>Brain cortical development</i>				
Left insula depth/BPD	0.304±0.012 <sup>b</sup>	0.299±0.014 <sup>b</sup>	0.267±0.031	<0.01
Right insula depth/BPD	0.308±0.017	0.298±0.014	0.319±0.074	0.51
Left sylvian fissure depth/BPD	0.160±0.022	0.156±0.024	0.151±0.024	0.03
Right sylvian fissure depth/BPD	0.157±0.022	0.152±0.022	0.157±0.051	0.94
Left parietooccipital fissure depth/BPD	0.090±0.014 <sup>b, c</sup>	0.108±0.019 <sup>b</sup>	0.135±0.036	<0.01
Right parietooccipital fissure depth/BPD	0.091±0.013 <sup>b, c</sup>	0.111±0.021 <sup>b</sup>	0.134±0.034	<0.01
Left cingulate fissure depth/BPD	0.055±0.007 <sup>b, c</sup>	0.065±0.009 <sup>b</sup>	0.093±0.015	<0.01
Right cingulate fissure depth/BPD	0.057±0.008 <sup>b, c</sup>	0.066±0.010 <sup>b</sup>	0.092±0.017	<0.01
Left calcarine fissure depth/BPD	0.152±0.031 <sup>b, c</sup>	0.173±0.038 <sup>b</sup>	0.193±0.029	<0.01
Right calcarine fissure depth/BPD	0.153±0.029 <sup>b, c</sup>	0.172±0.033 <sup>b</sup>	0.195±0.032	<0.01
<i>Brain metabolic profile</i>				
	(n = 25)	(n = 23)	(n = 51)	
Frontal area				
Ino/Cho	4.94±0.79 <sup>b, c</sup>	4.15±0.50 <sup>b</sup>	3.62±0.49	<0.01
NAA/Cho	1.23±0.21 <sup>b, c</sup>	1.46±0.13 <sup>b</sup>	1.61±0.14	<0.01
Cho/Cr	0.43±0.04 <sup>b, c</sup>	0.47±0.03 <sup>b</sup>	0.51±0.06	<0.01
Basal ganglia				
Ino/Cho	4.59±0.67 <sup>b, c</sup>	3.86±0.31 <sup>b</sup>	3.23±0.65	<0.01
NAA/Cho	1.31±0.22 <sup>b, c</sup>	1.53±0.20 <sup>b</sup>	1.85±0.28	<0.01
Cho/Cr	0.37±0.03 <sup>b, c</sup>	0.43±0.05	0.47±0.02	<0.01

Data are expressed as means ± SD. BPD = Biparietal diameter. <sup>a</sup> Linear tendency p value calculated by multivariate ANCOVA, adjusting for gestational age at MRI, maternal smoking, maternal body mass index and newborn birth weight. Differences between study groups calculated by one-way ANOVA with post hoc Bonferroni testing. <sup>b</sup> p < 0.05, controls vs. CHD class A or CHD class B. <sup>c</sup> p < 0.05, CHD class A vs. CHD class B.

specific interventions [41]. If these results are confirmed and expanded in larger series, there is a potential to define specific patterns of abnormal neurodevelopment in certain CDH types, which could further help in understanding the mechanisms involved in abnormal brain development in CHD and the design of interventional strategies.

One of the main strengths of this study is that it was performed in a well-characterized consecutive cohort of fetuses with CHD that was followed up prospectively. We assessed brain development by various imaging modes, which consistently showed more pronounced changes in those CHD cases defined as class A in the study.

Among the limitations, we acknowledge that the classification into class A and B CHD is a theoretical division. It may not represent the optimal classification for CHD, but we believe it was accurate in differentiating main patterns of placental blood mix delivered to the brain. Larger studies would allow a more accurate division into similar cardiac defects. We also acknowledge that the definition of abnormal neurodevelopment is challenging and should include neurodevelopmental follow-up at 2 years of age or later. However, most CHD cases will require an open-heart surgery during infancy, which strongly limits the interpretation of subsequent neurodevelopmental tests. Finally, from a technical point of view, we acknowl-

edge that by using long TEs, the quantification of some metabolites with J-coupled spins (such as Ino and glutamate) is more challenging. However, long TEs provide clearer baselines and easier quantification, particularly of NAA [42].

In conclusion, the majority of fetuses with CHD have signs of abnormal brain development at term, but these alterations are more pronounced in CHD with expectedly poorer oxygenated blood delivery to the brain. This information might be of great help when counseling affected families and for the evaluation of targeted interventions to reduce the impact of abnormal neurodevelopment from early life. Long-term studies with larger sample sizes are warranted to explore in more detail the existence of distinct patterns of neurodevelopment with specific types of well-defined groups of heart defects.

## References

- Hoffman JI, Kaplan S: The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:1890–1900.
- Wypij D, Newburger JW, Rappaport LA, DuPlessis AJ, Jonas RA, Wernovsky G, Lin M, Bellinger DC: The effect of duration of deep hypothermic circulatory arrest in infant heart surgery on late neurodevelopment: the Boston Circulatory Arrest Trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1397–1403.
- Majnemer A, Limperopoulos C, Shevell M, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C: Long-term neuromotor outcome at school entry of infants with congenital heart defects requiring open-heart surgery. *J Pediatr* 2006;148:72–77.
- Scallan MJ: Brain injury in children with congenital heart disease. *Paediatr Anaesth* 2003; 13:284–293.
- Massaro AN, Glass P, Brown J, Chang T, Krishnan A, Jonas RA, Donofrio MT: Neurobehavioral abnormalities in newborns with congenital heart disease requiring open-heart surgery. *J Pediatr* 2011;158:678–681.e2.
- Van Houten JP, Rothman A, Bejar R: High incidence of cranial ultrasound abnormalities in full-term infants with congenital heart disease. *Am J Perinatol* 1996;13:47–53.
- Mahle WT, Tavani F, Zimmerman RA, Nicolson SC, Galli KK, Gaynor JW, Clancy RR, Montenegro LM, Spray TL, Chiavacci RM, Wernovsky G, Kurth CD: An MRI study of neurological injury before and after congenital heart surgery. *Circulation* 2002;106(suppl 1):I109–I114.
- Glauser TA, Rorke LB, Weinberg PM, Clancy RR: Acquired neuropathologic lesions associated with the hypoplastic left heart syndrome. *Pediatrics* 1990;85:991–1000.
- Limperopoulos C, Majnemer A, Shevell MI, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C: Neurologic status of newborns with congenital heart defects before open heart surgery. *Pediatrics* 1999;103:402–408.
- Miller SP, McQuillen PS, Hamrick S, Xu D, Glidden DV, Charlton N, Karl T, Azakie A, Ferriero DM, Barkovich AJ, Vigneron DB: Abnormal brain development in newborns with congenital heart disease. *N Engl J Med* 2007;357:1928–1938.
- Limperopoulos C, Tworetzky W, McElhinney DB, Newburger JW, Brown DW, Robertson RL Jr, Guizard N, McGrath E, Geva J, Annese D, Dunbar-Masterson C, Trainor B, Laussen PC, du Plessis AJ: Brain volume and metabolism in fetuses with congenital heart disease: evaluation with quantitative magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Circulation* 2010;121:26–33.
- Masoller N, Sanz-Cortés M, Crispí F, Gómez O, Bennasar M, Egaña-Ugrinovic G, Bargalló N, Martínez JM, Gratacós E: Fetal brain Doppler and biometry at mid-gestation for the early prediction of abnormal brain development at birth in congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015, Epub ahead of print.
- Clouchoux C, du Plessis AJ, Bouyssi-Kobar M, Tworetzky W, McElhinney DB, Brown DW, Gholipour A, Kudelski D, Warfield SK, McCarter RJ, Robertson RL Jr, Evans AC, Newburger JW, Limperopoulos C: Delayed cortical development in fetuses with complex congenital heart disease. *Cereb Cortex* 2013; 23:2932–2943.
- Donofrio MT, Massaro AN: Impact of congenital heart disease on brain development and neurodevelopmental outcome. *Int J Pediatr* 2010;2010:359390.
- Sun L, Macgowan CK, Sled JG, Yoo SJ, Manlihot C, Porayette P, Grosse-Wortmann L, Jaeggi E, McCrindle BW, Kingdom J, Hickey E, Miller S, Seed M: Reduced fetal cerebral oxygen consumption is associated with smaller brain size in fetuses with congenital heart disease. *Circulation* 2015;131:1313–1323.
- Modena A, Horan C, Visintine J, Chantaseanon A, Wood D, Weiner S: Fetuses with congenital heart disease demonstrate signs of decreased cerebral impedance. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:706–710.
- Kaltman JR, Di H, Tian Z, Rychik J: Impact of congenital heart disease on cerebrovascular blood flow dynamics in the fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:32–36.
- Berg C, Gembruch O, Gembruch U, Geipel A: Doppler indices of the middle cerebral artery in fetuses with cardiac defects theoretically associated with impaired cerebral oxygen delivery in utero: is there a brain-sparing effect? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;34:666–672.
- Szwast A, Tian Z, McCann M, Soffer D, Rychik J: Comparative analysis of cerebrovascular resistance in fetuses with single-ventricle congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;40:62–67.
- Zeng S, Zhou QC, Zhou JW, Li M, Long C, Peng QH: Volume of intracranial structures on three-dimensional ultrasound in fetuses with congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;46:174–181.
- Cruz-Martinez R, Figueras F, Hernandez-Andrade E, Benavides-Serralde A, Gratacós E: Normal reference ranges of fetal regional cerebral blood perfusion as measured by fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:196–201.

## Acknowledgements

We thank the study participants for their time and commitment to this project. This study was supported by grants from Obra Social 'la Caixa' (Spain), Cerebra – Foundation for the Brain Injured Child (Carmarthen, UK), Instituto de Salud Carlos III and Ministerio de Economía y Competitividad (ref. PI11/00051, PI12/02230 and PI12/00851) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional de la Unión Europea 'Una manera de hacer Europa' (Spain), Fundación Mutua Madrileña (Spain) and Fundación Dexeus (Barcelona, Spain). N.M. was supported by 'Ajut a la recerca Josep Font 2010', Hospital Clínic, Spain. M.S.-C. was supported by a Rio Hortega postdoctoral fellowship, Spain (CM10/00222).

## Disclosure Statement

The authors do not have any commercial interest or other association that might pose a conflict of interest, and they are independent from funders and sponsors.



- 22 International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: Cardiac screening examination of the fetus: guidelines for performing the 'basic' and 'extended basic' cardiac scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27:107–113.
- 23 Tremblay E, Thérèse E, Thomassin-Naggara I, Trop I: Quality initiatives: guidelines for use of medical imaging during pregnancy and lactation. *Radiographics* 2012;32:897–911.
- 24 International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology Education Committee: Sonographic examination of the fetal central nervous system: guidelines for performing the 'basic examination' and the 'fetal neurosonogram'. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;29:109–116.
- 25 Egaña-Ugrinovic G, Sanz-Cortés M, Figueras F, Bargalló N, Gratacós E: Differences in cortical development assessed by fetal MRI in late-onset intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209:126.e1–e8.
- 26 Provencher SW: Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 1993;30: 672–679.
- 27 Provencher SW: Automatic quantitation of localized in vivo <sup>1</sup>H spectra with LCModel. *NMR Biomed* 2001;14:260–264.
- 28 Klose U: In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents. *Magn Reson Med* 1990; 14:26–30.
- 29 Sanz-Cortés M, Simoes R V, Bargalló N, Masoller N, Figueras F, Gratacós E: Proton magnetic resonance spectroscopy assessment of fetal brain metabolism in late-onset 'small for gestational age' versus 'intrauterine growth restriction' fetuses. *Fetal Diagn Ther* 2015;37:108–116.
- 30 Arduini D, Rizzo G: Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1,556 healthy fetuses. *J Perinat Med* 1990;18:165–172.
- 31 Baschat AA, Gembruch U: The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;21:124–127.
- 32 Kurmanavicius J, Wright EM, Royston P, Visser J, Huch R, Huch A, Zimmermann R: Fetal ultrasound biometry. 1. Head reference values. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:126–135.
- 33 Kurmanavicius J, Wright EM, Royston P, Zimmermann R, Huch R, Huch A, Visser J: Fetal ultrasound biometry. 2. Abdomen and femur length reference values. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:136–143.
- 34 Masoller N, Martínez JM, Gómez O, Bannasar M, Crispí F, Sanz-Cortés M, Egaña-Ugrinovic G, Bartrons J, Puerto B, Gratacós E: Evidence of second-trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:182–187.
- 35 Arduini M, Rosati P, Cafori L, Guariglia L, Clerici G, Di Renzo GC, Scambia G: Cerebral blood flow autoregulation and congenital heart disease: possible causes of abnormal prenatal neurologic development. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011;24:1208–1211.
- 36 Donofrio MT, Bremer YA, Schieken RM, Gennings C, Morton ID, Eidem BW, Cetta F, Falkensammer CB, Huhta JC, Kleinman CS: Autoregulation of cerebral blood flow in fetuses with congenital heart disease: the brain sparing effect. *Pediatr Cardiol* 2003;24:436–443.
- 37 Guorong L, Shaohui L, Peng J, Huitong L, Boyi L, Wanhong X, Liya L: Cerebrovascular blood flow dynamic changes in foetuses with congenital heart disease. *Fetal Diagn Ther* 2009;25:167–172.
- 38 Itsukaichi M, Kikuchi A, Yoshihara K, Serikawa T, Takakuwa K, Tanaka K: Changes in fetal circulation associated with congenital heart disease and their effect on fetal growth. *Fetal Diagn Ther* 2011;30:219–224.
- 39 Khalil A, Suff N, Thilaganathan B, Hurrell A, Cooper D, Carvalho JS: Brain abnormalities and neurodevelopmental delay in congenital heart disease: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;43: 14–24.
- 40 Figueras F, Satchev S, Triunfo S, Croveto F, Gratacós E: An integrated model with classification criteria to predict small-for-gestational-age fetuses at risk of adverse perinatal outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45:279–285.
- 41 Vanderveen JA, Bassler D, Robertson CMT, Kirpalani H: Early interventions involving parents to improve neurodevelopmental outcomes of premature infants: a meta-analysis. *J Perinatol* 2009;29:343–351.
- 42 Bhakoo KK, Pearce D: In vitro expression of N-acetyl aspartate by oligodendrocytes: implications for proton magnetic resonance spectroscopy signal in vivo. *J Neurochem* 2000;74:254–262.

---

## **ESTUDI 3**

### **Mid-gestation brain Doppler and head biometry in fetuses with congenital heart disease predict abnormal brain development at birth.**

Masoller N, Sanz-Cortés M, Crispi F, Gómez O, Bennasar M, Egaña-Ugrinovic G, Bargalló N, Martínez JM, Gratacós E.

*Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:65-73.

doi: 10.1002/uog.14919.

Estat: Publicat

Factor d'impacte: 3.85

Quartil: 1<sup>er</sup>





# Mid-gestation brain Doppler and head biometry in fetuses with congenital heart disease predict abnormal brain development at birth

N. MASOLLER\*, M. SANZ-CORTÉS\*, F. CRISPI\*, O. GÓMEZ\*, M. BENNASAR\*,  
G. EGAÑA-UGRINOVIC\*, N. BARGALLÓ†, J. M. MARTÍNEZ\* and E. GRATACÓS\*

\*BCNatal – Barcelona Center for Maternal–Fetal and Neonatal Medicine (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Déu), IDIBAPS, University of Barcelona, and Centre for Biomedical Research on Rare Diseases (CIBER-ER), Barcelona, Spain; †Department of Radiology Hospital Clínic, Centre de Diagnòstic per la Imatge, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

**KEYWORDS:** congenital heart disease; fetal neurodevelopment; pediatrics; pregnancy; prenatal brain remodeling

## ABSTRACT

**Objectives** Fetuses with congenital heart disease (CHD) show evidence of abnormal brain development before birth, which is thought to contribute to adverse neurodevelopment during childhood. Our aim was to evaluate whether brain development in late pregnancy can be predicted by fetal brain Doppler, head biometry and the clinical form of CHD at the time of diagnosis.

**Methods** This was a prospective cohort study including 58 fetuses with CHD, diagnosed at 20–24 weeks' gestation, and 58 normal control fetuses. At the time of diagnosis, we recorded fetal head circumference (HC), biparietal diameter, middle cerebral artery pulsatility index (MCA-PI), cerebroplacental ratio (CPR) and brain perfusion by fractional moving blood volume. We classified cases into one of two clinical types defined by the expected levels (high or low) of placental (well-oxygenated) blood perfusion, according to the anatomical defect. All fetuses underwent subsequent 3T-magnetic resonance imaging (MRI) at 36–38 weeks' gestation.

**Results** Abnormal prenatal brain development was defined by a composite score including any of the following findings on MRI: total brain volume < 10<sup>th</sup> centile, parietoccipital or cingulate fissure depth < 10<sup>th</sup> centile or abnormal metabolic profile in the frontal lobe. Logistic regression analysis demonstrated that MCA-PI (odds ratio (OR), 12.7; P=0.01), CPR (OR, 8.7; P=0.02) and HC (OR, 6.2; P=0.02) were independent predictors of abnormal neurodevelopment; however, the clinical type of CHD was not.

**Conclusions** Fetal brain Doppler and head biometry at the time of CHD diagnosis are independent predictors of

abnormal brain development at birth, and could be used in future algorithms to improve counseling and targeted interventions. Copyright © 2015 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.

## INTRODUCTION

Congenital heart disease (CHD) affects up to 1% of all live births<sup>1</sup>. The progressive decline in the mortality rate of cases with CHD<sup>2</sup> has resulted in a shift in the focus of attention onto the associated developmental morbidity<sup>3</sup>. A large proportion of infants with CHD have an adverse neurodevelopmental outcome, including cognitive and motor impairments as well as behavioral and learning problems later in life<sup>3–5</sup>. It is now widely accepted that brain injury associated with CHD results from a combination of factors. Thus, the association of open-heart surgery with acquired brain lesions has been documented extensively<sup>4,6</sup>. However, a growing body of evidence indicates that neurodevelopmental disturbances in cases with CHD are also explained by prenatal brain injury. Magnetic resonance imaging (MRI) studies in newborns prior to surgery<sup>7–9</sup> and in fetuses at term<sup>10,11</sup> have demonstrated widespread signs of disrupted brain maturation, including abnormal brain metabolic patterns and significant delays in cortical development. Furthermore, fetuses with CHD have reduced brain biometry<sup>12</sup> and increased brain perfusion compared with normal fetuses<sup>13</sup>. The latter is a well-characterized fetal response to hypoxia<sup>13</sup>, which suggests that this mechanism could be involved in prenatal brain changes.

The identification of prenatal predictors for individualized risk assessment of abnormal neurodevelopment in

Correspondence to: Dr N. Masoller, BCNatal, Hospital Clínic, seu Maternitat, 1 Sabino de Arana, Barcelona, 08028, Spain (e-mail: masoller@clinic.ub.es)

Accepted: 31 May 2015

fetuses with CHD would be useful to improve pathophysiological understanding and clinical counseling, and trigger research on targeted interventions. Certain forms of CHD are associated with anatomical disturbances in the fetal right-to-left circulatory shunts that ensure a high supply of well-oxygenated placental blood to the fetal brain. It has been suggested that those forms, which include hypoplastic left heart syndrome (HLHS) and transposition of the great vessels, could be associated with the highest risk of impaired brain development<sup>11,14</sup>. However, prenatal brain changes and childhood developmental delays have also been described in forms of CHD that are theoretically associated with normal *in-utero* brain blood perfusion<sup>15,16</sup>. This suggests that the type of CHD is not the sole criterion to predict the risk of abnormal fetal brain development. Recent evidence suggests that increased brain perfusion and reduced head biometry are already present in the second trimester of gestation<sup>17</sup>, but the association of these early brain changes with later neurodevelopment at birth is unknown.

In this study, we evaluated whether features at the time of second-trimester diagnosis of CHD are predictors of abnormal brain development at birth, identified on MRI. We evaluated the independent predictive value of cephalic biometry, brain Doppler and the type of CHD, classified according to the presence of altered or preserved brain supply of well-oxygenated blood.

## METHODS

### Study population and protocol

This was a prospective cohort study carried out at BCNatal (Spain) between June 2010 and June 2013. The protocol was approved by the hospital ethics committee (2010/5521) and written consent for the study was obtained from all pregnant women.

The CHD group comprised consecutive pregnancies with major CHD, diagnosed in fetuses between 20 and 24 weeks' gestation, who continued to term during the study period. Exclusion criteria included the following: presence of extracardiac malformations, chromosomal abnormalities, multiple pregnancy, stillbirth or termination of pregnancy, associated arrhythmias, perinatal infections, fetal anemia, signs of uteroplacental insufficiency (abnormal uterine artery Doppler) or maternal conditions that might affect fetal hemodynamics such as pregestational diabetes, thyroid disease or pre-eclampsia, or non-cephalic presentation of the fetus at term. For the purposes of this study, CHD cases were subclassified into one of two groups according to the expected main pattern of placental (oxygenated, nutrient-rich) *vs* systemic (deoxygenated, nutrient-poor) mix of blood supply to the brain. Thus, CHD Subgroup 1 was defined as brain perfusion with well or moderately preserved placental blood content, and included septal defects, right heart defects, conotruncal defects other than transposition of great vessels and complex CHD. Complex CHD was classified in this subgroup as cases that would be expected

to have a mixed pattern of placental and systemic blood delivered to the brain due to intracardiac shunts. CHD Subgroup 2 (brain perfusion with low placental blood content) included severe left outflow tract obstruction with reversed flow in the aortic isthmus or transposition of the great vessels. A control group was recruited at 20 weeks' gestation comprising women with low-risk pregnancy attending our maternal–fetal medicine unit for normal pregnancy follow-up. Controls were matched with cases for gestational age at mid-trimester scan ( $\pm 1$  week). Exclusion criteria and follow-up protocols for controls were the same as for CHD cases.

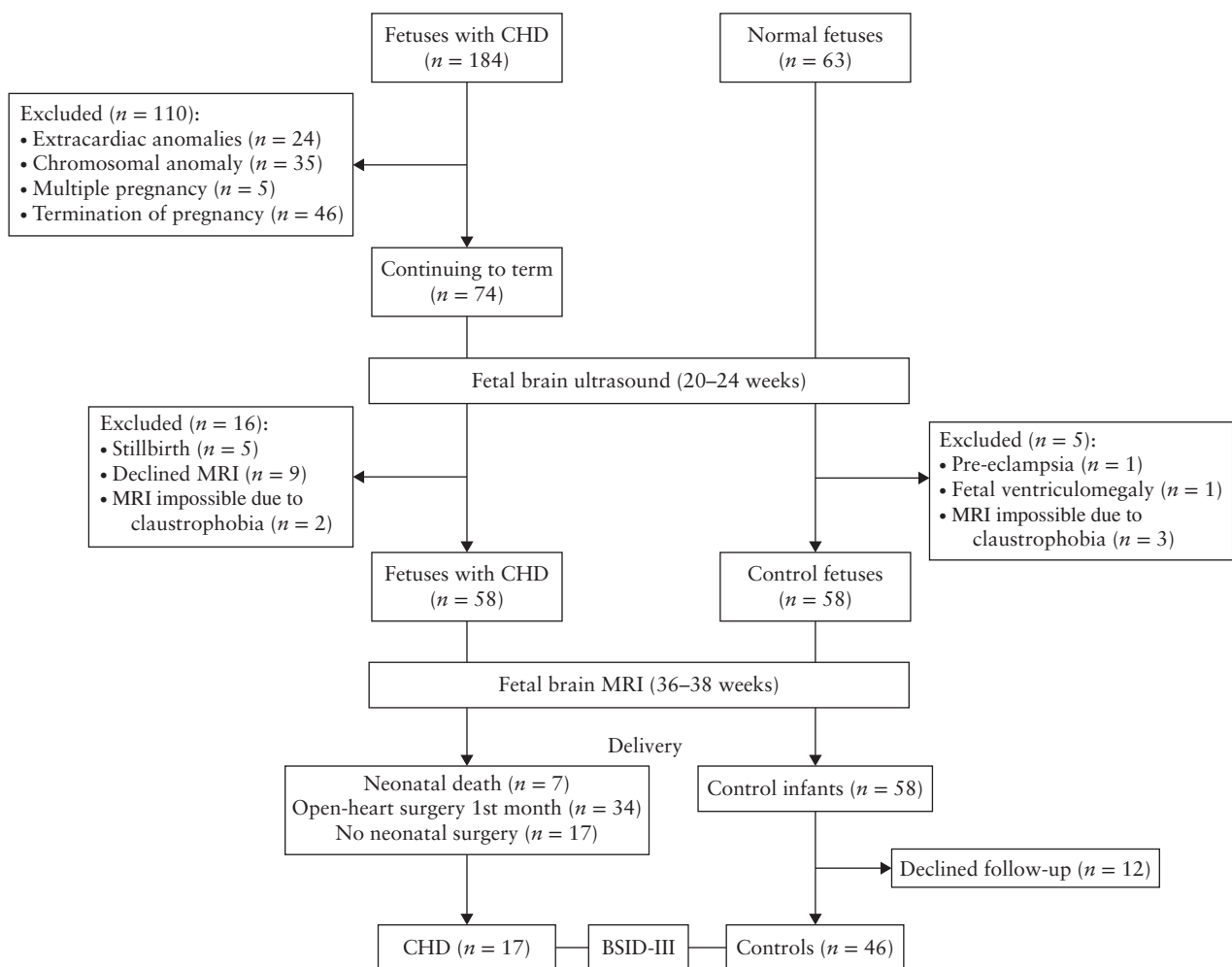
Figure 1 shows a flowchart of the study population. During the study period, a total of 184 fetuses with a diagnosis of CHD met the inclusion criteria. Excluded from the study were 24 cases with extracardiac anomalies, 35 with aneuploidy, five multiple pregnancies, 46 terminations of pregnancy and five stillbirths, resulting in a total population of 69 CHD cases. Among the 69 cases with CHD that reached term, nine decided not to undergo the MRI examination and in two cases the MRI could not be performed due to maternal claustrophobia, resulting in a total population of 58 CHD cases for analysis. Sixty-three women with normal pregnancy were recruited as controls until the final number of cases was matched. One woman with pre-eclampsia and one with third-trimester fetal ventriculomegaly were excluded, and fetal MRI could not be performed in three pregnancies due to maternal claustrophobia, leaving a population of 58 controls. The study protocol included a mid-gestational fetal ultrasound examination at 20–24 weeks' gestation, a term fetal brain MRI at 36–38 weeks and collection of baseline and perinatal data by parental interview and review of hospital records.

### Mid-gestational fetal ultrasound and echocardiography

A complete fetal ultrasound examination, including biometry, fetoplacental Doppler (umbilical artery, middle cerebral artery (MCA), cerebroplacental ratio (CPR) and brain frontal fractional moving blood volume<sup>18</sup> (FMBV) (Figure 2)) and echocardiography, was performed in all cases and controls enrolled in the study at 20–24 weeks' gestation using a Voluson E8 (GE Medical Systems, Zipf, Austria) ultrasound machine equipped with a 9–2-MHz convex curved transducer. Further details of the examination are given in Appendix S1.

### Fetal brain MRI

All patients underwent fetal brain MRI at 36–38 weeks' gestation using a clinical magnetic resonance system (3.0 Tesla Siemens Magnetom Trio Tim syngo MR B15, Siemens, Munich, Germany) without sedation and following the American College of Radiology guidelines for the use of medical imaging during pregnancy<sup>19</sup>. Anatomical acquisitions were obtained in three planes and spectroscopic evaluation was performed with a single voxel on the frontal lobe and on the basal ganglia area. Volumetric



**Figure 1** Flowchart of study population of fetuses with congenital heart disease (CHD) and matched control fetuses that underwent ultrasound examination (US) at 20–24 weeks and subsequent magnetic resonance imaging (MRI) for assessment of brain development. BSID-III, Bayley Scales of Infant and Toddler Development, 3rd edition.

measurements (brain, intracranial and opercular volumes) and determination of fissure depths (sylvian, parietoccipital, cingulate and calcarine)<sup>20</sup> were performed, with the operator blinded to both ultrasound findings and CHD diagnosis, by manual and semi-automated delineation using Analyze® software (AnalyzeDirect, Overland Park, KS, USA) and values were corrected by creating ratios for total intracranial volume and biparietal diameter (BPD), respectively, as described previously<sup>21</sup> (Figure 3). Spectroscopic data were processed using the user-independent frequency domain-fitting program Linear Combination Model-Fitting (LCModel) version 6.1–4A<sup>22,23</sup>, applying an eddy current correction<sup>24</sup>, considering the metabolic ratios inositol (Ino)/choline (Cho), *N*-acetylaspartate (NAA)/Cho and Cho/creatinine (Cr)<sup>25</sup>. For the purposes of this study, abnormal brain development was defined by a composite score that included any of the previously described alterations in CHD in relation to cortical development or metabolic measures<sup>10,11</sup>. The composite score included any of the following identified on MRI: total brain volume < 10<sup>th</sup> centile, parietoccipital or cingulate fissure depth < 10<sup>th</sup> centile, or abnormal frontal spectroscopy (Ino/Cho > 90<sup>th</sup> centile, NAA/Cho < 10<sup>th</sup> centile

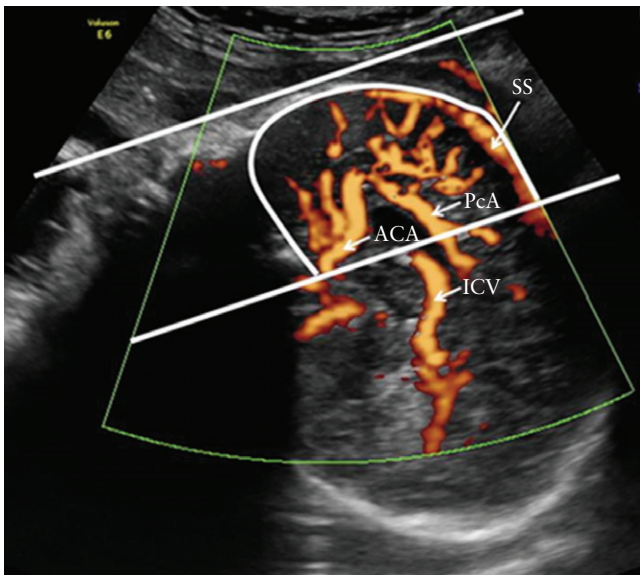
or Cho/Cr < 10<sup>th</sup> centile). Further details of the MRI examination are given in Appendix S1.

### Postnatal neurodevelopmental evaluation

A neurodevelopmental evaluation was performed using the Bayley Scales of Infant and Toddler Development, third edition (BSID-III)<sup>26</sup>, at 4–6 months of age on cases not requiring open-heart surgery during the first 6 months of age. Five distinct areas were evaluated: cognitive, motor, language, social–emotional and adaptive behavior. Each area consists of a score with a normalized mean of  $100 \pm 15$ . The average of the five areas was calculated. Abnormal BSID-III was defined as a score < 85 (1 SD)<sup>27</sup>. All developmental examinations were performed by a single experienced psychologist, blinded to infant medical history.

### Statistical analysis

All statistical calculations were performed using SPSS statistical software, version 18.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Results were considered



**Figure 2** Power Doppler ultrasound image showing fetal frontal lobe as a region of interest for fractional moving blood volume calculation. Anatomical references in this sagittal view are the anterior cerebral artery (ACA), pericallosal artery (PcA), sagittal sinus (SS) and internal cerebral vein (ICV).

to be significant at  $P < 0.05$ . All ultrasound parameters were converted into Z-scores using published normative data from a large population of healthy fetuses<sup>18,28–31</sup>. Continuous variables are expressed as mean  $\pm$  SD and qualitative variables are expressed as  $n$  (%). MCA pulsatility index (PI) Z-score and total brain volume were used to calculate sample size as they are two representative parameters of brain changes in CHD fetuses described previously. On the basis of previous studies<sup>17,21</sup>, sample size was calculated to allow for the observation of a 25% difference in MCA-PI and 10% in total brain volume in CHD fetuses as compared to controls. For a power of 80% and an  $\alpha$ -risk of 0.05, a minimum of 55 subjects per study group were required for both parameters. We included 58 fetuses in each study group. Student's  $t$ -test for independent samples and Pearson's  $\chi^2$  or Fisher's exact test were used to compare quantitative and qualitative

data, respectively. In order to detect differences in the studied volumetric, cortical development parameters and metabolic ratios between cases and controls, Student's  $t$ -test for independent samples and a multivariate analysis of covariance, adjusting for potential confounders such as gestational age at MRI, maternal smoking and maternal body mass index, were conducted. To assess the relationship between the parameters of prenatal MRI and the postnatal BSID-III scores, we conducted a Pearson linear correlation. In order to evaluate the independent predictive value of mid-gestational parameters for the prediction of abnormal brain development at term, a composite-score outcome was created. For this purpose, and in order to select which variables would better represent the detected brain changes, a dimensionality reduction was performed using a principal components analysis (PCA) including all volumetric, cortical and metabolic MRI parameters and a composite score of the variables that better represented the changes in brain development was created. Finally, we conducted stepwise logistic regression to evaluate the independent and combined predictive capacity of CHD subgroup and fetal ultrasound Doppler parameters at 20–24 weeks to predict abnormal brain development at term amongst the CHD cases.

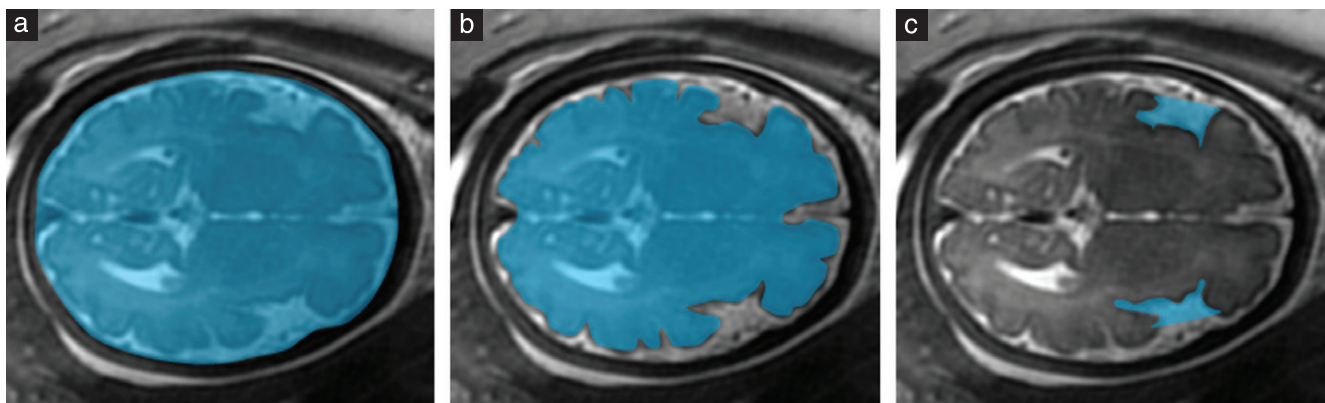
## RESULTS

### Study population

Baseline maternal characteristics of cases with CHD and normal controls, and the distribution of types of CHD in the study group, are shown in Table 1. CHD cases and controls showed similar maternal baseline characteristics.

### Mid-gestational ultrasound head biometry and brain Doppler

Results of the mid-gestational ultrasound examination are displayed in Table 2 and Figure 4. Fetuses with CHD had significantly smaller mean Z-scores of BPD and head circumference (HC), and a higher proportion of



**Figure 3** Brain volumetric assessment by semiautomatic delineation. Evaluation of total intracranial volume (a), total brain volume (b) and opercular volume (c) using Analyze software.

**Table 1** Baseline characteristics of study population of fetuses with congenital heart disease (CHD) and normal controls that underwent mid-gestation ultrasound assessment and subsequent term magnetic resonance imaging for assessment of abnormal brain development

Characteristic	CHD (n = 58)	Controls (n = 58)	p*
<b>Maternal characteristics</b>			
Age (years)	33 ± 5	32 ± 4	0.75
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	23 ± 3	23 ± 4	0.62
History of CHD	2 (3)	0 (0)	0.49
Smoking	3 (5)	3 (5)	1.00
Primiparous	38 (66)	36 (62)	0.69
White ethnicity	39 (67)	40 (69)	0.84
Low socioeconomic status†	31 (53)	25 (43)	0.19
<b>Type of fetal CHD</b>			
Atrioventricular septal defect	3 (5)	—	
Tetralogy of Fallot	9 (16)	—	
Transposition of great vessels	10 (17)	—	
Truncus arteriosus	1 (2)	—	
Hypoplastic left heart syndrome	1 (2)	—	
Critical aortic stenosis	5 (9)	—	
Hypoplastic aortic arch	13 (22)	—	
Tricuspid atresia	4 (7)	—	
Ebstein's anomaly	5 (9)	—	
Severe pulmonary stenosis/atresia	5 (9)	—	
Complex CHD	2 (3)	—	

Data are given as mean ± SD or *n* (%). \*Student's *t*-test for independent samples and Pearson's  $\chi^2$  or Fisher's exact test as appropriate. †Routine occupation, long-term unemployment or never worked (UK National Statistics Socio-Economic Classification).

fetuses with BPD and HC < 5<sup>th</sup> centile. No differences in abdominal circumference and femur length were observed. Fetuses with CHD showed significantly lower mean Z-scores for MCA-PI and CPR and significantly higher mean Z-score for FMBV compared with controls.

### Brain volume, cortical development and metabolic evaluation by MRI at term

Results of the MRI examination are displayed in Table 3 and Figure 4. No structural brain anomalies were detected in the anatomical evaluation of the MRI images. Fetuses with CHD showed significantly smaller brain, intracranial and opercular volumes than did controls. Furthermore, when we evaluated cortical sulcation, CHD fetuses presented significantly decreased depths for left and right parietoccipital, cingulate and calcarine fissures compared to those of controls. Also we observed a significantly increased depth of the left insular lobe compared to that of controls. No differences were found in the right insula and Sylvian fissure depth between the two groups.

Regarding the spectroscopic analysis, among the 116 fetuses that underwent MRI, 48 (83%) CHD fetuses and 46 (79%) controls presented good quality criteria (i.e. SNR > 5, coefficient of variation for LCMoDel concentration < 20% (indicating that these metabolites could be estimated reliably) and main metabolic peaks clearly identifiable visually) and were considered for further analysis. CHD fetuses showed significant metabolic changes

**Table 2** Mid-gestation ultrasound biometry and Doppler parameters in fetuses with congenital heart disease (CHD) and normal controls

Parameter	CHD (n = 58)	Controls (n = 58)	P*
GA at ultrasound (weeks)	22.3 ± 0.9	22.1 ± 0.8	0.690
<b>Fetal biometry</b>			
BPD Z-score	-1.12 ± 1.00	-0.05 ± 0.91	< 0.01
BPD < p5	24 (41)	3 (5)	< 0.01
HC Z-score	-0.78 ± 1.13	0.16 ± 0.72	0.01
HC < p5	17 (29)	2 (3)	< 0.01
AC Z-score	0.46 ± 0.87	0.24 ± 0.58	0.11
AC < p5	0 (0)	1 (2)	0.31
FL Z-score	0.15 ± 0.84	-0.10 ± 0.92	0.13
FL < p5	0 (0)	1 (2)	0.31
EFW (g)	454 ± 56	468 ± 68	0.08
EFW < p10	6 (10)	0 (0)	< 0.01
<b>Fetoplacental Doppler</b>			
UA-PI Z-score	-0.61 ± 0.54	-0.16 ± 0.54	0.59
UA-PI > p95	0 (0)	0 (0)	1.00
MCA-PI Z-score	-0.54 ± 1.20	0.05 ± 1.04	< 0.01
MCA < p5	12 (21)	1 (2)	< 0.01
CPR Z-score	-0.45 ± 1.37	0.19 ± 1.14	< 0.01
CPR < p5	12 (21)	1 (2)	< 0.01
Frontal FMBV Z-score	2.09 ± 0.83	0.09 ± 1.43	< 0.01
Frontal FMBV > p95	45 (78)	10 (17)	< 0.01

Data are given as mean ± SD or *n* (%). \*Student's *t*-test for independent samples and Pearson's  $\chi^2$  or Fisher's exact test as appropriate. AC, abdominal circumference; BPD, biparietal diameter; CPR, cerebroplacental ratio; EFW, estimated fetal weight; FL, femur length; FMBV, fractional moving blood volume; GA, gestational age; HC, head circumference; MCA, middle cerebral artery; p, percentile; PI, pulsatility index; UA, umbilical artery.

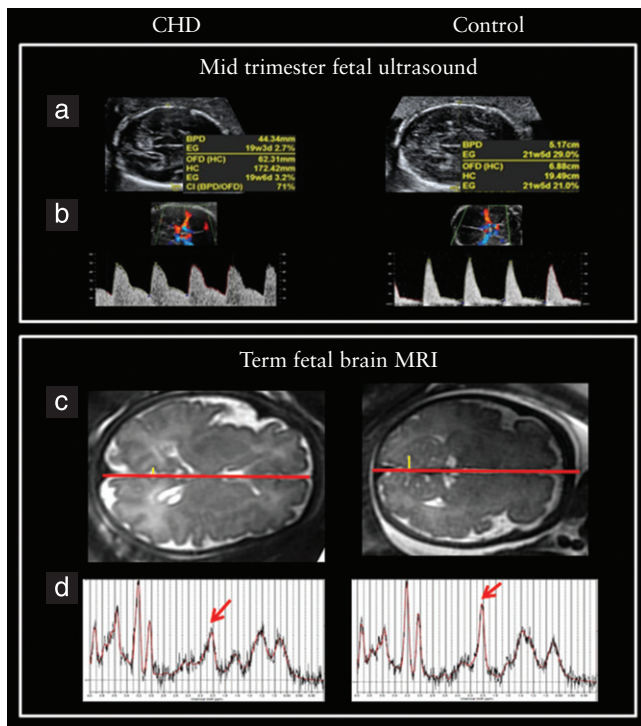
when compared with controls. We found increased Ino/Cho ratios in the frontal lobe and basal ganglia and decreased NAA/Cho and Cho/Cr ratios in both areas compared to controls. Moreover, in three CHD cases (one with critical aortic stenosis and HLHS, one transposition of great vessels and one tricuspid atresia with hypoplastic right ventricle) a peak of lactate was identified.

### Perinatal and surgical outcomes

As shown in Table 4, no differences in pregnancy complications were found between the two study groups. Mean gestational age at delivery was similar. There was a non-significant trend for a lower birth weight in CHD cases, due to a higher proportion of infants born small-for-gestational age compared with controls (17% vs 2%, respectively; *P* < 0.01). Neonates with CHD had a significantly smaller HC at birth than did controls (335 mm vs 349 mm; *P* < 0.01).

Among the 58 neonates diagnosed with CHD, seven (three HLHS, one tricuspid atresia, one Ebstein's anomaly, one hypoplastic aortic arch and one transposition of great vessels) died in the first week following delivery, before, during or after open-heart surgery. There were 34 cases requiring open-heart surgery in the first month and 17 that did not require cardiac surgery during the first 6 months (Figure 1).





**Figure 4** Assessment of cerebral changes in fetus with congenital heart disease (CHD) and in normal control by mid-gestation ultrasound examination of brain biometry (a) and middle cerebral artery flow (b) and by near-term magnetic resonance imaging of brain volumetry and cortical development (c) and metabolic profile (d). Red line indicates interhemispheric fissure. Yellow line shows parietoccipital fissure depth, which is significantly decreased in CHD fetus. Red arrows indicate N-acetylaspartate peak, which is significantly decreased in CHD fetus.

### Postnatal neurodevelopmental results

The BSID-III test was conducted on the 17 infants who did not require open-heart surgery during the first 6 months of age. Results from this test are reported in Table 5. Significant linear correlations between average BSID-III scores and some variables of the composite score were observed: total brain volume ( $r=0.410$ ;  $P=0.02$ ), left and right cingulate fissure depth ( $r=0.359$ ;  $P=0.04$  and  $r=0.337$ ;  $P=0.04$ , respectively), frontal Ino/Cho ratio ( $r=-0.531$ ;  $P<0.01$ ) and NAA/Cho ratio ( $r=0.452$ ;  $P<0.01$ ).

### Predictors of abnormal brain development assessed by MRI at term

Abnormal fetal brain development was defined by a composite score, as described previously. Stepwise logistic regression results showed that fetal MCA-PI (OR, 12.7;  $P=0.01$ ), CPR (OR, 8.7;  $P=0.02$ ) and fetal HC (OR, 6.2;  $P=0.02$ ) at mid-gestation were independent predictors of abnormal brain development (Table 6). The other variables analyzed, including BPD, FMBV and CHD subgroup, were not identified as statistically significant independent predictors by the model.

Regression analysis suggested that a combination of MCA-PI and HC Z-scores provided the best classification model, accounting for 86.4% of the uncertainty of

**Table 3** Results of magnetic resonance imaging (MRI) of brain at term in fetuses with congenital heart disease (CHD) and normal controls

Parameter	CHD (n = 58)	Controls (n = 58)	P*
GA at MRI (weeks)	37.2 ± 0.4	37.3 ± 0.4	0.47
Brain volumetry			
TBV (cm <sup>3</sup> )	318.2 ± 29.7	344.4 ± 22.0	<0.01
TICV (cm <sup>3</sup> )	394.2 ± 34.1	514.1 ± 36.1	<0.01
Left opercular volume/TICV	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001	<0.01
Right opercular volume/TICV	0.003 ± 0.001	0.006 ± 0.002	<0.01
Total opercular volume/TICV	0.007 ± 0.001	0.011 ± 0.003	<0.01
Brain cortical development			
Left insula depth/BPD	0.301 ± 0.013	0.267 ± 0.031	<0.01
Right insula depth/BPD	0.303 ± 0.016	0.319 ± 0.074	0.18
Left sylvian fissure depth/BPD	0.158 ± 0.023	0.151 ± 0.024	0.38
Right sylvian fissure depth/BPD	0.155 ± 0.022	0.157 ± 0.051	0.37
Left parietoccipital fissure depth/BPD	0.099 ± 0.019	0.136 ± 0.036	<0.01
Right parietoccipital fissure depth/BPD	0.101 ± 0.020	0.135 ± 0.034	<0.01
Left cingulate fissure depth/BPD	0.061 ± 0.009	0.093 ± 0.015	<0.01
Right cingulate fissure depth/BPD	0.061 ± 0.010	0.093 ± 0.017	<0.01
Left calcarine fissure depth/BPD	0.163 ± 0.036	0.193 ± 0.029	<0.01
Right calcarine fissure depth/BPD	0.163 ± 0.038	0.195 ± 0.032	<0.01
Brain metabolic profile†			
Frontal area			
Ino/Cho	4.64 ± 0.79	3.63 ± 0.49	<0.01
NAA/Cho	1.34 ± 0.21	1.61 ± 0.14	<0.01
Cho/Cr	0.48 ± 0.05	0.51 ± 0.06	<0.01
Basal ganglia			
Ino/Cho	4.24 ± 0.64	3.23 ± 0.65	<0.01
NAA/Cho	1.44 ± 0.25	1.85 ± 0.28	<0.01
Cho/Cr	0.40 ± 0.05	0.45 ± 0.03	<0.01

Data are given as mean ± SD. \*Multivariate analysis of covariance, adjusting for gestational age at MRI, maternal smoking and maternal body mass index. †n = 48 for CHD group and n = 46 for controls. BPD, biparietal diameter; Cho, choline; Cr, creatine; GA, gestational age; Ino, inositol; NAA, N-acetylaspartate; TBV, total brain volume; TICV, total intracranial volume.

having abnormal brain development at term (Nagelkerke R square). The following model achieved a higher discrimination performance as compared with the individual parameters: probability of abnormal brain development =  $e^y/(1 + e^y)$ :  $Y = -3.78 + (MCA-PI Z\text{-score} \times -2.23) + (HC Z\text{-score} \times -1.58)$ . The receiver-operating characteristics curve of this model resulted in an area under the curve of 89% (95% CI, 85–99%).

### DISCUSSION

This study provides evidence that abnormal brain development at birth in fetuses with CHD can be predicted by mid-gestational sonographic features including fetal

**Table 4** Perinatal characteristics of fetuses with congenital heart disease (CHD) and normal controls that underwent mid-gestation ultrasound assessment and subsequent brain magnetic resonance imaging at term for evaluation of abnormal brain development

Characteristic	CHD (n = 58)	Controls (n = 58)	P*
Pregnancy complication			
Pre-eclampsia	0 (0)	0 (0)	1
Gestational diabetes	4 (7)	2 (3)	0.54
Spontaneous PTD	3 (5)	0 (0)	0.31
Placenta previa	1 (2)	0 (0)	0.76
Prenatal glucocorticoid exposure	1 (2)	0 (0)	0.76
Delivery and perinatal outcome			
Labor induction	20 (34)	11 (19)	0.06
Regional anesthesia during labor	55 (95)	52 (90)	0.49
GA at delivery (weeks)	39.3 ± 1.3	39.6 ± 1.0	0.21
Cesarean section	11 (19)	9 (16)	0.62
Male infant	37 (64)	29 (50)	0.11
Birth weight (g)	3289 ± 604	3415 ± 349	0.17
Birth-weight percentile	47 ± 34	53 ± 25	0.28
Birth weight < p10	10 (17)	1 (2)	< 0.01
Birth height (cm)	50 ± 3	50 ± 2	0.44
Head circumference (mm)	335 ± 13	349 ± 12	< 0.01
5-min Apgar score < 7	2 (3)	2 (3)	1.00
Umbilical artery pH	7.25 ± 0.07	7.26 ± 0.06	0.93
Umbilical artery pH < 7.10	0 (0)	1 (2)	0.31
Neonatal outcome			
Days in NICU	31 ± 21	0 (0)	< 0.01
Breastfeeding at hospital discharge	46 (79)	45 (78)	0.74
Major neonatal morbidity†	2 (3)	0 (0)	0.43
Neonatal death‡	7 (12)	0 (0)	0.01

Data are given as mean ± SD or *n* (%). \*Student's *t*-test for independent samples and Pearson's  $\chi^2$  or Fisher's exact test as appropriate. †Defined by presence of bronchopulmonary dysplasia, necrotizing enterocolitis, intraventricular hemorrhage, periventricular leukomalacia, retinopathy or sepsis. ‡Defined as newborn death within first 28 postnatal days. GA, gestational age; NICU, neonatal intensive care unit; p, percentile; PTD, preterm delivery.

head biometry and brain Doppler. The fetal MRI multimodal integrated approach used in this study allowed a comprehensive description of abnormal brain remodeling and metabolism in CHD fetuses. The observed reduction in brain biometry is in line with previous studies reporting a progressive third-trimester deceleration in volumetric brain growth in CHD fetuses<sup>10,11</sup>. Brain volume is predictive of neurological deficits in adolescents with CHD<sup>32</sup>. Regarding the metabolic changes we detected, reduced NAA/Cho ratio is aligned with other reports from CHD fetuses<sup>10</sup> and neonates<sup>9</sup>. NAA is a neuronal marker<sup>33</sup> located in immature oligodendrocytes<sup>34</sup> of which levels increase during normal fetal brain maturation<sup>35</sup>. Ino is a marker of astrocyte activation and reactive gliosis<sup>36,37</sup>, which is known to occur in mild hypoxic conditions<sup>38</sup>. Both an NAA/Cho decrease and Ino/Cho increase predict later neurodevelopmental delay in infants with hypoxic ischemic encephalopathy<sup>36,39</sup>. The disrupted cortical developmental pattern in CHD fetuses reported in this

**Table 5** Scores of neurodevelopmental assessment using Bayley Scales of Infant and Toddler Development (third edition) in five test areas at 4–6 months of age (before cardiac surgery) in study population of fetuses with congenital heart disease (CHD) and normal controls

Test domain	CHD (n = 17)	Controls (n = 46)	P*
Cognitive	91 ± 14	103 ± 22	0.03
Abnormal cognitive area†	3 (18)	5 (11)	0.34
Language	97 ± 8	108 ± 17	0.01
Abnormal language area†	4 (24)	3 (7)	0.13
Motor	86 ± 11	100 ± 10	0.01
Abnormal motor area†	10 (59)	2 (4)	< 0.01
Social-emotional	85 ± 22	106 ± 24	< 0.01
Abnormal socioemotional area†	9 (53)	11 (24)	< 0.01
Adaptive	89 ± 20	97 ± 16	0.04
Abnormal adaptive area†	7 (41)	7 (15)	< 0.01
Average score	89 ± 10	101 ± 10	< 0.01

Data are expressed as mean ± SD or *n* (%). \*Comparisons between groups performed by multivariate analysis of covariance, adjusting for potential confounding factors such as maternal smoking, low socioeconomic status, gestational age at delivery, breastfeeding and gender, or Pearson's  $\chi^2$  or Fisher's exact test as appropriate. †Area considered abnormal when score < 85 points (< 1 SD).

**Table 6** Results of stepwise logistic regression of mid-gestational clinical and ultrasound parameters for prediction of abnormal brain development, identified on fetal brain magnetic resonance imaging (MRI) at term, in fetuses with congenital heart disease (CHD)

Parameter	Composite score for abnormal brain MRI	
	P*	OR (95% CI)*
MCA-PI Z-score	0.01	12.7 (3.1–51.1)
HC Z-score	0.02	6.2 (2.4–25.8)
CPR Z-score	0.02	8.7 (2.0–31.4)
BPD Z-score	0.31	3.1 (0.8–12.8)
Frontal FMBV Z-score	0.79	2.0 (0.5–13.1)
CHD subgroup†	0.70	3.1 (0.9–14.5)

\*P-value and odds ratio (OR) calculated by logistic regression analysis to predict abnormal neurodevelopment defined by composite score including any of the following: abnormal frontal magnetic resonance spectroscopy (inositol/choline > 90<sup>th</sup> percentile or N-acetylaspartate/choline < 10<sup>th</sup> percentile or choline/creatine < 10<sup>th</sup> percentile) or parietooccipital or cingulate fissure depth < 10<sup>th</sup> percentile or total brain volume < 10<sup>th</sup> percentile. †CHD subgroup according to expected main pattern of placental (oxygenated, nutrient-rich) vs systemic (deoxygenated, nutrient-poor) mix of blood supply to the brain. BPD, biparietal diameter; CPR, cerebroplacental ratio; FMBV, fractional moving blood volume; HC, head circumference; MCI-PI, middle cerebral artery pulsatility index.

study confirms previous findings in fetuses and neonates with CHD prior to open-heart surgery<sup>7,11</sup>. Similar cortical anomalies have also been reported in growth-restricted fetuses presenting later abnormal neurodevelopment<sup>21</sup>.

A remarkable finding of this study, in contrast with previous studies<sup>10,11</sup>, is that the anatomical type of CHD was not an independent predictor of abnormal neurodevelopment when used in association with ultrasound and Doppler brain findings. These

findings must be interpreted with caution until confirmed and refined with larger sample sizes. Thus, it is plausible that the form of CHD provides independent predictive value if a larger sample size is used. However, our findings are not in contradiction with this notion. It is generally assumed that left-sided CHD such as HLHS represents a higher risk for brain lesions and developmental delay due to the massive reduction in perfusion of placental well-oxygenated blood supply to the fetal brain<sup>14,40,41</sup>. However, other CHD types with preserved brain blood supply can also be associated with prenatal neurological injury<sup>14</sup>. This was also observed in our study, in which fetuses defined as low risk (Subgroup 1 with expected brain perfusion with well or moderately preserved placental blood content) showed changes in the metabolic patterns and a trend for cortical developmental delays. Therefore, it seems logical that the observation of direct effects on the fetal brain discriminates better the risk of abnormal neurodevelopment than does the anatomical form of CHD. In addition, the presence of disrupted brain development amongst fetuses with theoretically well-preserved brain oxygenation suggests potential additional factors that remain to be clarified. For instance, certain forms of CHD are associated with changes in the gene expression<sup>42</sup> or circulating levels of angiogenic factors<sup>41</sup>, which might reflect primary changes in brain circulation.

From a clinical perspective, the use of specific brain predictors might be incorporated as part of the comprehensive assessment at the time of clinical diagnosis of CHD. An individualized prediction of the risk of abnormal neurodevelopment could improve parental counseling and facilitate early-life interventions that have been shown to improve brain development in other infants at risk<sup>43–45</sup>. We are aware that the identification of significant brain abnormalities during fetal life might also influence the parental decision following antenatal counseling<sup>14</sup>.

One of the main strengths of this study is that it was performed on a well-characterized consecutive cohort of fetuses with CHD that was followed up prospectively. Brain development was assessed by comprehensive MRI evaluation, including an extensive spectroscopic assessment with strict quality control criteria. Several limitations of our study have to be mentioned. Our cohort covered a wide spectrum of CHD diagnoses. Because of the rather small sample size, conclusions for individual types of CHD cannot be drawn. A significant proportion of the most severe forms of CHD, such as HLHS, did not reach term due to a high rate of termination of pregnancy. It could be hypothesized that, with a larger proportion of those CHD forms, the statistical analysis might have identified clinical type of CHD as an independent predictor of brain injury. Also, it should be considered that the use of motion correction techniques as a prior step to an automated brain volumetric estimation could be advantageous and less time consuming than the approach used in our study<sup>46</sup>. However, careful anatomical image acquisition

was conducted in our study, repeating acquisitions if artifacts were present. This enabled good-quality images to be available for our selected approach. We acknowledge that larger studies are necessary to clarify the predictive role and to identify specific patterns of brain injury for each of the major anatomical forms of CHD. Finally, we acknowledge that an optimal definition of abnormal neurodevelopment in CHD patients is challenging. Ideally, such a definition would include a specific neurodevelopmental test at 2 years of age or later. However, most CHD cases will require open-heart surgery during infancy, which strongly limits the interpretation of subsequent neurodevelopmental tests. Nevertheless, results from neurodevelopmental tests performed on a small sample of CHD infants before surgery showed significant correlations with the measurements selected in our predictive algorithm. These associations support the role of the parameters assessed in this study to predict the neurological outcome later on in life. As we were aiming to predict neurodevelopmental delay of prenatal origin, we defined abnormal brain development as the combination of brain abnormalities identified by fetal MRI at term. We acknowledge the importance of confirming these results in a larger sample size and completing the analysis of the correlation between mid-gestational ultrasound and fetal MRI parameters with neurodevelopmental tests performed later on in life, when relevant cognitive skills can be assessed. This study is now underway.

In conclusion, our study provides evidence that fetuses with CHD that have abnormal brain development can be identified from mid-gestation. If our results are confirmed in larger studies, recording fetal head biometry and Doppler could be performed routinely when diagnosing CHD. Likewise, screening for neurological alterations could be included in the standard clinical follow-up of CHD fetuses at risk. Further larger studies are required to confirm and refine these findings. Predicting the risk of abnormal brain development in fetuses with CHD should improve significantly parental counseling and allow early interventions with proven impact on neurodevelopmental outcomes.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank the study participants for their time and commitment to this project. This study was supported by grants from Obra Social 'la Caixa' (Spain), Cerebra Foundation for the Brain Injured Child (Carmarthen, Wales, UK), Instituto de Salud Carlos III and Ministerio de Economía y Competitividad (ref. PI11/00051 and PI12/00851) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional de la Unión Europea 'Una manera de hacer Europa' (Spain), Fundación Mutua Madrileña (Spain), Fundació Agrupació Mutua (Spain), and the Fundació Dexeus (Barcelona, Spain). N.M. was supported by 'Ajut a la recerca Josep Font 2010', Hospital Clínic, Spain. M.S.C. was supported by a Rio Hortega post-doctoral fellowship, Spain (CM10/00222).

## REFERENCES

- Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1890–1900.
- Bakiler AR, Ozer EA, Kanik A, Kanit H, Aktas FN. Accuracy of prenatal diagnosis of congenital heart disease with fetal echocardiography. *Fetal Diagn Ther* 2007; 22: 241–244.
- Majnemer A, Limperopoulos C, Shevell M, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C. Long-term neuromotor outcome at school entry of infants with congenital heart defects requiring open-heart surgery. *J Pediatr* 2006; 148: 72–77.
- Bellinger DC, Jonas RA, Rappaport LA, Wypij D, Wernovsky G, Kuban KCK, Barnes PD, Holmes GL, Hickey PR, Strand RD, Walsh AZ, Helmers SL, Constantinou JE, Carrazana EJ, Mayer JE, Hanley FL, Castaneda AR, Ware JH, Newburger JW. Developmental and neurologic status of children after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med* 1995; 332: 549–555.
- Massaro AN, Glass P, Brown J, Chang T, Krishnan A, Jonas RA, Donofrio MT. Neurobehavioral abnormalities in newborns with congenital heart disease requiring open-heart surgery. *J Pediatr* 2011; 158: 678–681.
- Bellinger DC, Wypij D, Duplessis AJ, Rappaport LA, Jonas RA, Wernovsky G, Newburger JW. Neurodevelopmental status at eight years in children with dextro-transposition of the great arteries: The Boston Circulatory Arrest Trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 1385–1396.
- Licht DJ, Shera DM, Clancy RR, Wernovsky G, Montenegro LM, Nicolson SC, Zimmerman RA, Spray TL, Gaynor JW, Vossough A. Brain maturation is delayed in infants with complex congenital heart defects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 137: 529–536.
- Licht DJ, Wang J, Silvestre DW, Nicolson SC, Montenegro LM, Wernovsky G, Tabbutt S, Durning SM, Shera DM, Gaynor JW, Spray TL, Clancy RR, Zimmerman RA, Detre JA. Preoperative cerebral blood flow is diminished in neonates with severe congenital heart defects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 128: 841–849.
- Miller SP, McQuillen PS, Hamrick S, Xu D, Glidden DV, Charlton N, Karl T, Azakie A, Ferriero DM, Barkovich AJ, Vigneron DB. Abnormal brain development in newborns with congenital heart disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 1928–1938.
- Limperopoulos C, Tworetzky W, McElhinney DB, Newburger JW, Brown DW, Robertson RL Jr, Guizard N, McGrath E, Geva J, Annes D, Dunbar-Masterson C, Trainor B, Laussen PC, du Plessis AJ. Brain volume and metabolism in fetuses with congenital heart disease: Evaluation with quantitative magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Circulation* 2010; 121: 26–33.
- Clouchoux C, du Plessis AJ, Bouysse-Kobar M, Tworetzky W, McElhinney DB, Brown DW, Gholipour A, Kudelski D, Warfield SK, McCarter RJ, Robertson RL Jr, Evans AC, Newburger JW, Limperopoulos C. Delayed cortical development in fetuses with complex congenital heart disease. *Cereb Cortex* 2013; 23: 2932–2943.
- Hinton RB, Andelfinger G, Sekar P, Hinton AC, Gendron RL, Michelfelder EC, Robitaille Y, Benson DW. Prenatal head growth and white matter injury in hypoplastic left heart syndrome. *Pediatr Res* 2008; 64: 364–369.
- Berg C, Gembruch U, Geipel A. Doppler indices of the middle cerebral artery in fetuses with cardiac defects theoretically associated with impaired cerebral oxygen delivery in utero: Is there a brain-sparing effect? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 666–672.
- Khalil A, Suff N, Thilaganathan B, Hurrell A, Cooper D, Carvalho JS. Brain abnormalities and neurodevelopmental delay in congenital heart disease: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43: 14–24.
- Donofrio MT, Bremer YA, Schieken RM, Gennings C, Morton LD, Eidem BW, Cetta F, Falkensammer CB, Huhta JC, Kleinman CS. Autoregulation of cerebral blood flow in fetuses with congenital heart disease: The brain sparing effect. *Pediatr Cardiol* 2003; 24: 436–443.
- Majnemer A, Limperopoulos C, Shevell MI, Rohlicek C, Rosenblatt B, Tchervenkov C. A new look at outcomes with congenital heart disease. *Pediatr Neurol* 2009; 40: 197–204.
- Masoller N, Martínez JM, Gómez O, Bannasar M, Crispí F, Sanz-Cortés M, Egaña-Ugrinovic G, Bartrons J, Puerto B, Gratacos E. Evidence of second-trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 44: 182–187.
- Cruz-Martinez R, Figueras F, Hernandez-Andrade E, Benavides-Serralde A, Gratacos E. Normal reference ranges of fetal regional cerebral blood perfusion as measured by fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 196–201.
- Tremblay E, Thérèse E, Thomassin-Naggara I, Trop I. Quality initiatives: guidelines for use of medical imaging during pregnancy and lactation. *Radiographics* 2012; 32: 897–911.
- International Society of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology Education Committee. Sonographic examination of the fetal central nervous system: guidelines for performing the ‘basic examination’ and the ‘fetal neurosonogram’. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 29: 109–116.
- Egaña-Ugrinovic G, Sanz-Cortés M, Figueras F, Bargallo N, Gratacos E. Differences in cortical development assessed by fetal MRI in late-onset intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209: 126.e1–126.e8.
- Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 1993; 30: 672–679.
- Provencher SW. Automatic quantitation of localized in vivo <sup>1</sup>H spectra with LCMODEL. *NMR Biomed* 2001; 14: 260–264.
- Klose U. In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents. *Magn Reson Med* 1990; 14: 26–30.
- Sanz-Cortés M, Simoes RV, Bargallo N, Masoller N, Figueras F, Gratacos E. Proton magnetic resonance spectroscopy assessment of fetal brain metabolism in late-onset ‘small for gestational age’ versus ‘intrauterine growth restriction’ fetuses. *Fetal Diagn Ther* 2015; 37: 108–116.
- Bayley N. *Bayley Scales of Infant and Toddler Development* (3<sup>rd</sup> edn). PsychCorp: San Antonio, TX, 2006.
- Anderson PJ, De Luca CR, Hutchinson E, Roberts G, Doyle LW; Victorian Infant Collaborative Group. Underestimation of developmental delay by the new Bayley-III Scale. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2010; 164: 352–356.
- Arduini D, Rizzo G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med* 1990; 18: 165–172.
- Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21: 124–127.
- Kurmanavicius J, Wright EM, Royston P, Wisser J, Huch R, Huch A, Zimmermann R. Fetal ultrasound biometry: 1. Head reference values. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 126–135.
- Kurmanavicius J, Wright EM, Royston P, Zimmermann R, Huch R, Huch A, Wisser J. Fetal ultrasound biometry: 2. Abdomen and femur length reference values. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 136–143.
- Von Rhein M, Buchmann A, Hagmann C, Huber R, Klaver P, Knirsch W, Latal B. Brain volumes predict neurodevelopment in adolescents after surgery for congenital heart disease. *Brain* 2014; 137: 268–276.
- Baslow MH. N-Acetylaspartate in the vertebrate brain: Metabolism and function. *Neurochem Res* 2003; 28: 941–953.
- Bhakoo KK, Pearce D. In vitro expression of N-acetyl aspartate by oligodendrocytes: Implications for proton magnetic resonance spectroscopy signal in vivo. *J Neurochem* 2000; 74: 254–262.
- Story L, Damodaram MS, Allsop JM, McGuinness A, Wylezinska M, Kumar S, Rutherford MA. Proton magnetic resonance spectroscopy in the fetus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158: 3–8.
- Robertson NJ, Lewis RH, Cowan FM, Allsop JM, Counsell SJ, Edwards AD, Cox IJ. Early increases in brain myo-inositol measured by proton magnetic resonance spectroscopy in term infants with neonatal encephalopathy. *Pediatr Res* 2001; 50: 692–700.
- Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci* 1993; 15: 289–298.
- Sizonenko SV, Camm EJ, Dayer A, Kiss JZ. Glial responses to neonatal hypoxic-ischemic injury in the rat cerebral cortex. *Int J Dev Neurosci* 2008; 26: 37–45.
- Augustine EM, Spielman DM, Barnes PD, Sutcliffe TL, Dermon JD, Mirmiran M, Clayton DB, Ariagno RL. Can magnetic resonance spectroscopy predict neurodevelopmental outcome in very low birth weight preterm infants? *J Perinatol* 2008; 28: 611–618.
- Glauser TA, Rorke LB, Weinberg PM, Clancy RR. Acquired neuropathologic lesions associated with the hypoplastic left heart syndrome. *Pediatrics* 1990; 85: 991–1000.
- Te Pas AB, van Wezel-Meijler G, Bökenkamp-Gramann R, Walther FJ. Preoperative cranial ultrasound findings in infants with major congenital heart disease. *Acta Paediatr* 2005; 94: 1597–1603.
- Hitz MP, Lemieux-Perreault LP, Marshall C, Feroz-Zada Y, Davies R, Yang SW, Lionel AC, D’Amours G, Lemyre E, Cullum R, Bigras JL, Thibeault M, Chetaille P, Montpetit A, Khairy P, Overduin B, Klaassen S, Hoodless P, Awadalla P, Hussin J, Idaghmour Y, Nemer M, Stewart AF, Boerkoel C, Scherer SW, Richter A, Dubé MP, Andelfinger G. Rare copy number variants contribute to congenital left-sided heart disease. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002903.
- Isaacs EB, Fischl BR, Quinn BT, Chong WK, Gadian DG, Lucas A. Impact of breast milk on intelligence quotient, brain size, and white matter development. *Pediatr Res* 2010; 67: 357–362.
- Maulik PK, Darmstadt GL. Community-based interventions to optimize early childhood development in low resource settings. *J Perinatol* 2009; 29: 531–542.
- Vanderveen JA, Bassler D, Robertson CMT, Kirpalani H. Early interventions involving parents to improve neurodevelopmental outcomes of premature infants: a meta-analysis. *J Perinatol* 2009; 29: 343–351.
- Gholipour A, Estroff JA, Barnewolt CE, Connolly SA, Warfield SK. Fetal brain volumetry through MRI volumetric reconstruction and segmentation. *Int J Comput Assist Radiol Surg* 2011; 6: 329–339.

## SUPPORTING INFORMATION ON THE INTERNET

The following supporting information may be found in the online version of this article:



**Appendix S1** Detailed description of mid-gestation fetal ultrasound assessment and term fetal brain magnetic resonance imaging.



---

# 6. RESULTATS

---



---

## **6.1-Estudi 1: Evidence of second-trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease.**

Durant el període d'estudi es van incloure 159 fetus que complien els criteris d'inclusió. D'aquests es va excloure vint-i-un casos amb malformacions extra-cardíacques, trenta casos d'aneuploïdia, cinc casos diagnosticats abans de la setmana 20 i tres casos de gestació múltiple, quedant una població de 100 casos. En cinc d'aquests, la perfusió cerebral no es va poder mesurar de forma correcta, quedant finalment 95 casos per l'anàlisi, que es van aparellar amb 95 controls. La distribució dels tipus de CC en el grup d'estudi es mostra en la taula 6.1.1. Les variables basals eren similars en els dos grups d'estudi. Respecte a les variables perinatals, 43 (45.3%) dels pacients del grup de fetus amb CC van sol·licitar una interrupció legal de la gestació i, dels 52 casos que van continuar la gestació, tres (5.8%) van presentar un mort fetal avantpart (un cas d'anomalia d'Ebstein, un d'atrèsia pulmonar i un d'estenosi aòrtica crítica). Dels 49 casos que van néixer, tres (6.1%) van morir durant la primera setmana de vida abans o després de la cirurgia cardíaca (un cas d'anomalia d'Ebstein amb coartació d'aorta, un cas d'atrèsia tricúspide i un cas d'estenosi crítica d'aorta amb hipoplàsia de ventricle esquerre). No hi havia diferències entre els dos grups d'estudi en les variables perinatals a excepció del pes al néixer, on els nadons amb CC presentaven un pes al néixer significativament inferior als nadons control ( $3175 \pm 607$  vs  $3312 \pm 699$  grams), amb una proporció superior de nadons amb pes per sota del percentil 10 (22.4% vs 8.4%).

D'acord amb el mètode d'aparellament, no hi havia diferències en l'edat gestacional al moment de l'exploració ecogràfica entre el grups d'estudi. Els fetus amb CC presentaven uns valors Z del BDP i del PC significativament inferiors que el grup control, amb una proporció de fetus amb DBP i PC inferior al percentil 5 significativament superior. En canvi, no hi havia diferències en el PA i en la LF (taula 6.1.2). Quan vam classificar els fetus en diferents grups en relació al patró de perfusió cerebral esperat segons el tipus de CC, els tres grups presentaven valors anormals respecte els fetus controls, però no hi havia diferències significatives entre els grups de CC (taula 6.1.3).



**TAULA 6.1.1.** Cardiopaties congènites incloses en l'anàlisi.

<b>Grups de cardiopaties congènites</b>	<b>n</b>
<b>Grup 1: irrigació cerebral amb baix contingut de sang placentària</b>	
Hipoplàsia ventricle esquerre	12
Estenosi aòrtica	7
Coartació d'aorta	13
Transposició de grans artèries	10
<b>Grup 2: irrigació cerebral amb contingut intermedi de sang placentària i sistèmica</b>	
Canal auriculo-ventricular	4
Ventricle únic doble entrada	2
Tetralogia de Fallot	13
Truncus arteriós	4
CC complexes:	10
Isomerisme dret: CAV + TGA + EP	
Isomerisme dret: AT + VDDS + TGA + EP	
Isomerisme dret: CAV + VDDS + AP + ColAP	
Isomerisme dret: CAV + VU + TGA + EP	
Isomerisme dret: CAV + VDDS + TGA + EP	
Isomerisme dret: CAV + VDDS + TGA + IAA	
Canal auriculo-ventricular + transposició grans vasos	
Atrèsia tricúspide + atrèsia aòrtica	
Ventricle únic + transposició grans artèries + coartació aorta	
Atrèsia mitral + ventricle dret doble sortida	
<b>Grup 3: irrigació cerebral amb alt contingut de sang placentària</b>	
Atrèsia tricúspide	12
Anomalia d'Ebstein	4
Estenosi pulmonar	3
Atrèsia pulmonar	1

CAV, canal auriculo-ventricular; TGA, transposició de grans artèries; EP, estenosi pulmonar; AT, atrèsia tricúspide; VDDS, ventricle dret doble sortida; AP, atrèsia pulmonar; ColAP, col-laterals aorto-pulmonars; VU, ventricle únic; IAA, interrupció arc aòrtic.

Pel que fa a l'avaluació Doppler de la perfusió cerebral, els fetus amb CC presentaven valors Z de l'IP de l'ACM i de la RCP significativament inferiors i valors Z del FMBV significativament superiors al grup control (taula 6.1.2). De manera similar, hi havia un increment significatiu en la proporció de casos amb un IP de l'ACM i RCP per sota del percentil 5 i amb un FMBV per sobre del percentil 95. En canvi, quan comparàvem en funció del tipus de CC i el patró de perfusió cerebral esperat, no hi havia diferències clares. Tots

els grups de CC presentaven valors anormals respecte els controls i hi havia certa tendència a presentar millors valors del FMBV del grup 1 al grup 3 (taula 6.1.3).

**TAULA 6.1.2.** Comparació dels paràmetres biomètrics i de l'estudi Doppler entre CC i controls.

	CC (n=95)	Control (n=95)	P*
EG ECO (setm)	22.3 (20 – 23.5)	22.2 (20.2 – 23.6)	0.922
<b>Biometries fetals</b>			
DBP (valor Z)	-1.61 +/- 0.82	-0.43 +/- 1.15	<0.001
PC (valor Z)	-0.89 +/- 1.43	0.09 +/- 0.74	<0.001
PA (valor Z)	0.27 +/- 0.79	0.17 +/- 0.54	0.300
LF (valor Z)	-0.09 +/- 1.26	-0.19 +/- 0.88	0.506
DBP <p5	49 (51.6%)	13 (13.7%)	<0.001
PC < p5	25 (26.3%)	4 (4.2%)	<0.001
PA < p5	1 (1.1%)	1 (1.1%)	0.751
LF < p5	1 (1.1%)	3 (3.2%)	0.312
<b>Estudi Doppler</b>			
IP AU (valor Z)	-0.41 +/- 0.62	-0.19 +/- 0.59	0.105
IP ACM (valor Z)	-0.23 +/- 1.09	0.34 +/- 1.07	<0.001
RCP (valor Z)	-0.37 +/- 1.29	0.30 +/- 1.10	<0.001
FMBV (valor Z)	2.35 +/- 1.01	0.15 +/- 1.34	<0.001
IP AU > p95	1 (1.1%)	---	0.316
IP ACM < p5	10 (10.5%)	2 (2.1%)	0.017
RCP < p5	13 (13.7%)	3 (3.2%)	0.009
FMBV > p95	77 (81.1%)	10 (10.5%)	<0.001

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS, n (%) o mediana (rang). \* Valor P calculat mitjançant la prova de T-Student, khi-quadrat (X<sup>2</sup>) de Pearson o la prova exacte de Fisher. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; ECO, ecografia; DBP, diàmetre biparietal; PC, perímetre cranial; PA, perímetre abdominal; LF, longitud fèmur; IP, índex pulsatilitat; AU, artèria umbilical; ACM, artèria cerebral mitja; RCP, ràtio cerebro-placentària; FMBV, volum fracció sanguínia en moviment.

**TAULA 6.1.3.** Comparació dels paràmetres biomètrics i de l'estudi Doppler dividint els casos de CC en diferents grups en funció del patró de perfusió cerebral esperat segons el tipus de CC.

	Grup CC 1 (n=42)	Grup CC 2 (n=33)	Grup CC 3 (n=20)	Control (n=95)
EG ECO (stm)	21.6 (20.5 – 23.4)	22.1 (20.0 – 23.5)	22.3 (20.5 – 23.2)	22.2 (20.2 – 23.6)
<b>Biometries fetals</b>				
DBP (valor Z)	-1.68 +/- 0.73*	-1.48 +/- 0.92*	-1.49 +/- 0.81*	-0.43 +/- 1.15
PC (valor Z)	-0.92 +/- 0.98*	-0.84 +/- 1.29*	-0.80 +/- 1.83*	0.09 +/- 0.74
PA (valor Z)	0.14 +/- 0.74	0.26 +/- 0.84	0.25 +/- 0.78	0.17 +/- 0.54
LF (valor Z)	0.23 +/- 1.01	0.05 +/- 1.01	0.18 +/- 1.71	-0.19 +/- 0.88
DBP anormal (<p5)	25 (59.5%)*	15 (45.5%)*	9 (45.0%)*	13 (13.7%)
PC anormal (<p5)	11 (26.2%)*	7 (21.2%)*	4 (20%)*	4 (4.2%)
PA anormal (<p5)	1 (2.4%)	---	---	1 (1.1%)
LF anormal (<p5)	---	2 (6.0%)	---	3 (3.2%)
<b>Estudi Doppler</b>				
IP AU (valor Z)	-0.37 +/- 0.81	-0.49 +/- 0.54	-0.41 +/- 0.54	-0.58 +/- 0.59
IP ACM (valor Z)	-0.28 +/- 1.07*	-0.22 +/- 1.13*	-0.28 +/- 1.08*	0.34 +/- 1.07
RCP (valor Z)	-0.51 +/- 1.41*	-0.37 +/- 1.14*	-0.35 +/- 1.10*	0.30 +/- 1.10
FMBV (valor Z)	2.53 +/- 0.97*	2.42 +/- 0.78*	1.73 +/- 1.30*	0.15 +/- 1.34
IP AU anormal (>p95)	---	1 (3.0%)	---	---
IP ACM anormal (<p5)	6 (14.2%)*	3 (9.1%)*	1 (5.0%)	2 (2.1%)
RCP anormal (<p5)	7 (16.7%)*	4 (12.1%)*	2 (10.0%)	3 (3.2%)
FMBV anormal (>p95)	38 (90.5%)*	26 (78.8%)*	13 (65.0%)*	10 (10.5%)

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS, n (%) o mediana (rang). Diferències entre els diferents grups d'estudi avaluades mitjançant ANOVA amb correcció de Bonferroni. Grup 1: irrigació cerebral amb baix contingut de sang placentària; Grup 2: irrigació cerebral amb contingut intermedi de sang placentària i sistèmica; Grup 3: irrigació cerebral amb alt contingut de sang placentària. \*P<0.05, grup 1, 2 o 3 vs control. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; ECO, ecografia; DBP, diàmetre biparietal; PC, perímetre cranial; PA, perímetre abdominal; LF, longitud fèmur; IP, índex pulsatilitat; AU, artèria umbilical; ACM, artèria cerebral mitja; RCP, ràtio cerebro-placentària; FMBV, volum fracció sanguínia en moviment.

---

## 6.2-Estudi 2: Severity of fetal brain abnormalities in congenital heart disease in relation with the main expected pattern of in utero brain supply.

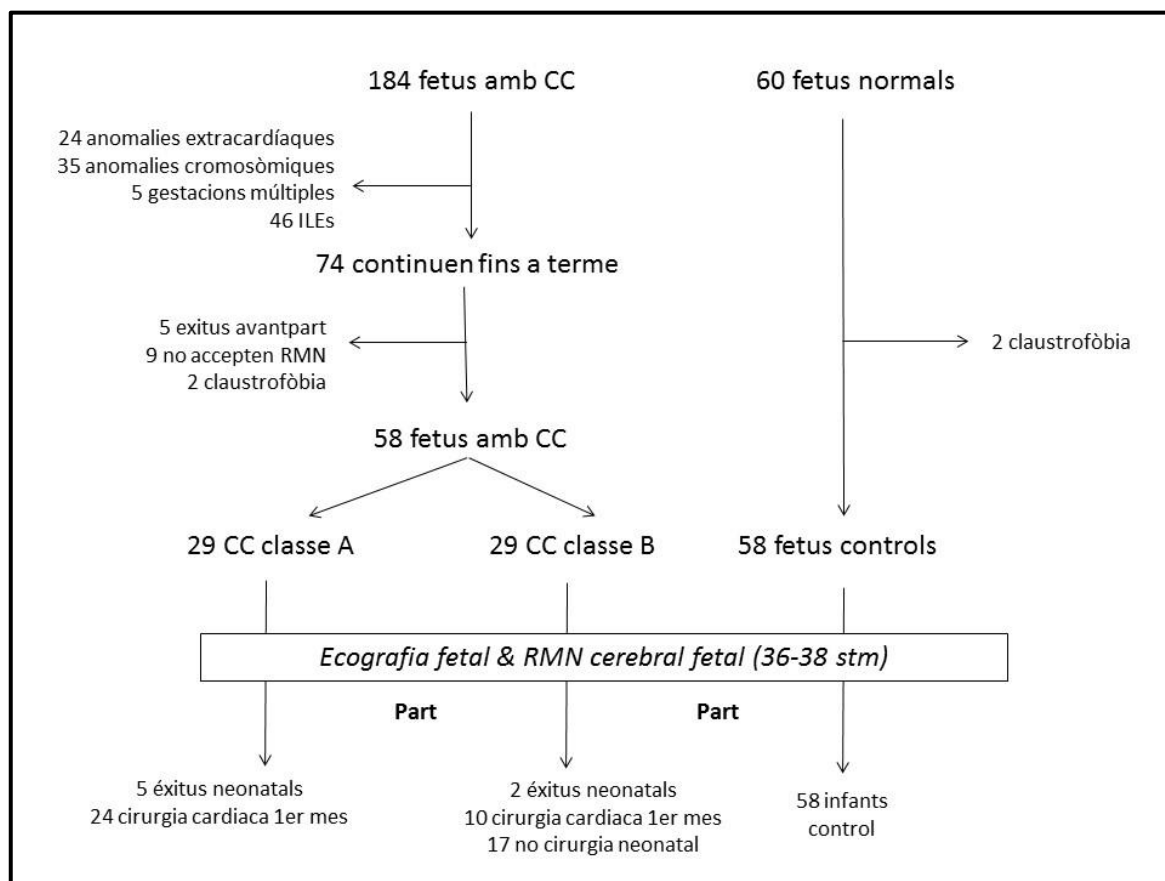
En aquesta població d'estudi no existien diferències en les variables basals de les pacients incloses en els tres grups d'estudi. La distribució dels tipus de CC incloses en cada grup d'estudi es mostra a la taula 6.2.1. Tampoc hi havia diferències en els resultats perinatals dels tres grups, a excepció d'una major taxa de nadons amb baix pes al néixer i d'una major taxa de mort neonatal en els grups amb CC respecte el grup control. En la figura 7 es pot observar el diagrama de flux de les pacients incloses en l'estudi.

**TAULA 6.2.1.** Distribució dels tipus de CC en els diferents grups d'estudi.

	CC classe A (n=29)	CC classe B (n=29)	Controls (n=58)
Hipoplàsia d'arc aòrtic	13	---	NA
Estenosi aòrtica crítica	5	---	NA
Hipoplàsia ventricles esquerre	1	---	NA
Transposició grans artèries	10	---	NA
Canal auriculo-ventricular	---	3	NA
Tetralogia de Fallot	---	9	NA
Truncus arteriós	---	1	NA
Atrèsia tricúspide	---	4	NA
Anomalia d'Ebstein	---	5	NA
Estenosi / atrèsia pulmonar	---	5	NA
CC complexa	---	2	NA

CC classe A: perfusió cerebral amb un baix contingut de sang provinent de la placenta.  
CC classe B: perfusió cerebral amb un contingut intermedi de sang provinent de la placenta i de nivell sistèmic. CC, cardiopatia congènita; NA, no aplica.

**Figura 7. Diagrama de flux de les pacients introduïdes en l'estudi**



CC, cardiopatia congènita; ILEs; interrupció legal de l'embaràs; RMN, ressonància magnètica.

## AVALUACIÓ ECOGRÀFICA

L'avaluació ecogràfica es va realitzar a les 36-38 setmanes. En l'estudi biomètric, quan comparaven amb els controls, les dues classes de CC presentaven valors Z del DBP i del PC significativament disminuïts, així com també una proporció significativament superior d'aquestes mesures per sota del percentil 5 (taula 6.2.2). A més, tal com s'observa en la figura 8, existeix una tendència lineal significativa a favor de diferències més pronunciades en les CC classe A. No hi havia diferències en els valors Z del PA, la LF i del PFE entre els tres grups d'estudi.

Fixant-nos en l'avaluació Doppler, les classes A i B de CC presentaven valors Z de l'IP de l'ACM i de la RCP significativament inferiors i valors Z del FMBV significativament

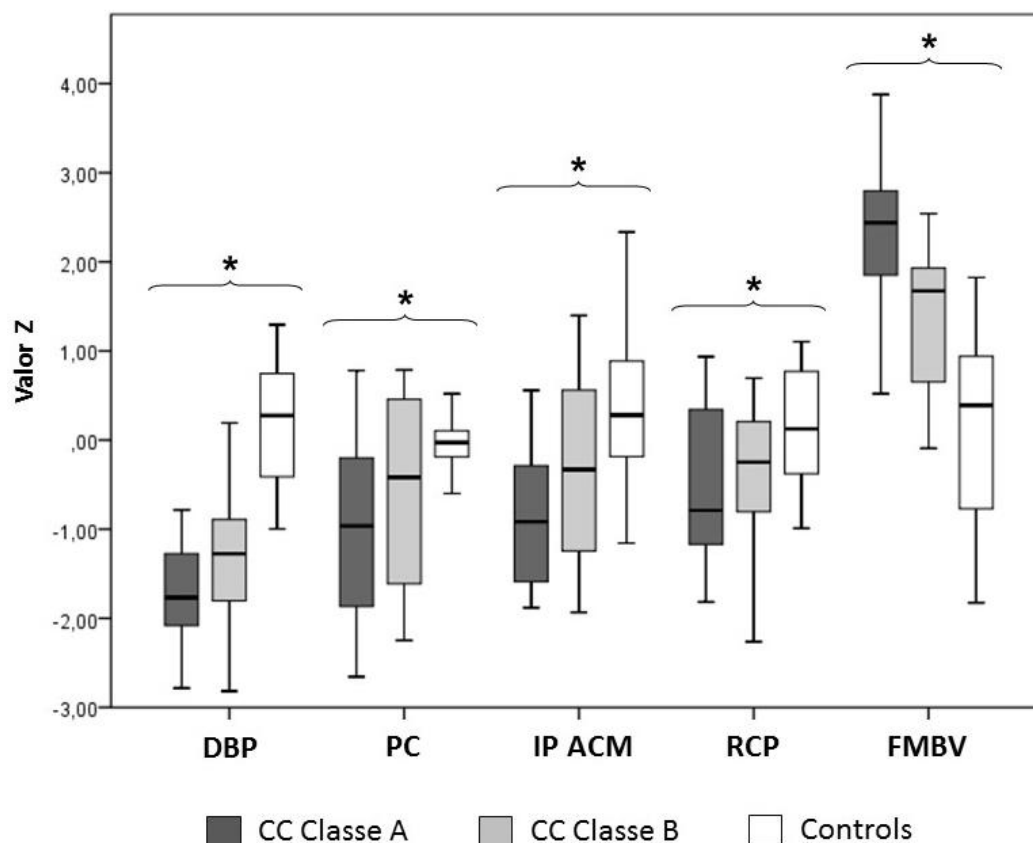
superiors respecte els controls. D'acord amb aquestes dades, la proporció de valors anormals d'aquests paràmetres també era més gran en els dos grups de CC que en els controls. Altra vegada, hi havia una tendència lineal significativa a presentar diferències més marcades en les CC de la classe A.

**TAULA 6.2.2.** Paràmetres de l'avaluació ecogràfica a terme en els diferents grups d'estudi.

	CC classe A (n=29)	CC classe B (n=29)	Controls (n=58)	P *
EG ecografia (setm)	37.2 ± 0.3	37.1 ± 0.5	37.3 ± 0.4	0.25
<b>Biometries fetals</b>				
DBP (valor Z)	-1.76 ± 0.64†‡	-1.25 ± 0.75†	0.21 ± 0.97	<0.01
DBP < p5 (%)	59†‡	28†	3	<0.01
PC (valor Z)	-0.99 ± 1.07†‡	-0.39 ± 0.10†	-0.03 ± 0.47	<0.01
PC < p5 (%)	41†‡	21†	3	<0.01
PA (valor Z)	0.48 ± 0.83	0.27 ± 0.97	0.15 ± 0.80	0.12
PA < p5 (%)	0	3	0	0.21
LF (valor Z)	-0.30 ± 1.07	-0.25 ± 0.88	-0.16 ± 0.64	0.17
LF < p5 (%)	0	7	2	0.31
PFE (grams)	2922 ± 387	2858 ± 337	3012 ± 311	0.13
PFE < p10 (%)	10	7	0	0.06
<b>Estudi Doppler</b>				
IP AU (valor Z)	-0.04 ± 0.64	-0.08 ± 0.46	-0.06 ± 0.44	0.83
IP AU > p95 (%)	0	0	0	1.00
IP ACM (valor Z)	-0.95 ± 0.95†‡	-0.29 ± 1.14†	0.18 ± 1.06	<0.01
IP ACM < p5 (%)	38†‡	17†	0	<0.01
RCP (valor Z)	-0.87 ± 1.10†‡	-0.26 ± 1.00†	0.05 ± 1.01	<0.01
RCP < p5 (%)	35†‡	14†	0	<0.01
FMBV (valor Z)	2.30 ± 0.80†‡	1.57 ± 0.93†	0.27 ± 1.12	<0.01
FMBV > p95 (%)	86†‡	59†	7	<0.01

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS o %. \* Valor P de tendència lineal calculada mitjançant anàlisi multivariats de la covariància. Diferències entre els diferents grups d'estudi avaluades mitjançant ANOVA amb correcció de Bonferroni. †P<0.05, controls vs CC classe A o CC classe B. ‡P<0.05, CC classe A vs classe B. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; DBP, diàmetre biparietal; PC, perímetre cranial; PA, perímetre abdominal; LF, longitud fèmur; PFE, pes fetal estimat; IP, índex pulsatilitat; AU, artèria umbilical; ACM, artèria cerebral mitja; RCP, ràtio cerebro-placentaria; FMBV, volum fracció sanguínia en moviment.

**Figura 8. Resultats de l'avaluació ecogràfica a terme**



\* Tendència lineal significativa ( $p < 0.05$ ) calculada mitjançant anàlisi multivariats de la covariància. CC, cardiopatia congènita; DBP, diàmetre biparietal; PC, perímetre cranial; IP, índex pulsatilitat; ACM, artèria cerebral mitja; RCP, ràtio cerebro-placentari; FMBV, volum fracció sanguínia en moviment.

## ESTUDI VOLUMÈTRIC, DESENVOLUPAMENT CORTICAL I METABOLISME CEREBRAL PER RMN I ESPECTROSCÒPIA

Els fetus amb CC mostraven VCT, VIT i VO<sub>p</sub> significativament disminuïts respecte els fetus controls amb una tendència lineal significativa a través dels tres grups d'estudi (taula 6.2.3 i figura 9). Quan vam avaluar el patró de desenvolupament cortical, els fetus amb CC presentaven un descens significatiu en la profunditat de les cissures CP-O, CCing i CCalc de manera bilateral, i un disminució de la profunditat del lòbul de la ínsula esquerra en comparació amb els controls. Altra vegada vam observar una tendència lineal significativa cap a diferències més pronunciades en els fetus amb CC classe A.

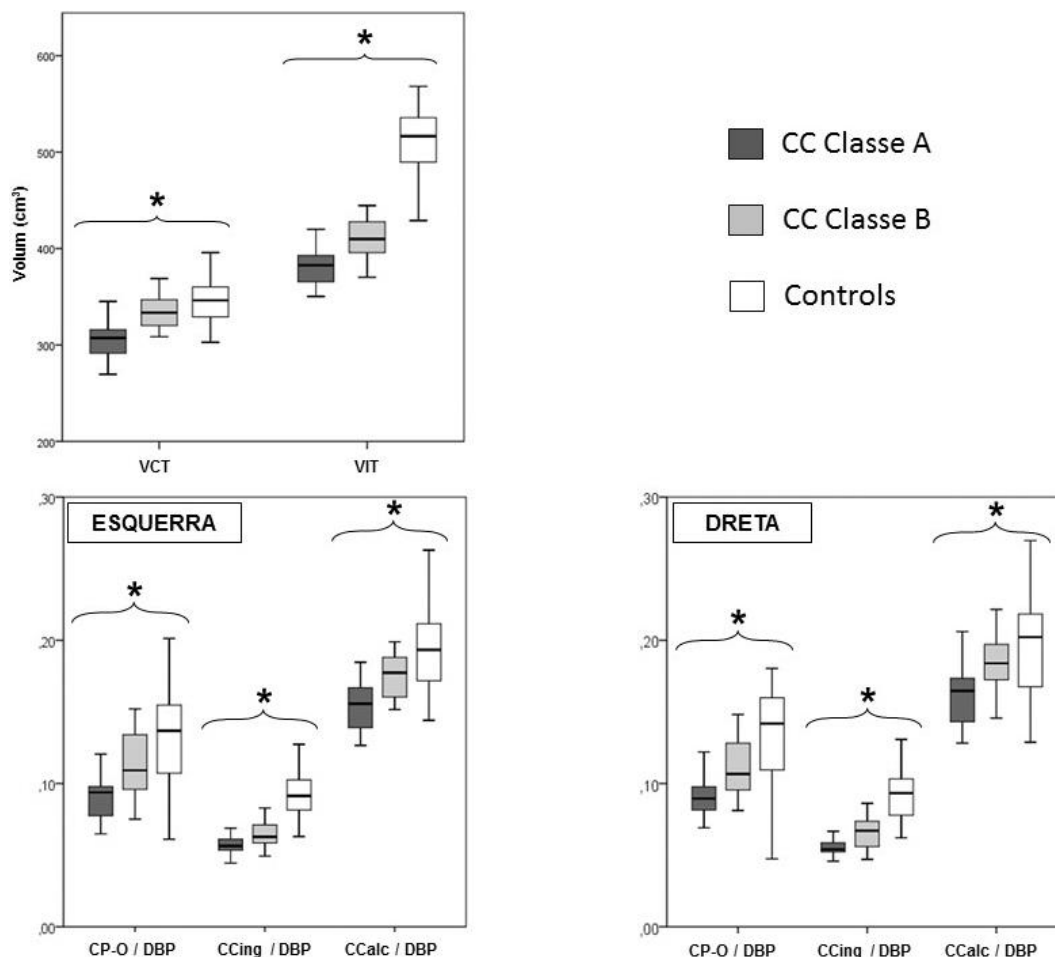
**TAULA 6.2.3.** Resultats de la RMN a terme en els diferents grups d'estudi.

	CC classe A (n=29)	CC classe B (n=29)	Controls (n=58)	P *
EG a RMN (setm)	37.2 ± 0.4	37.1 ± 0.4	37.3 ± 0.4	0.29
<b>Volums cerebrals</b>				
VCT (cm <sup>3</sup> )	306.7 ± 21.9 <sup>†‡</sup>	329.7 ± 32.3 <sup>†</sup>	344.4 ± 22.0	<0.01
VIT (cm <sup>3</sup> )	382.2 ± 22.1 <sup>†‡</sup>	406.2 ± 40.0 <sup>†</sup>	514.1 ± 36.1	<0.01
VOp esq / VIT (x1000)	3.33 ± 0.62 <sup>†</sup>	3.62 ± 0.57 <sup>†</sup>	5.79 ± 1.27	<0.01
VOp dret / VIT (x1000)	3.20 ± 0.77 <sup>†</sup>	3.59 ± 0.60 <sup>†</sup>	5.55 ± 1.59	<0.01
VOp total / VIT (x1000)	6.53 ± 1.24 <sup>†</sup>	7.20 ± 1.03 <sup>†</sup>	11.33 ± 2.65	<0.01
<b>Patró de desenvolupament cortical</b>				
Ins esq / DBP	0.304 ± 0.012 <sup>†</sup>	0.299 ± 0.014 <sup>†</sup>	0.267 ± 0.031	<0.01
Ins dreta / DBP	0.308 ± 0.017	0.298 ± 0.014	0.319 ± 0.074	0.51
CLat esq / DBP	0.160 ± 0.022	0.156 ± 0.024	0.151 ± 0.024	0.03
CLat dreta / DBP	0.157 ± 0.022	0.152 ± 0.022	0.157 ± 0.051	0.94
CP-O esq / DBP	0.090 ± 0.014 <sup>†‡</sup>	0.108 ± 0.019 <sup>†</sup>	0.135 ± 0.036	<0.01
CP-O dreta / DBP	0.091 ± 0.013 <sup>†‡</sup>	0.111 ± 0.021 <sup>†</sup>	0.134 ± 0.034	<0.01
CCing esq / DBP	0.055 ± 0.007 <sup>†‡</sup>	0.065 ± 0.009 <sup>†</sup>	0.093 ± 0.015	<0.01
CCing dreta / DBP	0.057 ± 0.008 <sup>†‡</sup>	0.066 ± 0.010 <sup>†</sup>	0.092 ± 0.017	<0.01
CCalc esq / DBP	0.152 ± 0.031 <sup>†‡</sup>	0.173 ± 0.038 <sup>†</sup>	0.193 ± 0.029	<0.01
CCalc dreta / DBP	0.153 ± 0.029 <sup>†‡</sup>	0.172 ± 0.033 <sup>†</sup>	0.195 ± 0.032	<0.01

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS. \* Valor P de tendència lineal calculada mitjançant anàlisi multivariats de la covariància. Diferències entre els diferents grups d'estudi avaluades mitjançant ANOVA amb correcció de Bonferroni. †P<0.05, controls vs CC classe A o CC classe B. ‡P<0.05, CC classe A vs classe B. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; RMN, ressonància magnètica; VCT, volum cerebral total; VIT, volum intracranial total; VOp, volum opercular; DBP, diàmetre biparietal; Ins, ínsula; CLat, cissura lateral; CP-O, cissura parieto-occipital; CCing, cissura cingular; CCalc, cissura calcarina.



**Figura 9. Resultats de l'avaluació per RMN a terme**



CC, cardiopatia congènita; VCT, volum cerebral total; VIT, volum intracranial total; DBP, diàmetre biparietal; CP-O, cissura parieto-occipital; CCing, cissura cingular; CCalc, cissura calcarina.

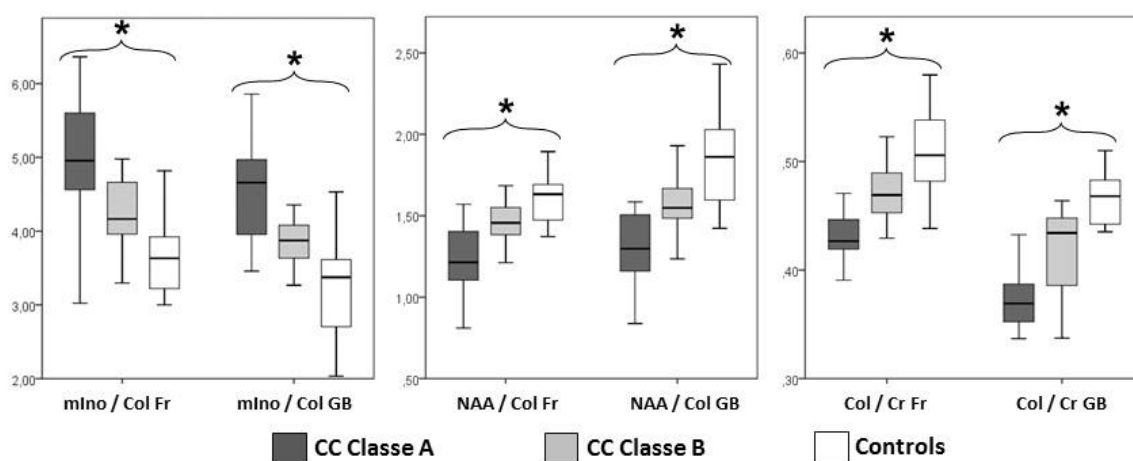
Respecte a l'estudi del metabolisme cerebral per espectroscòpia, dels 116 fetus inclosos, 94 casos – 48 (83%) CC (25 CC Classe A i 23 CC classe B) i 46 (79%) controls - complien els criteris de qualitat pel posterior anàlisi. En global, els fetus amb CC presentaven nivells incrementats de mIno/Col i nivells disminuïts de NAA/Col i de Col/Cr a nivell del lòbul frontal i dels ganglis basals respecte els fetus controls. De nou, també apareixia un tendència lineal significativa cap a canvis més pronunciats en les CC classe A (taula 6.2.4 i figura 10).

**TAULA 6.2.4.** Resultats de l'estudi espectroscòpic a terme en els diferents grups d'estudi.

Perfil metabòlic cerebral	CC classe A (n=25)	CC classe B (n=23)	Controls (n=46)	P *
EG a l'espectro (setm)	37.2 ± 0.4	37.1 ± 0.4	37.3 ± 0.4	0.27
<b>Àrea frontal</b>				
mIno / Col	4.94 ± 0.79 <sup>†‡</sup>	4.15 ± 0.50 <sup>†</sup>	3.62 ± 0.49	<0.01
NAA / Col	1.23 ± 0.21 <sup>†‡</sup>	1.46 ± 0.13 <sup>†</sup>	1,61 ± 0.14	<0.01
Col / Cr	0.43 ± 0.04 <sup>†‡</sup>	0.47 ± 0.03 <sup>†</sup>	0.51 ± 0.06	<0.01
<b>Ganglis basals</b>				
mIno / Col	4.59 ± 0.67 <sup>†‡</sup>	3.86 ± 0.31 <sup>†</sup>	3.23 ± 0.65	<0.01
NAA / Col	1.31 ± 0.22 <sup>†‡</sup>	1.53 ± 0.20 <sup>†</sup>	1.85 ± 0.28	<0.01
Col / Cr	0.37 ± 0.03 <sup>†‡</sup>	0.43 ± 0.05	0.47 ± 0.02	<0.01

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS. \* Valor P de tendència lineal calculada mitjançant anàlisi multivariat de la covariància. Diferències entre els diferents grups d'estudi avaluades mitjançant ANOVA amb correcció de Bonferroni. †P<0.05, controls vs CC classe A o CC classe B. ‡P<0.05, CC classe A vs classe B. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; SRM, espectroscòpia; mIno, mioinositol; Col, colina; NAA, N-acetil-aspartat; Cr, creatina.

**Figura 10.** Resultats de l'avaluació per espectroscòpia a terme

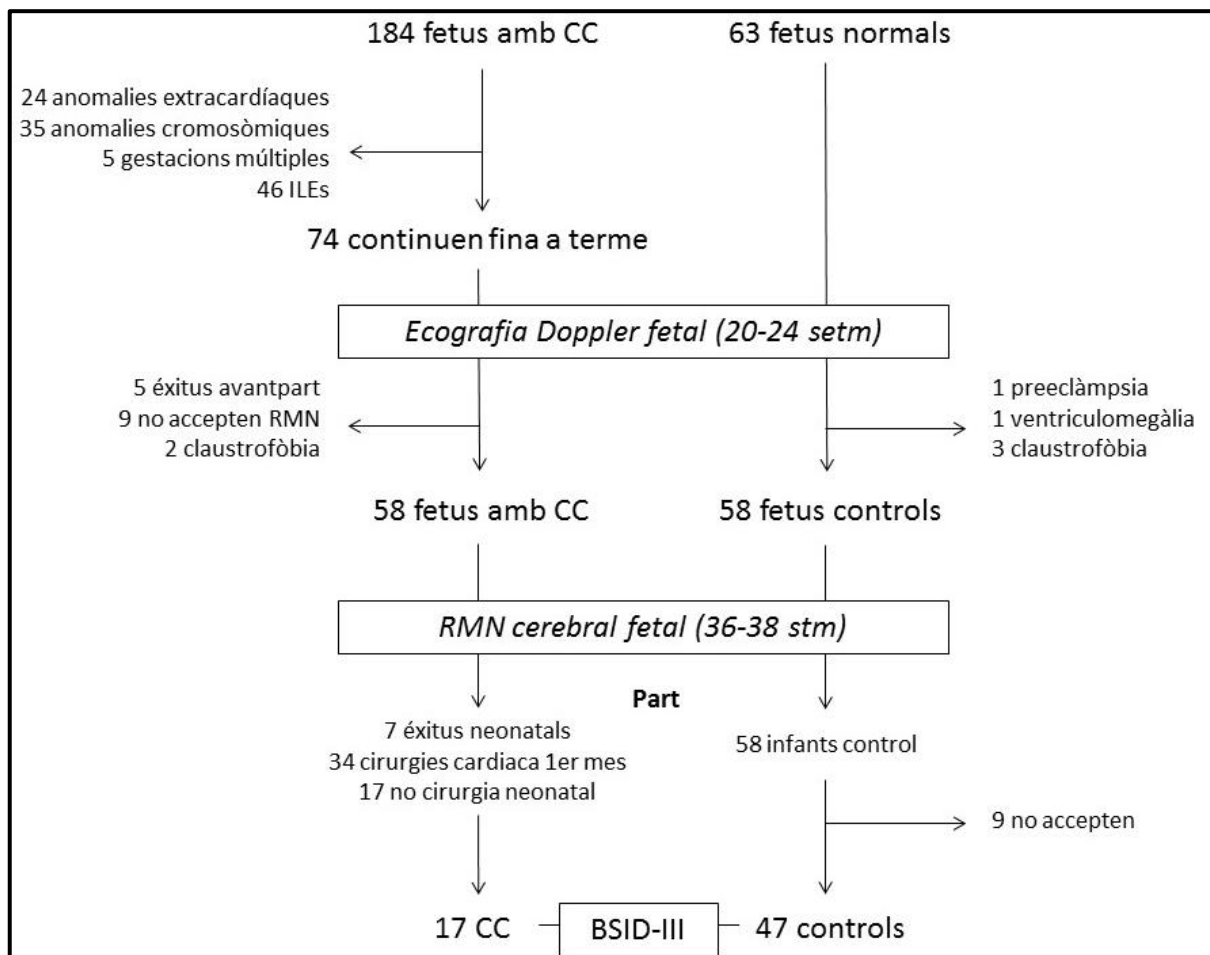


CC, cardiopatia congènita; mIno, mioinositol; Col, colina; NAA, N-acetil-aspartat; Cr, creatina; Fr, lòbul frontal; GB, ganglis basals.

### 6.3-Estudi 3: Mid-gestation brain Doppler and head biometry in fetuses with congenital heart disease predict abnormal brain development at birth.

En aquesta població, les variables basals dels casos i els controls no presentaven diferències significatives. La distribució dels tipus de CC incloses en el grup dels casos es pot observar a la taula 6.2.1. A la figura 11 es presenta el diagrama de flux de les pacients incloses a l'estudi.

**Figura 11.** Diagrama de flux de les pacients introduïdes en l'estudi

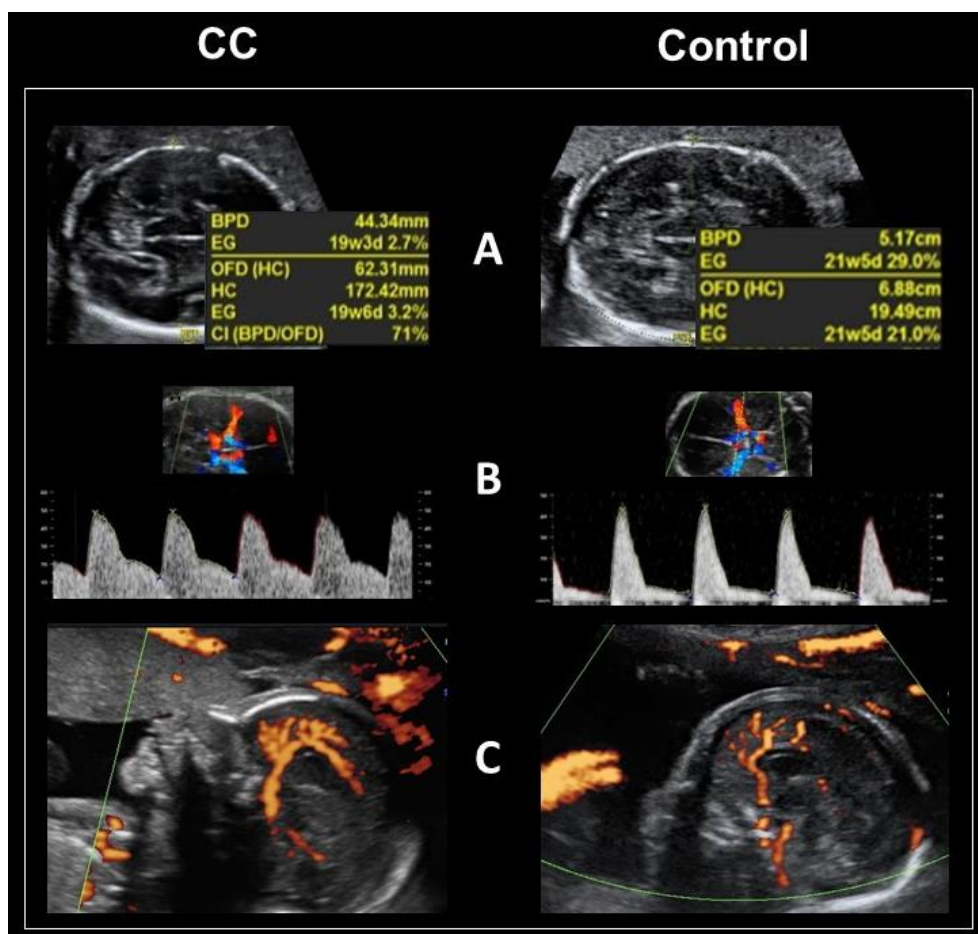


CC, cardiopatia congènita; ILEs; interrupció legal de l'embaràs; RMN, ressonància magnètica; BSID-III, Bayley scales of infant and toddler development, 3ed edition

## AVALUACIÓ ECOGRÀFICA A LES 20-24 SETMANES

A les 20-24 setmanes de gestació, els fetus amb CC presentaven una disminució significativa dels valors Z del DBP i del PC, amb una proporció significativament major de fetus amb DBP i PC per sota del de percentil 5 respecte el grup control. En canvi, no hi havia diferències en el PA i la LF. Aquests fetus també mostraven valors Z significativament inferiors de l'IP de l'ACM i del RCP, i valors Z significativament majors del FMBV respecte els fetus controls (figura 12 i taula 6.3.1).

**Figura 12.** Paràmetres de l'avaluació ecogràfica en els dos grups d'estudi



Es visualitzen les diferències, entre els dos grups d'estudi, en el paràmetres de l'avaluació ecogràfica a les 20-24 setmanes de gestació: A, biometries cefàliques; B, estudi de Doppler de la ACM; C, avaluació del FMBV.

**TAULA 6.3.1.** Resultats de l'avaluació ecogràfica a les 20-24 setm.

	CC (n=58)	Controls (n=58)	P *
EG ecografia (setm)	22.3 ± 0.9	22.1 ± 0.8	0.690
<b>Biometries fetals</b>			
DBP (valor Z)	-1.12 ± 1.00	-0.05 ± 0.91	<0.01
DBP < p5 (%)	41	5	<0.01
PC (valor Z)	-0.78 ± 1.13	0.16 ± 0.72	0.01
PC < p5 (%)	29	3	<0.01
PA (valor Z)	0.46 ± 0.87	0.24 ± 0.58	0.11
PA < p5 (%)	---	2	0.31
LF (valor Z)	0.15 ± 0.84	-0.10 ± 0.92	0.13
LF < p5 (%)	---	2	0.31
PFE (grams)	454 ± 56	468 ± 68	0.08
PFE < p10 (%)	11	---	<0.01
<b>Estudi Doppler</b>			
IP AU (valor Z)	-0.61 ± 0.54	-0.16 ± 0.54	0.59
IP AU > p95 (%)	---	---	1.00
IP ACM (valor Z)	-0.54 ± 1.20	0.05 ± 1.04	<0.01
IP ACM < p5 (%)	20	2	<0.01
RCP (valor Z)	-0.45 ± 1.37	0.19 ± 1.14	<0.01
RCP < p5 (%)	20	2	<0.01
FMBV (valor Z)	2.09 ± 0.83	0.09 ± 1.43	<0.01
FMBV > p95 (%)	78	17	<0.01

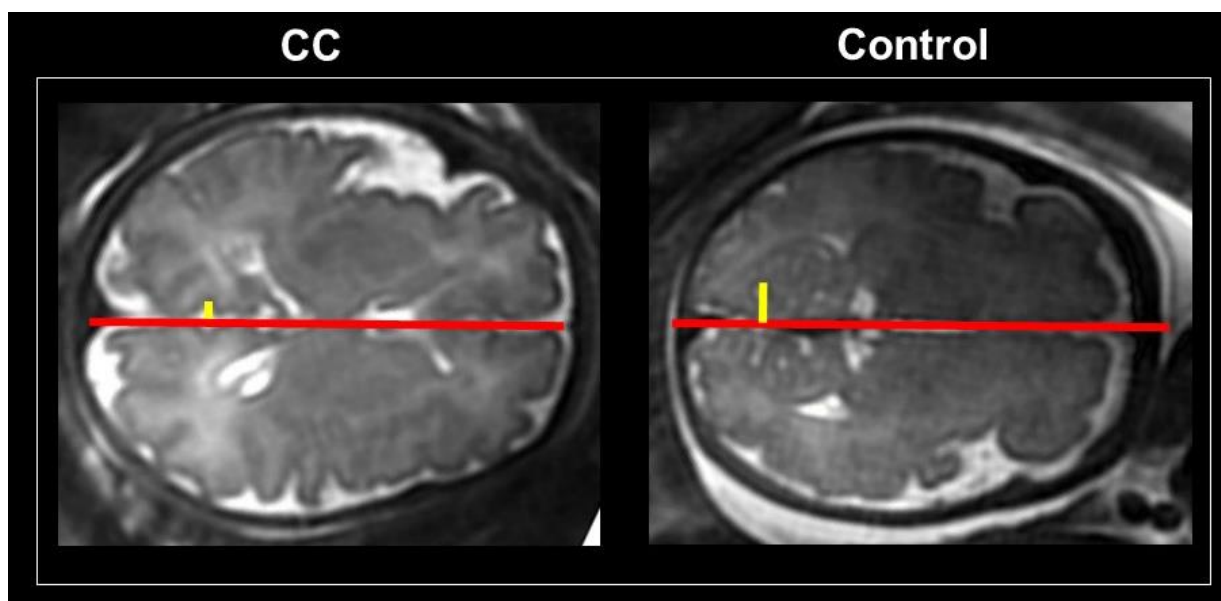
Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS o %. \* Valor P calculat mitjançant la prova de T-Student, khi-quadrat (X<sup>2</sup>) de Pearson o la prova exacte de Fisher segons convingui. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; DBP, diàmetre biparietal; PC, perímetre cranial; PA, perímetre abdominal; LF, longitud fèmur; PFE, pes fetal estimat; IP, índex pulsatilitat; AU, artèria umbilical; ACM, artèria cerebral mitja; RCP, ràtio cerebro-placentaria; FMBV, volum fracció sanguínia en moviment.

---

## ESTUDI VOLUMÈTRIC, DESENVOLUPAMENT CORTICAL I METABOLISME CEREBRAL A TERME PER RMN I ESPECTROSCÒPIA

En l'estudi cerebral fetal per RMN a terme, els fetus amb CC presentaven VCT, VIT i VOp significativament disminuïts respecte els fetus controls. Quan vam estudiar el patró de desenvolupament cortical, els fetus amb CC també presentaven una disminució significativa de la profunditat de les cissures CP-O, CCing i CCalc respecte els fetus controls. A més, en aquests fetus es va observar també un increment significatiu de la profunditat del lòbul de la ínsula esquerra. No es van observar diferències entre els dos grups a nivell de la ínsula dreta, ni a nivell d'ambdues CLat (figura 13 i taula 6.3.2).

**Figura 13.** Avaluació de la profunditat de la cissura CP-O en els dos grups d'estudi



La "línia vermella" mostra la cissura inter-hemisfèrica. La "línia groga" mostra la profunditat de la cissura CP-O, significativament disminuïda en el fetus amb CC respecte el fetus control. CC; cardiopatia congènita.

**TAULA 6.3.2.** Resultats de la RMN a terme.

	<b>CC (n=58)</b>	<b>Controls (n=58)</b>	<b>P *</b>
EG a RMN (setm)	37.2 ± 0.4	37.3 ± 0.4	0.47
<b>Volums cerebrals</b>			
VCT (cm <sup>3</sup> )	318.2 ± 29.7	344.4 ± 22.0	<0.01
VIT (cm <sup>3</sup> )	394.2 ± 34.1	514.1 ± 36.1	<0.01
VOp esq / VIT (x1000)	3.47 ± 0.61	5.78 ± 1.27	<0.01
VOp dret / VIT (x1000)	3.39 ± 0.71	5.55 ± 1.58	<0.01
VOp total / VIT (x1000)	6.87 ± 1.17	11.33 ± 2,65	<0.01
<b>Patró de desenvolupament cortical</b>			
Ins esq / DBP	0.301 ± 0.013	0.267 ± 0.031	<0.01
Ins dreta / DBP	0.303 ± 0.016	0.319 ± 0.074	0.18
CLat esq / DBP	0.158 ± 0.023	0.151 ± 0.024	0.38
CLat dreta / DBP	0.155 ± 0.022	0.157 ± 0.051	0.37
CP-O esq / DBP	0.099 ± 0.019	0.136 ± 0.036	<0.01
CP-O dreta / DBP	0.101 ± 0.020	0.135 ± 0.034	<0.01
CCing esq / DBP	0.061 ± 0.009	0.093 ± 0.015	<0.01
CCing dreta / DBP	0.061 ± 0.010	0.093 ± 0.017	<0.01
CCalc esq / DBP	0.163 ± 0.036	0.193 ± 0.029	<0.01
CCalc dreta / DBP	0.163 ± 0.038	0.195 ± 0.032	<0.01

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS. \* Valor P calculat mitjançant anàlisi multivariat de la covariància ajustant per edat gestacional a la RMN, tabaquisme i índex de massa corporal. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; RMN, ressonància magnètica; VCT, volum cerebral total; VIT, volum intracranial total; VOp, volum opercular; DBP, diàmetre biparietal; Ins, ínsula; CLat, cissura lateral; CP-O, cissura parieto-occipital; CCing, cissura cingular; CCalc, cissura calcarina.

En l'estudi per espectroscòpia, dels 116 fetus inclosos en l'estudi, 48 fetus amb CC i 46 controls van complir els criteris de qualitat per a l'anàlisi. Així, els fetus amb CC van mostrar canvis significatius en el patró metabòlic cerebral respecte els controls. Es van trobar

nivells significativament incrementats de la ràtio mIno/Col a nivell del lòbul frontal i dels ganglis basals, i nivells significativament disminuïts de la ràtio NAA/Col i Col/Cr en les dues àrees esmentades respecte els fetus controls (taula 6.3.3 i figura 14). A més, en tres casos (un cas de hipoplàsia de ventricle esquerre, un cas de TGA i un cas de atrèsia tricúspide) es va identificar un pic de lactat.

**TAULA 6.3.3. Resultats de l'estudi espectroscòpic a terme.**

<b>Perfil metabòlic cerebral</b>	<b>CC (n=48)</b>	<b>Controls (n=46)</b>	<b>P *</b>
EG a l'espectro (setm)	37.2 ± 0.3	37.3 ± 0.4	0.32
<b>Àrea frontal</b>			
mIno / Col	4.64 ± 0.79	3.63 ± 0.49	<0.01
NAA / Col	1.34 ± 0.21	1,61 ± 0.14	<0.01
Col / Cr	0.48 +/- 0.05	0.51 ± 0.06	<0.01
<b>Ganglis basals</b>			
mIno / Col	4.24 ± 0.64	3.23 ± 0.65	<0.01
NAA / Col	1.44 ± 0.25	1.85 ± 0.28	<0.01
Col / Cr	0.40 ± 0.05	0.47 ± 0.03	<0.01

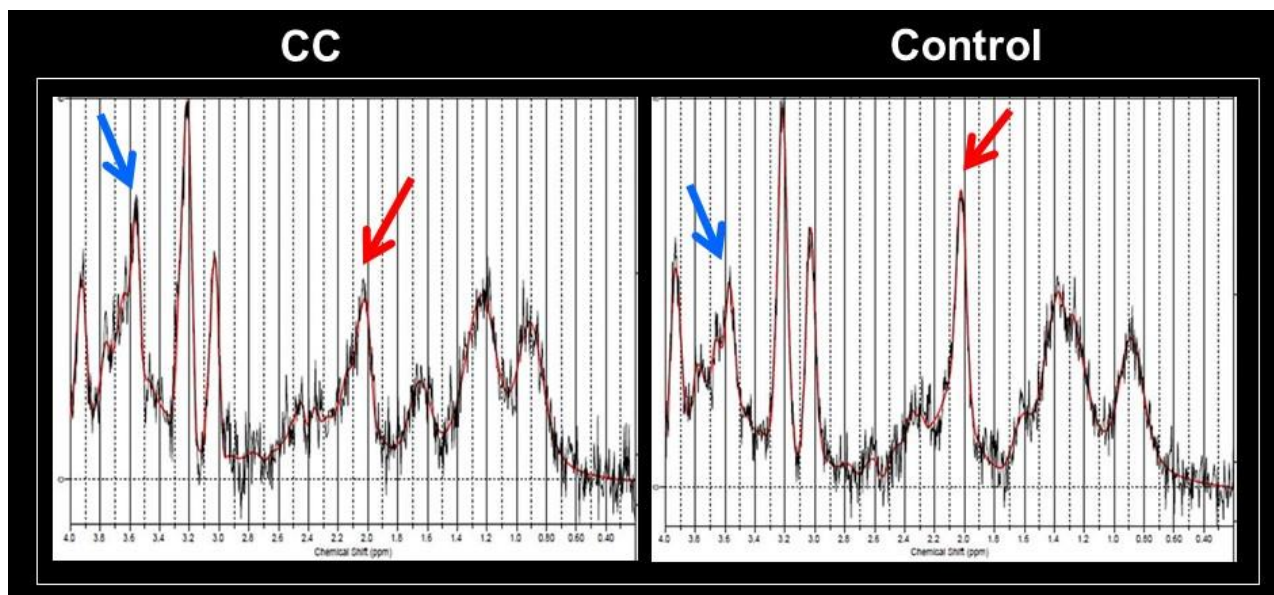
Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS. \* Valor P calculat mitjançant anàlisi multivariats de la covariància. CC, cardiopatia congènita; EG, edat gestacional; SRM, espectroscòpia; mIno, mioinositol; Col, colina; NAA, N-acetil-aspartat; Cr, creatina.

## RESULTATS PERINATALS

No es van identificar diferències entre els dos grups de l'estudi respecte a les complicacions de la gestació ni en la majoria dels resultats perinatal. Tal com era d'esperar, els fetus amb CC mostraven una tendència a presentar un menor pes al néixer, donada la presència d'una major proporció de nadons amb baix pes al néixer (<p10) quan es compara amb el grup control (17% vs 2%, p<0.01). El resultat postnatal d'aquests infants es mostra en la figura 11.



**Figura 14.** Gràfic resultat de l'anàlisi metabòlic cerebral a terme per espectroscòpia



En el gràfic es posen de manifest els canvis en el metabolisme cerebral en els fetus amb CC respecte els fetus controls. S'observa un increment significatiu en el pic de mIno (fletxa blava) i una disminució significativa en el pic de NAA (fletxa vermella). CC; cardiopatia congènita.

## ESTUDI DEL NEURODESENVOLUPAMENT POSTNATAL

La prova de neurodesenvolupament BSID-III es va realitzar als infants amb CC que no havien precisat cirurgia cardíaca correctora durant els primers 6 mesos de vida. Els resultats d'aquesta avaluació es mostren a la taula 6.3.4. Com es pot observar, els infants amb CC presentaven puntuacions significativament més baixes en totes les àrees del neurodesenvolupament avaluades per la prova, en comparació amb els controls. Globalment, els infants amb CC presentaven una proporció major de proves anormals respecte els controls, però aquestes diferències eren sobretot més marcades en l'àrea motora, socio-emocional i adaptativa.

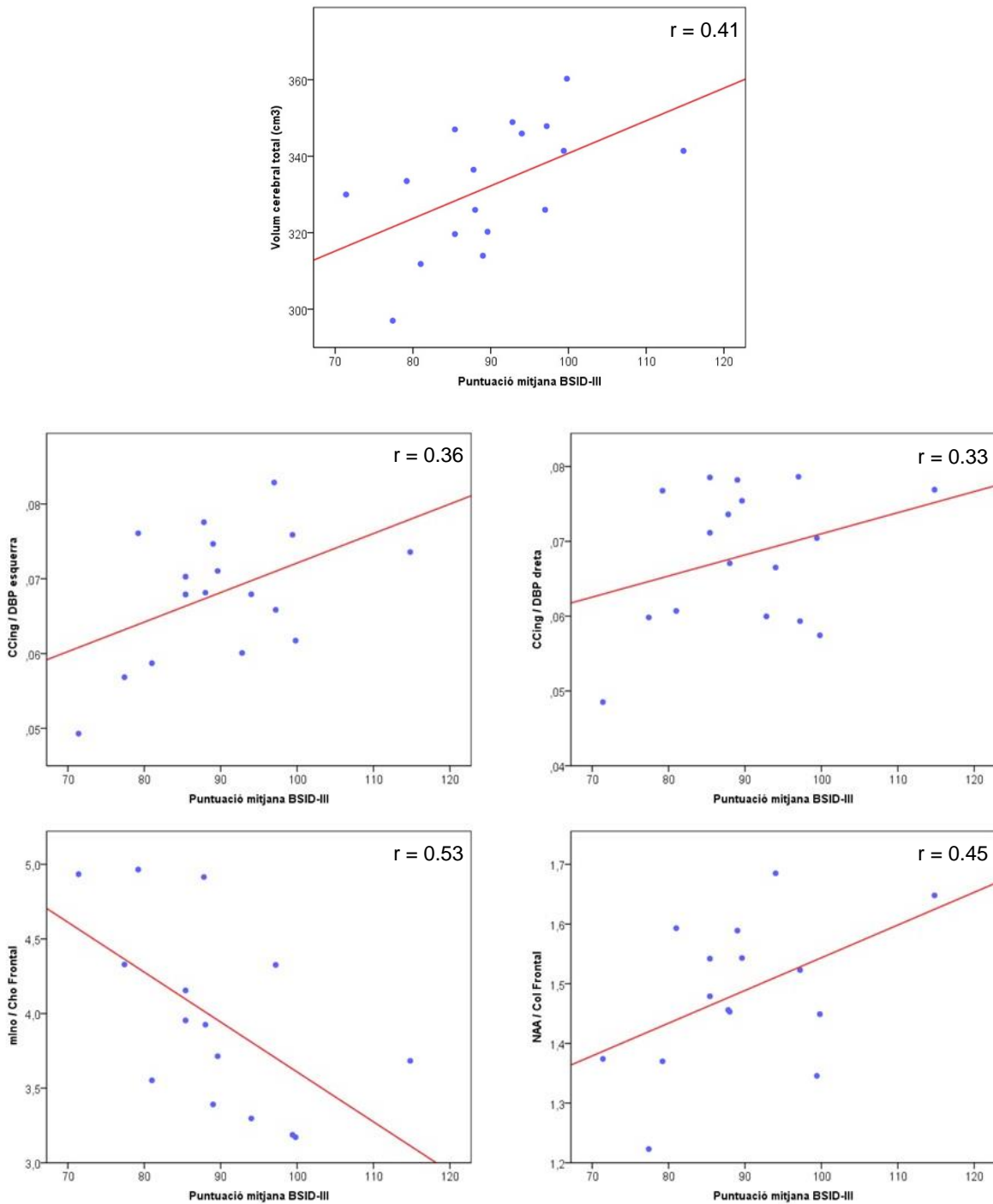
**Taula 6.3.4.** Estudi del neurodesenvolupament amb BSID-III d'estudi als 4-6 mesos de vida (abans de la cirurgia cardíaca).

Àrea de la prova	CC (n=17)	Controls (n=46)	P*
Cognitiva	91 ± 14	103 ± 22	0.03
Àrea cognitiva anormal (%) †	18	11	0.34
Llenguatge	97 ± 8	108 ± 17	0.01
Àrea llenguatge anormal (%) †	24	6	0.13
Motora	86 ± 11	100 ± 10	0.01
Àrea motora anormal (%) †	59	4	<0.01
Socio-emocional	85 ± 22	106 ± 24	<0.01
Àrea socio-emocional anormal, (%) †	53	23	<0.01
Adaptativa	89 ± 20	97 ± 16	0.04
Àrea adaptativa anormal (%) †	41	16	<0.01
Puntuació mitjana	89 ± 10	101 ± 10	<0.01

Els resultats s'expressen en forma de mitjana + DS. \* Valor P calculat mitjançant anàlisi multivariat de la covariància, khi-quadrat (X<sup>2</sup>) de Pearson o la prova exacte de Fisher segons convingui. † L'àrea es considerava anormal quan la puntuació era inferior a 85 punts (<1DS). CC; cardiopatia congènita

A l'avaluar la relació entre les variables de la RMN prenatal i la prova de neurodesenvolupament postnatal es va observar una correlació lineal significativa entre la puntuació mitjana del BSID-III i algunes de les variables de la RMN prenatal incloses en l'índex resultat de puntuació composta: VCT (r=0.410; p=0.02), CCing esquerra i dreta (r=0.359; p=0.04 i r=0.337; p=0.04, respectivament), ràtio mIno/Col frontal (r=-0.531; p<0.01) i ràtio NAA/Col frontal (r=0.452; p<0.01).

**Figura 15.** Gràfiques de correlació lineal entre variables de RMN prenatal i el BSID-III al 4-6 mesos de vida



## PREDICTORS DE DESENVOLUPAMENT CEREBRAL FETAL ANORMAL PER RMN

El desenvolupament cerebral fetal anormal va ser definit mitjançant un índex resultat de puntuació composta que inclou les següents variables de l'avaluació per RMN i espectroscòpia prenatal:

- Volum cerebral total <p10 o,
- Cissura parieto-occipital o Cissura Cingular <p10 o,
- Perfil metabòlic frontal anormal (mIno/Col >p90, NAA/Col <p10 o Col/Cr <p10)

Per avaluar la capacitat predictiva dels paràmetres de la ecografia de les 20-24 setmanes per predir un desenvolupament cerebral anormal definit com l'índex resultat de puntuació composta mencionat anteriorment, es va realitzar un anàlisi de regressió logística. Els resultats d'aquesta es mostren a la taula 6.3.5, i s'observa com els valors Z de l'IP de l'ACM, del PC i de la RCP eren predictors independents d'un desenvolupament cerebral anormal a terme. Les altres variables analitzades (DBP, FMBV i classe de CC) no van ser seleccionades com a predictors independents per aquest model.

**Taula 6.3.5.** Regressió logística per a la predicció dels resultats de la RMN cerebral fetal a terme a partir de paràmetres clínics i ecogràfics de les 20-24 setmanes en fetus amb CC.

Paràmetres ecografia 20-24 stm	Índex puntuació composta per una RMN anormal	
	P*	OR (CI 95%)*
IP ACM (valor Z)	0.01	12.7 (3.1 – 51.1)
PC (valor Z)	0.02	6.2 (2.4 – 25.8)
RCP (valor Z)	0.02	8.7 (2.0 – 31.4)
DBP (valor Z)	0.31	3.1 (0.8 – 12.8)
FMBV frontal (valor Z)	0.79	2.0 (0.5 – 13.1)
Classe de CC †	0.70	3.1 (0.9 – 14.5)

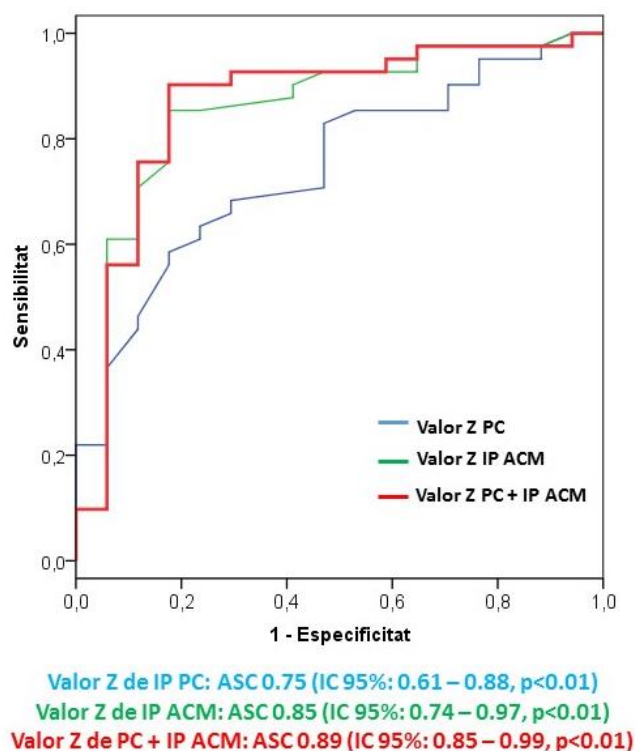
Valor P i Odds Ràtio calculats mitjançant un anàlisi de regressió logística per predir el següent índex resultat de puntuació composta: VCT<p10 o CP-O o CCing <p10 o SRM frontal anormal (mIno/Col >p90 o NAA/Col <p10 o Col/Cr <p10). †Classe de CC d'acord amb el patró esperat d'aportació de sang placentària (altament oxigenada i rica amb nutrients) al cervell fetal en funció del tipus de CC. RMN, ressonància magnètica; IP ACM, índex de pulsatilitat artèria cerebral mitja; PC, perímetre cranial; RCP, ràtio cerebro-placentaria; DBP, diàmetre biparietal; FMBV, volum fracció sanguínia amb moviment; CC, cardiopatia congènita.

L'anàlisi de regressió va suggerir que una combinació dels valors Z de l'IP de l'ACM i del PC proporcionava el millor model de classificació, que incloïa el 86,4% de la incertesa de tenir un desenvolupament cerebral anormal a terme (Nagelkerke  $r^2$ ). El següent model va aconseguir una capacitat de discriminació superior en comparació amb els paràmetres individuals: desenvolupament cerebral anormal =  $e^y / (1+e^y)$ :

$$Y = -3.78 + (\text{valor Z de l'IP ACM} * -2.23) + (\text{valor Z del PC} * -1.58)$$

La corba ROC (figura 15) d'aquest model presenta una àrea sota la corba de 89% (IC 95%: 85-99%).

**Figura 15.** Corbes ROC que il·lustren la capacitat predictiva dels paràmetres ecogràfics de les 20-24 stm sobre el desenvolupament cerebral a terme



PC, perímetre cranial; IP, índex pulsatilitat; ACM, artèria cerebral mitja; ASC, àrea sota la corba.

---

# 7. DISCUSSIÓ

---



---

## 7. DISCUSSIÓ

Aquesta tesi posa de manifest que les alteracions cerebrals dels infants amb CC apareixen ja durant la etapa fetal i, a més, aquests canvis es poden detectar de manera molt precoç durant el segon trimestre de la gestació. També demostra com, a part del tipus de CC, hi ha altres paràmetres que ens poden ajudar a predir, de manera precoç, quins són els fetus que tindran més risc de presentar anomalies en el desenvolupament cerebral a terme.

El nostre **primer estudi** confirma que els fetus amb CC presenten canvis en les biometries cefàliques i en la circulació cerebral en comparació amb els fetus controls i demostra, per primera vegada, que aquests canvis ja estan presents de manera molt precoç durant el segon trimestre de la gestació, a les 20-24 setmanes. A més, l'estudi ha demostrat que aquestes alteracions no només afecten a les CC més severes sinó que estan presents, en major o menor mesura, en tot tipus de CC.

Durant els últims anys, diversos estudis havien mostrat un increment en la prevalença de microcefàlia en els nadons amb CC abans de la cirurgia correctora<sup>20,24,34,36</sup>. *Donofrio et al.*<sup>30</sup>, per la seva banda, va ser el primer en demostrar que els fetus amb CC presentaven PC reduïts respecte els controls al tercer trimestre de la gestació, resultats que eren confirmats per *Arduini et al.* uns anys més tard<sup>35</sup>. En concordança amb aquests estudis, el nostre estudi demostra, per primera vegada, que una proporció important de fetus amb CC presenten un DBP i un PC per sota del percentil 5 (50% i 25%, respectivament) durant el segon trimestre de la gestació.

Quan ens centrem en els canvis en la circulació cerebral, els nostres resultats són comparables amb els dels estudis previs. Per exemple, com en el nostre estudi, *Kaltman et al.*<sup>31</sup> reportaven que els fetus amb hipoplàsia de cavitats esquerres tenien valors inferiors en l'IP de l'ACM durant el tercer trimestre. No obstant això, aquests autors van objectivar que els fetus amb lesions obstructives del tracte de sortida dret (majoritàriament estenosis pulmonars i tetralogia de Fallot) no presentaven diferències en les resistències cerebrovasculars respecte els controls<sup>31</sup>. En contrast amb aquest resultat, en el nostre estudi vam objectivar que els fetus amb CC dretes també presentaven una disminució de les resistències cerebrovasculars, i això s'explica perquè la nostra població presentava formes



---

més severes de CC dretes (majoritàriament atrèsia tricúspide i anomalia d'Ebstein). De la mateixa manera, posteriorment altres grups van demostrar també que els fetus amb CC presentaven resistències vasculars cerebrals disminuïdes respecte els fetus normals<sup>30,31,33-35</sup>. El nostre estudi aporta, per primera vegada, que un 10-15% dels fetus amb CC ja presenten signes de vasodilatació cerebral durant el segon trimestre de la gestació. No obstant això, no vam poder demostrar diferències en la perfusió cerebral quan vam subdividir els casos en diferents grups de CC segons el patró de circulació cerebral esperat en cada un d'ells. Tot i així, aquests resultats s'han d'interpretar amb cautela degut a la mida relativament petita dels diferents grups resultants. Una contribució addicional del nostre estudi és la utilització del FMBV, que és un mètode altament sensible que pot detectar canvis en la perfusió cerebral en els fetus de manera més precoç que l'estudi Doppler convencional<sup>63,64</sup>. Curiosament, el 81% dels fetus amb CC presentaven valors del FMBV a nivell del lòbul frontal cerebral per sobre del percentil 95. Aquestes troballes suggereixen amb molta força que, tot i que mostrin valors normals de la l'IP de l'ACM, la proporció de fetus amb CC que presenten canvis subtils en la circulació cerebral podria ser molt major. Determinar si aquests canvis subtils poden tenir alguna influència en el posterior neurodesenvolupament requereix nous estudis amb mostres més grans i amb seguiment postnatal.

En vista de la creixent evidència que apunta cap a un major risc de lesió cerebral, la predicció de neurodesenvolupament aviat es convertirà en un dels majors reptes en el maneig contemporani dels fetus i nadons amb CC. Des d'una perspectiva clínica, l'existència de canvis tan precoços en la perfusió cerebral d'aquests fetus obre el camí per a una major investigació per caracteritzar la història natural dels canvis en la reorganització cerebral d'aquest fetus. Tal coneixement podria aplanar el camí per a posteriors intervencions pre- o postnatales destinades a alterar els mecanismes que condueixen a aquesta remodelació cerebral i a la posterior alteració del neurodesenvolupament. Si els nostres resultats es confirmen en altres investigacions, el seguiment longitudinal dels paràmetres Doppler podria esdevenir un índex útil per a la identificació dels fetus amb més risc de presentar alteracions.

El nostre **segon estudi** demostra que les alteracions en el desenvolupament cerebral estan presents en la majoria de tipus de CC durant la fase final de la gestació. A més, les

---

dades confirmen que aquests canvis són molt més importants en aquells tipus de CC que presenten una alteració més marcada respecte el patró normal de subministrament de sang oxigenada al cervell, és a dir, en aquelles CC en què el cervell fetal es perfon amb un més baix contingut de sang provinent de la placenta (altament oxigenada i rica en nutrients).

Els resultats confirmen les dades prèvies, suggerint que les alteracions en el neurodesenvolupament en els fetus amb CC inclouen una disminució significativa de les biometries cefàliques en el moment del diagnòstic i en el tercer trimestre<sup>30,35</sup>, signes de redistribució cerebral avaluats mitjançant estudi Doppler convencional i FMBV<sup>30-32,34,35,65,66</sup>, reducció important dels VIT i VCT<sup>37</sup> i retard en el patró de desenvolupament cortical<sup>38</sup>. Finalment, també vam obtenir resultats similars als publicats prèviament en l'estudi espectroscòpic en recent nascuts<sup>20</sup> i en el tercer trimestre de gestació<sup>37</sup>, mostrant una disminució en els ràtios de NAA/Col en diferents àrees cerebrals. Pel que fa a l'associació entre el tipus de CC i el grau de lesió neurològica, algunes publicacions prèvies ja havien descrit canvis cerebrals més pronunciats en determinats tipus de CC, especialment en la hipoplàsia de cavitats esquerres<sup>8,38</sup>. En el nostre estudi es van dividir sistemàticament les CC en dos grups en funció de patró d'oxigenació cerebral esperat, cosa que ens va permetre proporcionar noves evidències concloents en suport a aquesta idea. A més, també cal destacar que el grup d'alt risc d'aquest estudi (CC classe A) només incloïa un cas de hipoplàsia de cavitats esquerres, revelant així que altres tipus de CC, que a priori presenten un millor pronòstic quirúrgic, com la coartació d'aorta amb hipoplàsia d'arc aòrtic o la TGA, també constitueixen un grup amb alt risc de presentar un desenvolupament cerebral anormal.

Des d'un punt de vista fisiopatològic, les nostres dades donen suport a l'antiga hipòtesi de que una aportació insuficient d'oxigen i nutrients al cervell fetal en desenvolupament juga un paper molt important en la lesió neurològica associada a les CC<sup>67</sup>. És interessant que, tal com succeeix amb altres condicions associades amb una alteració de l'oxigenació cerebral, com ara el retard de creixement intrauterí, la vasodilatació cerebral és una resposta fisiològica amb efectes protectors limitats<sup>68</sup>. Per tant, una vasodilatació cerebral més pronunciada normalment ens indicarà una reducció més severa de l'oxigen i/o nutrients subministrats al cervell i, probablement, un pitjor resultat en el desenvolupament neurològic

---

d'aquest fetus i/o infants. D'altra banda, l'ús del FMBV com un mètode altament sensible per detectar canvis subtils en la perfusió sanguínia, suggereix amb molta força que, malgrat presentin valors normals en l'estudi Doppler convencional de l'ACM, la proporció de fetus amb CC amb canvis en la circulació cerebral podria ser inclús molt major.

Des d'un punt de vista clínic, la identificació d'aquells tipus de CC associades a un espectre més greu d'alteracions cerebrals, permetria un millor assessorament als pacients en el moment del diagnòstic i permetria orientar quins casos de CC podrien beneficiar-se d'un seguiment neurològic precoç i així beneficiar-se també d'intervencions específiques per millorar el seu neurodesenvolupament<sup>69</sup>. Si aquests resultats es confirmen en sèries més àmplies, hi hauria possibilitats de definir patrons específics de desenvolupament neurològic anormal en certs tipus de CC, els quals podrien ser de gran ajuda en la comprensió dels mecanismes implicats en el desenvolupament cerebral anormal en els fetus i nadons amb CC i podrien ajudar també en el disseny d'estratègies d'intervenció per intentar millorar-lo.

El **tercer estudi** aporta evidència de que l'alteració de desenvolupament cerebral en els fetus amb CC pot ser predit utilitzant paràmetres de l'avaluació ecogràfica a les 20-24 setmanes (biometries cefàliques i l'estudi Doppler cerebral).

L'avaluació multimodal del desenvolupament cerebral per RMN realitzada en aquest estudi va permetre realitzar una descripció global dels canvis en la remodelació i el metabolisme cerebral durant la època prenatal en els fetus amb CC. La disminució dels volums cerebrals observada en el nostre estudi està en la línia de les publicacions prèvies que mostraven una desacceleració progressiva en el creixement del volum cerebral durant el tercer trimestre de la gestació en els fetus amb CC<sup>37,38</sup>. Aquesta disminució del volum cerebral és predictiva de dèficits neurològics en adolescents amb CC<sup>70</sup>. En referència als canvis metabòlics detectats en el nostre estudi, un NAA/Col reduït està en concordança amb els altres estudis publicats en fetus<sup>37</sup> i nounats<sup>20</sup>. L'NAA és un marcador neuronal<sup>71</sup>, que també està present en els oligodendròcits immadurs<sup>72</sup>, i la seva concentració va incrementant-se de manera gradual durant el procés de maduració cerebral normal<sup>73</sup>. El mIno és un marcador d'activació dels astròcits i de gliosis reactiva<sup>74,75</sup>, que es dona en condicions d'hipòxia moderada o severa<sup>76</sup>. Tant la disminució del NAA/Col com l'increment de mIno/Col són predictors de retard en el neurodesenvolupament en els infants amb

---

encefalopatia hipoxico-isquèmica<sup>74,77</sup>. El patró de desenvolupament cortical anormal en els fetus amb CC reportat en aquest estudi confirma les troballes prèvies en fetus i nounats amb CC abans de la cirurgia cardíaca<sup>18,38</sup>. Anomalies corticals similars s'han identificat també en fetus amb retard de creixement intrauterí que posteriorment presenten un neurodesenvolupament anormal<sup>54</sup>.

Una de les troballes més remarcables, en contrast amb estudis anteriors<sup>37,38</sup>, és que el tipus anatòmic de CC no és un predictor independent del desenvolupament cerebral anormal quan s'usa en associació amb les altres troballes ecogràfiques a les 20-24 setmanes. Aquestes dades s'han de prendre amb precaució fins que siguin confirmades en sèries més grans, ja que és plausible que el tipus de CC també tingui el seu valor predictiu independent quan s'usi una mostra més gran. De fet, les nostres troballes no estan en contradicció amb aquesta idea. Generalment s'ha assumit que les CC esquerres, com per exemple la hipoplàsia de cavitats esquerres, presenten un major risc de presentar lesions cerebrals i retard en el neurodesenvolupament degut a una reducció massiva de l'aportació de sang altament oxigenada procedent de la placenta cap al cervell fetal en desenvolupament<sup>8,27,78</sup>. No obstant això, altres tipus de CC, amb una perfusió cerebral preservada o menys alterada que les CC esquerres, també poden desenvolupar anomalies en el neurodesenvolupament<sup>8</sup>. Aquest fet també s'ha identificat en el nostre estudi, on els fetus definits com a subgrup de baix risc (subgrup 1, amb una perfusió cerebral amb una proporció normal o moderadament conservada de sang provinent de la placenta) també presenten canvis en el patró metabòlic cerebral i mostren cert retard en el patró de maduració cortical quan els comparem amb els fetus controls. Per tant, sembla lògic que l'observació directe dels efectes que té la CC sobre el cervell en desenvolupament, discrimini millor els fetus amb més risc de presentar anomalies en el neurodesenvolupament, que únicament el tipus anatòmic de CC. A més, la presència d'un desenvolupament cerebral prenatal alterat dins del grup de fetus amb una oxigenació cerebral teòricament preservada suggereix l'existència d'altres possibles factors contribuents encara per clarificar. Per exemple, certes formes de CC han estat associades amb canvis en l'expressió gènica<sup>79</sup> o en els nivells circulants de factors angiogènics<sup>80</sup>, que també podrien reflectir possibles canvis en la circulació cerebral.

---

Des d'un punt de vista clínic, la utilització de predictors específics del desenvolupament cerebral podria incorporar-se com a part d'una avaluació integral en el moment del diagnòstic ecogràfic d'una CC durant el segon trimestre de la gestació. Una predicció individualitzada del risc d'anomalies en el neurodesenvolupament podria millorar de manera significativa l'assessorament a les famílies davant el diagnòstic d'una CC y podria servir per iniciar intervencions des de fases molt inicials de la vida d'aquest nadons, cosa que ha demostrat millorar el desenvolupament cerebral en els infants en altres grups de risc<sup>69,81,82</sup>. De la mateixa manera també som conscients que la identificació d'anomalies cerebrals significatives durant l'etapa prenatal, pot influenciar en la decisió dels pares després de l'assessorament prenatal<sup>8</sup>.

Un dels principals punts forts d'aquest estudi és que es va realitzar en una cohort ben caracteritzada de fetus amb cardiopatia congènita diagnosticats al nostre centre i que es van seguir de manera prospectiva. A més el desenvolupament cerebral es va avaluar mitjançant un estudi integral per RMN, incloent una avaluació del metabolisme cerebral per espectroscòpia amb estrictes criteris de qualitat.

El nostre estudi també presenta diverses limitacions. La nostra cohort inclou un ampli espectre de CC, però degut a la reduïda mida de la mostra no s'han pogut treure conclusions individuals per als diferents tipus de CC. Per altra banda, una proporció significativa de les formes més severes de CC, com per exemple la hipoplàsia de cavitats esquerres, no arriben a terme donada l'elevada taxa de interrupció legal de la gestació que existeix en el nostre entorn. Podríem hipotetitzar que amb una proporció més gran d'aquestes formes de CC, l'anàlisi estadístic podria haver identificat també el tipus de CC com a predictor independent de lesió cerebral. També reconeixem que la classificació en CC classe A i classe B és una classificació teòrica, i tot i que aquesta pot no representar de manera òptima la millor classificació per les CC, creiem que és precisa a l'hora de diferenciar els diferents patrons d'aportació de sang oxigenada procedent de la placenta cap al cervell fetal. Pel que fa a les diferents tècniques utilitzades en el nostre estudi, sabem que el FMBV és un molt bon paràmetre per a l'avaluació de la perfusió cerebral, però també reconeixem que per una correcta adquisició de les imatges es requereix una corba d'aprenentatge considerable i, posteriorment, requereix un post-processat *off-line* de les mateixes, el qual en pot limitar el

---

seu ús en la pràctica clínica habitual. A més, també s'hauria de considerar que la utilització de tècniques de correcció del moviment com a pas previ a una estimació volumètrica cerebral automatitzada podria tenir avantatges i ser menys tediosa que el mètode utilitzat en el nostre estudi<sup>83</sup>. No obstant això, en el nostre estudi es va realitzar una adquisició molt acurada de les imatges anatòmiques, repetint-se l'adquisició sempre que estiguessin artefactuades. Aquest mètode garantia l'obtenció d'imatges de bona qualitat per poder realitzar els càlculs necessaris en tots els casos. Reconeixem que són necessaris estudis més grans per clarificar el paper predictiu de les variables ecogràfiques i per identificar patrons específics de lesió cerebral per a cadascuna de les principals formes anatòmiques de CC. Finalment, sabem que la definició òptima de desenvolupament neurològic anormal en els pacients amb CC és un repte. Idealment aquesta definició hauria d'incloure un test específic de neurodesenvolupament als 2 anys de vida o més tard. No obstant això, la majoria de casos de CC requeriran una cirurgia cardíaca durant la infància, cosa que limita de manera molt important la interpretació de les proves de neurodesenvolupament posteriors. Els resultats dels nostres test de neurodesenvolupament, realitzats en una petita mostra de nadons amb CC abans de la cirurgia cardíaca, van mostrar correlacions significatives amb les variables seleccionades en el nostre algoritme predictiu. Aquestes associacions recolzen el paper dels paràmetres avaluats en aquest estudi per a predir el resultat neurològic més endavant, durant l'època postnatal. Com que el nostre objectiu era predir el retard en el neurodesenvolupament d'origen prenatal, van definir el desenvolupament cerebral anormal com una conjunció d'anomalies cerebrals identificades en la RMN a terme. Serà important doncs, confirmar aquests resultats en mostres més gran i completar l'anàlisi de la correlació entre les variables ecogràfiques del segon trimestre i els paràmetres de la RMN a terme amb proves de neurodesenvolupament realitzades en els primers anys de vida, moment en el puguin ser avaluades habilitats cognitives rellevants.

---

## **Importància de l'estudi del desenvolupament cerebral en els fetus amb CC**

Les CC són les malformacions congènites més freqüents i la principal causa de mortalitat per anomalia congènita durant el primer any de vida. Durant les últimes dècades, l'augment de la supervivència com a conseqüència de la millora de les tècniques quirúrgiques i de les mesures de suport postoperatòries ha fet desviar l'atenció cap a l'elevada xifra de morbiditat neurològica que presenten aquests infants.

Inicialment, aquesta morbiditat neurològica era atribuïda a la cirurgia cardíaca i les seves complicacions, però en els últims anys ha aparegut cada vegada més evidència a favor de que els nadons amb CC ja presenten anomalies cerebrals immediatament després de néixer i abans de la cirurgia cardíaca. D'aquesta manera s'ha focalitzat l'atenció cap a un possible origen prenatal de la lesió cerebral que presenten aquest infants. Aquest concepte, conegut com "*programació fetal*", és un dels enfocaments més importants de cares a la prevenció de les malalties durant l'edat adulta. El desenvolupament cerebral durant la vida fetal és un procés molt complex que requereix un equilibri adequat en l'aport d'oxigen i nutrients. Les condicions adverses durant l'embaràs, com per exemple la presència d'una CC, poden condicionar un desenvolupament cerebral anormal que posteriorment pot acabar desenvocant en els diferents tipus i graus de morbiditat neurològica que presenten els nadons i infants amb CC.

En aquesta tesi hem demostrat que és possible identificar canvis en el desenvolupament cerebral dels fetus amb CC en etapes molt precoces de la gestació i, a més hem demostrat com, a part del tipus de CC, existeixen altres variables (biometries cefàliques i variables de l'estudi Doppler) que ens poden ajudar a identificar de manera molt precoç quins fetus amb CC presentaran més risc de presentar alteracions en el desenvolupament cerebral.

La informació presentada obre les portes per la introducció d'aquestes variables dins de l'avaluació inicial de les CC, en el moment de diagnòstic, permetent així identificar de manera precoç els fetus amb més risc de desenvolupar anomalies del sistema nerviós central que condicionin posteriorment l'aparició d'alteracions en el neurodesenvolupament.

La identificació precoç dels fetus amb risc de presentar un neurodesenvolupament anormal permetrà, per una banda, millorar de manera significativa l'assessorament familiar

---

en el moment del diagnòstic de la CC i, per altre banda, permetrà iniciar intervencions (programes d'estimulació precoç) per tal de millorar el resultat neurològic final d'aquests infants.





---

# 8. CONCLUSIONS

---



---

## 8. CONCLUSIONS

1. Els fetus amb CC presenten anomalies en el desenvolupament cerebral identificables per ecografia (durant el segon i a terme) i per RMN a terme:
  - 1.1. Biometries cefàliques reduïdes.
  - 1.2. Signes de redistribució hemodinàmica cerebral, amb vasodilatació cerebral, identificables en l'estudi Doppler fetoplacentari.
  - 1.3. Augment de la perfusió a nivell del lòbul frontal cerebral avaluada mitjançant el FMBV.
  - 1.4. Volum cerebral reduït, alteració en el patró de desenvolupament cortical i en el metabolisme cerebral identificables per RMN i espectroscòpia.
2. Les CC que presenten una obstrucció del tracte de sortida del ventricle esquerre i la TGA (patró de perfusió cerebral amb una disminució marcada del volum de sang oxigenada provinent de la placenta), presenten alteracions en neuroimatge més pronunciades.
3. En els casos que no requereixen cirurgia correctora durant els primers mesos de vida, els fetus que presenten anomalies del desenvolupament cerebral més pronunciades en la RMN a terme presenten pitjor puntuació en el test de neurodesenvolupament realitzat als 4-6 mesos de vida.
4. En els fetus amb CC, el perímetre cranial i l'IP de l'ACM durant el segon trimestre de la gestació (20-24 setmanes) permeten identificar els fetus amb més risc de presentar un desenvolupament cerebral anormal a terme avaluat per RMN.



---

# 9. REFERÈNCIES

---



---

## 9. REFERÈNCIES

1. Hoffman JIE, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:1890–1900.
2. Dolk H, Loane M, Garne E. Congenital heart defects in Europe: Prevalence and perinatal mortality, 2000 to 2005. *Circulation.* 2011;123:841–849.
3. Wren C, O’Sullivan JJ. Survival with congenital heart disease and need for follow up in adult life. *Heart.* 2001;85:438–443.
4. Majnemer A, Limperopoulos C, Shevell M, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C. Long-term neuromotor outcome at school entry of infants with congenital heart defects requiring open-heart surgery. *J Pediatr.* 2006;148:72–77.
5. Michael JH SF. Brain injury in children with congenital heart disease. *Pediatr Anaesth.* 2010;13:284–293.
6. Sananes R, Manlihot C, Kelly E, Hornberger LK, Williams WG, MacGregor D, Buncic R, McCrindle BW. Neurodevelopmental Outcomes After Open Heart Operations Before 3 Months of Age. *Ann Thorac Surg.* 2012;93:1577–1583.
7. Massaro AN, Glass P, Brown J, Chang T, Krishnan A, Jonas RA, Donofrio MT. Neurobehavioral abnormalities in newborns with congenital heart disease requiring open-heart surgery. *J Pediatr.* 2011;158: 678-681e2.
8. Khalil A, Suff N, Thilaganathan B, Hurrell a, Cooper D, Carvalho JS. Brain abnormalities and neurodevelopmental delay in congenital heart disease: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;43:14–24.
9. Massaro AN, El-dib M, Glass P, Aly H. Factors associated with adverse neurodevelopmental outcomes in infants with congenital heart disease. *Brain Dev.* 2008;30(7):437–446.
10. Limperopoulos C, Majnemer A, Shevell MI, Rohlicek C, Rosenblatt B, Tchervenkov C, Darwish HZ. Predictors of developmental disabilities after open heart surgery in young children with congenital heart defects. *J Pediatr.* 2002;141:51–58.



- 
11. Bellinger DC, Jonas RA, Rappaport LA, Wypij D, Wernovsky G, Kuban KC, Barnes PD, Holmes GL, Hickey PR, Strand RD, Walsh AZ, Helmers SL, Constantinou JE, Carranza EJ, Mayer JE, Hanley FL, Castaneda AR, Ware JH, Newburger JW. Developmental and neurologic status of children after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med* 1995;332:549-555
  12. McQuillen PS, Miller SP. Congenital heart disease and brain development. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1184:68–86.
  13. Bellinger DC, Wypij D, DuPlessis AJ, Rappaport LA, Jonas RA, Wernovsky G, Newburger JW. Neurodevelopmental status at eight years in children with dextro-transposition of the great arteries: The Boston Circulatory Arrest Trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;126:1385–1396.
  14. Majnemer A, Limperopoulos C, Shevell MI, Rohlicek C, Rosenblatt B, Tchervenkov C. A New Look at Outcomes of Infants With Congenital Heart Disease. *Pediatr Neurol.* 2009;40:197–204.
  15. Wernovsky G, Stiles KM, Gauvreau K, Gentles TL, duPlessis AJ, Bellinger DC, Walsh AZ, Burnett J, Jonas RA, Mayer JE Jr, Newburger JW. Cognitive development after the Fontan operation. *Circulation.* 2000;102:883–889.
  16. McQuillen PS, Barkovich a. J, Hamrick SEG, Perez M, Ward P, Glidden D V, Azakie A, Karl T, Miller SP. Temporal and anatomic risk profile of brain injury with neonatal repair of congenital heart defects. *Stroke.* 2007;38(2 Suppl):736-741.
  17. Limperopoulos C, Majnemer a, Shevell MI, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C. Neurodevelopmental status of newborns and infants with congenital heart defects before and after open heart surgery. *J Pediatr.* 2000;137:638–645.
  18. Licht DJ, Shera DM, Clancy RR, Wernovsky G, Montenegro LM, Nicolson SC, Zimmerman RA, Spray TL, Gaynor JW, Vossough A. Brain maturation is delayed in infants with complex congenital heart defects. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;137:529–536.

- 
19. Licht DJ, Wang J, Silvestre DW, Nicolson SC, Montenegro LM, Wernovsky G, Tabbutt S, Durning SM, Shera DM, Gaynor JW, Spray TL, Clancy RR, Zimmerman RA, Detre JA. Preoperative cerebral blood flow is diminished in neonates with severe congenital heart defects. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128:841–849.
  20. Miller SP, McQuillen PS, Hamrick S, Xu D, Glidden D V, Charlton N, , Karl T, Azakie A, Ferriero DM, Barkovich AJ, Vigneron DB. Abnormal brain development in newborns with congenital heart disease. *N Engl J Med.* 2007;357:1928–1938.
  21. Limperopoulos C, Majnemer a, Shevell MI, Rosenblatt B, Rohlicek C, Tchervenkov C. Neurologic status of newborns with congenital heart defects before open heart surgery. *Pediatrics.* 1999;103:402–408.
  22. Miller SP, McQuillen PS, Vigneron DB, Glidden D V, Barkovich AJ, Ferriero DM, Hamrick SE, Azakie A, Karl TR. Preoperative brain injury in newborns with transposition of the great arteries. *Ann Thorac Surg.* 2004;77:1698–1706.
  23. Rosenthal GL. Patterns of prenatal growth among infants with cardiovascular malformations: possible fetal hemodynamic effects. *Am J Epidemiol.* 1996;143:505–513.
  24. Shillingford AJ, Ittenbach RF, Marino BS, Rychik J, Clancy RR, Spray TL, Gaynor JW, Wernovsky G. Aortic morphometry and microcephaly in hypoplastic left heart syndrome. *Cardiol Young.* 2007;17:189–195.
  25. Owen M, Shevell M, Majnemer A, Limperopoulos C. Abnormal brain structure and function in newborns with complex congenital heart defects before open heart surgery: a review of the evidence. *J Child Neurol.* 2011;26:743–755.
  26. van Houten JP, Rothman A, Bejar R. High incidence of cranial ultrasound abnormalities in full-term infants with congenital heart disease. *Am J Perinatol.* 1996;13:47–53.
  27. Te Pas AB, van Wezel-Meijler G, Bökenkamp-Gramann R, Walther FJ. Preoperative cranial ultrasound findings in infants with major congenital heart disease. *Acta Paediatr.* 2005;94:1597–1603.

- 
28. Mahle WT, Tavani F, Zimmerman RA, Nicolson SC, Galli KK, Gaynor JW, Clancy RR, Montenegro LM, Spray TL, Chiavacci RM, Wernovsky G, Kurth CD. An MRI study of neurological injury before and after congenital heart surgery. *Circulation*. 2002; 106:1109-14.
  29. Partridge SC, Vigneron DB, Charlton NN, Berman JI, Henry RG, Mukherjee P, McQuillen PS, Karl TR, Barkovich AJ, Miller SP. Pyramidal tract maturation after brain injury in newborns with heart disease. *Ann Neurol*. 2006;59:640–651.
  30. Donofrio MT, Bremer YA, Schieken RM, Gennings C, Morton LD, Eidem BW, Cetta F, Falkensammer CB, Huhta JC, Kleinman CS. Autoregulation of cerebral blood flow in fetuses with congenital heart disease: The brain sparing effect. *Pediatr Cardiol*. 2003;24:436–443.
  31. Kaltman JR, Di H, Tian Z, Rychik J. Impact of congenital heart disease on cerebrovascular blood flow dynamics in the fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005;25:32–36.
  32. Modena A, Horan C, Visintine J, Chanthasenont A, Wood D, Weiner S. Fetuses with congenital heart disease demonstrate signs of decreased cerebral impedance. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195:706–710.
  33. Szwaast A, Tian Z, McCann M, Soffer D, Rychik J. Comparative analysis of cerebrovascular resistance in fetuses with single-ventricle congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012; 40:62-67.
  34. Berg C, Gembruch O, Gembruch U, Geipel A. Doppler indices of the middle cerebral artery in fetuses with cardiac defects theoretically associated with impaired cerebral oxygen delivery in utero: Is there a brain-sparing effect? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;34:666–672.
  35. Arduini M, Rosati P, Caforio L, Guariglia L, Clerici G, Di Renzo GC, Scambia G. Cerebral blood flow autoregulation and congenital heart disease: possible causes of abnormal prenatal neurologic development. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24:1208-1211.

- 
36. Hinton RB, Andelfinger G, Sekar P, Hinton AC, Gendron RL, Michelfelder EC, Robitaille Y, Benson DW. Prenatal head growth and white matter injury in hypoplastic left heart syndrome. *Pediatr Res*. 2008;64:364–369.
  37. Limperopoulos C, Tworetzky W, McElhinney DB, Newburger JW, Brown DW, Robertson RL, Guizard N, McGrath E, Geva J, Annese D, Dunbar-Masterson C, Trainor B, Laussen PC, du Plessis AJ. Brain volume and metabolism in fetuses with congenital heart disease: Evaluation with quantitative magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Circulation*. 2010;121:26–33.
  38. Clouchoux C, du Plessis a J, Bouyssi-Kobar M, Tworetzky W, McElhinney DB, Brown DW, Gholipour A, Kudelski D, Warfield SK, McCarter RJ, Robertson RL Jr, Evans AC, Newburger JW, Limperopoulos C. Delayed cortical development in fetuses with complex congenital heart disease. *Cereb Cortex*. 2013;23:2932–2943.
  39. Sun L, Macgowan CK, Sled JG, Yoo S-J, Manlhiot C, Porayette P, , Grosse-Wortmann L, Jaeggi E, McCrindle BW, Kingdom J, Hickey E, Miller S, Seed M. Reduced Fetal Cerebral Oxygen Consumption Is Associated With Smaller Brain Size in Fetuses With Congenital Heart Disease. *Circulation*. 2015;131:1313–1323.
  40. Salomon LJ, Alfirevic Z, Berghella V, Bilardo C, Hernandez-Andrade E, Johnsen SL, and ISUOG Clinical Standards Committe. Practice guidelines for performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011;37:116–126.
  41. Clinical Standards Committe. ISUOG Practice Guidelines: sonographic screening examination of the fetal heart. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;41:348-359.
  42. Hadlock FP, Harrist RB, Shah YP, King DE, Park SK, Sharman RS. Estimating fetal age using multiple parameters: a prospective evaluation in a racially mixed population. *Am J Obs Gynecol*. 1987;156:955–957.
  43. Figueras F, Meler E, Iraola A, Eixarch E, Coll O, Figueras J, Francis A, Gratacos E, Gardosi J. Customized birthweight standards for a Spanish population. *Eur J Obs Gynecol Reprod Biol*. 2008;136:20–24.

- 
44. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32:128–132.
  45. Arduini D, Rizzo G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med.* 1990;18:165–172.
  46. Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:124–127.
  47. Hernandez-Andrade E, Jansson T, Figueroa-Diesel H, Rangel-Nava H, Acosta-Rojas R, Gratacos E. Evaluation of fetal regional cerebral blood perfusion using power Doppler ultrasound and the estimation of fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;29:556-561.
  48. Cruz-Martinez R, Figueras F, Hernandez-Andrade E, Benavides-Serralde A, Gratacos E. Normal reference ranges of fetal regional cerebral blood perfusion as measured by fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37:196–201.
  49. Tremblay E, Thérasse E, Thomassin-Naggara I, Trop I. Quality initiatives: guidelines for use of medical imaging during pregnancy and lactation. *Radiographics.* 2012;32:897–911.
  50. Clatterbuck RE SE. The efficient calculation of neurosurgically relevant volumes from computed tomographic scans using Cavalieri's Direct Estimator. *Neurosurgery.* 1997;40:339–342.
  51. Nakamura K, Kawasaki Y, Suzuki M, Hagino H, Kurokawa K, Takahashi T, Niu L, Matsui M, Seto H, Kurachi M. Multiple structural brain measures obtained by three-dimensional magnetic resonance imaging to distinguish between schizophrenia patients and normal subjects. *Schizophr Bull.* 2004;30:393–404.
  52. Alonso I, Borenstein M, Grant G, Narbona I, Azumendi G. Depth of brain fissures in normal fetuses by prenatal ultrasound between 19 and 30 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;36:693–699.

- 
53. Pistorius LR, Stoutenbeek P, Groenendaal F, De Vries L, Manten G, Mulder E, Visser G. Grade and symmetry of normal fetal cortical development: A longitudinal two- and three-dimensional ultrasound study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;36:700–708.
  54. Egaña-Ugrinovic G, Sanz-Cortes M, Figueras F, Bargalló N, Gratacós E. Differences in cortical development assessed by fetal MRI in late-onset intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209: 126 e1-8.
  55. International Society of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology Education Committee. Sonographic examination of the fetal central nervous system: guidelines for performing the 'basic examination' and the 'fetal neurosonogram'. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:109-116.
  56. Reichel TF, Ramus RM, Caire JT, Hynan LS, Magee KP, Twickler DM. Fetal central nervous system biometry on MR imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 2003;180:1155–1158.
  57. Mittal P, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Espinoza J, Lee W, Nien JK, Soto E, Romero R. Objective evaluation of sylvian fissure development by multiplanar 3-dimensional ultrasonography. *J Ultrasound Med.* 2007;26:347–353.
  58. Klose U. In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents. *Magn Reson Med.* 1990;14:26–30.
  59. Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med.* 1993;30:672–679.
  60. Provencher SW. Automatic quantitation of localized in vivo <sup>1</sup>H spectra with LCModel. *NMR Biomed.* 2001;14:260–264.
  61. Bayley N. Bayley Scales of infant and Todler Development-Third Edition: Administration Manual. San Antonio,TX:Psuch Corp;2006.
  62. Masoller N, Martínez JM, Gómez O, Bennasar M, Crispi F, Sanz-Cortés M, Egaña-Ugrinovic G, Bartrons J, Puerto B, Gratacós E. Evidence of second-trimester changes in head biometry and brain perfusion in fetuses with congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44:182–187.

- 
63. Hernandez-Andrade E, Jansson T, Figueroa-Diesel H, Rangel-Nava H, Acosta-Rojas R, Gratacós E. Evaluation of fetal regional cerebral blood perfusion using power Doppler ultrasound and the estimation of fractional moving blood volume. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:556–561.
  64. Hernandez-Andrade E, Figueroa-Diesel H, Jansson T, Rangel-Nava H, Gratacos E. Changes in regional fetal cerebral blood flow perfusion in relation to hemodynamic deterioration in severely growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32:71–76.
  65. Guorong L, Shaohui L, Peng J, Huitong L, Boyi L, Wanhong X, Liya L. Cerebrovascular blood flow dynamic changes in fetuses with congenital heart disease. *Fetal Diagn Ther.* 2009;25:167–172.
  66. Itsukaichi M, Kikuchi A, Yoshihara K, Serikawa T, Takakuwa K, Tanaka K. Changes in fetal circulation associated with congenital heart disease and their effects on fetal growth. *Fetal Diagn Ther.* 2011;30:219–224.
  67. Donofrio MT, Massaro AN. Impact of Congenital Heart Disease on Brain Development and Neurodevelopmental Outcome. *Int J Pediatr.* 2010;2010:502–511.
  68. Figueras F, Savchev S, Triunfo S, Crovetto F, Gratacos E. An integrated model with classification criteria to predict small-for-gestational fetuses at risk of adverse perinatal outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45:279–285.
  69. Vanderveen JA, Bassler D, Robertson CMT, Kirpalani H. Early interventions involving parents to improve neurodevelopmental outcomes of premature infants: a meta-analysis. *J Perinatol.* 2009;29:343–351.
  70. Von Rhein M, Buchmann A, Hagmann C, Huber R, Klaver P, Knirsch W, Latal B. Brain volumes predict neurodevelopment in adolescents after surgery for congenital heart disease. *Brain.* 2014;137:268–276.
  71. Baslow MH. N-acetylaspartate in the vertebrate brain: Metabolism and function. *Neurochemical Research.* 2003; 28:941-953.
  72. Bhakoo KK, Pearce D. In vitro expression of N-acetyl aspartate by oligodendrocytes: Implications for proton magnetic resonance spectroscopy signal in vivo. *J Neurochem.* 2000;74:254–262.

- 
73. Story L, Damodaram MS, Allsop JM, McGuinness A, Wylezinska M, Kumar S, Rutherford MA. Proton magnetic resonance spectroscopy in the fetus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;158:3-8.
  74. Robertson NJ, Lewis RH, Cowan FM, Allsop JM, Counsell SJ, Edwards AD, Cox IJ. Early increases in brain myo-inositol measured by proton magnetic resonance spectroscopy in term infants with neonatal encephalopathy. *Pediatr Res.* 2001;50:692–700.
  75. Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci.* 1993;15:289–298.
  76. Sizonenko S V, Camm EJ, Dayer A, Kiss JZ. Glial responses to neonatal hypoxic-ischemic injury in the rat cerebral cortex. *Int J Dev Neurosci.* 2008;26:37–45.
  77. Augustine EM, Spielman DM, Barnes PD, Sutcliffe TL, Dermon JD, Mirmiran M, Clayton DB, Ariagno RL. Can magnetic resonance spectroscopy predict neurodevelopmental outcome in very low birth weight preterm infants? *J Perinatol.* 2008;28:611–618.
  78. Glauser TA, Rorke LB, Weinberg PM, Clancy RR. Acquired neuropathologic lesions associated with the hypoplastic left heart syndrome. *Pediatrics.* 1990;85:991–1000.
  79. Hitz MP, Lemieux-Perreault LP, Marshall C, Feroz-Zada Y, Davies R, Yang SW, Lionel AC, D'Amours G, Lemyre E, Cullum R, Bigras JL, Thibeault M, Chetaille P, Montpetit A, Khairy P, Overduin B, Klaassen S, Hoodless P, Awadalla P, Hussin J, Idaghdour Y, Nemer M, Stewart AF, Boerkoel C, Scherer SW, Richter A, Dubé MP, Andelfinger G. Rare Copy Number Variants Contribute to Congenital Left-Sided Heart Disease. *PLoS Genet.* 2012; 8:e1002903.
  80. El-Melegy NT, Mohamed NA. Angiogenic biomarkers in children with congenital heart disease: possible implications. *Ital J Pediatr.* 2010;36:32.
  81. Isaacs EB, Fischl BR, Quinn BT, Chong WK, Gadian DG, Lucas A. Impact of breast milk on intelligence quotient, brain size, and white matter development. *Pediatr Res.* 2010;67:357–362.
  82. Maulik PK, Darmstadt GL. Community-based interventions to optimize early childhood development in low resource settings. *J Perinatol.* 2009;29:531–542.



- 
83. Gholipour A, Estroff JA, Barnewolt CE, Connolly SA, Warfield SK. Fetal brain volumetry through MRI volumetric reconstruction and segmentation. *Int J Comput Assist Radiol Surg.* 2011;6:329–339.

