

Reprodutibilidade interobservador dos índices vasculares do Doppler de amplitude tridimensional do embrião entre 7 e 10 semanas e 6 dias de gestação*

Interobserver reproducibility of vascular indices obtained with three-dimensional power Doppler ultrasonography of embryos at 7 to 10 weeks and 6 days of gestation

João Bortoletti Filho¹, Luciano Marcondes Machado Nardoza², Edward Araujo Júnior³, Lilliam Cristine Rolo¹, Paulo Martin Nowak¹, Hélio Antonio Guimarães Filho⁴, Antonio Fernandes Moron⁵

Resumo **OBJETIVO:** Avaliar a reprodutibilidade interobservador dos índices de vascularização do Doppler de amplitude tridimensional (Doppler de amplitude 3D) no primeiro trimestre de gestação. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Realizou-se estudo de reprodutibilidade com 32 gestantes normais entre 7 e 10 semanas e 6 dias. Para o cálculo do volume tridimensional dos embriões utilizou-se o método VOCAL (*Virtual Organ Computer-aided AnaLysis*) com ângulo de rotação de 12°. Em seguida obtiveram-se, automaticamente, os três índices vasculares do Doppler de amplitude 3D: índice de vascularização (VI), índice de fluxo (FI) e índice de vascularização e fluxo (VFI). Para o cálculo da variabilidade interobservador, um examinador realizou uma segunda medida dos 32 embriões e um segundo examinador realizou uma terceira medida dos mesmos volumes, ambos desconhecendo os resultados do outro. Utilizaram-se, para análise estatística, o coeficiente de correlação intraclassa (CCI) e gráficos de Bland-Altman. **RESULTADOS:** Observou-se boa reprodutibilidade interobservador dos três índices vasculares. O VI apresentou CCI = 0,9 e média da diferença = -1,1; o FI apresentou CCI = 0,9 e média da diferença = -0,5; e o VFI apresentou CCI = 0,9 e média da diferença = -1,1. **CONCLUSÃO:** Os índices vasculares do Doppler de amplitude 3D do embrião no primeiro trimestre de gestação foram altamente reprodutíveis, em especial o FI.

Unitermos: Primeiro trimestre de gestação; Ultrassonografia color Doppler; Reprodutibilidade dos resultados; Imagem tridimensional.

Abstract **OBJECTIVE:** To evaluate the interobserver reproducibility of vascular indices obtained with three-dimensional power Doppler (3D power Doppler) ultrasonography at the first trimester of gestation. **MATERIALS AND METHODS:** The present reproducibility study involved 32 healthy pregnant women with 7 to 10 weeks and 6 days of gestation. The VOCAL (*Virtual Organ Computer-aided AnaLysis*) method was utilized to calculate embryos volume, with a 12° rotational angle. Subsequently, the software automatically displayed three 3D power Doppler vascular indices: vascularization index (VI), flow index (FI) and vascularization and flow index (VFI). In order to calculate the interobserver variability, an investigator performed a second blind measurement of the 32 embryos, and another investigator performed a third blind measurement of the same volumes. The interclass correlation coefficient (ICC) and Bland-Altman plots were utilized for statistical analysis. **RESULTS:** A good interobserver reproducibility was observed in relation to the three vascular indices. The VI presented ICC = 0.9 and mean difference between measurements = -1.1. For the FI, the ICC was 0.9 and mean difference = -0.5. The VFI presented ICC = 0.9 and mean difference = -1.1. **CONCLUSION:** The vascular indices, particularly the FI, obtained with 3D power Doppler ultrasonography at the first trimester of gestation demonstrated a high reproducibility.

Keywords: First trimester of gestation; Color Doppler ultrasonography; Reproducibility of results; Three-dimensional imaging.

Bortoletti Filho J, Nardoza LMM, Araujo Júnior E, Rolo LC, Nowak PM, Guimarães Filho HA, Moron AF. Reprodutibilidade interobservador dos índices vasculares do Doppler de amplitude tridimensional do embrião entre 7 e 10 semanas e 6 dias de gestação. *Radiol Bras.* 2010;43(3):143-148.

* Trabalho realizado no Setor de Ultrassonografia Tridimensional do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil.

1. Mestres, Médicos do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil.

2. Livre-Docente, Professor Adjunto do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil.

3. Pós-Doutor, Professor Adjunto do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil.

4. Doutor, Médico do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil.

5. Livre-Docente, Professor Titular do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Dr. Edward Araujo Júnior. Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Rua Napoleão de Barros, 875, Vila Clementino. São Paulo, SP, Brasil, 04024-002. E-mail: araujojred@terra.com.br

Recebido para publicação em 3/3/2010. Aceito, após revisão, em 5/4/2010.

INTRODUÇÃO

A vasculogênese embrionária inicia-se no 18º dia, separadamente da vasculogênese extraembrionária, no mesoderma parietal embrionário da parede do celoma intraembrionário. Os agregados de células endoteliais formam as redes de cordões angioblásticos que coalescem, crescem e se transformam em cavidades (angiocistos). Estes invadem outros tecidos para formar a vasculatura embrionária, que inicialmente não contém vasos sanguíneos. Com o desenvolvimento do embrião, a rede primária de vasos cresce mais por um processo de vasculogênese que por angiogênese⁽¹⁾.

O Doppler de amplitude, utilizando o sinal recebido (eco) pelo número de células sanguíneas em movimento, possibilita a detecção de fluxos muito lentos, como ocorre nos pequenos vasos intraplacentários, não estando sujeito às mesmas limitações que o Doppler colorido convencional, que são a ângulo-dependência e o efeito *aliasing*⁽²⁾.

O Doppler de amplitude tridimensional (Doppler de amplitude 3D) permite o mapeamento da arquitetura dos vasos do embrião, além de uma avaliação quantitativa por intermédio dos índices vasculares (índice de vascularização – VI; índice de fluxo – FI; e índice de vascularização e fluxo – VFI)⁽¹⁾. Os índices vasculares do Doppler de amplitude 3D não têm mostrado correlação com o comprimento cabeça-nádega (CCN) do embrião no primeiro trimestre de gestação^(1,3).

Os índices vasculares do Doppler de amplitude 3D têm sido aplicados na avaliação da vascularização placentária no segundo e terceiro trimestres, apresentando comprovada reprodutibilidade intra- e interobservador^(4,5). Recentemente, também se comprovou boa reprodutibilidade intra-observador para os índices vasculares das circulações intervlosa e uteroplacentária entre a 5ª e a 12ª semanas⁽⁶⁾, entretanto, não há descrições de sua reprodutibilidade na avaliação da vascularização do embrião no primeiro trimestre de gestação.

O objetivo deste estudo é avaliar a reprodutibilidade interobservador dos índices vasculares do Doppler de amplitude 3D do embrião entre 7 e 10 semanas e 6 dias de gestação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se estudo prospectivo de reprodutibilidade, no qual foram incluídas 36 gestantes normais entre a 7ª e a 10ª semanas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), e as pacientes que concordaram na participação voluntária assinaram termo de consentimento.

Os critérios de inclusão foram os seguintes: gestação única com embrião vivo; idade gestacional determinada pela data da última menstruação e confirmada por ultrassonografia realizada até a 10ª semana utilizando-se como parâmetro o CCN; ausência de sangramento vaginal; índice térmico entre 0,6 e 0,7; e índice mecânico máximo de 0,3. Os critérios de exclusão foram: gestantes portadoras de doenças crônicas (diabetes mellitus, hipertensão arterial e colagenoses); tabagistas; usuárias de drogas ilícitas na atual gestação; e baixa qualidade dos volumes impossibilitando a avaliação adequada dos índices vasculares. Estes valores de índice térmico e mecânico estão dentro dos limites de segurança dos efeitos Doppler determinados pelo European Committee for Radiation Safety⁽⁷⁾ e pelo American Institute of Ultrasound in Medicine⁽⁸⁾. As gestantes foram submetidas a ultrassonografia morfológica de primeiro e segundo trimestres, sendo ainda seguidas até a 22ª semana para verificar a ocorrência de abortamentos que levariam à exclusão das mesmas.

Todas as gestantes foram selecionadas no Setor de Pré-Natal de Baixo Risco do Departamento de Obstetrícia da Unifesp. Os exames de ultrassonografia foram realizados no Setor de Ultrassonografia Tridimensional, sendo estes realizados em aparelho Sonoace 8000Live (Medison; Seul, Coreia) equipado com transdutor endocavitário volumétrico e multifrequencial (3D4-7EK). Todos os exames foram realizados por um único examinador com experiência de dois anos em ultrassonografia tridimensional em obstetrícia, sendo as pacientes avaliadas uma única vez.

Inicialmente, realizou-se uma avaliação bidimensional em tempo real para se medir o CCN, o diâmetro médio do saco gestacional (média aritmética dos três maiores diâmetros) e avaliar a frequência cardíaca

embrionária. Os seguintes ajustes do Doppler de amplitude 3D foram padronizados: média de quadros (10), frequência de penetração (baixa), *enhance* (1), *reject* (8), ganho (50), *frame average* (2), sensibilidade (15), densidade (acionado), balanço (16), *scala* (1,5 kHz) e filtro (1). Utilizaram-se ângulo de abertura de 30º, velocidade de varredura normal e qualidade alta. Em seguida, atvou-se a tecla 3D, com o consequente aparecimento da janela tridimensional, que foi posicionada de forma a englobar apenas o embrião (região de interesse – ROI). Após a varredura tridimensional, a imagem foi apresentada na tela na forma de três planos ortogonais: axial, sagital e coronal. Selecionou-se, como referencial, o plano sagital, sendo este magnificado em 50%. Em seguida, a imagem do embrião foi deslocada para o centro do plano e rodada em torno do eixo “z”, de forma que o embrião se dispusesse horizontalmente. Em sequência, atvou-se a tecla *vocal* com ângulo de 12º e modo de delimitação manual dos planos. Os calibradores de medida foram posicionados nos polos do embrião, e após a delimitação de 15 planos sequenciais o aparelho fornecia a imagem reconstruída da estrutura, com o seu volume em cm³. Após ajustes nas áreas que constituíam a imagem tridimensional, esta foi aceita e, em seguida, atvou-se a tecla *vocal shell histogram*, fornecendo automaticamente os índices do Doppler de amplitude 3D do embrião (VI, FI e VFI) (Figura 1). O VI mede o número de *voxels* coloridos e representa a porcentagem do sinal Doppler (vascularização) detectado dentro da ROI. O FI corresponde à média do valor *color* de todos os *voxels* coloridos e representa a média da intensidade do sinal do Doppler de amplitude dentro da ROI. O VFI, que compõe a média do valor *color* de todos os *voxels* coloridos e da escala de cinzas, constitui-se em uma combinação dos outros índices (derivado da multiplicação deles e divisão do resultado por 100) e tem sido sugerido que é representativo da vascularização e intensidade de fluxo⁽⁹⁾. Ao final do cálculo volumétrico, o programa *VOCAL (Virtual Organ Computer-aided AnaLysis)* permite retornar a cada um dos planos delimitados, de modo a se realizar correções nos contornos do embrião, se necessário. Se caso estas mo-

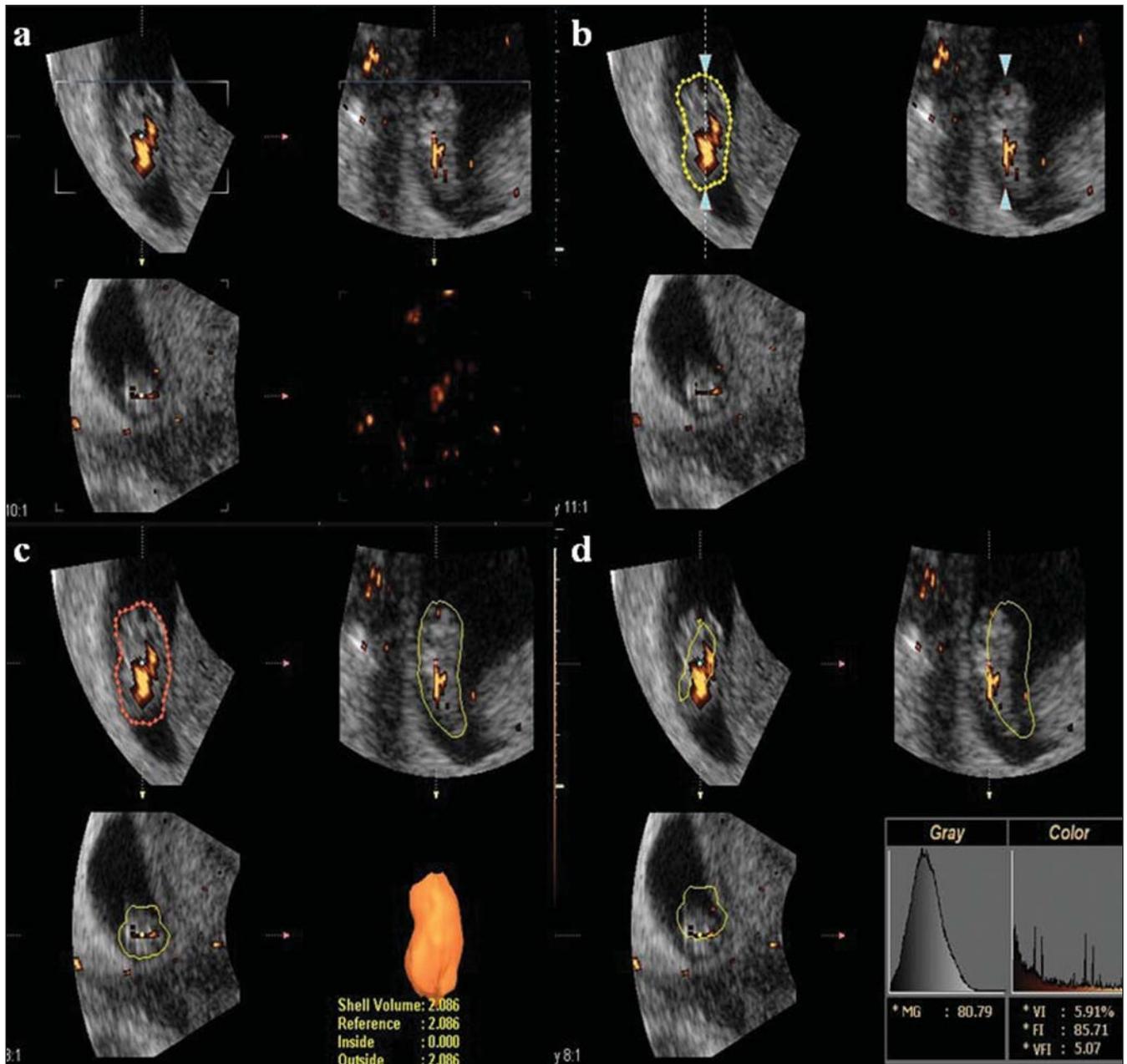


Figura 1. Obtenção dos índices de vascularização do Doppler de amplitude 3D (VI, FI e VFI) após a reconstrução tridimensional do volume do embrião utilizando o método VOCAL com ângulo de rotação de 12°. **a:** colocação dos calibradores de medida nos polos do embrião; **b:** delimitação manual da superfície externa do embrião; **c:** imagem tridimensional reconstruída do embrião após delimitação de 15 planos; **d:** obtenção automática dos índices de vascularização do Doppler de amplitude 3D.

dificações fossem realizadas, um novo volume era obtido e, conseqüentemente, novos índices vasculares também eram obtidos. Foram coletados dois volumes de cada paciente, sendo estes armazenados na memória do aparelho. O volume que apresentasse a maior densidade vascular foi escolhido para a obtenção dos índices vasculares. As análises volumétricas e dos índices do Doppler de amplitude 3D foram reali-

zadas na ausência da paciente, utilizando o *software* SonoView Pro versão 1.03 (Medison; Seul, Coreia), sendo essas realizadas por um único examinador.

Os dados foram armazenados em planilha do programa Excel 2003 (Microsoft; Redmond, WA, EUA) e analisados por meio do programa estatístico SPSS for Windows versão 13.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, EUA). Para se avaliar a reprodutibili-

dade interobservador dos índices vasculares do Doppler de amplitude 3D, um segundo examinador, com experiência de três anos em ultrassonografia tridimensional em obstetrícia, realizou as medidas das mesmas 36 gestantes, sem conhecimento prévio dos resultados do outro examinador. Foram utilizados, para os cálculos de reprodutibilidade, o teste *t*-Student pareado, o coeficiente de correlação intraclass (CCI)

e os gráficos de Bland-Altman. Considera-se pobre, correlação CCI < 0,40; satisfatória, CCI entre 0,40 e 0,75; e excelente, correlação CCI $\geq 0,75$ ⁽¹⁰⁾. Os gráficos de Bland-Altman plotam as médias das medidas, realizadas por dois examinadores, contra a diferença de suas medidas, com limites de concordância de 95% e 1,96 desvio-padrão da média⁽¹¹⁾. Em todas as análises utilizou-se nível de significância (p) de 0,05.

RESULTADOS

Foram inicialmente selecionadas 36 gestantes normais, contudo, um caso foi excluído pelo fato de o índice térmico estar acima de 1,0 e três foram excluídos por baixa qualidade dos volumes obtidos, decorrentes de artefatos de transmissão, im-

possibilitando adequada avaliação dos índices vasculares. As 32 gestantes que restaram foram seguidas até 22 semanas de gestação, não se evidenciando casos de abortamento, constituindo, portanto, a amostragem final.

Observou-se boa reprodutibilidade interobservador para os três índices vasculares do Doppler de amplitude 3D analisados. Para o VI, a diferença média entre as medidas foi de -1,1 (intervalo de confiança 95% [IC 95%]: -2,3 - 0,1), sendo que o teste t -Student pareado não mostrou diferenças significativas entre elas ($p = 0,09$); o CCI foi de 0,9 (IC 95%: 0,8 - 0,9), enquanto pelo gráfico de Bland-Altman a média da diferença entre as medidas foi de -1,1 (limites de concordância 95%: -8,0 - 5,8) (Figura 2a). Para o FI, a diferença média

entre as medidas foi de -0,5 (IC 95%: -2,9 - 1,1), sendo que o teste t -Student pareado não mostrou diferenças significativas entre elas ($p = 0,65$); o CCI foi de 0,9 (IC 95%: 0,8 - 0,9), enquanto pelo gráfico de Bland-Altman a média da diferença entre as medidas foi de -1,1 (limites de concordância 95%: -8,0 - 5,8) (Figura 2b). Para o VFI, a diferença média entre as medidas foi de -1,1 (IC 95%: -2,2 - 0,4), sendo que o teste t -Student pareado não mostrou diferenças significativas entre elas ($p = 0,05$); o CCI foi de 0,9 (IC 95%: 0,8 - 0,9), enquanto pelo gráfico de Bland-Altman a média da diferença entre as medidas foi de -1,1 (limites de concordância 95%: -5,0 - 5,1) (Figura 2c).

Estes resultados confirmam a aplicabilidade do uso do Doppler de amplitude 3D

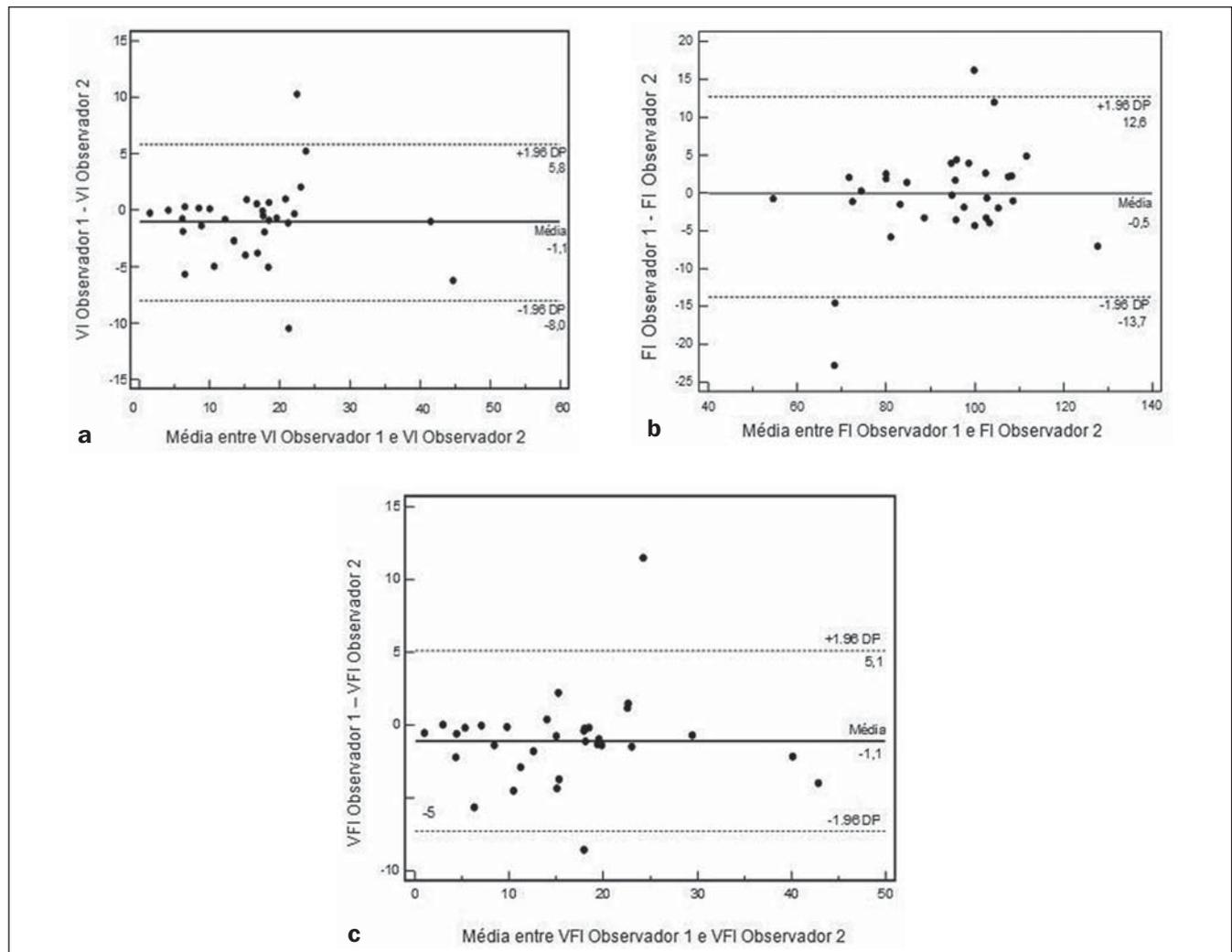


Figura 2. Média dos valores obtidos pelos observadores 1 e 2 plotada contra a diferença de suas medidas, com limites de concordância de 95% para o VI (a), FI (b) e VFI (c).

no estudo da vascularização do embrião no primeiro trimestre de gestação, principalmente para o FI, que apresentou a menor diferença média entre as medidas.

DISCUSSÃO

Os índices vasculares do Doppler de amplitude 3D não são capazes de quantificar o real fluxo sanguíneo ou perfusão, visto que fluxo é a quantidade de sangue que passa em um vaso em uma unidade de tempo (geralmente por minuto), enquanto perfusão é definida como a quantidade de fluxo em um volume de tecido por unidade de tempo e é medido, geralmente, como mililitros por minuto por grama do tecido. Como os índices vasculares tridimensionais não são calculados em função do tempo, a sua quantificação não pode, consequentemente, igualar-se à verdadeira perfusão ou ao fluxo do tecido estudado^(12,13). Estes índices seriam, na verdade, uma representação de informações do Doppler de amplitude contidas no volume tridimensional, sendo o VI a porcentagem de dados do Doppler de amplitude contidos no volume, o FI a média de intensidade do sinal Doppler no volume e o VFI uma combinação de ambos os fatores. Sugere-se, porém, que estes índices representem uma semiquantificação da vascularização (VI) e intensidade de fluxo (FI)⁽¹³⁾.

No presente estudo, optou-se por utilizar o método VOCAL para a aferição volumétrica do embrião. Esta técnica é relativamente simples e está disponível comercialmente em diversos aparelhos de ultrasonografia, além do mais, apresenta comprovada reprodutibilidade na avaliação dos índices vasculares do Doppler de amplitude da placenta^(4,5,14). Optou-se pelo ângulo de rotação em 12° por se determinar um maior número de planos (15 planos) e, consequentemente, tentar se obter maior acurácia nas medidas. Em estudo *in vitro*, comprovou-se que as medidas realizadas com ângulo de 6° (30 planos) foram mais confiáveis que aquelas obtidas com outros ângulos de rotação ou o método multiplanar, com exceção do ângulo de 9° (20 planos), e significativamente mais válidas que aquelas realizadas com ângulo de 30° ou pelo método multiplanar⁽¹⁵⁾. Em outro estudo, utilizando-se um modelo experimen-

tal *endometrium-like*, as medidas realizadas pelo método VOCAL com rotação em 15° (12 planos) mostraram-se válidas e reprodutíveis⁽¹⁶⁾.

Há apenas dois estudos sobre a avaliação quantitativa da vascularização do embrião no primeiro trimestre de gestação^(1,3), sendo que em ambos não se observou correlação entre os índices vasculares do Doppler de amplitude 3D e o CCN. Uma possível explicação seria um estado de homeostasia entre a demanda dos tecidos e a oferta de sangue da rede vascular no primeiro trimestre de gestação⁽¹⁾.

Testou-se a reprodutibilidade interobservador a partir de volumes previamente arquivados por um único examinador. Não foi testada, portanto, a reprodutibilidade de todo o procedimento, ou seja, desde a aquisição do volume. Existem dois modos de analisar a confiabilidade envolvendo o uso da técnica tridimensional: pela aquisição do volume tridimensional e mediante o cálculo do volume após definição do contorno pelo VOCAL⁽¹⁷⁾. A confiabilidade na aquisição do volume tridimensional está diretamente relacionada ao nível de confiança em se realizar precisamente a definição do contorno no qual será calculado o volume⁽¹⁸⁾. Além disso, a aquisição de dados está muito mais sujeita à incerteza de resultados do que uma série de medições de qualquer dado, particularmente em exames dopplerfluxométricos⁽¹⁵⁾.

Observou-se boa reprodutibilidade interobservador para os três índices vasculares do Doppler de amplitude 3D, sendo que o FI foi o índice que apresentou a menor variabilidade, com diferença média entre as medidas de apenas -0,5. Estudos anteriores em placentas têm mostrado ser o FI o índice que melhor se correlaciona com a idade gestacional e o que apresenta o menor coeficiente de correlação entre as várias medidas na mesma placenta^(14,19). Recentemente, avaliou-se a vascularização intervulosa em um período gestacional semelhante ao de nosso estudo, 5 a 12 semanas e 6 dias, observando-se que o FI foi o índice vascular do Doppler de amplitude 3D com maior CCI⁽⁶⁾. Isto é explicado pelo aumento da vascularização placentária com o avançar da gestação, o que é consistente com dados histológicos⁽²⁰⁾; além disso, o aumento no número de vasos é

acompanhado por uma redução progressiva na resistência vascular, o que contribui para o aumento da perfusão e da intensidade do fluxo intraplacentário⁽²¹⁾. Nossos resultados estão de acordo com os obtidos por um grupo espanhol que utilizou a técnica *placental biopsy*, tendo os autores obtido CCI acima de 0,85 para os três índices, com melhor reprodutibilidade intra-observador para os índices de fluxo (FI e VFI)⁽⁴⁾. Recentemente, pesquisadores avaliaram a vascularização da placenta entre 12 e 40 semanas, utilizando o método VOCAL com delimitação manual de toda a superfície externa, e observaram boa reprodutibilidade intra- e interobservador para os três índices, sendo que o FI apresentou o maior CCI e a menor diferença média entre as medidas⁽⁵⁾. Deve-se destacar que não há estudos sobre a reprodutibilidade dos índices vasculares do Doppler de amplitude 3D do embrião no primeiro trimestre de gestação.

Observamos que algumas medidas do FI apresentaram valores acima de 100, o que contradiz a definição deste índice⁽⁶⁾. A grande maioria dos estudos sobre Doppler de amplitude 3D avaliou a vascularização placentária, tanto no primeiro^(6,22) quanto no segundo e terceiro trimestres^(14,19,23), observando-se que os valores de FI se apresentaram dentro da variação normal de 0 a 100. Em estudos prévios, nosso grupo avaliou a vascularização de outras estruturas, como o território da artéria cerebral média fetal⁽²⁴⁾ e o próprio embrião⁽³⁾, observando que para essas estruturas os valores máximos do FI foram superiores a 100. Uma possível explicação para este fato seria um desenvolvimento vascular diverso da placenta em relação a outros órgãos fetais. Não acreditamos que o aparelho ou o treinamento dos examinadores possa ter contribuído para tal resultado, pois em estudo recente de nosso grupo, avaliando a vascularização da placenta no segundo e terceiro trimestres, usando um aparelho do mesmo fabricante e com os mesmos ajustes aos utilizados no presente estudo, os valores médios do FI variaram de 35,73 a 39,98⁽²⁵⁾. Novos estudos avaliando a vascularização de outras estruturas ou órgãos fetais são necessários, para se comprovar a real validade dos índices vasculares do Doppler de amplitude 3D.

CONCLUSÃO

Os índices vasculares do Doppler de amplitude 3D do embrião apresentaram elevada reprodutibilidade interobservador, em especial o FI.

REFERÊNCIAS

1. Kurjak A, Hafner T, Kupesic S, et al. Three-dimensional power Doppler in study of embryonic vasculogenesis. *J Perinat Med.* 2002;30:18–25.
2. Yu CH, Chang CH, Ko HC, et al. Assessment of placental fractional moving blood volume using quantitative three-dimensional power Doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 2003;29:19–23.
3. Bortoletti Filho J, Nardoza LM, Araujo Júnior E, et al. Embryo vascularization by three-dimensional power Doppler ultrasonography at 7-10 weeks of pregnancy. *J Perinat Med.* 2009;37:380–5.
4. Mercé LT, Barco MJ, Bau S. Reproducibility of the study of placental vascularization by three-dimensional power Doppler. *J Perinat Med.* 2004;32:228–33.
5. de Paula CF, Ruano R, Campos JA, et al. Quantitative analysis of placental vasculature by three-dimensional power Doppler ultrasonography in normal pregnancies from 12 to 40 weeks of gestation. *Placenta.* 2009;30:142–8.
6. Mercé LT, Barco MJ, Alcázar JL, et al. Intervillous and uteroplacental circulation in normal early pregnancy and early pregnancy loss assessed by 3-dimensional power Doppler angiography. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200:315.e1–8.
7. Duck FA. Is it safe to use diagnostic ultrasound during the first trimester? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;13:385–8.
8. American Institute of Ultrasound in Medicine/National Electrical Manufacturers Association. Standards for real-time display of thermal and mechanical acoustic output indices on diagnostic equipment. 2nd ed. Rockville, MD: American Institute of Ultrasound in Medicine; 1998.
9. Pairleitner H, Steiner H, Hasenoehrl G, et al. Three-dimensional power Doppler sonography: imaging and quantifying blood flow and vascularization. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;14:139–43.
10. Shrout PE, Fleiss JL. Intraclass correlation: uses in assessing rater reliability. *Psychol Bull.* 1979;86:420–8.
11. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1986;1:307–10.
12. Cosgrove D, Eckersley R, Blomley M, et al. Quantification of blood flow. *Eur Radiol.* 2001;11:1338–44.
13. Raine-Fenning NJ, Welsh AW, Jones NW, et al. Methodological considerations for the correct application of quantitative three-dimensional power Doppler angiography. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32:115–7.
14. Guiot C, Gaglioti P, Oberto M, et al. Is three-dimensional power Doppler ultrasound useful in the assessment of placental perfusion in normal and growth-restricted pregnancies? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:171–6.
15. Raine-Fenning NJ, Clewes JS, Kendall NR, et al. The interobserver reliability and validity of volume calculation from three-dimensional ultrasound datasets in the in vitro setting. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:283–91.
16. Martins WP, Ferriani RA, Barra DA, et al. Reliability and validity of tissue volume measurement by three-dimensional ultrasound: an experimental model. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:210–4.
17. Järvelä IY, Sladkevicius P, Tekay AH, et al. Intraobserver and interobserver variability of ovarian volume, gray-scale and color flow indices obtained using transvaginal three-dimensional power Doppler ultrasonography. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:277–82.
18. Duin LK, Willekes C, Vossen M, et al. Reproducibility of fetal renal pelvis volume measurement using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:657–61.
19. Mercé LT, Barco MJ, Bau S, et al. Assessment of placental vascularization by three-dimensional power Doppler “vascular biopsy” in normal pregnancies. *Croat Med J.* 2005;46:765–71.
20. Jauniaux E, Jurkovic D, Campbell S. In vivo investigations of the anatomy and physiology of early human placental circulations. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1991;1:435–45.
21. Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the placenta. *Biol Reprod.* 2001;64:1033–40.
22. Rizzo G, Capponi A, Cavicchioni O, et al. Placental vascularization measured by three-dimensional power Doppler ultrasound at 11 to 13 + 6 weeks' gestation in normal and aneuploid fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30:259–62.
23. Zalud I, Shaha S. Evaluation of the utero-placental circulation by three-dimensional Doppler ultrasound in the second trimester of normal pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007;20:299–305.
24. Nardoza LM, Araujo Júnior E, Simioni C, et al. Evolution of 3-D power Doppler indices of fetal brain in normal pregnancy. *Ultrasound Med Biol.* 2009;35:545–9.
25. Guimarães Filho HA, Araujo Júnior E, Mattar R, et al. Placental blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound at 26 to 35 weeks gestation in normal pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010;23:69–73.