

Hèrnia diafragmàtica i hipoplàsia pulmonar: frontera en la investigació pediàtrica

Lluís Morales

Cirurgia Pediàtrica. Catedràtic de Pediatria. Universitat de Barcelona. Barcelona

L'hèrnia diafragmàtica (HD) combina l'existència d'un defecte muscular al diafragma que permet el pas de vísceres abdominals a la cavitat toràtica amb la presència d'hipoplàsia pulmonar. Encara que hi ha altres hèrnies diafragmàtiques (anteriors o de Morgagni, hiatal, etc.), la més freqüent i greu per la mortalitat que porta associada és la posterolateral o de Bochdalek. Rivarius fou el primer a descriure, l'any 1679, aquesta anomalia, però va ser Bochdalek al segle XIX qui va sistematitzar les característiques de la malformació¹.

La freqüència de l'HD se situa al voltant de 1/2.500 nadons vius, però segurament és més elevada, ateses les descripcions freqüents d'avortaments espontanis afectats d'aquest defecte. El 85% dels casos són del costat esquerre, el 13% del costat dret, i el 2% són bilaterals. La majoria d'hèrnies diafragmàtiques són aïllades (60-80%). Les malformacions associades són esquelètiques, cardíques, gastrointestinals i renals. També s'han descrit anomalies del tub neural en avortaments espontanis afectats amb aquesta anomalia²⁻³.

No s'han descrit alteracions genètiques en l'ésser humà relacionades amb l'hèrnia diafragmàtica. La majoria de casos serien esporàdiques. En casos aïllats s'han descrit interrelacions amb drogues com piridoxina, talidomida, quinina i antiepilèptics³⁻⁴. Algunes anomalies associades poden contribuir en un grau més alt a la mortalitat d'aquests nens, especialment les anomalies cromosòmiques, les malformacions cardiovasculars greus o les atresies intestinals.

Entre les anomalies que no posen en perill immediat la vida però que causen una alta morbiditat hi ha el

reflux gastroesofàgic (RGE), que apareix en alguns supervivents. Encara no està clar quin és el mecanisme responsable, i s'ha relacionat amb un gradient més alt de pressió entre l'abdomen i el tòrax que afavoriria l'RGE. S'ha destacat la hipoplàsia del pilar diafragmàtic esquerre, especialment en casos d'estómac intratoràctic, i també s'ha incriminat com a responsable una anomalia intrínseca de desenvolupament de l'esòfag provocada per la pressió visceral que conduiria a un esòfag dilatat i ectàtic. La incidència de l'RGE ha estat descrita amb gran variabilitat del 21 al 70%⁵⁻⁷.

En molts supervivents d'hèrnia diafragmàtica s'ha descrit la dificultat per assolir un desenvolupament ponderal normal (present en un 20-30%) d'aquests infants amb relació a un període neonatal difícil, una certa dificultat per succionar, una prolongada dependència de l'oxigen i també a l'RGE causant de pneumònia de repetició^{5, 8-10}.

A partir dels efectes que la manca d'oxigenació pot causar en el desenvolupament neurològic d'aquests infants s'han descrit, en un nombre limitat de casos (2-4%), anomalies associades de l'SNC. Entre les anomalies musculoesquelètiques s'han descrit el pectus excavatum, per l'efecte de l'anomalia en el creixement harmònic de la caixa toràtica, pulmó i diafragma, i en un 5-10% dels casos, escoliosi de concavitat cap al costat del defecte.

Malgrat tot, la qualitat de vida dels supervivents a llarg termini és bona, en general, en el cas d'hèrnia diafragmàtica aïllada¹¹.

Hipoplàsia pulmonar

La hipoplàsia pulmonar és encara avui en dia l'obstacle que impossibilita el tractament efectiu de moltes hèrnies diafragmàtiques. Com més hipoplàstic és el teixit pulmonar, pitjor és el pronòstic en la supervivència a curt i mitjà termini i més grans són les limitacions en la qualitat de vida dels infants que superen les primeres fases. La hipoplàsia pulmonar és el problema principal per aconseguir superar la supervivència d'aquesta malformació congènita.

Els darrers anys, el descobriment del paper dels factors de creixement en el desenvolupament de la hipoplàsia pulmonar ha obert una escletxa de llum

Aquest text correspon al discurs d'ingrés com a Soci Correspondent a la Reial Acadèmia de Medicina (Barcelona, març de 2009).

Correspondència:

*Lluís Morales
Hospital Sant Joan de Déu
Passeig de Sant Joan de Déu, 2
08950 Esplugues de Llobregat. Barcelona (Spain)*

Treball rebut: 28.05.2009. Treball acceptat: 16.07.2009.

*Morales LI.
Hèrnia diafragmàtica i hipoplàsia pulmonar: frontera en la investigació pediàtrica.
Pediàtr Catalana 2009; 69: 244-249.*

en la prevenció del potencial de morbiditat i mortalitat associats a la seva presència en néixer.

Els primers a descriure la hipoplàsia pulmonar present a l'hèrnia diafragmàtica foren Areechon i Eid el 1963, i ja l'associaren a la mortalitat causada per l'hèrnia diafragmàtica¹².

L'any 1971, Murdoch va descriure les anomalies vasculares que apareixien al pulmó hipoplàstic i posteriorment altres autors van definir-les progressivament. Així es va constatar l'existència d'una disminució de les ramificacions arterials i de les arterioles i els capil·lars; la paret vascular està engruixida a expenses de la musculatura i, en definitiva, aquestes anomalies serien les responsables de la dificultat d'intercanvi gasós alveolocapil·lar i de la hipertensió arterial pulmonar que apareix en algunes hèrnies diafragmàtiques i que de vegades comporta un retorn a la circulació fetal amb derivació dreta-esquerra que dificulta encara més la ventilació correcta d'aquests nadons¹³⁻¹⁸.

Amb relació al teixit pulmonar, avui és ben conegut que hi ha una clara disminució del nombre de bronquis, tant en el parènquima del pulmonar ipsolateral com al contralateral. Com que els bronquis normals es desenvolupen en les primeres 16 setmanes de vida intrauterina, no es pot esperar que aquest nombre pugui augmentar, malgrat un tractament teòric, si és posterior a aquest moment¹⁹⁻²¹.

El nombre d'alvèols sí que pot augmentar després del quart mes intrauterí, i així s'ha demostrat en l'increment alveolar del pulmó contralateral quan es compara amb el pulmó ipsolateral en l'hèrnia diafragmàtica en necròpsies d'infants que han mort després de la primera setmana de vida postnatal^{19,22}. En el pulmó hipoplàstic hi ha una disminució molt forta del nombre d'alvèols en el pulmó ipsolateral i més moderada en el contralateral, si es compara amb un pulmó normal.

En infants tractats postnatalment amb èxit d'hèrnia diafragmàtica s'ha demostrat que a més d'incrementar-se el nombre d'alvèols, també en creix la mida, de manera que el pulmó creix globalment per tal d'omplir el defecte toràcic que queda després de reduir el contingut de l'hèrnia i tancar el diafragma.

Pronòstic prenatal de la hipoplàsia pulmonar i de la hipertensió pulmonar esperada en néixer

Una de les esperances dipositades en la millora del pronòstic de les hèrnies diafragmàtiques resideix en un tractament prenatal que ajudi a revertir o a millorar la gravetat de la síndrome d'hipoplàsia pulmonar i hipertensió arterial causants prioritàries de la mortalitat neonatal.

Una dificultat sobreafegida a l'hora de valorar les

tècniques intrauterines és la troballa dels paràmetres de gravetat de la hipoplàsia pulmonar en un moment determinat en què encara sigui possible intervenir sobre la instauració de la patologia.

Entre els diagnòstics per la imatge han estat els mesuraments ecogràfics i, darrerament, la ressonància magnètica (RM) fetals els que han permès definir millor els paràmetres de gravetat. Diversos grups hi estan treballant els darrers anys. Un d'aquests grups és la unitat de tractament intrauterí de les hèrnies diafragmàtiques dels hospitals Clínic i Sant Joan de Déu, pertanyent al programa europeu.

Després de diversos treballs, s'ha establert que els dos factors de pronòstic prenatal, independents l'un de l'altre, són la hipoplàsia pulmonar intrauterina i la presència de fetge intratoràcic mesurats per ecografia 2D (de moment no s'ha trobat millora amb l'ús de l'ecografia 3D). L'RM pot permetre una bona valoració en el futur, quan es disposi d'estudis comparatius.

El millor patró és la mida de l'àrea pulmonar contralateral a l'hèrnia diafragmàtica relacionada amb la circumferència cefàlica denominat LHR (acrònim de l'anglès *Lung Head Ratio*). El mesurament del pulmó ipsolateral és molt difícil ecogràficament, a causa de les nanses intestinals, i s'espera que l'RM ho permeti en el futur. L'àrea pulmonar es dibuixa amb una línia que contorneja els pulmons. La mesura ha estat validada en 184 casos consecutius en deu centres. La primera mesura ha estat efectuada entre les setmanes 22 i 28, i després en el nouat. Així, un índex LHR observat (O) es relaciona amb l'índex LHR esperat (E) per l'edat, i es classifica en quatre grups de gravetat pronòstica:

- 1) Fetus amb índex O/E LHR <15%. Hipoplàsia pulmonar extrema. No s'esperen supervivents.
- 2) Fetus amb índex O/E LHR entre 15 i 25%. Hipoplàsia pulmonar greu amb una supervivència prevista de 20% i amb pitjor pronòstic si el fetge és intratoràcic.
- 3) Fetus amb índex O/E LHR entre 26 i 35% i fetus O/E LHR entre 36 i 45%, però amb el fetge intratoràcic, tenen hipoplàsia pulmonar moderada i supervivència prevista entre el 30 i el 60%, dependent de si estan en el límit inferior o superior de l'índex O/E LHR.
- 4) Fetus amb índex O/E LHR entre 36 i 45% amb el fetge ben situat; tots els que tenen un índex superior al 45% es consideren amb hipoplàsia pulmonar lleu i s'espera una supervivència superior al 75%.

Aquests paràmetres han estat validats només per a hèrnies diafragmàtiques esquerres; les dretes són de pitjor pronòstic (no hi ha hagut supervivents d'HD dreta amb índex O/E LHR per sota del 45%)²³⁻²⁶.

Tractament

El tractament de l'hèrnia diafragmàtica requereix avui en dia un abordatge molt complex en centres amb un alt grau de tecnificació neonatològica amb equip d'ECMO (acrònim d'oxigenació extracorpòria de membrana), i una plantilla que disposi d'obstetres amb experiència en l'abordatge intrauterí endoscòpic per accedir al fetus, anestesistes capaços de mantenir la mare i el fetus en EXIT (acrònim de tractament extrauterí intrapart), cirurgians pediàtrics per tancar el defecte diafragmàtic en el moment precís i un equip neonatòleg de pediatres, cirurgians, infermers, experts en ventilació d'alta freqüència i administració de NO, estabilització circulatoria i, finalment, un equip de pediatres i cirurgians pediàtrics capaços de fer un seguiment d'aquests infants a mitjà i llarg termini, pel risc de morbiditat.

La clau d'un bon tractament és l'abordatge de la hipoplàsia pulmonar i la hipertensió arterial pulmonar aconseguint una bona oxigenació dels teixits del nadó. La cirurgia per tancar el defecte diafragmàtic i reposar els òrgans a l'interior de la cavitat abdominal s'ha de triar en el moment oportú d'estabilització del nadó.

Tractament prenatal

Des de les darreres dècades del segle XX s'han fet esforços per intentar prevenir o millorar la hipoplàsia pulmonar abans del part. Harrison va ser el primer (1989) que després de cirurgia experimental animal en ovelles va creure que la hipoplàsia era reversible en un període precoç intrauterí si es tancava el defecte i s'eliminaven les vísceres intratoràciques per alliberar l'efecte mecànic de pressió intratoràcica sobre el pulmó³²⁻³³. Posteriorment va passar a la pràctica clínica en humans, però després de 15 anys de tractament la tècnica va resultar amb poc èxit. Un dels problemes era que l'abordatge del fetus es feia per histerotomia oberta i el part prematur era molt freqüent, cosa que empitjorava el pronòstic dels nadons afectats d'HD. La via oberta es va abandonar³⁴.

Potter, l'any 1941, observà en la necròpsia d'un nadó que tenia una atrèsia bronquial lobar amb interrupció completa de la llum, que el lòbul afectat presentava una hiperdistensió, malgrat que no ventilava³⁵. D'altra banda, infants afectats de la síndrome CHAOS (acrònim d'obstrucció congènita de les vies aèries altes) també presenten un creixement pulmonar exagerat. En diversos treballs experimentals en animals es va comprovar que l'efecte de la pressió del líquid produït a l'interior de l'arbre bronquial amb oclusió traqueal (OT) provocava igualment el creixement del pulmó hipoplàstic^{23, 36-38}.

A més de l'efecte mecànic, es consideren la presència d'una sèrie de factors de creixement que intervenen en les diverses fases de desenvolupament del pulmó:

- En l'etapa embrionària, factors de creixement com el sonic hedgehog (Shh), el factor de creixement de fibroblasts (FGF), i factors de transcripció: el factor 3 β nuclear d'hepatòcits (HNF-3 β), els gens Hox i els gens Gli. El més important és el FGF-10, que és l'encarregat d'iniciar el desenvolupament del pulmó.
- Durant la fase pseudoglandular el factor que induïx la ramificació bronquial fins les parts més distals és el TGF- β (factor transformador de creixement); aquest factor pertany a una superfamília de proteïnes que actua amb els corresponents receptors per a aquest fi.
- En el període canalicular intervenen diversos factors, el més important dels quals es creu que és el factor de creixement vascular endotelial (VEGF), que promou l'alliberament per l'endoteli de l'enzim que participa en les síntesis d'òxid nítric (iNOS). L'òxid nítric és un conegut vasodilatador a través de la seva interacció amb l'endoteli arterial. En aquesta etapa es produeix també la diferenciació pulmonar. Les cèl·lules pulmonars neuroendocrines són les primeres a assolir aquest procés.
- En l'etapa sacular els principals factors involucrats són els que participen en l'apoptosi –ja que hi haurà un aprimament del teixit connectiu–, entre ells, novament el TGF- β i el factor de creixement similar a la insulina-1 (IGF-1). El nombre de receptors a glucocorticoides augmenta en aquest període.
- En l'etapa alveolar, que es completa en la vida postnatal, són el factor A derivat de plaquetes (PDGF-A), el receptor de l'àcid retinoic (RAR) i el factor de transcripció tiroïdal TTF-1, involucrat en la diferenciació a pneumòcit tipus II³⁹⁻⁴⁴.

El primer model d'hèrnia diafragmàtica experimental es va fer amb ovelles. Posteriorment es va aconseguir un model teratogènic induït en ratolins amb un herbicida (Nitrofen) i que provoca principalment defectes diafragmàtics i pulmonars. També hi ha models experimentals quirúrgics en rates i ratolins i s'ha descrit un model congènit en una raça de porcs¹³.

El nostre grup ha desenvolupat un model d'hèrnia diafragmàtica amb hipoplàsia pulmonar en conills. Els avantatges d'aquest animal d'experimentació –en el qual el nostre grup té una llarga experiència (model de fetus extraamniòtic, model prenatal de gastròsquisi, model d'empelts cutanis prenatals, model prenatal d'espina bífida i model d'obstrucció uretral)– són un període de gestació relativament curt (31 dies), una mida superior a la d'altres rosegadors i un preu relativament assequible. La conilla prenyada té un úter bicorne allargat amb 8-12 fetus en diferents bosses amniòtiques i aïllats els uns dels altres amb una porció d'úter dedicat a cadascun, fet que permet una manipulació fàcil i individualitzada de cada fetus i un model molt fiable de cohorts de germans per comparar²⁷⁻³¹.

Exposant l'úter i els fetus es provoca una hèrnia diafragmàtica quirúrgica amb orifici al diafragma al 24è dia de la vida intrauterina, comparant-ho amb germans en els quals s'ha fet només una histerotomia i exposició fetal. Sacrificats al 31è dia, els fetus demostren una hèrnia diafragmàtica amb una greu hipoplàsia pulmonar mesurada per índex alveolar radial i per massa pulmonar.

Motivació per a l'estudi experimental

Fins al moment, els mecanismes involucrats en els canvis histològics i funcionals del pulmó hipoplàstic sotmès a distensió no han estat plenament identificats. Conèixer l'expressió de diversos factors de creixement que participen en les diferents etapes del desenvolupament pulmonar serviria per inferir els mecanismes que intervenen en el creixement i el desenvolupament accelerats que presenten els fetus amb hèrnia diafragmàtica tractats mitjançant oclusió traqueal.

El fet de conèixer els canvis de resistència de la circulació pulmonar en situació d'HD i d'HD tractada amb oclusió traqueal, i la seva relació amb els factors involucrats en el creixement bronquial i vascular del pulmó, té un interès capital en l'àmbit clínic, en què ja s'estan tractant les gestacions humanes amb criteris de mal pronòstic que accepten aquesta modalitat de teràpia. És necessari relacionar les troballes prenatales amb la situació respiratòria neonatal resultant, per aconseguir una modulació afinada –no exagerada– del desenvolupament pulmonar. Per això hem començat un estudi en fetus de conill en què pretenem demostrar que:

1. Existeix una relació entre els aspectes hemodinàmics, morfològics, histoquímics i funcionals de la hipoplàsia pulmonar en el model animal d'hèrnia diafragmàtica en conill.
2. L'oclusió traqueal tardana intraúter és capaç d'incrementar l'expressió de factors de creixement pulmonar, promovent el desenvolupament bronquial i vascular, millorant el flux arterial i accelerant alguns aspectes de la maduració pulmonar.
3. Aquesta modulació del desenvolupament té una traducció morfològica i pot millorar la situació respiratòria neonatal en aquest model animal.

Resultats preliminars

Hem desenvolupat el model animal en conill fetal descrit per Jani²⁴: creació d'una hèrnia diafragmàtica mitjançant toracotomia fetal el dia 24 de gestació, i oclusió traqueal a alguns fetus amb hèrnia, mitjançant una nova intervenció, el dia 29 de gestació. El dia del naixement previst (31 dies de gestació) hem recuperat per cesària dos grups d'animals operats (HD i HD+OT) i els hem comparat entre si i amb

els seus germans no operats (grup CTRL) pel que fa a dades hemodinàmiques, d'oxigenació neonatal i morfometria pulmonar. La comparació entre els grups indica, de moment, que els pulmons del grup HD tenen més resistència al flux arterial i, de fet, reben menys sang; els animals acabats de néixer no aconsegueixen una oxigenació adequada, mantenen SaO₂ per sota de 60% i molts moren a la primera hora de vida; els pulmons són hipoplàstics morfomètricament, amb un recompte alveolar radial <3. Aquestes troballes es corresponen amb les de l'hèrnia diafragmàtica en els nostres pacients. Tanmateix, els animals del grup HD+OT (que van rebre tractament només 2 dies abans de la cesària) tenen poques resistències arterials i bon flux vascular pulmonar (no es diferencien del grup CTRL i sí del grup HD); sobreviuen la primera hora després de la cesària, mantenen SaO₂ >75% i tenen menys hipoplàsia pulmonar amb recompte alveolar radial entre 4 i 5 (el del grup CTRL és >6). Hem trobat una claríssima correlació entre l'índex de pulsatilitat (dada hemodinàmica de la resistència al flux vascular) en l'artèria pulmonar i el recompte alveolar radial ($p=0,007$).

Conclusions preliminars

L'oclusió traqueal cap a la fi de la gestació pot revertir el patró d'hipoplàsia pulmonar en els fetus amb hèrnia diafragmàtica experimental. I la millora no és només histològica, sinó que hi ha una resposta hemodinàmica paral·lela que fa disminuir les resistències vasculars pulmonars i millorar la circulació pulmonar. La relació entre resistència vascular i desenvolupament alveolar és tant estreta que la primera arribarà a ser el paràmetre prenatal més fiable per predir el pronòstic postnatal.

Resta per explorar la relació de tots aquests paràmetres amb els senyals bioquímics que activen la maduració pulmonar, l'escala bioquímica que promou cada pas successiu en el desenvolupament del pulmó fetal. Perquè la maduració del pulmó no pot succeir només per un mecanisme físic de forces i pressions. Sens dubte l'estímul físic actua posant en marxa els «interruptors» bioquímics que generen un pulmó madur.

Basada en aquests fets, s'ha desenvolupat una tècnica, denominada OT (oclusió traqueal), que permet cloure la tràquea en fetus humans mitjançant un globus o baló que es manté unes setmanes i es retira abans de néixer per facilitar la maduració pulmonar i la transformació de pneumòcits I en pneumòcits II.

La selecció dels casos d'hipoplàsia greu ha de ser molt escrupolosa per poder avaluar l'efectivitat del mètode que avui en dia encara podem definir com a experimental.

La tècnica actual FETO (acrònim d'oclusió traqueal fetal endoscòpica) que desenvolupa el nostre grup

utilitza instrumentació molt poc invasiva i es fa percutàniament amb una cànula de 3,3 mm sota anestèsia local o locoregional. Es practica una traqueoscòpia fetal i s'introdueix un baló entre les setmanes 26 i 28; l'oclusió es retira mitjançant punció ecogràfica guiada del globus o eventual fetoscòpia abans de néixer, a la setmana 34²³.

Malgrat tot, en el moment del part s'ha de tenir en compte la possibilitat d'una retirada d'emergència via traqueoscòpia o via EXIT, en què es manté la circulació placentària a través de la mare durant els moments necessaris per restablir la permeabilitat de la via aèria en casos de previsió de complicacions o en els casos de part prematur en què no han donat temps a la retirada prèvia del baló²³.

Encara que Harrison va publicar un estudi aleatoritzat d'oclusió traqueal sense que el grup d'OT fos millor que el grup control, el grup europeu al qual pertanyem està obtenint molt bons resultats preliminars³⁴.

Hi ha grans diferències respecte del grup de Harrison. El nostre criteri de selecció és molt més estricte i no s'hi inclouen casos d'hipoplàsia moderada com en el grup americà. Així, la tècnica només s'empra en casos d'herniació del fetge o quan l'índex O/E LHR és menor de 27-28%. En aquest grup la supervivència obtinguda és del 50-57%, en contra del 20-25% esperat.

Des del desembre de 2005, la Unitat de Teràpia Fetal avançada ha avaluat 63 casos d'HD prenatal, dels quals 33 han estat objecte de teràpia fetal mitjançant oclusió traqueal mínimament invasiva. En 9 casos es va produir la mort abans de néixer o immediatament després i els 24 restants van ser intervinguts quirúrgicament els primers dies de vida. La supervivència total del grup amb teràpia fetal és de 54,5%, mentre que l'esperada se situava en el 20%.

Aquests resultats preliminars en infants afectats d'HD permeten, si en el futur es confirmen, obrir una porta d'esperança en la solució de la hipoplàsia pulmonar en les hèrnies diafragmàtiques greus.

Bibliografia

- De Buys Roessingh AS, Dinh-Xuan AT. Congenital diaphragmatic hernia: current status and review of the literature. *Eur J Pediatr* 2009 abril; 168: 393-406. Epub 23-12-2008.
- Kaiser JR, Rosenfeld CR. A population-based study of Congenital diaphragmatic hernia: impact of associated anomalies and preoperative blood gases on survival. *J Pediatr Surg* 1999; 34:1196-1202. Doi: 10.1016/S0022-346(99)90151-3.
- Langham MR, Kays DW, Ledbetter DJ, Frenzen B, Sanford LL, Richards DS. Congenital diaphragmatic hernia: epidemiology and outcome. *Clin Perinatol* 1996; 23: 671-688.
- The Congenital diaphragmatic hernia Group. Bilateral congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 522-524. Doi: 10.1053/ipsu.2003.50092.
- Van Meurs KP, Robbins ST, Reed VL, Karr SS, Wagner AE, Glass P, Anderson KD, et al. Congenital diaphragmatic-hernia. Long-term outcome in neonates treated with extracorporeal membrane-oxygenation. *J Pediatr* 1993; 122: 893-899.
- Peetsold MG, Heij HA, Kneepkens CM, Nagelkerke AF, Huisman J, Gemke RJ. The long-term follow-up of patients with a congenital diaphragmatic hernia: a broad spectrum of morbidity. *Pediatr Surg Int* 2009 gen.; 25: 1-17. Epub 8-10-2008.
- Fasching G, Huber A, Uray E, Sorantin E, Lindbichler F, Mayr J. Gastroesophageal reflux and diaphragmatic motility after repair of congenital diaphragmatic hernia. *Eur J Pediatr Surg* 2000; 10: 360-364.
- Muratore CS, Utter S, Jaksic T, Lund DP, Wilson JM. Nutritional morbidity in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 1.171-1.176.
- Jaillard SM, Pierrat V, Dubois A, Truffert P, Lequien P, Wurtz AJ, Storme L. Outcome at 2 years of infants with congenital diaphragmatic hernia: Apopulation-based study. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 250-256.
- Nobuhara KK, Lund DP, Mitchell J, Kharasch V, Wilson JM. Long-term outlook for survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Clinics in Perinatology* 1996; 23: 873-882.
- Koivusalo A, Pakarinen M, Vanamo K, Lindahl H, Rintala RJ. Health-related quality of life in adults after repair of congenital diaphragmatic defects - a questionnaire study. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1.376-1.381.
- Areechon W, Eid L. Hypoplasia of the lung with Congenital diaphragmatic hernia. *BMJ* 1963; 5325: 230-232.
- Kattan JS. Hernia diafragmática congénita: frontera entre ciencia básica y clínica. *Rev Chil Pediatr* 2002; 73: 229-238.
- Murdock AI, Burrington JB, Swyer PR. Alveolar to arterial oxygen tension difference and venous admixture in newly born infants with congenital diaphragmatic herniation through the foramen of Bochdalek. *Biol Neonate* 1971; 17: 161-172.
- Kitagawa M, Hislop A, Boyden EA, Reid L. Lung hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia. A quantitative study of airway, artery, and alveolar development. *Br J Surg* 1971; 58: 342-346.
- Levin DL. Morphologic analysis of the pulmonary vascular bed in congenital left-sided diaphragmatic hernia. *J Pediatr* 1978; 92: 805-809.
- Coleman C, Zhao J, Gupta M, et al. Inhibition of vascular and epithelial differentiation in murine nitrofen-induced diaphragmatic hernia. *Am J Physiol* 1998; 274: L636-646.
- Newell MA, Au-Fliegner M, Coppola CP, Gosche JR. Hypoxic pulmonary vasoconstriction is impaired in rats with nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 1.358-1.362.
- Beals DA, Schloo BL, Vacanti JP, Reid LM, Wilson JM. Pulmonary growth and remodeling in infants with high-risk congenital diaphragmatic-hernia. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 997-1.001.
- Hislop A, Reid L. Persistent hypoplasia of lung after repair of congenital diaphragmatic hernia. *Thorax* 1976; 31: 450-455.
- Reid L. Lung growth in health and disease. *Br J Dis Chest* 1984; 78: 113-134.
- Bohn, D, Tamura M, Perring D, Barker G, Rabinovitch M. Ventilatory predictors of pulmonary hypoplasia in congenital diaphragmatic-hernia, confirmed by morphological assessment. *J Pediatr* 1987; 111: 423-431.
- Deprest J, Flemmer A, Gratacós E, Nicolaidis K. Antenatal prediction of lung volume and in-utero treatment by fetal endoscopic tracheal occlusion in severe isolated congenital diaphragmatic hernia. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 2009; 14: 8-13.
- Jani JC, Benachi A, Nicolaidis KH, Allegaert K, Gratacós E, Mazke-reth R, Matis J, et al. Antenatal-CDH-Registry group. Prenatal prediction of neonatal morbidity in survivors with congenital diaphragmatic hernia: a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 33: 64-69.
- Kilian AK, Schaible T, Hofmann V, Brade J, Neff KW, Büsing KA, AJR. Congenital diaphragmatic hernia: predictive value of MRI relative lung-to-head ratio compared with MRI fetal lung volume and sonographic lung-to-head ratio. *Am J Roentgenol* 2009; 192: 153-158.
- Worley KC, Dashe JS, Barber RG, et al. Fetal magnetic resonance imaging in isolated diaphragmatic hernia: volume of herniated liver and neonatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 318.e1-6. Epub 2008 Dec 25.

27. Albert A, Julià V, Morales L, Parri FJ, Sancho MA. Gastroschisis in the partially extraamniotic fetus. Experimental study. *J Pediatr Surg* 1993; 28: 650-652.
28. Julià V, Albert A, Morales L, Miró D, Sancho MA, García X. Wound healing in the fetal period. The resistance of the scar to rupture. *J Pediatr Surg* 1993; 28: 1.458-1.462.
29. Albert A, Sancho MA, Julià V, Diaz F, Bombi JA, Morales L. Intestinal damage in gastroschisis is independent of the size of the abdominal defect. *Pediatr Surg Int* 2001; 17: 116-119.
30. Albert A, Margarit J, Julià V, Sancho MA, Galán X, López D, Morales L. Morphology and mucosal biochemistry of gastroschisis intestine in urine-free amniotic fluid. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1.217-1.220.
31. Julià V, Sancho MA, Martínez A, Albert A, Morales L. Fetal skin allografts on newborn excisional wounds. *Ann Plast Surg* 2002; 48: 450-451.
32. Harrison MR, Adzick NS, Longaker MT, Goldberg JD, Rosen MA, Filly RA, Evans MI, et al. Successful repair in utero of a fetal diaphragmatic hernia after removal of herniated viscera from the left thorax. *N Engl J Med* 1990; 322: 1.582-1.584.
33. Harrison MR, Adzick NS, Flake AW, Jennings RW, Estes JM, MacGillivray TE, Chueh JT, et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero: VI. Hard-earned lessons. *J Pediatr Surg* 1993; 28: 1.411-1.417; discussion 1.417-1.418.
34. Harrison MR, Keller RL, Hawgood SB, Kitterman JA, Sandberg PL, Farmer DL, Lee H, et al. A randomized trial of fetal endoscopic tracheal occlusion for severe fetal congenital diaphragmatic hernia. *New Eng J Med* 2003; 349: 1.916-1.924.
35. Potter EL, Bohlender GP. Intrauterine respiration in relation to development of the fetal lung. *Am J Obstet Gynecol* 1941; 142: 1422.
36. DiFiore JW, Fauza DO, Slavin R, Peters CA, Fackler JC, Wilson JM. Experimental fetal tracheal ligation reverses the structural and physiological effects of pulmonary hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg*. 1994; 29: 248-256.
37. Moessinger AC, Harding R, Adamson TM, Singh M, Kiu GT. Role of lung fluid volume in growth and maturation of the fetal sheep. *Lung J Clin Invest* 1990; 86: 1.270-1.277.
38. Flageole H, Evrard V, Piedboeuf B, Laberge J, Lerut T, Deprest J. The plug-unplug sequence: An important step to achieve type II pneumocyte maturation in the fetal lamb model. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 299-303.
39. Gosche JR, Islam S, Boulanger SC. Congenital diaphragmatic hernia: searching for answers. *Am J Surg* 2005; 190: 324-332.
40. Deprest J, Jani J, Gratacós E, Vandercruys H, Naulaers G, Delgado J, Greenough A, and then FETO Task Group. Fetal intervention for congenital diaphragmatic hernia: The European experience. *Sem Perinatol* 2005; 29: 94-103.
41. Laudy JAM, Wladimiroff JW. The fetal lung 1: developmental aspects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16: 284-290.
42. Sekine K, Ohuchi H, Fujiwara M, Yamasaki M, Yoshikawa T, Sato T, Yagishita N, et al. FGF10 is essential for limb and lung formation. *Nat Genet* 1999; 21: 138-141.
43. Chapin CJ, Estsey R, Yoshizawa J, Hara A, Sbragia K, Creer JJ, Kitterman JA. Congenital diaphragmatic hernia, tracheal occlusion, thyroid transcription factor-1, and fetal pulmonary epithelial maturation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 289: L44-52.
44. Losada A, Tovar JA, Xia HM, Diez-Pardo, JA, Santisteban P. Down-regulation of thyroid transcription factor-1 gene expression in fetal lung hypoplasia is restored by glucocorticoids. *Endocrinology* 2000; 141: 2.166-2.173.