



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

**Dottorato di ricerca in Scienze Ostetriche e  
Ginecologiche**

**Ciclo XXVI**

---

**MANAGEMENT ED OUTCOME  
DELL'ERNIA DIAFRAMMATICA CONGENITA:  
CASISTICA DAL 2000 AL 2013**

Coordinatore:  
Chiar.ma Prof.ssa Tiziana Frusca

Tutor:  
Chiar.ma Prof.ssa Carla Verrotti di Pianella

Dottorando:  
**Dott.ssa Alice Suprani**

# INDICE

## PARTE PRIMA

<b>ERNIA DIAFRAMMATICA CONGENITA.....</b>	<b>3</b>
1. Introduzione.....	4
2. Epidemiologia e patogenesi .....	5
3. Anatomia.....	6
4. Outcome neonatale .....	8
5. Management neonatale.....	9
6. Intervento chirurgico .....	10
7. Terapia fetale in utero.....	11

## PARTE SECONDA

<b>DIAGNOSI PRENATALE DELL'ERNIA DIAFRAMMATICA .....</b>	<b>13</b>
1. Introduzione.....	14
2. Ecografia 2D e 3D .....	15
3. Translucenza nucale .....	17
4. Indagini invasive .....	19
5. Analisi citogenetica molecolare (Array-CHG).....	20
6. Risonanza Magnetica Nucleare fetale.....	22

## PARTE TERZA

<b>PROTOCOLLO DI STUDIO.....</b>	<b>24</b>
1. Introduzione.....	25
2. Materiali e metodi.....	26
3. Risultati.....	28
4. Discussione .....	36

5. Conclusioni.....	39
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>42</b>

# **PARTE PRIMA**

## **ERNIA DIAFRAMMATICA CONGENITA**

## 1. Introduzione

L'ernia diaframmatica congenita (**CDH**-Congenital Diaphragmatic Hernia) è una embriopatia caratterizzata dall'assenza di sviluppo totale o parziale della cupola diaframmatica, con conseguente passaggio di alcuni visceri dell'addome verso la cavità toracica (1).

Attraverso il difetti di chiusura del piano diaframmatico, per i diversi regimi pressori di addome e torace, i visceri addominali localizzati nell'immediata prossimità del difetto erniano in cavità toracica, potendo così causare ipoplasia ed ipertensione polmonare, che sono le due problematiche principali della patologia dopo la nascita (2).

Poiché l'erniazione avviene durante un periodo critico dello sviluppo polmonare, quando si ha la ramificazione bronchiale e delle arterie polmonari, la compressione polmonare da parte dei visceri erniati comporta un decremento della ramificazione bronchiale e una riduzione della generazione dei bronchi e del tessuto polmonare (3,4). Inoltre, la ramificazione arteriosa diminuisce e si verifica un deficit secondario di produzione del surfactante (5).

L'ipoplasia polmonare è più grave nel lato dell'erniazione, ma può anche verificarsi nel polmone controlaterale se lo spostamento mediastinico è rilevante.

I neonati affetti da CDH presentano nelle prime ore di vita una situazione di distress respiratorio variabile, da lieve a severo e incompatibile con la vita.

Con le attuali indagini ecografiche effettuate in gravidanza è possibile diagnosticare tale patologia durante la vita intrauterina (1,2).

La diagnosi prenatale si rivela utile per poter indirizzare la paziente gravida verso Centri di riferimento, presso i quali abbia la possibilità di essere seguita con un efficace e mirato percorso diagnostico-terapeutico.

Con l'avvento della diagnosi prenatale e con il miglioramento delle cure neonatali, la sopravvivenza neonatale è aumentata, ma rimane comunque rilevante il rischio di morte o di altre complicazioni (6).

## 2. Epidemiologia e patogenesi

L'ernia diaframmatica congenita ha un'incidenza di 1/2500 nati vivi (7), con una lieve prevalenza nel sesso maschile (2).

Nel 60% circa dei casi il difetto è sporadico ed isolato; nel 30-40% dei casi la patologia è riconducibile ad anomalie genetiche o cromosomiche o è associata ad altre malformazioni fetali (8).

Nel 2% dei casi, si è osservata una ricorrenza nei gemelli monozigoti (9).

Circa il 10-20% delle CDH si correla a cromosomopatie, nell'ambito delle quali le più frequenti sono la trisomia 21,18 e 13, ma sono stati anche descritti casi di monosomia X, tetrasomia 12p, trisomie parziali del cromosoma 5 o 20, poliploidie. Si è notata anche un'associazione, nel 20% dei casi circa, con patologie sindromiche, quali la sindrome di Apert, Beckwith-Wiederman, Pallister-Killian o di Fryns (8,22,25).

Anomalie strutturali associate sono state ritrovate nel 25-57% di tutti i casi di CDH; le malformazioni più frequenti sono: cardiopatie congenite (coartazione aortica, difetti del setto), anomalie del tubo neurale (anencefalia, meningocele, encefalocele, idrocefalo), alterazioni renali (12,24).

La mortalità e la morbidità perinatali variano, a seconda delle casistiche, dal 30% al 70%; tale ampia variabilità dipende dalla sede e dall'entità del difetto, dall'epoca gestazionale alla nascita, dall'associazione con altre anomalie strutturali o con sindromi genetiche e cromosomopatie (10,25). Tutti questi fattori hanno un forte rilievo sul tipo di assistenza alla nascita, sull'outcome neonatale e, come già detto, sulla mortalità.

La sopravvivenza della CDH è circa del 70%.

### 3. Anatomia

Il difetto anatomico più comune, nel 70% dei casi, interessa la regione postero-laterale (ernia di Bochdalek), ma può anche interessare la regione peristernale o retrosternale (ernia di Morgagni) nel 25-30% dei casi o più raramente la regione centrale, nel 2-5% dei casi (14).

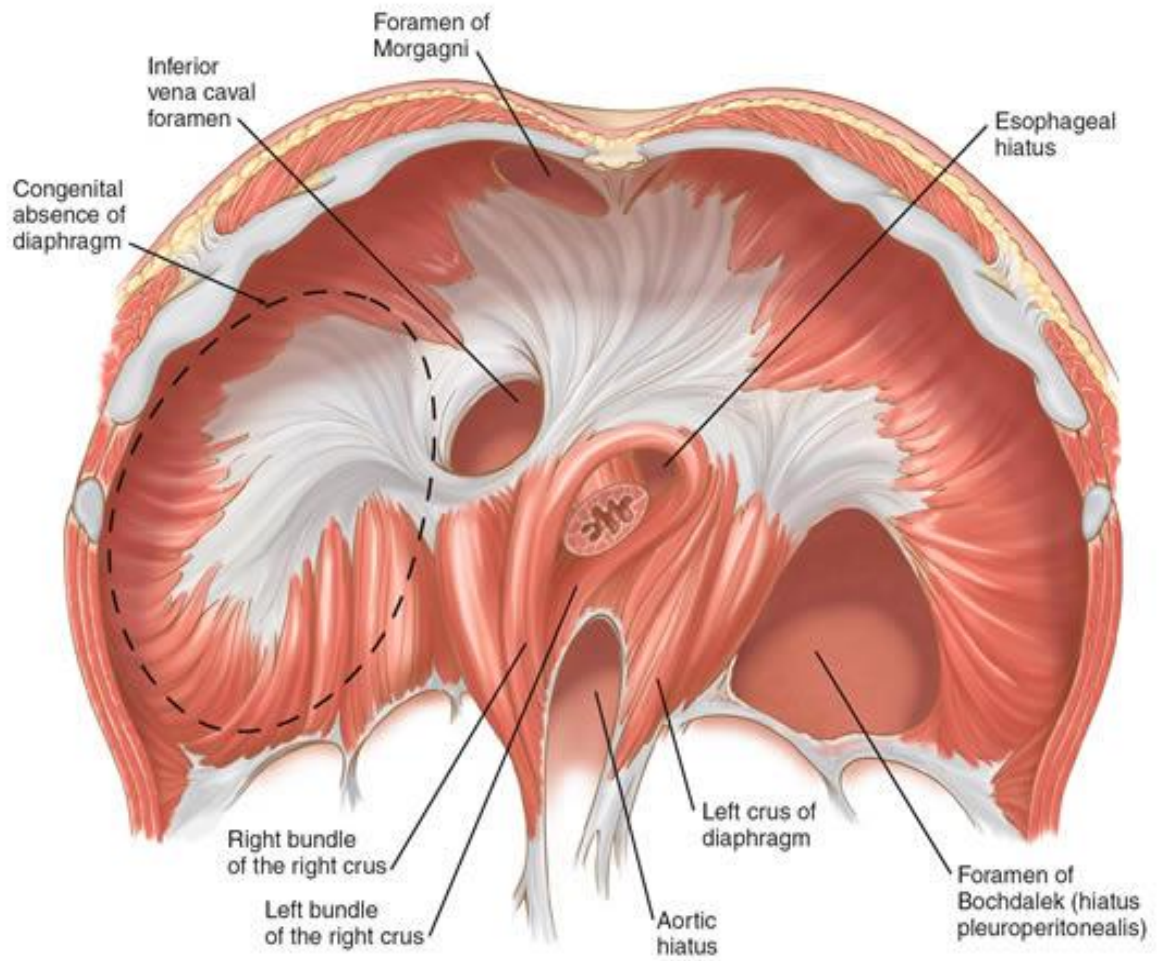
L'erniazione di solito coinvolge l'emidiaframma sinistro (80-85% dei casi), mentre più rare sono le ernie diaframmatiche di destra (10-15% dei casi) o bilaterali (2% dei casi) (15).

Il volume degli organi erniati può essere di varie dimensioni e può coinvolgere intestino, stomaco, milza e fegato.

Nell'ernia diaframmatica di sinistra spesso sono erniati lo stomaco e le anse intestinali; il fegato risulta essere più coinvolto nelle ernie diaframmatiche di destra. La presenza del fegato tra gli organi erniati è un fattore prognostico negativo che già di per sé classifica l'ernia come grave (8).

La forma più estrema e rara di CDH è rappresentata dall'agenesia del diaframma. I pazienti con questa patologia di difetto presentano una sopravvivenza inferiore rispetto altre forme, indici di Apgar alla nascita più bassi e necessitano di supporto ventilatorio e di un periodo di stabilizzazione pre-operatorio più lunghi (13,20). Questa condizione è gravata inoltre da sequele a lungo termine nella totalità dei casi. **(foto 1)**

Foto 1.



#### **4. Outcome neonatale**

L'outcome neonatale dipende principalmente da due fattori: la presenza di concomitanti anomalie malformative o genetiche e lo sviluppo di ipoplasia polmonare, ipertensione polmonare, alterazioni vascolari secondari alla erniazione (16).

Gli effetti della CDH risultano evidenti nel momento in cui i polmoni, al momento della nascita, diventano funzionali, portando molto frequentemente allo sviluppo di insufficienza respiratoria ed ipertensione arteriosa polmonare (17); non tutti i neonati però sono sintomatici alla nascita né sviluppano necessariamente ipertensione (94).

Altri fattori critici che influiscono sull'outcome sono l'età gestazionale al momento dell'erniazione e il volume degli organi che erniano nel torace.

I difetti più ampi che si sviluppano in epoche gestazionali precoci, permettendo il passaggio di un maggior volume di visceri addominali in cavità toracica, comportano infatti una ipoplasia più severa e una prognosi più sfavorevole (101). Al contrario, difetti più piccoli o che avvengono tardivamente durante la gestazione, spesso hanno un minor impatto sullo sviluppo polmonare e sono associati ad un outcome migliore.

I neonati che sopravvivono e vengono operati, non sono esenti anche da morbidità a lungo termine, rappresentate principalmente da problemi respiratori cronici, reflusso gastroesofageo, difficoltà alla deglutizione e displasia broncopolmonare.

La valutazione prenatale di anomalie strutturali o cromosomiche associate alla CDH è fondamentale per stabilire la prognosi (92).

## 5. Management neonatale

Prima degli anni novanta il management neonatale prevedeva una ventilazione ed iperossigenazione aggressive, insieme ad altre misure di controllo della pressione e alla riparazione del difetto in emergenza. Attualmente si preferisce impostare un'ossigenazione meno aggressiva con una lieve ipercapnia e una minima sedazione al fine di diminuire il rischio di barotrauma (96). L'intervento non viene più fatto in emergenza, ma si preferisce effettuarlo dopo stabilizzazione del neonato(99).

Alla nascita bisogna perciò cercare di stabilizzare il neonato precocemente (91,97), evitando la somministrazione di alte pressioni nelle vie aeree; è di fondamentale importanza, inoltre, evitare la distensione gastrica posizionando un sondino.

Il Neonatologo procederà a:

- Intubazione e ventilazione: molti Autori concordano sulla necessità di intubare immediatamente il neonato in sala parto, evitando l'uso di ventilazione tramite maschera. Il neonato deve essere ventilato con basse pressioni di picco ( $PIP < 25\text{mmHg}$ ) per minimizzare il barotrauma fin dai primi minuti dalla nascita (93).
- Sondino naso o oro-gastrico: lo stomaco è quasi sempre erniato nell'emitorace e la sua distensione comprimerebbe il polmone omolaterale, già ipoplasico. Pertanto è necessario prevenire la distensione addominale per non aggravare l'effetto compressivo sul polmone. La decompressione addominale va mantenuta fino alla riparazione chirurgica del difetto (100).
- Accessi vascolari: inizialmente si può incannulare la vena ombelicale nel caso non vi sia erniazione del fegato. A stabilizzazione avvenuta si preferisce reperire un altro accesso centrale; inoltre, al fine di impostare un frequente monitoraggio dell'emogasanalisi viene raccomandato l'incannulamento dell'arteria radiale destra (100).

In seguito il neonato verrà trasferito in Terapia Intensiva Neonatale per il successivo management (18,19,95).

## **6. Intervento chirurgico**

La CDH non è un'urgenza chirurgica; l'intervento va differito al momento in cui le condizioni generali del piccolo paziente sono migliori e adatte a sostenere una procedura chirurgica complessa (98).

La riparazione chirurgica consiste essenzialmente nella riduzione in addome dei visceri erniati in torace e successiva chiusura del difetto (99).

L'approccio chirurgico standard consiste in un'incisione sottocostale, con successiva riduzione in addome dei visceri erniati in torace ed esposizione del difetto diaframmatico. Esiste anche un approccio per via toracica, preferito da alcuni chirurghi nei casi di ernie diaframmatiche destre, meno utilizzato (64).

In caso di presenza di un sacco erniario, esso deve essere escisso.

La chiusura del difetto deve essere eseguita con sutura con filo non riassorbibile oppure, in caso di difetto ampio, può essere necessaria l'inserzione di un patch di Gore-tex; quest'ultima metodica, però, è gravata da un rischio di recidiva erniaria di circa il 50%, poiché il patch non può seguire la crescita del bambino.

Talvolta vengono utilizzati flaps muscolari, soprattutto nei difetti più grandi o in caso agenesia del diaframma (20).

La riparazione chirurgica va eseguita, come già sottolineato, dopo la stabilizzazione del neonato (77); da quando questo concetto è stato applicato e si è associato l'utilizzo selettivo di ECMO, la sopravvivenza dei neonati affetti da CDH è passata dal 50% al 70-80% (99).

Nel periodo post-operatorio raccomandata la sedazione e l'analgesia del paziente; per le prime 24 ore è indicata una restrizione dei fluidi, con diuresi mantenuta ad una quota di 1-2 mL/Kg/h, in caso contrario devono essere somministrati diuretici (100,102).

## 7. Terapia fetale in utero

La CDH rappresenta una delle patologie per le quali è possibile una tecnica di correzione chirurgica prenatale, limitata ai casi a prognosi sfavorevole (23,66).

Il razionale della terapia fetale nei casi di severa CDH è quello di prevenire o risolvere l'ipoplasia polmonare e ottenere un'adeguata crescita polmonare per garantire la sopravvivenza neonatale (79,81).

La tecnica attualmente utilizzata, ancora in via sperimentale, messa a punto dal gruppo europeo dell'Eurofetus, prende spunto dall'osservazione che, in caso di atresia laringea, si verifica un significativo incremento della crescita dei polmoni (78,83). Sulla base di tale osservazione, questi Autori hanno quindi pensato di occludere la trachea del feto con un catetere a palloncino da angioplastica, utilizzato principalmente in ambito neurochirurgico, inserito endoscopicamente (84,82).

La procedura prende il nome di **FETO** (Fetal Endoscopic Tracheal Occlusion) (80).

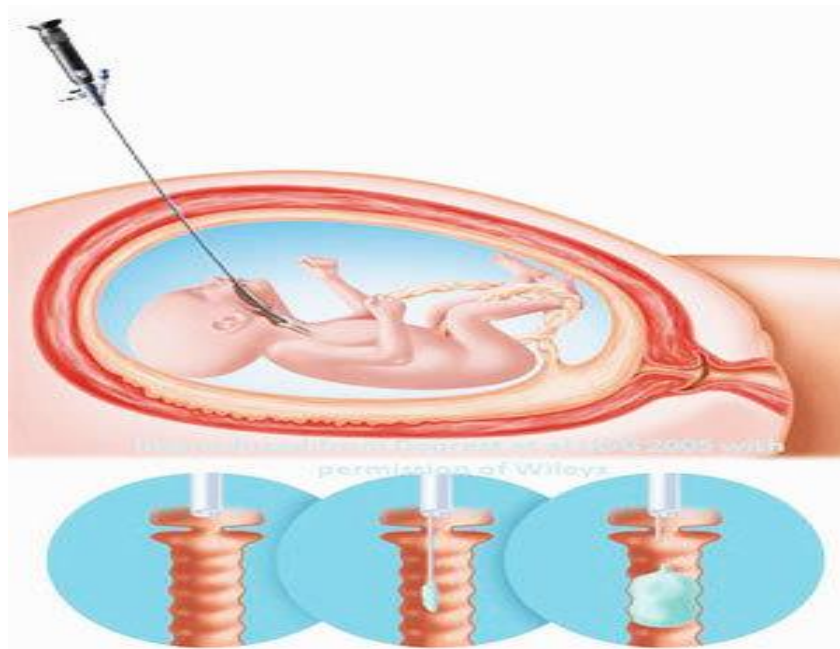
L'intervento viene eseguito con un accesso fetoscopico transaddominale, con un fetoscopio di 2 mm, in anestesia locale o spinale e con una sedazione fetale attraverso un cocktail di anestetici (**foto 2**).

L'inserzione del palloncino avviene tra la 26° e la 28° settimana di gravidanza e viene mantenuto in sede fino alla 34° settimana, così da ottenere una occlusione della trachea di 6-8 settimane e raggiungere un grado di espansione polmonare da garantire la sopravvivenza (**foto 3**).

Con il trattamento in utero si è osservato un aumento della sopravvivenza del 50-60% in quei casi che avrebbero avuto una sopravvivenza del 20% con atteggiamento conservativo (86).

**Foto 2.**

Trattamento chirurgico prenatale FETO, in cui è rappresentato l'inserimento del palloncino da endoplastica in trachea per mezzo di un accesso fetoscopico



**Foto 3.**

Controllo ecografico post-procedura



# **PARTE SECONDA**

## **DIAGNOSI PRENATALE DELL'ERNIA DIAFRAMMATICA**

## **1. Introduzione**

La diagnosi prenatale comprende l'insieme delle procedure che permettono di riconoscere o escludere la presenza nel feto di anomalie congenite (55).

Esistono quattro gruppi principali di patologie fetali nelle quali è possibile la diagnosi prenatale: le anomalie cromosomiche, le malattie geniche (tra cui gli errori congeniti del metabolismo e le emoglobinopatie), le malformazioni congenite e le infezioni fetali.

La diagnosi prenatale comprende i test diagnostici, invasivi, e i test di screening, non invasivi (37).

I test di screening si avvalgono di tecniche indirette che permettono, attraverso la valutazione nel sangue materno di determinate sostanze di origine fetale/placentare o di caratteristiche strutturali del feto rilevabili con l'ecografia (46,47,48), di individuare situazioni che possono configurare un rischio accresciuto di anomalie cromosomiche fetali (41,42,43,44). La diagnosi diretta delle principali anomalie cromosomiche del feto è possibile solo con il prelievo e l'analisi di cellule o tessuti fetali (49).

Con le attuali indagini effettuate in gravidanza è possibile diagnosticare l'ernia diaframmatica congenita già durante la vita intrauterina (21).

La diagnosi prenatale si rivela utile per poter indirizzare la paziente gravida verso Centri di riferimento, presso i quali abbia la possibilità di essere seguita con un efficace e mirato percorso assistenziale diagnostico-terapeutico (31).

La diagnosi prenatale della CDH utilizza tecniche ecografiche, quali l'ecografia bidimensionale, tridimensionale e l'ecocardiografia fetale, e altre indagini quali la RMN fetale, per cercare di stabilire la prognosi del nascituro (32,33).

La valutazione di anomalie cromosomiche associate mediante indagini invasive, quali l'amniocentesi o la recente Array-CHG, è un altro passo fondamentale per il miglioramento dell'outcome neonatale.

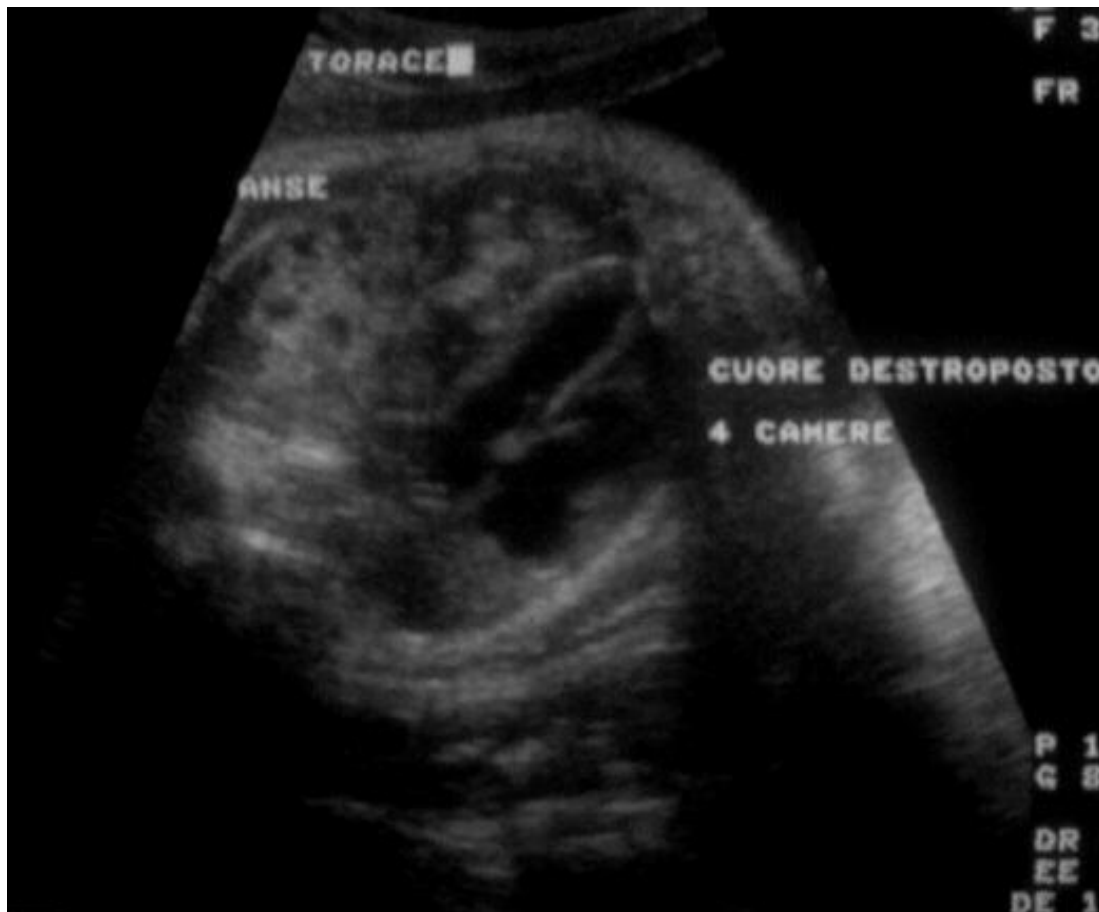
La diagnosi prenatale della CDH, delle anomalie strutturali o cromosomiche associate, è fondamentale per stabilire la prognosi post-natale (34).

## 2. Ecografia 2D e 3D

L'ecografia bidimensionale rappresenta la metodica principale per la diagnosi di CDH (35). La diagnosi ecografica è svolta ricercando segni diretti o indiretti (56,57,59).

I metodi diretti consistono nella visualizzazione della sede dell'ernia, degli organi erniati in torace, della peristalsi delle anse intestinali erniate, della sede della bolla gastrica (67). I segni ecografici indiretti sono rappresentati dallo shift mediastinico controlaterale alla sede dell'ernia, dalla posizione del cuore, dalla eventuale presenza di polioidramnios (68,69) dovuto ad ostruzione delle alte vie digestive da parte della massa erniaria o di idrope (**foto 4**)

**Foto 4.** Segni ecografici diretti e indiretti di CDH



I diversi segni ecografici evidenziati con ecografia bidimensionale convenzionale rappresentano fattori importanti per l'outcome neonatale (58).

I fattori prognostici valutati mediante gli ultrasuoni maggiormente considerati sono: la presenza tra gli organi erniati in torace del **fegato fetale** e la misura dell'**LHR** (lung-to-head ratio), che consiste nel rapporto tra l'area del polmone controlaterale alla sede dell'ernia e la circonferenza cranica.

L'LHR è il parametro più importante per quantificare il grado di ipoplasia polmonare, quindi di compressione del polmone dovuta alla presenza degli organi erniati in torace (103).

Dai dati della letteratura si evince che un valore di  $LHR < 1$  è incompatibile con la vita, tra 1 e 1.4 ha un tasso di sopravvivenza di circa il 38%,  $> 1.4$  è associato ad una sopravvivenza del 100% (71).

La misurazione del solo LHR correla con la sopravvivenza neonatale, ma il valore predittivo dell'LHR aumenta se è associata anche l'erniazione del fegato fetale: usando entrambe le variabili, si può ottenere una stratificazione clinica del rischio (72).

Dato che l'LHR aumenta con l'avanzare dell'epoca gestazionale, recentemente si è introdotto nella pratica clinica il valore dell'**o/e LHR** (Observed-Expected LHR), che è il rapporto tra il valore di LHR osservato nel feto in esame e il valore di LHR atteso, ossia normale per quella settimana di gravidanza, al fine di ottenere una misurazione dell'area polmonare indipendente dall'epoca gestazionale.

Da un punto di vista prognostico, il ruolo dell'O/E LHR può essere così schematizzato:

- feti con O/E LHR  $< 15\%$  hanno una severa ipoplasia polmonare che non è compatibile con la vita
- feti con O/E LHR tra il  $15\%$  e il  $25\%$  hanno un'ipoplasia polmonare grave e un indice di sopravvivenza del  $15\%$  circa
- feti con O/E LHR tra il  $26\%$  e il  $45\%$  hanno un'ipoplasia polmonare moderata e un indice di sopravvivenza di circa il  $30-60\%$

- feti con O/E LHR > 45% hanno un'ipoplasia polmonare lieve, con buone percentuali di sopravvivenza (62).

Nei feti con CDH isolata, l'o/e LHR rappresenta attualmente il metodo di ecografia 2D più validato nel predire la morbidità post-natale (73).

Il fegato erniato in torace, invece, è il principale fattore predittivo della sopravvivenza neonatale e la sua rilevazione ecografica in epoca prenatale rappresenta un parametro prognostico sfavorevole per la mortalità post-natale.

L'ecocardiografia fetale è un esame che deve essere preso in considerazione una volta fatta diagnosi ecografica di CDH, data l'alta incidenza di anomalie cardiache associate e la necessità di trattamento chirurgico alla nascita (76).

Negli ultimi anni, si è valutato se la misurazione del volume polmonare totale mediante ecografia 3D potesse rappresentare un valore predittivo migliore dell'LHR sull'outcome neonatale (75). Essendo una tecnica difficile e mancando ancora sufficienti studi a riguardo, per ora rimane un indice prognostico meno considerato.

### **3. Translucenza nucale**

La Translucenza nucale (NT) rappresenta la manifestazione ecografica dell'accumulo di fluido dietro la nuca fetale e viene utilizzata indipendentemente dal fatto che sia settata oppure no e che sia confinata alla regione del collo fetale o che ricopra interamente il feto. L'aumento della translucenza nucale è associato alla trisomia 21, alla sindrome di Turner ed ad altre cromosomopatie, ma può essere causata anche da malformazioni fetali e da sindromi genetiche (45).

La misurazione della NT deve essere eseguita tra le 11+0 e le 13+6 settimane di gravidanza, con una lunghezza vertice-sacro (CRL) minima di 45 mm e massima di 84 mm, secondo le indicazioni della Fetal Medicine Foundation e della SIEOG.

Le ragioni per la scelta delle 11 settimane come limite minimo (39,50,52) sono che per effettuare uno screening è necessario aver a disposizione un test diagnostico da poter eseguire successivamente (villocentesi) e che la maggior parte delle anomalie strutturali fetali possono essere diagnosticate a partire dalle 11 settimane (acrania, anencefalia, difetti cardiaci, onfalocele, megavesicica, ernia diaframmatica).

A 11-13+6 settimane di gravidanza tutti i principali difetti cromosomici si associano ad un aumento della NT.

Le mediane dell'aumento dell'NT sono simili nella trisomia 21, 18 e 13 e valori di NT sono di circa 2.5 mm al di sopra della normale mediana per quel dato CRL. Nella trisomia 21, oltre all'aumento dell'NT, si può riscontrare l'assenza dell'osso nasale nel 60-70% dei feti, l'ipoplasia dell'osso mascellare nel 25%, alterazioni nell'onda velocimetrica del dotto venoso nell'80%, e altri marcatori ecografici, il cui utilizzo è in grado di migliorare la sensibilità del test di screening combinato del I trimestre fino ad oltre il 95% (38, 40).

La combinazione di età materna, NT e marcatori biochimici (PAPP-A e free  $\beta$ -hCG ) nel primo trimestre è un test molto efficiente per la trisomia 21, oltre che 13 e 18, e prende il nome di **test combinato**. Il test combinato è attualmente il test di screening prenatale più utilizzato per la sindrome di Down e le altre patologie cromosomiche (53). Se la gravida sceglie il test combinato e risulta a rischio aumentato di anomalie cromosomiche può avere un counselling e l'offerta di un test diagnostico nel primo trimestre (CVS) o nel secondo trimestre (amniocentesi) (51).

In caso di riscontro di NT aumentata, la prevalenza di CDH, oltre che di difetti cardiaci e altre malformazioni, è sostanzialmente più alta rispetto alla popolazione generale.

Circa un terzo dei feti con CDH ha una NT aumentata a 11-14 settimane di gravidanza (54).

#### **4. Indagini invasive**

Si distinguono diverse indagini prenatali invasive:

- prelievo dei villi coriali (CVS - Chorionic Villous Sampling) che si esegue nel primo trimestre di gravidanza, tra le 11 e le 13 settimane di età gestazionale;
- prelievo di liquido amniotico (amniocentesi) che si esegue nel secondo trimestre di gravidanza, tra le 15 e le 18 settimane di età gestazionale;
- prelievo di sangue fetale (cordocentesi o funicolocentesi) che si può effettuare dopo le 18 settimane di età gestazionale

Le tecniche di diagnosi prenatale invasiva sono costose, e sono gravate da un rischio di perdita fetale relativa alla procedura che è stimata intorno all'1 % per l'amniocentesi ed il prelievo dei villi coriali e intorno al 2% per la cordocentesi (32,35). Per questi motivi la diagnosi prenatale invasiva non é offerta a tutte le gravide, ma ad un numero limitato di donne con un rischio maggiore o con almeno 35 anni di età. Queste gestanti, informate sulla propria situazione di elevato rischio, possono decidere se sottoporsi a test di diagnosi prenatale invasiva in modo da identificare o escludere l'anomalia cromosomica per cui il rischio é risultato aumentato (55).

Dato che la CDH può essere correlata ad anomalie cromosomiche o a patologie sindromiche, sono raccomandate le indagini invasive, così come una consulenza genetica, nell'ambito di un percorso diagnostico-assistenziale della patologia (65).

## 5. Analisi citogenetica molecolare fetale (Array-CGH)

L'approccio tradizionale nella diagnosi prenatale di anomalie cromosomiche comporta la messa in coltura di cellule fetali ricavate da prelievi di liquido amniotico e la determinazione del cariotipo tramite l'analisi al microscopio dei cromosomi in metafase. Benchè tale analisi sia abbastanza accurata, le colture cellulari impongono lunghi tempi di attesa che si aggirano intorno ai 15-20 giorni. Il cariotipo tradizionale, inoltre, non garantisce che il feto sia esente da malattie genetiche o alterazioni cromosomiche (delezioni o duplicazioni) di piccole dimensioni. Infatti, questo tipo di esame fornisce informazioni solo sulle principali anomalie cromosomiche (ad esempio la trisomia 21, o Sindrome di Down, le trisomie 18 e 13, la monosomia X, o Sindrome di Turner) attraverso la determinazione dell'intero assetto cromosomico fetale. Lo studio del cariotipo fetale, a differenza dell'amniocentesi rapida con la tecnica QF-PCR, presenta una importanza diagnostica elevatissima perché evidenzia le anomalie cromosomiche più severe e frequenti (come ad esempio le trisomie) a carico di tutti i cromosomi, tuttavia, a causa dei limiti di risoluzione della tecnica, piccoli riarrangiamenti cromosomici potrebbero non essere facilmente evidenziabili. Con il cariotipo tradizionale, infatti, si riesce ad evidenziare solo le anomalie strutturali più grandi di 10-15 Mb. Grazie ai recenti progressi della citogenetica molecolare è adesso possibile esaminare i cromosomi in maniera più approfondita ed accurata, utilizzando una tecnica molecolare innovativa conosciuta come **array-CGH**.

Essendo una tecnica molecolare che non necessita di coltura cellulare, con l'aCGH è possibile ottenere un'analisi cromosomica approfondita in soli 2-3 giorni; rispetto all'esame citogenetico tradizionale, l'analisi molecolare dei cromosomi ha una risoluzione molto più elevata (~100 volte): ciò consente di identificare alcune patologie derivanti da alterazioni cromosomiche submicroscopiche (microdelezioni, microduplicazioni) non evidenziabili tramite il cariotipo tradizionale, aumentando sensibilmente l'accuratezza dell'esame.

Tra le sindromi da microdelezione/microduplicazione investigate le più note ed importanti sono (**foto 5**)

**Foto 5.**

Patologia	Alterazione Cromosomica
Sindrome di Angelman	Del 15q12-13
Sindrome di Charcot-Marie-Tooth	Dup 17p12
Malattia del Cri-du-chat	Del 5p15
Sindrome di Di George/Velocardiofaciale	Del 22q11.2
Lissencefalia isolata	Del 17p13.3
Sindrome di Miller-Dieker	Del 17p13.3
Sindrome della Neuropatia Ereditaria (HNPP)	Del 17p12
Sindrome di Prader-Willi	Del 15q12-q13
Sindrome di Rubinstein-Taybi	Del 16p13.3
Sindrome di Smith-Magenis	Del 17p12.2
Sindrome di Sotos	Del 5q35
Sindrome Trico-Rino-Falangea	Del 8q24.1
Sindrome di Williams	Del 7q11.23
Sindrome di Wolf-Hirschhorn	Del 4p16

La presenza di anomalie strutturali fetali rilevate ecograficamente rappresenta attualmente indicazione a questo approfondimento diagnostico (104).

Nel caso di CDH, l'utilizzo dell'array-CGH consente un'analisi genetica più dettagliata e una risoluzione più alta al fine di completare la diagnosi, anche in caso di feti malformati con cariotipo standard normale.

## **6. Risonanza Magnetica fetale**

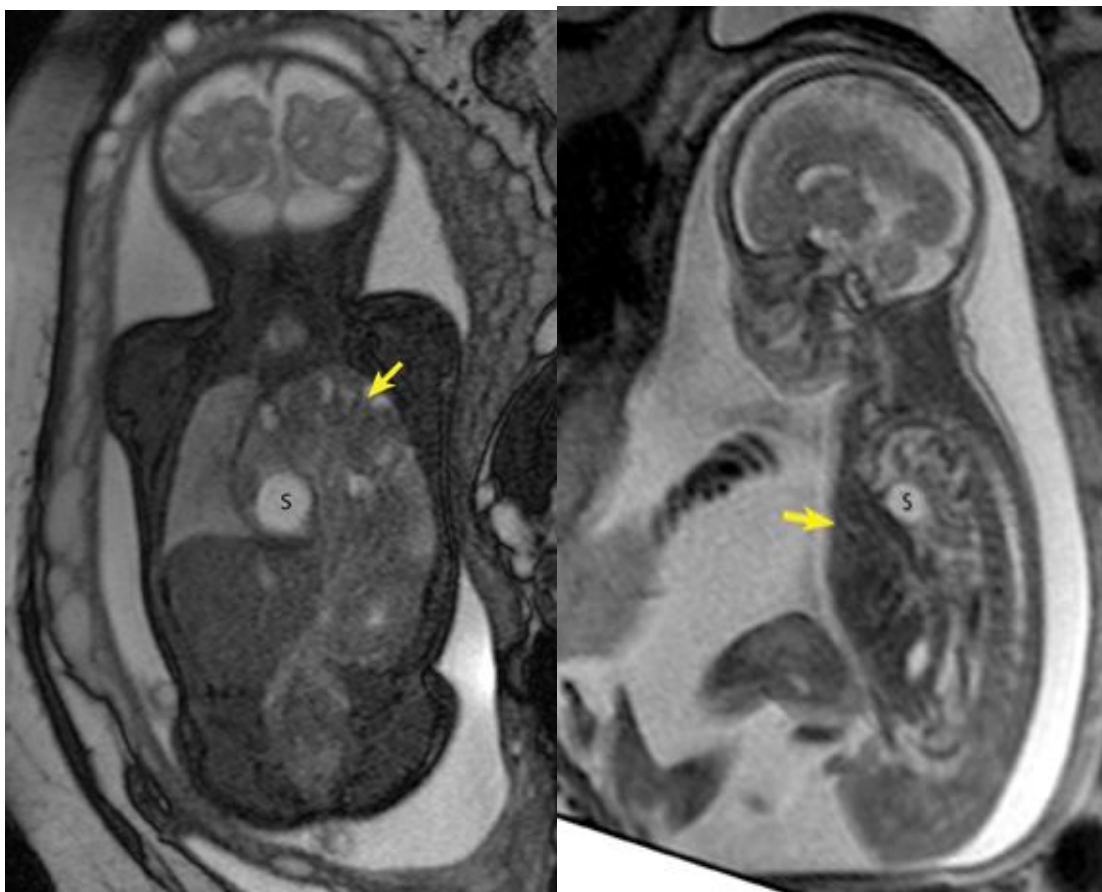
Il ruolo della RM nella CDH consiste nella valutazione del volume polmonare totale fetale (**TFLV**- Total Fetal Lung Volume), cioè la visualizzazione di entrambi i polmoni ipsilaterale e controlaterale all'ernia. Inoltre, permette una più facile identificazione del fegato erniato rispetto all'ecografia tradizionale e risulta importante nella ricerca di malformazioni associate.

Anche per questa misurazione, viene considerato l'**o/e TFLV**, che è indipendente dall'epoca gestazionale. Il valore del TFLV è variabile a seconda degli studi; indicativamente, un valore di TFLV < 25% è associato ad una sopravvivenza del 12%, tra 26% e 35% è associato a circa il 40% di sopravvivenza, tra 36% e 45% ad una sopravvivenza del 60% e un valore > di 46% ad una sopravvivenza > del 70% (74).

Un contrasto maggiore dei tessuti, un campo di visione più ampio, e una relativa indipendenza dell'operatore possono fornire informazioni supplementari da parte della RM rispetto all'indagine ecografica. (**foto 6**)

La RM può essere un metodo di indagine efficace per confermare la diagnosi di CDH, ma l'ecografia mantiene attualmente un ruolo di primo livello sia dal punto di vista diagnostico che prognostico.

**Foto 6.** Immagini RM coronale e sagittale, in cui è rappresentato un difetto sinistro con stomaco, intestino e fegato erniati



# **PARTE TERZA**

## **PROTOCOLLO DI STUDIO**

## 1. Introduzione

Con le attuali indagini diagnostiche in gravidanza, soprattutto l'imaging con ultrasuoni, che è diventato un aspetto routinario dell'assistenza prenatale, è possibile diagnosticare l'ernia diaframmatica congenita durante la vita intrauterina. Una corretta diagnosi prenatale si rivela utile per attuare un protocollo assistenziale, nell'ambito di Centri di riferimento specifici, che preveda la gestione della patologia durante la gravidanza, alla nascita e post-natale da parte di un team multidisciplinare (90).

Questo è di fondamentale importanza per il buon esito complessivo (89).

Scopo dello studio è stato quello di analizzare tutti i casi di ernia diaframmatica congenita afferiti alle strutture dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma nel periodo 2000-2013 e di correlare la diagnosi prenatale dei feti con la patologia congenita all'outcome neonatale.

Per quanto riguarda il percorso assistenziale nella nostra realtà di Parma e provincia, le ecografie di screening vengono eseguite a livello del territorio presso i servizi dell'AUSL, dove accedono le gravidanze fisiologiche a basso rischio. Le gravidanze ad alto rischio afferiscono direttamente al II livello presso il Servizio di Ecografia e Diagnosi prenatale della U.O. di Ostetricia e Ginecologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma. Qui vengono inviati anche tutti i casi sospetti di CDH, che vengono sottoposti agli accertamenti necessari: ecografia morfologica di II livello, ecocardiografia fetale, risonanza magnetica fetale, analisi del cariotipo fetale e più recentemente array-CHG. In caso di conferma diagnostica, i casi vengono inseriti in un *Day Service diagnostico per le anomalie strutturali fetali*, che coinvolge vari specialisti, tra cui ginecologi, pediatri, cardiologi, chirurghi infantili.

Viene stabilito se indirizzare i casi più gravi al trattamento FETO e il timing del parto. Alla nascita l'assistenza neonatale prosegue presso le U.O. di Terapia

Intensiva Neonatale e di Chirurgia Infantile, dove viene eseguito il successivo intervento chirurgico.

## **2. Materiali e metodi**

Per il protocollo di studio sono stati considerati tutti i casi di nati con ernia diaframmatica congenita nel periodo compreso tra il 1 gennaio 2000 e il 31 agosto 2013.

I dati sono stati ricavati dalle cartelle cliniche delle madri ricoverate presso la U.O. di Ostetricia e Ginecologia, dalle cartelle cliniche dei neonati ricoverati presso la U.O. di Terapia Intensiva Neonatale e di Chirurgia Pediatrica e dai referti ecografici del Servizio di Ecografia e Diagnosi prenatale della U.O. di Ostetricia e Ginecologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma.

Di ciascuna paziente gravida sono stati valutati:

- età
- nazionalità
- anamnesi familiare e personale
- parità
- modalità del parto
- epoca gestazionale al momento del parto

Di ciascun neonato sono stati analizzati i seguenti dati:

- sede dell'ernia
- sesso
- peso alla nascita
- APGAR al 1° e al 5° minuto
- rianimazione alla nascita e management post-nascita

- eventuale presenza di anomalie cromosomiche e/o malformazioni associate

Dell'intervento di riparazione chirurgica dell'ernia diaframmatica si è valutato:

- se è stato effettuato e in quale giornata
- giorni di degenza
- decorso post-operatorio
- eventuali decessi e/o complicanze

Per quanto riguarda in modo specifico la valutazione ecografica e la diagnosi prenatale dei feti con sospetta ernia diaframmatica afferiti presso il Servizio di Ecografia e Diagnosi prenatale della U.O. di Ostetricia e Ginecologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, sono stati esaminati tutti i referti ecografici e delle altre indagini prenatali dei casi in esame.

Le ecografie sono state eseguite con ecografo Voluson E8 utilizzando una sonda RAB4-8D convex volumetrica con range di frequenza di 4-8,5 MHz.

La diagnosi ecografica si è basata su metodi diretti ed indiretti per identificare la malformazione fetale: visualizzazione della sede dell'ernia, degli organi erniati in torace, soprattutto la presenza del fegato fetale, della peristalsi delle anse intestinali erniate, della sede della bolla gastrica; dei segni ecografici indiretti sono stati ricercati lo shift mediastinico controlaterale alla sede dell'ernia, la posizione del cuore, l'eventuale presenza di polioidramnios dovuto ad ostruzione delle alte vie digestive da parte della massa erniaria o di idrope.

E' stato preso in esame il calcolo dell'**LHR** (lung-to-head ratio), che consiste nel rapporto tra l'area del polmone controlaterale alla sede dell'ernia e la circonferenza cranica, al fine di quantificare il grado di ipoplasia polmonare dovuto alla presenza di organi erniati nel torace.

E' stato calcolato inoltre l'**o/e LHR** (Observed-Expected LHR), utilizzando il rapporto tra il valore di LHR osservato nel feto in esame e il valore di LHR

atteso, ossia normale per quella settimana di gestazione, per ridurre l'influenza dell'epoca gestazionale sul calcolo dell'LHR.

Si è utilizzato il programma SPSS come software per tutte le analisi statistiche.

### **3. Risultati**

Sono state incluse nello studio 24 pazienti, che hanno partorito neonati con ernia diaframmatica congenita, i quali sono stati poi sottoposti a intervento chirurgico o valutazione presso le UU.OO dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma nel periodo compreso tra il 1 gennaio 2000 e il 31 agosto 2013.

La distribuzione dei casi negli anni oscilla tra 0 e 4 casi/anno.

13 neonati (54%) sono nati presso l'U.O. di Ostetricia e Ginecologia di Parma; 11 neonati (46%) sono nati negli ospedali spoke dell'Area Vasta Emilia Nord e sono stati trasferiti presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma dopo la nascita. I nati a Parma hanno un'incidenza di 1:2628 parti.

La nazionalità delle pazienti era italiana nel 75% dei casi (18 pz), straniera nel 25% (6 pz); 14 gravide (58%) avevano un'età < 35 anni, 5 gravide (21%) un'età > 35 anni, per 5 pazienti l'età non è nota.

E' stata indagata la familiarità per patologie/cromosomopatie: Sindrome di Down, distrofia muscolare di Duchenne, diabete insulino-dipendente, neoplasie; in un caso la paziente gravida risultava affetta alla nascita da ernia diaframmatica congenita. Per quanto riguarda la parità, 13 pazienti (54%) erano nullipare, 6 pazienti (25%) pluripare; per 5 pazienti la parità non è nota.

Tutte le pazienti in gravidanza sono state sottoposte ad ecografie ostetriche; la diagnosi di ernia diaframmatica in epoca prenatale è stata fatta solamente in 11 casi (46%); rappresentati dall'85% dei nati a Parma, mentre per i neonati nati in altra sede non è riportata una diagnosi prenatale della patologia congenita.

Degli 11 casi considerati, l'anomalia strutturale è stata rilevata in 2 casi (18%) nel I trimestre, in 6 casi (55%) nel II trimestre, in 3 casi (27%) nel III trimestre.

Nella popolazione in studio, non sono emerse cromosomopatie associate; da segnalare la presenza di due anomalie genetiche, valutate in ambito prenatale, non correlate alla patologia dell'ernia diaframmatica: una delezione del gene della distrofina al locus xp21 e una mutazione dei geni della fibrosi cistica.

Sono invece state evidenziate 8 (33%) malformazioni associate, riguardanti un caso di coartazione aortica, di polidattilia, di macrocefalia, di ventricolomegalia borderline.

Per quanto riguarda la sede dell'ernia diaframmatica, il difetto è stato riscontrato prevalentemente a sinistra, in 18 casi (75%) e in 6 casi (25%) a destra.

L'accuratezza diagnostica è risultata migliore nei casi di ernia sinistra: infatti, in questo gruppo, la diagnosi prenatale è stata effettuata nel 50% dei casi, mentre solo nel 17% dei casi di difetto destro.

Tutte le pazienti che avevano ricevuto una diagnosi prenatale di CDH (11 casi), sono state sottoposte a taglio cesareo, programmato tra la 37° e la 39° settimana; in 3 di queste, è stato necessario anticipare il taglio cesareo per cause intercorrenti (travaglio pre-termine, P-PROM).

Tale modalità di parto è stata scelta presso il nostro Centro per motivi prevalentemente organizzativi, al fine di garantire un'assistenza post-natale di un'equipe di Specialisti completa; infatti, la prognosi neonatale, dai dati della letteratura, non sembra modificata dalla modalità del parto.

Dei restanti 13 casi in cui non era stata fatta diagnosi di CDH, l'espletamento del parto è avvenuto mediante parto spontaneo in 6 casi (46%) e mediante taglio cesareo, per motivi indipendenti dalla patologia, in 7 casi (54%).

In 8 (33%) dei 24 casi totali si è verificato un parto prematuro, dovuto a varie complicanze: distacco intempestivo di placenta, preeclampsia materna, P-PROM. E' emersa una netta prevalenza di nati di sesso maschile, 17 casi (71%), rispetto al femminile, 7 casi (29%).

Il peso alla nascita è risultato adeguato per l'epoca gestazionale nel 79% dei casi; in 4 casi (17%) si è osservata una restrizione della crescita, in 1 caso (4%) macrosomia.

I neonati hanno presentato alla nascita indici di Apgar al 1° minuto di:

- 8-10: 5 casi (21%)
- 5-7: 4 casi (17%)
- <5: 10 casi (42%)
- Non noto: 5 casi

Al 5° minuto sono stati segnalati indici di Apgar di:

- 8-10: 9 casi (38%)
- 5-7: 7 casi (29%)
- <5: 3 casi (13%)
- Non noto: 5 casi

In tutti i casi in cui era disponibile una diagnosi prenatale, i neonati sono stati subito stabilizzati alla nascita mediante intubazione e applicazione di SNG, come da protocollo, assistenza che invece è stata eseguita solo nel 33 % dei neonati di cui era sconosciuta la patologia.

La maggior parte dei neonati (83%) è stata sottoposta ad intervento chirurgico presso l'U.O. di Chirurgia Infantile dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma; un caso di piccolo difetto diaframmatico destro non è stato operato; i restanti neonati non operati sono riferiti ai decessi prima dell'intervento.

L'intervento è stato eseguito nei primi 3 giorni di vita dei neonati.

Il decorso post-operatorio è stato complicato nel 29% dei casi (7 pazienti), prevalentemente nel gruppo di neonati in cui non era stato precedentemente diagnosticato il difetto congenito; le complicanze principali sono state: chilotorace, ipertensione polmonare persistente, laparocele, acidosi, pneumotorace ipertensivo, e si sono verificate in modo rilevante nei neonati deceduti dopo l'intervento.

La degenza è durata in media 23 giorni.

I neonati deceduti sono stati 6 (25%): 3 alla nascita, 1 durante l'intervento, 2 nel post-operatorio. Dei neonati deceduti, 4 fanno parte del gruppo privo di diagnosi prenatale (**Tab.1**).

**Tab. 1 : dati rilevati analizzati in termini di percentuale (%)**

<b>N° casi: 24</b>	<b>%</b>
Nati di sesso maschile	17 (71%)
Nati di sesso femminile	7 (29%)
Malformazioni associate	8 (33%)
Diagnosi prenatale di CDH:	11 (46%)
- I trimestre	2 (18%)
- II trimestre	6 (55%)
- III trimestre	3 (27%)
Sede dell'ernia sinistra	18 (75%)
Sede dell'ernia destra	6 (25%)
Indice di Apgar al 1' > 6	9 (38%)
Indice di Apgar al 5' > 6	16 (67%)
Riparazione chirurgica della CDH	20 (83%)
Complicazioni post-operatorie	7 (29%)
Neonati deceduti	6 (25%)

Scopo principale di questo studio è stato quello di individuare una correlazione statistica tra outcome dei neonati affetti da CDH e una corretta diagnosi prenatale, che comprendesse la sede dell'ernia, la presenza del fegato tra gli organi erniati, il grado di severità di ipoplasia polmonare, la presenza di malformazioni associate.

Se prendiamo in considerazione il gruppo di 11 casi in cui è stata effettuata una diagnosi prenatale di CDH, risulta che:

- 7 casi (64%) hanno avuto un outcome favorevole e non hanno presentato complicanze post-natali
- 2 neonati (18%) hanno manifestato complicanze post-operatorie, rappresentate da chilotorace, ridotto in seguito al posizionamento di un

drenaggio toracico, e in un altro caso edemi diffusi, acidosi ed oligo-anuria, corretti farmacologicamente

- 2 casi (18%) sono deceduti

Se prendiamo in considerazione il gruppo di 13 casi in cui non è stata eseguita una diagnosi prenatale, risulta che:

- 5 casi (38%) hanno avuto un outcome favorevole e non hanno presentato complicanze post-natali
- 4 neonati (31%) hanno manifestato complicanze post-operatorie, rappresentate principalmente da ipertensione polmonare recidivante, versamento pleurico, pneumotorace, bradicardia da desaturazione.
- 4 casi (31%) sono deceduti.

Dall'analisi statistica al test di Fisher non risulta una correlazione statisticamente significativa tra l'esecuzione di una corretta diagnosi in epoca prenatale e l'outcome neonatale (**tab. 2**).

**Tab. 2**

**dg \* outcome Crosstabulation**

Count		outcome		Total
		0	1	
dg	po	5	8	13
	pr	7	4	11
Total		12	12	24

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,510 <sup>a</sup>	1	,219		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,671	1	,413		
Likelihood Ratio	1,527	1	,217		
Fisher's Exact Test				,414	,207
N of Valid Cases	24				

Mettendo in relazione, come seconda analisi, l'outcome neonatale con la sede dell'ernia, risulta che:

- per le ernie sinistre, 10 casi su 18 (56%) hanno avuto un decorso post-operatorio buono e non complicato; considerando i decessi, si sono verificati nel 22% dei casi, con un indice di sopravvivenza del 78%
- per le ernie destre, 2 casi su 6 (33%) hanno avuto un buon decorso, nel 33% dei casi si sono manifestate complicanze post operatorie e i decessi hanno riguardato il restante 33% (2 casi).

L'indagine statistica tramite il test di Fisher, anche in questo caso, non raggiunge una potenza tale da evidenziare una effettiva significatività, come conseguenza del ridotto numero di casi presi in esame (**tab. 3**)

**Tab. 3**

**Sede ernia\*outcome Crosstabulation**

Count		0		Total
		0	1	
ernia	po	10	8	18
	pr	2	4	6
Total		12	12	24

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,051 <sup>a</sup>	1	,305		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,365	1	,546		
Likelihood Ratio	1,058	1	,304		
Fisher's Exact Test				,414	,273
N of Valid Cases	24				

I fattori prognostici valutati mediante gli ultrasuoni maggiormente considerati sono stati: la presenza tra gli organi erniati in torace del **fegato fetale** e la misura dell'**LHR** (lung-to-head ratio).

Il fegato fetale è stato evidenziato dislocato in cavità toracica in 7 casi su 24 (29%), di cui 4 sono deceduti e 1 ha subito un reintervento chirurgico per relaxatio diaframmatica.

Dei 6 neonati della nostra casistica deceduti, 4 (66%) presentavano il fegato tra gli organi erniati.

Da questa terza analisi al test di Fisher risulta una correlazione statisticamente significativa tra la presenza del fegato tra gli organi erniati in torace e un outcome sfavorevole, rappresentato dal decesso del neonato (**tab. 4**)

**Tab. 4**

**erniazione fegato \* decesso Crosstabulation**

		decesso		Total
		0	1	
erniazione fegato	no	15	2	17
	si	3	4	7
Total		18	6	24

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5,445 <sup>a</sup>	1	,020		
Continuity Correction <sup>b</sup>	3,294	1	,070		
Likelihood Ratio	5,116	1	,024		
Fisher's Exact Test				,038	,038
N of Valid Cases	24				

Per quanto riguarda la valutazione ecografica dell'ipoplasia polmonare, degli 11 casi in cui è stata fatta una diagnosi prenatale di CDH, l'LHR è risultato tra 1.2 e 1.3 in 7 casi, per i quali si è calcolato anche il valore dell'o/e LHR, che oscillava tra 39% e 55%: tali valori sono correlati, secondo la letteratura, con un grado di ipoplasia polmonare da moderato a lieve ed infatti tutti e 7 i casi hanno avuto un decorso post-natale favorevole.

Da questa analisi risulta una significatività al test di Fisher tra valore di LHR e outcome neonale (**tab. 5**).

**Tab. 5**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	11,000 <sup>a</sup>	1	,001		
Continuity Correction <sup>b</sup>	7,103	1	,008		
Likelihood Ratio	14,421	1	,000		
Fisher's Exact Test				,003	,003
N of Valid Cases	11				

Infine, l'ultima analisi ha riguardato la correlazione tra malformazioni associate alla CDH e outcome post-natale, risultando anche in questo caso una significatività statistica al test di Fisher. (**tab. 6**)

**Tab. 6**

malformazioni associate \* outcome Crosstabulation

		outcome		Total
		0	1	
malformazioni associate	no	12	4	16
	si	2	6	8
Total		14	10	24

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5,486 <sup>a</sup>	1	,019		
Continuity Correction <sup>b</sup>	3,621	1	,057		
Likelihood Ratio	5,609	1	,018		
Fisher's Exact Test				,032	,028
N of Valid Cases	24				

#### 4. Discussione

La distribuzione della CDH nella nostra casistica oscilla tra 0 e 4 casi/anno, con un'incidenza nei nati a Parma di 1:2628 parti, in linea con i dati epidemiologici che indicano una incidenza dell'EDC di circa 1:2500 parti (7).

L'età della paziente, la nazionalità, la parità, non sono correlate significativamente alla frequenza dell'ernia diaframmatica (15).

L'epoca gestazionale media di CDH alla diagnosi è di 24 settimane; nel nostro studio, il difetto è riscontrato nel 55% dei casi nel II trimestre. Vi è una prevalenza nel sesso maschile (2), dato che emerge anche dalla nostra casistica.

La presenza di malformazioni associate modifica la prognosi della CDH (25): questo risultato è documentato nella nostra indagine in cui risulta una significatività statistica tra malformazioni associate ed outcome sfavorevole.

Solo nel 46% dei casi è presente una diagnosi prenatale di CDH, dato in linea con quelli della letteratura, che dimostrano che lo screening prenatale permette di fare diagnosi della patologia congenita in circa il 50% dei feti affetti (60,61).

La diagnosi può risultare spesso difficoltosa nelle forme di ernia destra e anche in relazione alle diverse epoche in cui si può manifestare l'erniazione (62,63): infatti, nonostante il diaframma si sviluppi embriologicamente tra la quarta e la decima settimana di vita intrauterina (11) e quindi il difetto sia già presente nel I

trimestre, l'erniazione può avvenire anche nel II o III trimestre o addirittura alla nascita.

Esistono, inoltre, patologie toraciche non facilmente distinguibili dalla CDH, quali la malattia adenomatoide cistica del polmone (CCAM), il sequestro broncopolmonare, teratomi mediastinici (58).

La diagnosi di ernia diaframmatica in epoca prenatale è stata effettuata nell'85% dei nati a Parma; il fatto che la maggior parte dei casi diagnosticati sia nato a Parma è attribuibile all'organizzazione dello screening e di un relativo percorso di assistenza multidisciplinare alla gravidanza a rischio.

Una corretta diagnosi di CDH in epoca prenatale non correla necessariamente ad un outcome favorevole (1): questo dato emerge dalla nostra analisi statistica e si può spiegare col fatto che i casi di CDH diagnosticati in epoca prenatale hanno spesso difetti più importanti, che determinano una maggiore difficoltà di adattamento alla nascita e un aumento della morbilità e mortalità post-natali.

Per quanto riguarda la sede dell'ernia, dalla nostra casistica il difetto è più frequente a sinistra, nel 75% dei casi, rispetto a destra, nel 25% dei casi, in linea con le evidenze della letteratura, che riportano percentuali dell'80% circa per le ernie sinistre e del 15% circa per le ernie destre (15).

L'accuratezza diagnostica è migliore per l'ernia sinistra, che è stata diagnosticata in epoca prenatale nel 50% dei casi, contro il 17% dei casi di difetto destro: questo perché, in genere la diagnosi di ernia diaframmatica destra è più difficile dato che il fegato ha un'ecogenicità simile al polmone o può barriera piccoli difetti del diaframma, rendendo impossibile una loro visualizzazione (8).

Inoltre, la diagnosi di CDH sinistra è più precoce, potendo già essere visualizzata a 12 settimane con una sonda transvaginale, mentre la diagnosi di ernia diaframmatica destra è più tardiva, attorno a 17-18 settimane (6).

Dall'analisi statistica non risulta una correlazione statisticamente significativa tra sede dell'ernia e outcome post-natale; questo risultato si discosta dai dati della letteratura, in cui l'ernia diaframmatica destra si correla con un outcome meno

favorevole rispetto all'ernia sinistra (70) ed è probabilmente dovuto al ridotto numero di casi presi in esame, soprattutto riguardanti la sede destra.

Dalla nostra indagine emerge, in linea con le evidenze della letteratura, una associazione tra la presenza del fegato tra gli organi erniati e una ridotta sopravvivenza neonatale (106). Il fegato erniato in torace, infatti, è il principale fattore predittivo della sopravvivenza neonatale e rappresenta un parametro prognostico sfavorevole per la mortalità post-natale.

L'LHR è il parametro più importante per quantificare il grado di ipoplasia polmonare, quindi di compressione del polmone dovuta alla presenza degli organi erniati in torace (103); sebbene ci sia una significativa correlazione tra LHR e sopravvivenza, è anche un fattore predittivo della morbidità post-natale. Considerando i 7 casi del nostro studio in cui è stata fatta una corretta diagnosi del grado di ipoplasia polmonare mediante il calcolo dell'LHR, questi sono significativi perché per essi è stato realizzato un adeguato screening con diagnosi prenatale ed è stato impostato un programma assistenziale fin dalla nascita, che ne ha determinato un outcome positivo.

## 5. Conclusioni

L'ernia diaframmatica congenita rimane attualmente una patologia ad elevata morbilità e mortalità, nonostante il miglioramento delle tecniche di assistenza pre- e post-natali. La morbilità e la mortalità perinatali variano, nelle casistiche, dal 30 al 70% (25). Tale ampia variabilità dipende dalla presenza di malformazioni associate o di cromosomopatie, dalla sede e dall'entità del difetto, dall'epoca gestazionale, che hanno un forte rilievo non solo sull'outcome ma anche sul tipo di assistenza alla nascita. Ne risulta l'importanza di un'accurata diagnosi prenatale e di un adeguato percorso assistenziale (30).

Il nostro percorso di *Day Service diagnostico per le anomalie strutturali fetali* coinvolge ginecologi, pediatri, cardiologi, chirurghi infantili e altri specialisti allo scopo di:

- creare una continuità assistenziale con i Centri di Ecografia di I livello e gli Ambulatori di assistenza alla gravidanza dell'Azienda USL (26, 27, 28, 29)
- valutare l'anomalia strutturale fetale sospettata
- effettuare un adeguato counselling alla coppia (30,36)
- seguire l'evoluzione della patologia durante la gravidanza
- stabilire il timing e la modalità del parto
- disporre di un collegamento diretto con il Reparto di Ostetricia per il ricovero della paziente sia durante la gravidanza, se necessario, sia al momento del parto
- assicurare una continuità assistenziale dei Medici Specialisti riguardo ai percorsi diagnostico-terapeutici post-natali (30).

Infatti, come indicato nelle raccomandazioni del CDH Euro Consensus Consortium del 2010, una buona pratica clinica basata sulle EBM prevede che, una volta posto il sospetto diagnostico, le successive valutazioni siano effettuate presso il Punto nascita dell'Azienda ospedaliera identificata quale Centro di riferimento per il successivo trattamento post-natale, al fine di predisporre un

piano assistenziale diagnostico-terapeutico atto a garantire il miglioramento dell'outcome neonatale. Inoltre, l'esperienza nella gestione della patologia è di fondamentale importanza per il buon esito complessivo.

Attualmente, anche a Parma, si esegue la RM fetale ed è attivo un percorso multidisciplinare di “*Ecografia e Risonanza Magnetica nella diagnosi delle patologie fetal body*”. Su questo tipo di indagini è stata curata, nell'ultima edizione delle Linee guida SIEOG (32), una sezione che si occupa dell'uso combinato delle due metodiche in patologie del torace-collo-addome fetali.

In particolare, per l'ernia diaframmatica, la RM permette di visualizzare più chiaramente dell'ecografia il difetto, il diaframma, la posizione del fegato; consente di stimare il volume polmonare e il grado di ipoplasia (105); permette di identificare quindi i feti ad alto rischio che potrebbero beneficiare di un trattamento FETO piuttosto che di una correzione chirurgica post-natale (87).

L'intervento di FETO viene offerto solamente nei casi di ernia diaframmatica severa con erniazione del fegato in torace e un polmone controlaterale con  $LHR < 1$  (85).

Criteri di inclusione:

- Diagnosi di CDH con erniazione intratoracica del fegato o di una sua parte
- $LHR < 1.0$
- Nessuna anomalia cromosomica o genetica rilevata all'amniocentesi o villocentesi (cariotipo normale)
- Nessuna altra anomalia fetale rilevata ecograficamente
- Epoca gestazionale: 26-28 settimane

In Europa, il FETO task group (87) ha riportato il risultato dell'esperienza maturata negli anni: parto pretermine entro 3 settimane dalla procedura 16.7%; età gestazionale media al parto 35.3 settimane; parto prima della 34° settimana 30.9%. Questi risultati, confrontati con quelli del registro prenatale della CDH, mostrano un significativo miglioramento della sopravvivenza sia nei casi selezionati di ernia sinistra severa, sia nei casi di ernia destra (86).

Lo sviluppo polmonare secondario all'occlusione tracheale permette, quindi, di migliorare la prognosi dei feti con CDH severa, che arriva a circa il 60% di sopravvivenza (da < 20%), paragonabile cioè a feti considerati a un livello di gravità intermedia (87,88).

La diagnosi quanto più precoce di CDH è importante per poter gestire al meglio la gravidanza, sia dal punto di vista clinico che psicologico, tenuto conto della severità della patologia; negli ultimi anni, il miglioramento delle indagini prenatali, ecografia 3D, RM fetale, array-CHG, e delle tecniche di assistenza post-natale, oltre che la possibilità di terapia in utero, hanno permesso di aumentare il tasso di sopravvivenza fino al 70%-90% (107).

Con il miglioramento della sopravvivenza anche ai casi più gravi, si è assistito ad un parallelo aumento della morbilità a lungo termine: si pone, quindi, la necessità assoluta di un follow-up multispecialistico, in grado di affrontare precocemente le manifestazioni cliniche a distanza e di considerare con attenzione la qualità di vita dei pazienti affetti da ernia diaframmatica congenita.

## **BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA**

- 1) Paladini D, Volpe P. Anomalie congenite fetali: diagnosi differenziale ed indicatori ecografici di prognosi. *Eli medica* 2010; 6.3: 202-209.
- 2) Hedrick Holly L, Adzick N Scott. Congenital diaphragmatic hernia: prenatal diagnosis and management. *Uptodate* 2012.
- 3) Di Fiore JW, Fauza DO, Slavin R, Wilson JM. Experimental fetal tracheal ligation and congenital diaphragmatic hernia: a pulmonary vascular morphometric analysis. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 917.
- 4) Bloss RS, Aranda JV, Beadmore HE. Congenital diaphragmatic hernia: pathophysiology and pharmacologic support. *Surgery* 1981; 89: 581
- 5) Lotze A, Knight GR, Anderson KD, et al. Surfactant (beractant) therapy for infants with congenital diaphragmatic hernia on ECMO: evidence of persistent surfactant deficiency. *J Pediatric Surg* 1994; 29: 407.
- 6) Graham G, Connor P. Antenatal diagnosis of congenital diaphragmatic hernia. *Seminars in perinatology*, volume 29. Elsevier 2005.
- 7) Harrison MR, Bjordal RI, Langmark F, Knutrud O. Congenital diaphragmatic hernia: the hidden mortality. *J Pediatr Surg* 1978; 13: 227.
- 8) Persico N. Ernia diaframmatica: diagnosi, inquadramento e opzioni di terapia. Congresso "Innovazioni in ecografia ostetrica e ginecologica. Viareggio, centro congressi "Il Principino", 16-17 Novembre 2012.
- 9) Pober BR, Lin A, Russell M, et al. Infants with Bochdalek diaphragmatic hernia: sibiling recurrence and monozygotic twin discordance in a hospital-based malformation surveillance program. *Am J Med Genet A* 2005; 138A: 81
- 10) Butler N, Claireaux AE. Congenital diaphragmatic hernia as a cause of perinatal mortality. *Lancet* 1962; 1: 653-659.
- 11) Sadler TW. *Embriologia medica di Langman*. Elsevier, quarta edizione 2008.
- 12) Cuniff C, Jones KL, Jones MC. Patterns of malformation in children with congenital diaphragmatic defects. *J Pediatr* 1990; 116:1258

- 13) Skandalakis JE, Gray SW. Embriology for surgeons: the embriological basis for the treatment of congenital anomalies. 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins 1994.
- 14) Wilcox DT, Glick PL, et al. Pathophysiology of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatric Surg* 1994; 29:825.
- 15) Torfs CP, Curry CJ, Bateson TF, Honore LH. A population-based study of congenital diaphragmatic hernia. *Teratology* 1992; 46; 555.
- 16) Askenazi SS, Perlman M. Pulmonary hypoplasia lung weight and radial alveolar count as criteria of diagnosis. *Arch dis Child* 1979; 54: 614-618.
- 17) Davevy M. Surfactant levels in congenital diaphragmatic hernia. *PloS Med*, 2007; 4.
- 18) Cogo PE, Simonato M, Carnielli VP. Impared surfactant protein B synthesis in infants with congenital diaphragmatic hernia. *Eur Respir J* 2012.
- 19) Van Meurs K, Congenital Diaphragmatic Hemia Study Group. Is surfactant therapy beneficial in the treatment of the term newborn infant with congenital diaphragmatic hernia? *J Pediatr* 2004; 145: 312.
- 20) Tsang TM, Tam PK, Dudley NE, Stevens J. Diaphragmatic agenesis as a distinct clinical entity. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 16.
- 21) Taylor GA, Atalabi OM, Estroff JA. Imaging of congenital diaphragmatic hemias. *Pediatr Radiol* 2009; 39: 1.
- 22) Pober BR. Genetic aspects of human congenital diaphragmatic hernia. *Clin Genet* 2008; 74: 1
- 23) Puri P, Gorman F. Lethal nonpulmonary anomalies associated with congenital diaphragmatic hernia: implication for early intrauterine surgery. *J Pediatr Surg* 1984; 19: 29.
- 24) Witters I, Legius E, Moerman P, et al. Associated mahformation and chromosomal anomalies in 42 cases of prenataly diagnosed diaphragmatic hernia. *Am J Med Genet* 2001; 103: 278.
- 25) Sweed Y, Puri P. Congenital diaphragmatic hernia: influence of associated malformation on survival. *Arch Dis Child* 1993; 69: 68.

- 26) Patrizia Vergani, Antonella Nespola Francesca Maria Russo. Gravidanza fisiologica e assistenza prenatale. Giorgio Bolis; Manuale di ginecologia e ostetricia. Edises 2011.
- 27) Pedro De La Fuente, Alberto Galindo, José Manuel Bajo. Metodos de exploracion del feto. Jose Antonio Usandizaga, Pedro De La Fuente; Obstetricia y Ginecologia. Marban Libros 2011.
- 28) NICE. Antenatal Care: Routine care for the pregnant woman. NICE 2003.
- 29) NICE. Antenatal care: Routine care for the healthy pregnant woman. CG62 NICE 2008.
- 30) Sistema nazionale per le linee guida, SNLG-ISS. Linee guida per la gravidanza fisiologica, aggiornamento 2011. Ministero della salute 2011.  
[http://www.snlg-iss.it/cms/tiles/LG\\_Gravidanza.pdf](http://www.snlg-iss.it/cms/tiles/LG_Gravidanza.pdf)
- 31) Delibera 533/2008: percorso nascita direttiva alle Aziende sanitarie. Emilia-Romagna. <http://www.saluter.it/documentazione/leggi/regionali/delibere/dgr-533-2008-nascita/view>
- 32) Linee Guida SIEOG, Societa Italiana di Ecografia Ostetrica Ginecologica, Edizione 2010. Editeam.  
<http://medsanna.campusnet.unito.it/US12/lineeguidasieog2010.pdf>
- 33) Linee Guida AGENAS, Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali. Diagnosi prenatale ed ecografia in gravidanza, linee guida di riferimento.  
[http://www.agenas.it/agenas\\_pdf/diag\\_prenatale\\_df\\_FULL\\_NEW.pdf](http://www.agenas.it/agenas_pdf/diag_prenatale_df_FULL_NEW.pdf)
- 34) Irene Cetin, Emanuela Taricco. Il benessere fetale. Giorgio Bolis; Manuale di ginecologia e ostetricia. Edises 2011.
- 35) Pedro De La Fuente, Alberto Galindo, José Manuel Bajo. Malfomaciones fetales. José Antonio Usandizaga, Pedro De La Fuente; Obstetricia y Ginecologia. Marban Libros 2011.
- 36) Grandjean H, Larroque D et al. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study. Am J Obstet Gynecol 1999;181: 446-54.

- 37) Crane JP, LeFevre M Letal. A randomized trial of prenatal ultrasonographic screening: impact on the detection, management, and outcome of anomalous fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 392-9.
- 38) Levi S, Hyjazi Y et al. Sensitivity and specicity of routine antenatal screening for congenital anomalies by ultrasound: the Belgian multicentric study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1991;1:366-71.
- 39) Luck CA. Value of routine ultrasound scanning at 9 weeks: a four year study of 8849 deliveries. *BMJ* 1992;304:1474-8.
- 40) Levi S, Schaaps JP et al. End-result of routine ultrasound screening for congenital anomalies: the Belgian multicentric study 1984-92. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:366-71.
- 41) Chitty LS, Hunt GH et al. Effectiveness of routine ultrasonography in detecting fetal structural abnormalities in a low risk population. *BMJ* 1991;303:1 165-9.
- 42) Shirley IM, Bottomley F, Robinson VP. Routine radiographer screening for fetal abnormalities by ultrasound in an unselected low risk population. *Br J Radiol* 1992;65:564-9.
- 43) Skupski DW, Newman S et al. The impact of routine obstetric ultrasonographic screening in a low risk population. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1142-5.
- 44) Magriples U, Copel JA. Accurate detection of anomalies by routine ultrasonography in an indigent clinic population. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:978-81.
- 45) Lee K, Kim SY ct al. Effectiveness of prenatal ultrasonography in detecting fetal anomalies and perinatal outcome of anomalous fetuses. *Yonsei Med J* 1998;39:372-82.
- 46) Van Dorsten JP, Hulsey TC et al. Fetal anomaly detection by second trimester ultrasonography in a tertiary center. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 742-9.

- 47) Eurenus K, Axelsson O et al. Second trimester ultrasound screening performed by midwives; sensitivity for detection of fetal anomalies. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 1999;78:98-104.
- 48) Stefos T, Plachouras N et al. Routine obstetrical ultrasound at 18-22 weeks: our experience on 7,236 fetuses. *Journal of Maternal-Fetal Medicine* 1999;8:64-9.
- 49) Boyd P, Chamberlain P, Hicks N. 6-year experience of prenatal diagnosis in an unselected population in Oxford, UK. *Lancet* 1998;352:1577-81.
- 50) Taipale P, Ammala M et al. Two-stage ultrasonography in screening for fetal anomalies at 13-14 and 18-22 weeks of gestation. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2004;83:1 141-6.
- 51) Nakling J, Backe B. Routine ultrasound screening and detection of congenital anomalies outside a university setting. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2005 ;84: 1042-8.
- 52) Souka AP, Pilalis A et al. Screening for major structural abnormalities at the 11- to 14-week ultrasound scan. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:393-6.
- 53) Nikkila A, Rydhstroem H et al. Ultrasound screening for fetal anomalies in southern Sweden: a population-based study. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2006;85:688-93.
- 54) Sebire NJ, Snijders RJ, Davenport M et al. Fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks' gestation and congenital diaphragmatic hernia. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 943-946.
- 55) Dario Coviello, Giada Frontino, Roberto Fogliani. La diagnosi prenatale. Giorgio Bolis; *Manuale di ginecologia e ostetricia*. Edises 2011.
- 56) Giuseppe Rizzo, Domenico Arduini. Anatomia ecografica normale del torace nelle varie epoche gestazionali. Società italiana di ecografia ostetrico-ginecologica; *Manuale delle malformazioni toraco-addominali*; 17: 179-187.
- 57) Blaas Harm-Gerd K, Eik-Nes Sturla H. Sonographic development of the normal fetal thorax and abdomen across gestation. *Prenatal Diagnosis* 2008; 28: 568-580.

- 58) Paladini D, Volpe P. Diagnostica differenziale ed inquadramento delle anomalie toraciche. In: Anomalie congenite fetali. Diagnosi differenziale ed indicatori ecografici di prognosi. Paladini D, Volpe P. Di Canosa (eds), 2004; 181-203.
- 59) Hershkovit R. Prenatal diagnosis of isolated abnormal number of ribs. *Ultras Ostet Gynecol* 2008; 32: 506-509.
- 60) Helene Grandjene, Daniele Larroque, Salvator Levi, Eurofetus Study Group. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in Eurofetus Study. *Am J Obstet Gynecol* 1999; vol. 181, no.2: 446-454.
- 61) G Romosan, E Henriksson, A Rylander, L Valentin. Diagnostic performance of routine ultrasound screening for fetal abnormalities in an unselected Swedish population in 2000-2005. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 526-533.
- 62) Done E, Gucciardo L, Van Mieghem T, Jani J, Cannie M, Van Schoubroeck D, Devliger R, De Catte L, Klaritsch P, Mayer S, Beck V, Debeer A, Gratacos E, Nicolaides K, Deprest J. Prenatal diagnosis, prediction of outcome and in utero therapy of isolated congenital diaphragmatic hernia. *Prenatal Diagnosis* 2008; 28: 581-591.
- 63) Dillon E, Renwick M, Wright C. Congenital diaphragmatic herniation: antenatal detection and outcome. *Br J Radiol* 2000; 73: 360-365.
- 64) Sanders RC, Blackmon LR, Hogge, WA, Spevak P, Wulfsberg EA. Structural fetal abnormalities: the total picture. Mosby 2002 second edition.
- 65) Czeizel A, Kovacs M. A family study of congenital diaphragmatic defects. *Am J Med Genet* 1985; 21: 105.
- 66) Harrison MR, Langer JC, Adzick NS et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. Initial clinical experience. *J Pediatr Surg* 1990; 25:47
- 67) Hatch EL, Kendall J, Blumhagen J. Stomach position as an in utero predictor of neonatal outcome in left-sided diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 778-779.

- 68) Thrope-Beestorn JG, Gosden CM, Nicolaidei KH. Prenatal diagnosis of congenital diaphragmatic hernia: associated malformations and chromosomal defect. *Fetal Diagn Ther*, 1989; 4: 21-28.
- 69) Thebaud B, Azancot A, de Lagausie P, et al. Congenital diaphragmatic hernia: antenatal prognostic factors. *Intensive Care Med*, 1997; 23: 1062-1069.
- 70) Fisher JC, Jefferson RA, Arkovitz MS, Stolar CJ. Redefining outcomes in right congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 2008; 43: 373.
- 71) Metkus AP, Filly RA, Stringer MD, et al. Sonographic predictors of survival in fetal diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 148-152.
- 72) J Jani, CFA Peralta, A Benachi, J Deprest, KH Nicolaides. Assessment of lung area in fetus with congenital diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 30: 72-76.
- 73) Peralta CF, Jani J, Van Schoubroeck D, Nicolaides KH, Deprest JA. Fetal lung volume after endoscopic tracheal occlusion in the prediction of postnatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 60
- 74) Datin Dorriere V, Rouzies S, Taupin P, et al. Prenatal prognosis in isolated congenital diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 80.
- 75) Ruano R, Aubry MC, Barthe B, Dumez Y, Zugaib M, Benachi A. Three-Dimensional sonographic measurement of contralateral lung volume in fetuses with isolated congenital diaphragmatic hernia. *Wiley Periodicals* 2008; vol. 36, no. 5.
- 76) Chaoui R, Kalache K, Tennstedt C, et al. Pulmonary arterial Doppler velocimetry in fetus with lung hypoplasia. *Eur J Obstet Gyn R B* 1999; 84: 179-185.
- 77) Karamanoukian HL, Glick PL, Wilcox DT, et al. Pathophysiology of congenital diaphragmatic hernia. X: Localization of nitric oxide synthase in the intima of pulmonary artery trunks of lambs with surgically created congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 5.

- 78) Davey M, Shegu S, Danzer E, et al. Pulmonary arteriole muscularization in lambs with diaphragmatic hernia after combined tracheal occlusion/glucocorticoid therapy. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 381.
- 79) Harrison MR, Adzick NS, Bullard KM, et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero: a prospective trial. *J Pediatr Surg* 1997; 32: 1637.
- 80) Deprest J, Jani J, Van Schoubroeck D, et al. Current consequences of prenatal diagnosis of congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 2006; 41:423.
- 81) Harding R, Booking AD, Sigger JN. Influence of upper respiratory tract on liquid flow to and from fetal lungs. *J Appl Physiol* 1986; 61: 68.
- 82) Piedboeuf B, Laberge JM, Ghitulescu G, et al. Deleterious effect of tracheal obstruction on type II pneumocytes in fetal sheep. *Pediatr Res* 1997; 41: 473.
- 83) Benachi A, Chailley-Heu B, Delezoide AI, et al. Lung growth and maturation after tracheal occlusion in diaphragmatic hernia. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 921.
- 84) Harrison MR, Mychalyska GB, Albanese CT, et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero XII: fetuses with poor prognosis (liver herniation and low lung-to-head ratio) can be saved by fetoscopic temporary tracheal occlusion. *J pediatr Surg* 1998; 33: 1017.
- 85) Peralta CF, Jani JC, Van Schoubroeck D, et al. Fetal lung volume after endoscopic tracheal occlusion in the prediction of postnatal outcome. *AM J Obstet Gynecol* 2008; 198: 60.
- 86) Rosalie M Grivell, Chad Andersen, Jodie M Dodd. Prenatal interventions for congenital diaphragmatic hernia for improving outcomes. *Cochrane Pregnancy and Childbirth Group* 2011.
- 87) Deprest JA, Gratacos E, Nicolaides K, et al. Changing perspectives on the perinatal management of isolated congenital diaphragmatic hernia in Europe. *Clin Perinatol* 2009; 36: 329- 347.

- 88) Jani JC, Nicolaides KH, Gratacos E, et al. Severe diaphragmatic hernia treated by fetal endoscopic tracheal occlusion (FETO). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 304-310.
- 89) Logan JW, Rice HE, Goldberg RN, Cotten CM. Congenital diaphragmatic hernia: a systematic review and summary of best-evidence practice strategies. *J Perinatol* 2007; 27: 535.
- 90) Grushka JR, et al. Effect of hospital case volume on outcome in congenital diaphragmatic hernia: the experience of the Canadian Pediatric Surgery Network. *J Pediatr Surg* 2009; 44: 873.
- 91) Kotecha S, Barbato A, Bush A, et al. Congenital diaphragmatic hernia. *Eur J Resp*; 39: 820-829.
- 92) Stevens TP et al. Timing of delivery and survival rates for inphants with prenatal diagnosis of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatrics* 2009; 123: 494.
- 93) Frenckner BP et al. Prenatal diagnosis of congenital diaphragmatic hernia: how should the babies be delivered? *J Pediatr Surg* 2007; 42: 1533.
- 94) Mohseni-Bod H, Bohn D. Pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia. *Semin Pediatr Surg* 2007; 16:126
- 95) Neil Finer, Keith J Barrington. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. *Cochrane Neonatal Group* 2009.
- 96) Miranda Mugford, Diana Elbourne, David Field. Extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure in nexborn infants. *Cochrane Neonatal Group* 2008.
- 97) Fernando R Moya, Kevin P Lally, Virginia Moyer, Martin L Blakey. Surfactant for newborn infants with congenital diaphragmatic hernia. *Cochrane Neonatal Group* 2009.
- 98) Virginia A Moyer, Fernando R Moya, Dick Tibboel, Paul D Losty, Masahiro Nagaya, Kevin P Lally. Late versus early surgical correction for congenital diaphragmatic hernia in newborn infants. *Cochrane Neonatal Group* 2010
- 99) Hedrick Holly L, Adzick N Scott. Congenital diaphragmatic hernia in the neonate. *Uptodate* 2012.

- 100) Reiss I, Schaible T, et al. Standardized postnatal management of infants with congenital diaphragmatic hernia in Europe: the CDH EURO Consortium Consensus Neonatology 2010; 98:354-364.
- 101) Iocono JA, Cilley RE, Mauger DT, et al. Postnatal pulmonary hypertension after repair of congenital diaphragmatic hernia: predicting risk and outcome. J Pediatr Surg 1999; 34: 349.
- 102) Waag KL, et al. Congenital diaphragmatic hernia: a modern day approach. Seminars in pediatric surgery. November 2008: 244-254.
- 103) Peralta CFA, Cavoretto P, Csapo B, Vandecruys H, Nicolaidis H. Assessment of lung area in normal fetuses at 12-32 weeks. Ultrasound Obstet Gynecol 2005; 26: 718-724.
- 104) Novelli A, Grati FR, et al. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. Ultrasound Obstet Gynecol 2012; 39: 384-388.
- 105) Mayer S, Klaritsch P, Petersen S et al. The correlation between lung volume and liver herniation measurements by fetal MRI in isolated congenital diaphragmatic hernia: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Prenat Diagn 2011; 31: 1086.
- 106) Mullassery D, Ba'ath ME, Jesudason EC, Losty PD. Value of liver herniation in prediction of outcome in fetal congenital diaphragmatic hernia: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2010; 35: 609.
- 107) Mah VK, Zamakhshary M, Mah DY et al. Absolute vs relative improvements in congenital diaphragmatic hernia survival: what happened to hidden mortality. J Pediatr Surg 2009; 44:877.