



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Agradecimientos

La primera persona que desearía referenciar aquí es a mi señor padre, el Dr. Josep Giné i Gomà. Sin ningún género de dudas, su insistencia y presión son los responsables últimos de la consecución del trabajo que está en sus manos. Además de mi referencia profesional y vital, él ha sido una guía imprescindible durante la redacción del documento. Estoy seguro de que será la persona más feliz si tengo éxito en esta empresa y me emociona pensarlo así. Gracias por creer ciegamente en mí, en mis ideas y en mi iniciativa. Gracias por leer cada frase, por construir tus críticas y por espolear mi motivación. Yo no sería quien soy sin sentir tu aliento en la retaguardia y saber que no me dejarás caer. Infinitas gracias, Pare.

Otra persona que merece una mención especial es el Dr. José Luís Peiró, mi padre profesional y gran, gran amigo. Él me metió en esto de la Cirugía Fetal y estimuló mi interés por la investigación. Cada vez me doy más cuenta del privilegio que fue tenerlo como jefe y compañero, ahora que nuestros caminos profesionales se han distanciado. Ha sido el director de tesis más exigente y, gracias a ello, este trabajo tiene la calidad que atesora. Fuente infinita de ideas y motivación, tantas que es imposible seguirle, he sido capaz de recoger y patentar una pequeña parte de su brillantez. Es evidente que no sería quien soy en este mundo quirúrgico sin su influencia, su guía y su cariño. Además, es la mejor persona que conozco. Generoso y altruista, siempre ha querido lo mejor para mí. Gracias, JL, por permitirme andar tanto tiempo a tu lado y hacer de mí un mejor profesional. Estoy orgulloso de saberme amigo tuyo. Muy orgulloso.

También quiero agradecer a Mario Marotta y a Eloy Espín la incalculable ayuda que me han prestado todos estos años con su admirable dirección de la tesis. Aprecio muchísimo trabajar con ellos codo a codo, en la investigación con Mario y en la colorrectal con Eloy, mi otra gran pasión profesional. Con vuestra ayuda y entusiasmo este proyecto no podía ir mal de ninguna manera. Gracias, doctores, por vuestra guía y amistad. Espero cosechar otros proyectos con vosotros pues el futuro es nuestro y la motivación, compartida.

Tengo también palabras de profunda gratitud para mi actual jefe, Manuel López. Nuestros caminos, antes conectados de soslayo, se han juntado ahora en una afortunada coincidencia. Inmenso profesional, el mejor, es también un querido amigo y mi referencia actual en el trabajo. Gracias a Manuel mi proyección como cirujano se ha disparado y mi motivación ha dado un vuelco indescriptible. Su visión nos hace grandes, ambiciosos, humildes y terriblemente fuertes. Gracias a él este trabajo ha podido concluirse a tiempo. Manuel, espero poder acompañarte mucho tiempo y estar a la altura de tus expectativas. Gracias por creer en mis capacidades y convencerme de ellas. Mis éxitos son tuyos. Mi lealtad, absoluta. Y mi amistad, esa te la doy de gratis. Y que conste que es mi don más preciado.

Una mención destacada merecen también mis amigos del VHIR, esta gente para los que no hay obstáculos insalvables, para los que la solución no es una opción, sino una necesidad. Profesionales que con su humor, capacidad y energía hacen girar el mundo, en ocasiones, a contracorriente. Marielle, mi veterinaria de cabecera, es una bomba de energía y compañerismo, además de una profesional de valía incalculable. Gracias por hacer imposible estar enfadado a tu lado. Gracias a Carla, Àngel y Albert por vuestra infinita paciencia. Sabéis que esto no hubiera sido posible sin vosotros.

Quería agradecer también a los múltiples colaboradores que han participado en el proyecto: Federico Scorletti, Fernando Bulletín, Daniel Russo, Ilaria Goruppi, todos mis residentes y todos los rotantes externos. Gracias por sacrificar vuestro tiempo libre por la ciencia a sabiendas de que la recompensa normalmente es escasa. Este trabajo también es vuestro.

No puedo olvidarme de la Unidad de Medicina Fetal y de mis obstetras de referencia, Silvia Arévalo y Carlota Rodó, bajo la dirección de Elena Carreras. Ellas me han hecho experto y han surtido de iconografía estas páginas. Con ellas realizamos el tratamiento prenatal de la hernia diafragmática congénita a alto nivel y su valía nunca será suficientemente ponderada. Gracias doctoras por permitirme estar a vuestro lado. Hacéis que venga a trabajar con entusiasmo y me abris los ojos hacia otra manera de enfocar la profesión, con humildad y con tremenda empatía para con los pacientes.

Mucho tengo que agradecer a mis compañeras y amigas de la Unidad de Cirugía Digestiva y Torácica Pediátricas, Laura García, Marisa Cebrián y Ana Laín (de la que hablaré más tarde). Es un placer sentirse respaldado en este proyecto desde un primer momento, tanto asumiendo una mayor carga de trabajo asistencial como ayudando físicamente a la realización del mismo. Gente bondadosa, además de enormes profesionales, que se alegra sinceramente de los éxitos ajenos y con las que quiero compartir este momento, que es también suyo. Gracias, doctoras, por hacer fácil lo difícil, por tolerar y suplir mis deficiencias, y por soportar los malos momentos conmigo. Es un privilegio trabajar con vosotras y crecer juntos. Gracias.

Quiero agradecer también el apoyo incondicional y genuino de mis hermanos, Jordi y Laura y en particular de mi madre, Carmen Prades. Ella me conoce más que nadie y sabe en todo momento como respiro por dentro. Sin duda, es mi guía espiritual y una fuente de inspiración en la visión humanista de nuestra realidad. Su apoyo va más allá de la predisposición constante de ayudar, de estar, de escuchar. Me hace sentir infinitamente querido y culpable de no saber expresar una reciprocidad que a todas luces es genuína. Su presencia en mi interior es constante y gracias a ella soy quien soy, y a veces me acerca a lo que quiero ser. Gracias, mamá, por creer en mi y por quererme tanto. Que sepas que el sentimiento es mutuo. Y gracias Imanol por quererme desinteresadamente y cuidar de ella. También, el sentimiento es mutuo.

Y dejo para el final a las personas más importantes de mi vida. Mi compañera, mi amante, mi confidente, mi refugio, mi sol y estrellas, Ana Laín. Además es mi admirada compañera profesional. Ana ha participado activamente del proyecto, tanto en la ejecución como en la redacción del texto y análisis estadístico. Esta tesis también es suya. Pero lo más importante es lo que Ana hace y no tiene relación con el trabajo. Ana ha permitido con su esfuerzo personal extraordinario que yo pudiera realizar esta tesis soportando mi tremenda debilidad, mi mal humor, mi desesperación, mi inseguridad y mi cansancio a expensas del suyo. Su entereza, paciencia, serenidad y altruismo están fuera de todas las medidas de la cordura. Su dedicación con los niños, su fortaleza ante mis ausencias repetidas de las cargas familiares, su comprensión infinita de mis

altibajos incomprensibles e injustificables, su guía en momentos de total ofuscación y su bondad me han permitido realizar este proyecto y quererla todavía más, si eso aún era posible. Siento que está muy por encima como persona de lo que yo puedo aspirar y eso motiva que cada día quiera ser mejor. Nunca podré agradeceréte lo suficiente, Ana. Muchas gracias por quedarte conmigo, por quererme, por soportarme. Gracias por creer en este proyecto y gracias por hacerlo patente cada día. Soy el hombre más afortunado del planeta por tenerte conmigo y sabes que te quiero con locura.

Finalmente querría dedicar este esfuerzo a mis dos ángeles, Judith y Daniel. Vivo por y para ellos y son la luz que ilumina mis días. Ellos han sufrido en primera persona mis ausencias y cambios de humor y aún así su amor es puro, incondicional. Ellos hacen que volver a casa cada día sea una necesidad irrefrenable y me vinculan con una vida extraprofesional apasionante e intensa, que da sentido a mi existencia tal como la concibo ahora. Gracias chicos. Esto es por vosotros.

Carles Giné

Índice

1. Título de tesis, nombre del doctorando y fecha	1
2. Agradecimientos	3
3. Índice	7
4. Introducción	9
4.1. Sobre la hernia diafragmática congénita: definición, historia, epidemiología, embriología	11
4.2. Sobre los efectos que produce (fisiopatología y clínica): hipoplasia pulmonar e hipertensión pulmonar	18
4.3. Genética y Malformaciones asociadas	25
4.4. Diagnóstico prenatal y predictores de supervivencia	31
4.5. Terapia fetal	39
4.6. Tratamientos actuales postnatales	47
4.7. Estado actual del tema	52
4.8. Investigación en hipoplasia pulmonar y modelos animales	55
4.9. Líneas de futuro	58
4.10. Motivo de la tesis	60
5. Hipótesis	61
6. Objetivos concretos	65
7. Materiales y métodos	71
7.1. Tipo de Proyecto	73
7.2. Animales	74
7.3. Diseño	75
7.3.1. Grupos experimentales	75
7.3.2. Fases del proyecto	76

7.3.3.	Procedimiento experimental	77
7.3.4.	Procesado y estudio de las muestras	85
7.3.5.	Análisis de los resultados	97
8.	Resultados	99
8.1.	Parámetros anatómicos	102
8.2.	Morfología	120
8.3.	Morfometría	122
8.4.	Resumen de resultados	154
9.	Discusión	159
10.	Conclusiones	175
11.	Referencias	179
12.	Anexos	197
12.1.	Anexo 1: Imágenes histológicas analizadas	199
12.2.	Anexo 2: Análisis estadístico completo	217
12.3.	Anexo 3: Imágenes quirúrgicas	274
13.	Certificado de aceptación de los directores de tesis	283

Introducción

4.1.

Sobre la hernia diafragmática congénita.

Definición:

La hernia diafragmática congénita (CDH), o defecto congénito diafragmático, es una malformación del diafragma que se produce en edades tempranas de la gestación y que típicamente aparece en forma de anomalía en la integridad del diafragma a través del cual se hernian hacia el tórax las vísceras abdominales⁽¹⁾ (Figura 1). Normalmente se produce una discontinuidad o agujero pero en ocasiones se trata de un adelgazamiento del músculo que puede llegar a ser extremo (hernia con saco)⁽²⁾. Parece pues que se trata de un espectro malformativo que discurre entre una agenesia total del diafragma hasta pequeños defectos con saco que pueden ser difíciles de diferenciar de una eventración diafragmática o adelgazamiento anormal del diafragma⁽³⁾. Esta alteración aparece en el lado izquierdo y es postero-lateral (hernia de Bochdaleck) en el casi 90% de los casos⁽²⁾. La hernia del lado derecho y la bilateral son más raras y severas constituyendo el 15% y el 1% respectivamente⁽⁴⁾.

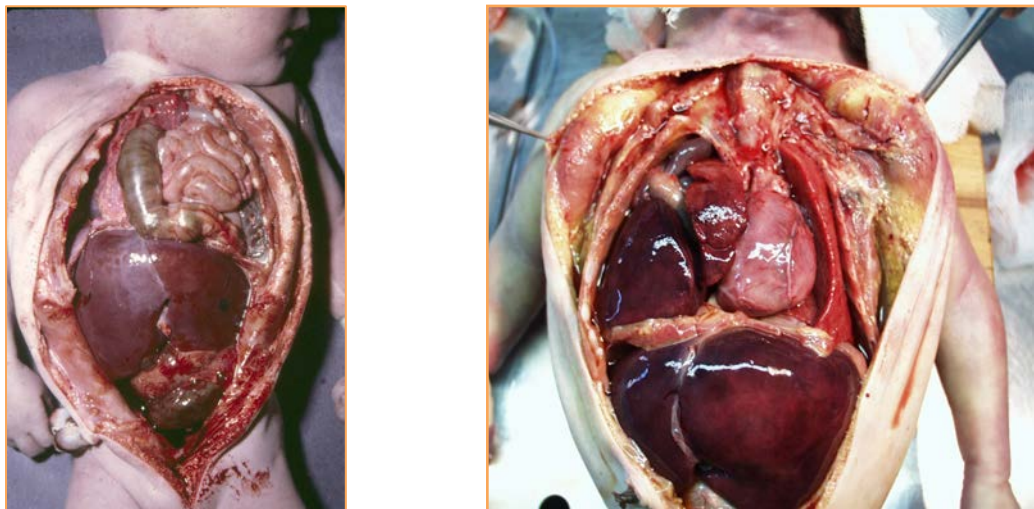


Figura 1: A la izquierda, ocupación torácica de vísceras abdominales en una CDH izquierda de Bochdaleck. Nótese la compresión del hemitórax derecho. A la derecha, CDH derecha con migración hepática a tórax e hipoplasia pulmonar grave.

El curso clínico de esta malformación está condicionado por un desplazamiento del mediastino al hemitórax contralateral, una **hipoplasia pulmonar** generada por la

compresión del pulmón y una **hipertensión pulmonar** por el anormal desarrollo del pulmón y de las arteriolas pulmonares⁽³⁾ (Figura 2). El compromiso respiratorio grave al nacimiento junto con las frecuentes malformaciones asociadas determinan una alta morbilidad y mortalidad.

A pesar de los avances en resucitación neonatal y en las terapias quirúrgicas pre y postnatales la mortalidad global de esta patología se mantiene alta, en torno al 30-40%⁽⁵⁾.

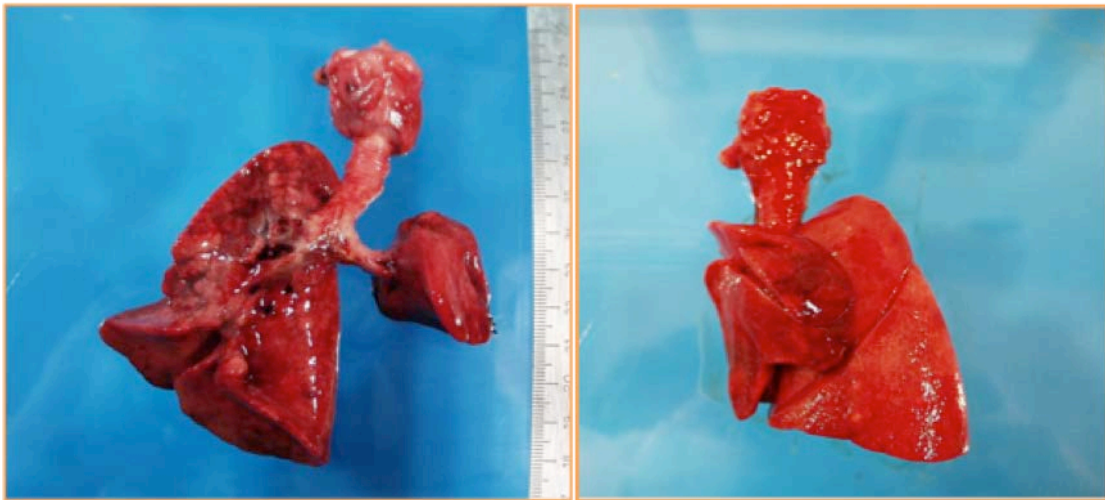


Figura 2: Hipoplasia pulmonar secundaria a CDH.

Historia:

La comprensión histórica de la hernia diafragmática congénita ha conocido luces y sombras, como es habitual. Desde la descripción aislada de los primeros casos, generalmente hallados incidentalmente en estudios necrópsicos o en pacientes con formas leves que podían sobrevivir los primeros años de vida, surgió la creencia de que el problema era puramente anatómico⁽⁶⁾.

En 1848, Bochdaleck⁽⁷⁾ fue el primero que describió el defecto diafragmático posterolateral izquierdo que lleva su nombre. Sin embargo, menciones anteriores de defectos diafragmáticos con pulmones pequeños ipsilaterales salpican nuestra literatura médica. Hay quien atribuye la primera descripción a Ambroise Paré, en 1575. Mención especial merece el trabajo de Bodwitch⁽⁸⁾ en 1853 sobre el tema, en el que

recopiló toda la información publicada sobre CDH desde 1610 hasta 1846, haciendo un análisis numérico de la casuística. Walker⁽⁹⁾, en 1900, centrado en un caso tratado quirúrgicamente y revisando los casos previos publicados, llegó a unas conclusiones interesantes para la época:

- 1. En todos los casos de sospecha de hernia interna estrangulada se debería pensar siempre en la posibilidad de una hernia diafragmática.*
- 2. Cuando la exploración clínica revela una posible hernia diafragmática, la cirugía debería indicarse tan pronto como aparezcan signos oclusivos.*
- 3. En los casos en los que se haya hecho el diagnóstico temprano, antes de que aparezcan los síntomas, la laparotomía es quizás la mejor intervención.*
- 4. En los casos más mayores, teniendo en cuenta la dificultad de la reducción visceral, el abordaje transpleural es preferible para la ligadura del saco y la aplicación de los puntos diafragmáticos que cierran el defecto diafragmático.*
- 5. Si, después de hacer una laparotomía, el intestino no puede reducirse correctamente, la toracotomía está justificada.*

En 1903 Livingstone⁽¹⁰⁾ recolectó 118 casos, 83 izquierdos, 18 derechos, 4 centrales y 2 dobles, con un caso de agenesia total diafragmática. Otros autores aportan información adicional incluso postulando teorías erróneas como Feer quien aseguró que el defecto se producía inmediatamente después del nacimiento.

En consecuencia, la cirugía urgente reparadora fue el tratamiento propuesto de elección en la primera mitad del siglo XX pensando que ofrecía la mayor posibilidad de supervivencia, entendiendo que la reducción posterior de las vísceras abdominales a un abdomen que había perdido el derecho a domicilio comprometía la supervivencia de los pacientes más mayores.

Ladd y Gross publicaron intervenciones exitosas en neonatos en 1940 pero la realidad era que en periodo neonatal raramente había supervivientes. No fue hasta los años 50

en que se postuló que la baja supervivencia de estos pacientes se debía primordialmente a la hipoplasia pulmonar que acompañaba a esta malformación. Sin embargo, la cirugía urgente continuó siendo el tratamiento de elección hasta el 1980.

Entendiendo por fin que la urgencia vital en estos pacientes venía derivada de la hipoplasia pulmonar y la hipertensión pulmonar, el abordaje de esta patología en los últimos 20 años se ha caracterizado por una priorización de la terapia ventilatoria y hemodinámica frente a la reparación quirúrgica del defecto. Es así por lo que llegan a nuestros días términos como cirugía diferida o ventilación amable (“gentle ventilation”). Tratamientos avanzados como la terapia con óxido nítrico (ON), la ventilación mecánica en alta frecuencia (VAFO) o la oxigenación mediante membrana extracorpórea (ECMO) se han ido instaurando en las últimas décadas mejorando dramáticamente el pronóstico de estos pacientes. Aún así, la mortalidad y la morbilidad, sobre todo derivada de una insuficiente función ventilatoria, seguía siendo alta, por lo que a principios del siglo XXI se empezaron a estudiar y establecer índices radiológicos de hipoplasia pulmonar fetal para tratar de pronosticar qué casos tendrían viabilidad después del nacimiento.

Estos índices dieron pie a la introducción en la primera década del siglo XXI de la terapia fetal. A raíz de una serendipia en la cual se evidenció un crecimiento desproporcionado del volumen pulmonar en aquellos casos de obstrucción congénita de las vías aéreas superiores (CHAOS) por otros motivos, como atresias larigo-traqueales o compresión de las mismas por masas de cualquier origen, se empezaron a diseñar terapias fetales orientadas a la oclusión traqueal fetal para permitir el crecimiento pulmonar. Se obviaba pues la relevancia del cierre diafragmático en estos estadios del crecimiento. Tras una imprescindible experimentación en animales, los primeros intentos de oclusión traqueal por cirugía fetal abierta fueron un fracaso ya que la lesión de las vías aéreas superiores (que eran ligadas quirúrgicamente) suponían un problema incluso mayor que la hipoplasia pulmonar.

Una nueva etapa se produjo cuando se ideó una oclusión traqueal con balón que podía introducirse por fetoscopia, sin necesidad de abrir el útero y sin manipular

quirúrgicamente las vías aéreas del feto. Este procedimiento se podía realizar transparietal y constituye la primera línea de tratamiento fetal en la actualidad.

Epidemiología:

La prevalencia de CDH ocurre entre 1-4:10000 nacimientos, de los cuales el 65% nacen vivos⁽¹¹⁾, y representa el 8% de todas las anomalías congénitas mayores⁽¹²⁾. Parece ligeramente más frecuente en varones y menos frecuente niños de raza negra. En la mayoría de los fetos con CDH el defecto se localiza en el lado izquierdo (85%) mientras que un 15% son derechas y un 1% bilaterales⁽⁴⁾.

La determinación de la prevalencia es complicada y depende de la fuente y el tipo de datos recogidos, que pueden tener tres orígenes: estudios prenatales, ingresos en los hospitales y registros basados en la población. Teniendo en cuenta que un 6% de las gestaciones afectas abortan o nacen sin vida y que muchos presentan un distrés severo neonatal fatal siendo éxitus antes de llegar a un diagnóstico, tener datos fidedignos epidemiológicos de prevalencia e incidencia no es fácil. También es cierto que en nuestro medio y gracias a los avances y estandarización del diagnóstico prenatal este sesgo se presupone más minimizado.

Esta falta de estandarización en la recogida de datos pone de manifiesto un concepto descrito por Harrison en 1978 llamado la “mortalidad oculta” (Hidden Mortality)⁽¹²⁾. En general, se estima que la supervivencia al año es de un 77% de los nacidos con CDH aislada disminuyendo al 42% si se tienen en cuenta los pacientes de diagnóstico prenatal⁽¹¹⁾.

Un trabajo limitado en muestra pero valioso demostró diferencias sustanciales en la supervivencia de estos pacientes en una misma cohorte poblacional entre aquellos que se trataban en centros de baja complejidad y aquellos que lo hacían en un centro terciario. La supervivencia variaba del 40%(12 de 30 casos) al 92%(11 de 12 casos)⁽¹³⁾. Esta experiencia fue analizada en detalle por Mah en 2011 llegando a la misma conclusión⁽¹⁴⁾.

Así pues, la supervivencia en general de todos los casos de CDH no supera el 50% de media, aunque el tratamiento en centros de referencia mejora sustancialmente estos porcentajes⁽²⁾. El auge del tratamiento prenatal ha tenido también un impacto significativo en la “mortalidad oculta” mejorando la supervivencia de paciente con una hipoplasia pulmonar no compatible con la vida sin tratamiento⁽¹⁵⁾.

Embriología:

Actualmente, las causas embriológicas del defecto diafragmático son controvertidas⁽¹⁶⁾. En humanos, la formación normal del diafragma se completa hacia la 7ª semana gestacional y para ello están implicadas varias estructuras: la hojas pleuro-peritoneales aparecen al principio de la 5ª semana de gestación y contactan con el septum transversum y el mesenterio del esófago hacia la 7ª, cerrando así los canales pericárdico-peritoneales y separando la cavidad torácica de la cavidad peritoneal. Hacia el 4º mes de desarrollo, un anillo periférico procedente de la pared contribuye a la formación muscular más periférica del diafragma.

En un principio se pensaba que las diferentes partes del diafragma no se fusionaban correctamente provocando una persistencia del canal pleuro-peritoneal. El resultado sería una migración de las vísceras abdominales a cavidad torácica en cuanto regresaban de la cavidad celómica umbilical extraembrionica. Así pues, la hipoplasia pulmonar se suponía secundaria al defecto diafragmático.

Posteriormente se sugirió que un problema en el desarrollo pulmonar podía condicionar la ausencia de la correcta formación del diafragma. Así pues, el defecto muscular sería esta vez consecuencia de la malformación pulmonar.

Más recientemente se atribuyó la defectuosa formación diafragmática a una anomalía proliferativa de las hojas pleuro-peritoneales⁽¹⁶⁾, principalmente la izquierda.

Estudios más recientes en el modelo ya estandarizado en ratas de CHD inducida por nitrofen atribuyen un papel protagonista a la placa mesenquimal posthepática o

septum transversum en la formación del defecto y la herniación del hígado a cavidad pleural con la consiguiente interferencia con el desarrollo normal del pulmón⁽¹⁶⁾. Sin embargo, estos estudios en ratones también confirman que la detención del desarrollo pulmonar empieza también antes del cierre diafragmático⁽¹⁷⁾ (Ver sección 5.2).

Lo que está claro es que en el embrión humano el cierre del canal pleuroperitoneal se produce hacia las 8 - 10 semanas de gestación, separando la cavidad pleural de la peritoneal. Un defecto en este proceso, cualquiera que sea su causa, provocaría una hernia diafragmática congénita. En ese momento se está produciendo también la reintroducción de las asas intestinales a la cavidad abdominal, que en estos pacientes se introducirían también en la cavidad torácica comprometiendo el crecimiento del pulmón primitivo. Estudios ecográficos demuestran que se produce un desvío mediastínico coincidente con la HDC y la herniación visceral⁽¹⁸⁾. En este momento en particular, los pulmones se hallan en la fase pseudoglandular del desarrollo pulmonar (Figura 3), lo que significa que habrá una reducción en el número de ramificaciones bronquiales, más acusado en el lado ipsilateral, aunque se produce en los dos pulmones⁽¹⁹⁾. La reducción del número de bronquios condiciona en consecuencia un descenso del número de acinos y de alveolos⁽²⁰⁾.

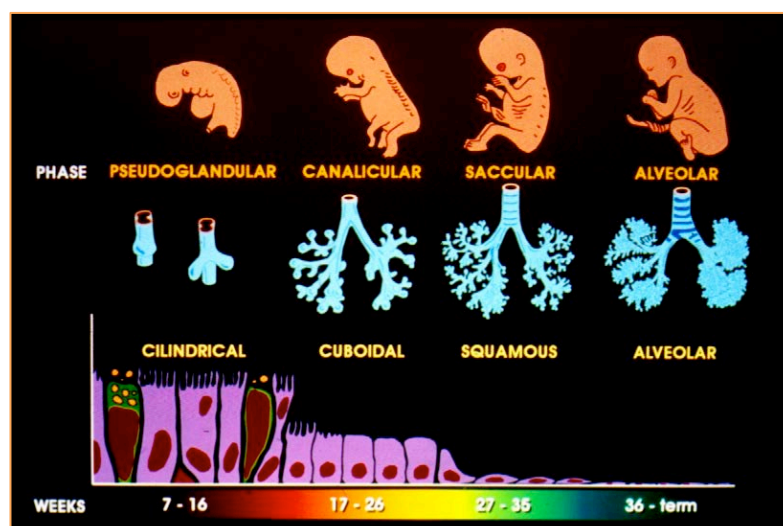


Figura 3: Fases del desarrollo pulmonar junto con el epitelio pulmonar correspondiente.

4.2.

Sobre los efectos que produce (fisiopatología y clínica): hipoplasia pulmonar e hipertensión pulmonar

La hipertensión pulmonar y la hipoplasia pulmonar son hallazgos constantes en los pacientes afectados de CDH y condicionan críticamente su pronóstico. Debido a su fisiopatología, que es particular, se trata una hipertensión pulmonar que a menudo es resistente a los tratamientos vasodilatadores convencionales. Los mecanismos de esta hipertensión refractaria todavía no se conocen en su totalidad, pero parece que una combinación entre una vaso-reactividad alterada y una remodelación vascular pulmonar justifica diversos grados de hipoplasia del lecho vascular pulmonar⁽¹⁷⁾, condicionando un abordaje ventilatorio extremadamente complejo en estos pacientes.

La hipoplasia pulmonar y el retraso en el desarrollo pulmonar los rasgos más característicos de la CDH.

Los hallazgos histológicos clásicos en los pacientes con CDH son:

- 1) una detención del desarrollo alveolar con menos alveolos y reducción de la superficie de intercambio gaseoso (**Figura 1**)

- 2) un engrosamiento de las paredes alveolares y

- 3) un aumento del tejido intersticial. Estas características están por lo general presentes en ambos pulmones, aunque son más marcadas en el pulmón ipsilateral.

Inicialmente se describió la hipoplasia pulmonar como consecuencia de la compresión torácica de pulmón por parte de las vísceras intraabdominales herniadas, pero estudios con ratones con CDH inducida por un herbicida (nitrofen) demuestran que la hipoplasia pulmonar empieza antes del cierre de los diafragmas y separación de los

compartimentos torácico y abdominal, hacia la semana 7 de gestación. Este hecho favorecería la creencia de que hay factores independientes, al menos en parte, de la compresión extrínseca a la hora de justificar la hipoplasia pulmonar. De estos estudios se deriva la hipótesis “Dual Hit” o doble golpeo. El primer golpe, condicionado por motivos genéticos o medioambientales, se produciría en estadios muy iniciales del desarrollo⁽²¹⁾ mientras que el segundo sería la compresión extrínseca del pulmón por las vísceras abdominales más avanzada la gestación⁽²²⁾. Este último golpe empeoraría principalmente la hipoplasia del pulmón ipsilateral, explicando por qué ambos pulmones están hipoplásicos pero predominantemente el del mismo lado del defecto.

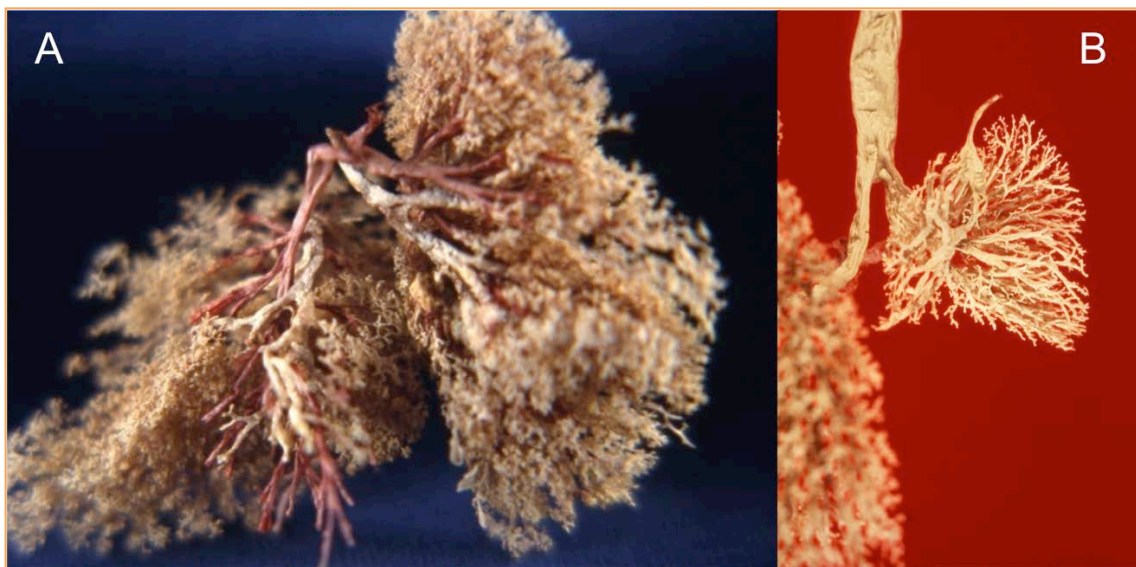


Figura 1: A: Pulmón normal. B: Pulmón hipoplásico por una CDH izquierda.

Retinoides y crecimiento pulmonar

Otros factores se han demostrado potencialmente implicados en el desarrollo pulmonar anómalo en estos pacientes, como los retinoides. Se ha sugerido que la hipoplasia pulmonar precoz y ausencia del cierre diafragmático pueden ser causadas por una alteración de la señalización de la vía del retinoide, conocida protagonista en el desarrollo pulmonar en humanos. En ratas tratadas con nitrofen, altas dosis de vitamina A reducen la aparición de CDH en un 15-30% y presentar niveles más leves de hipoplasia pulmonar⁽²³⁾. En humanos, la CDH se ha relacionado con ingestas bajas de vitamina A durante la gestación⁽²⁴⁾ y niveles bajos de retinoide al nacimiento⁽²⁵⁾.

Factores de crecimiento vascular y desarrollo pulmonar

La evidencia científica sugiere que la angiogénesis contribuye al crecimiento pulmonar normal⁽²⁶⁾. La molécula más estudiada es el factor de crecimiento vasculo-endotelial (VEGF), un mitógeno específico de las células endoteliales que estimula la angiogénesis y ejerce un efecto protector sobre ellas, previniendo el daño celular. El VEGF estimula la producción de óxido nítrico (NO) en los cultivos celulares y vasos sanguíneos aislados. Al mismo tiempo, el NO es esencial en la mediación de la proliferación de las células endoteliales inducidas por el VEGF⁽²⁷⁾. También, en proyectos experimentales en animales, se ha demostrado una implicación del VEGF en el desarrollo vascular y epitelial del pulmón⁽²⁸⁾. Sin embargo, la participación del VEGF en la CDH está, aunque aparentemente implicado, poco clara ya que su expresión en animales con CDH inducida con nitrofen en ocasiones se ha visto aumentada, pero también disminuida⁽²⁹⁻³¹⁾.

En humanos, la expresión del VEGF se ha visto aumentada en pacientes exitus con CDH⁽³²⁾, así como en estudios anatomopatológicos en fetos interrumpidos legalmente por padecer CDH⁽³³⁾. Durante el desarrollo fetal, el aumento de VEGF se correlaciona con el descenso en la expresión de la óxido nítrico sintetasa 3 (eNOS), detectado desde el final de la fase canalicular (de las 22 a las 26 semanas de gestación). Este aumento en la expresión de VEGF podría interpretarse como un intento de sobreponerse al pobre desarrollo vascular, posiblemente causado por la reducción en la producción de NO, atribuible al descenso de la expresión de la eNOS⁽¹⁷⁾.

Células progenitoras endoteliales.

Las células formadoras de colonias endoteliales (ECFCs), sustrato de células endoteliales residentes y circulantes capaces de renovar y de generar de novo vasos sanguíneos, contribuyen presumiblemente a la formación vascular o vasculogénesis del pulmón en desarrollo. Estas células se encuentran significativamente disminuidas en número en la sangre de cordón de los prematuros extremos, principalmente de aquellos que desarrollan broncodisplasia pulmonar⁽³⁴⁾. Sin embargo, se hallan

aumentadas en los pacientes con CDH y son capaces de proliferar más rápido que en los sujetos sanos⁽³⁵⁾.

En estudios experimentales en ovejas, la población residente de células endoteliales altamente proliferativas (HP-PAECs) obtenidas de los pulmones de sujetos con CDH creada quirúrgicamente era menor y menos funcional que en sujetos sanos. Estas HP-PAECs de sujetos con CDH también tenían incrementados los niveles de VEGF y disminuidos los de eNOS, por ende, la producción de NO, comparados con sujetos sanos. Curiosamente, la administración de VEGF y NO exógenos fue capaz de restablecer la función de las PAEC⁽³⁶⁾. Estos datos sugieren que la disfunción de las HP-PAECs pueden ser responsables parcialmente de la angiogénesis alterada característica de la CDH, debido a un malfuncionamiento del eje VEGF-NO⁽¹⁷⁾.

Estas observaciones tienen implicaciones potencialmente terapéuticas desde el momento en que las ECFCs derivadas de sangre de cordón humano exógeno restablecen el crecimiento normal alveolar y vascular, disminuyen la hipertensión pulmonar y restituyen la función de las ECFCs pulmonares residentes en otro modelo animal con crecimiento vascular pulmonar alterado⁽³⁷⁾.

Profundizar en el conocimiento del role de las células endoteliales progenitoras en la patogénesis de la hipertensión pulmonar en la CDH puede proporcionar estrategias terapéuticas de promoción de los mecanismos protectores fisiológicos del pulmón.

La remodelación vascular pulmonar contribuye a una hipertensión pulmonar estructural e “irreversible” en la CDH.

Junto con la hipoplasia pulmonar, se hallan de manera constante diferentes grados de hipertensión pulmonar, suponiendo un hallazgo constante en los pacientes con CDH. Hay cambios estructurales en la vascularización pulmonar con reducción significativa del lecho vascular pulmonar e hipertrofia de las arterias pulmonares⁽³⁸⁾ (Figura 2). Estas, son ricas en células de músculo liso con actividad contráctil que se distribuyen más distalmente de lo habitual. Las capas media y adventicia están engrosadas⁽³⁹⁾.

Estos cambios suponen el componente “fijo” e “irreversible” de la hipertensión pulmonar en la CDH.

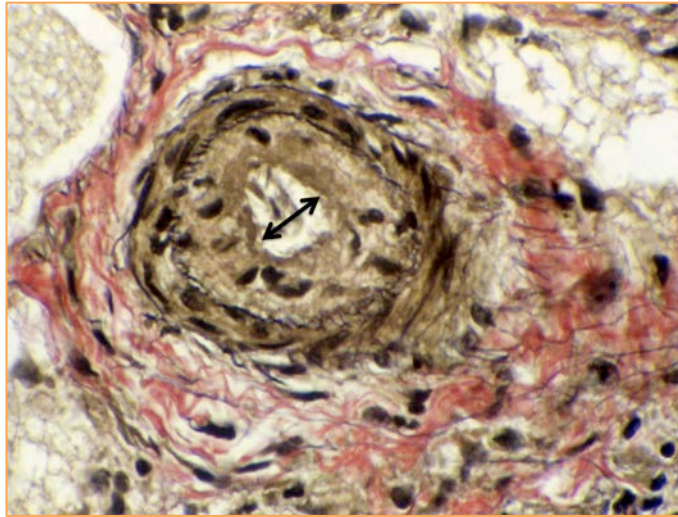


Figura 2: Engrosamiento, predominantemente a expensas de la capa muscular, de las arteriolas pulmonares. La flecha indica el diámetro de la luz arteriolar.

Vaso-reactividad alterada.

La hiper-respuesta “reversible” de las arterias pulmonares contribuye muy probablemente a la hipertensión pulmonar en los pacientes con CDH⁽⁴⁰⁾. El análisis de los pulmones obtenidos de pacientes éxitus por CDH muestran una inervación anormal y reducida de las vías aéreas periféricas, con tono simpático aumentado, mientras que el parasimpático se encuentra disminuido. El desbalance de la inervación autonómica podría ser un factor contribuyente de la hipertensión pulmonar y de la hiperreactividad bronquial en estos niños⁽⁴¹⁾. En estudios animales se ha observado una contractilidad aumentada y una alteración en la relajación dependiente del endotelio de las arterias pulmonares^(42,43).

La contribución de esta vaso-reactividad es variable. En la práctica clínica se observa, en ocasiones, la poca o nula respuesta al tratamiento vasodilatador, probablemente debida al grado de subdesarrollo vascular, que es difícil de evaluar.

Múltiples han sido las moléculas y las vías estudiadas para tratar de entender la patogénesis de este comportamiento. Una de ellas es la endotelina 1 (ET-1), una proteína sintetizada por las células endoteliales con un potente efecto vasoconstrictor. La ET-1 juega un papel crucial en la aparición de la hipertensión pulmonar persistente del neonato y se ha postulado como posible candidata en la instauración de la hipertensión pulmonar en los pacientes con CDH. La ET-1 ejerce su acción a través de dos vías: mediante el receptor ET-A, localizado en las células de músculo liso vasculares, que induce a la vasoconstricción; y a través del receptor ET-B, localizado principalmente en las células endoteliales vasculares, que induce a la vasodilatación. Se han documentado pérdidas de los receptores ET-B, aumento de la producción de ET-1 y aumento de la vasoconstricción mediada por ET-A en estudios con modelos animales de CDH e hipertensión pulmonar persistente⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾. En la CDH, ambos receptores están sobre-expresados, pero proporcionalmente los ET-A están más aumentados en número⁽⁴⁸⁾.

En humanos, se ha visto que los niveles de ET-1 en plasma a las 2 semanas del nacimiento son significativamente mayores en los pacientes con CDH que fallecen o que se dan de alta hospitalaria con oxigenoterapia domiciliaria que en aquellos pacientes con CDH que salen del hospital sin necesidad de oxígeno. También se ha relacionado los niveles de ET-1 plasmática con un aumento de las presiones pulmonares estimadas⁽⁴⁹⁾. Si la ET-1 es la causa de este proceso o un mero indicador del mismo está todavía por dilucidar.

Los efectos de la ET-1 están mediados parcialmente por la eNOS, la enzima catalizadora de la producción de óxido nítrico. El NO difunde del endotelio al músculo liso donde reduce la concentración del calcio iónico, provocando vasodilatación pulmonar⁽⁴⁴⁾. La estimulación de los receptores ET-B aumenta la actividad de la eNOS mientras que la estimulación de los receptores ET-A la disminuye. La eNOS se ve reducida en modelos animales de CDH. Este descenso reduce la producción de NO con el consabido efecto negativo sobre la vasodilatación. Sin embargo en humanos, la eNOS estudiada en los pulmones de pacientes éxitus por CDH se ha visto disminuida, inalterada o incluso aumentada⁽⁵⁰⁻⁵³⁾, aunque hay que tener presente que el

tratamiento de estos pacientes en periodo neonatal precoz mediante oxígeno y ventilación mecánica puede aumentar la expresión de esta enzima⁽⁵⁴⁾.

En resumen, los mecanismos por los cuales se produce una hipoplasia pulmonar y una hipertensión pulmonar son sólo parcialmente comprendidos gracias a múltiples estudios en modelos animales, clínicos y anatomopatológicos. Como se ha descrito en este capítulo, múltiples factores se han vislumbrado como protagonistas en la patogenia de ambas condiciones sin haber hallazgos contundentes que permitan hoy por hoy una diana terapéutica clara. Sí es cierto, sin embargo, que la comprensión de la arquitectura histológica de la CDH y el conocimiento de la hiperreactividad vascular nos han permitido, a lo largo de los años, establecer un argumentario terapéutico particular para estos pacientes, hecho que ha propiciado un aumento significativo de la supervivencia en centros de alta complejidad, como veremos en apartados posteriores.

4.3.

Genética y Malformaciones Asociadas

Los pacientes con CDH podrían clasificarse a grosso modo en dos categorías⁽⁵⁵⁾:

- **CDH aislada:** diagnosticada cuando es la única malformación mayor aparente. Anormalidades adicionales como la hipoplasia pulmonar, la malrotación intestinal y la hipoplasia de cavidades izquierdas, de presentarse, pueden considerarse como parte de la secuencia CDH.
- **CDH compleja:** se determina que una CDH es compleja cuando se acompaña de anormalidades adicionales como un síndrome reconocible, una anomalía cromosómica o una constelación no sindrómica de malformaciones mayores (ejemplo CDH con defecto septal ventricular o con labio leporino).

El porcentaje medio de las CDH complejas se halla entre el 30-40% según las series pero las frecuencias varían entre un 10% y un 60% en los trabajos en gran parte por discrepancias importantes en la metodología^(12,56). Estudios basados en la población y en el diagnóstico prenatal tienen una concordancia mayor estimando en un 40% los casos de CDH complejos^(12,57-59). Por otro lado, los estudios realizados en centros de referencia subestiman este porcentaje, probablemente por un sesgo de hospital ya que los casos más severos tienen menos posibilidades de ser transferidos. Esto hace que en centros terciarios el porcentaje de CDH compleja ronde el 23% de todos los casos⁽¹²⁾.

El factor genético en la CDH

La mayoría de pacientes afectados de CDH no tienen en su familia a nadie más con esta malformación, razón por la cual siempre se han considerado casos aislados “no genéticos”. Actualmente hay una evidencia creciente del factor genético como causa de la CDH como son los modelos animales modificados genéticamente, anomalías

cromosómicas humanas que van siendo cada vez más recurrentes en pacientes con CDH aislada y mutaciones de un solo gen⁽⁵⁵⁾. Véanse en la siguiente tabla aportada por Pober et al:

Summary of Evidence Supporting Genetic Causation of CDH

Evidence of genetic contributions to human CDH	Examples
Genetic mouse models of CDH	<i>Fog2^a, Coup2^a, Wt1^a, Slit3, Gata4</i>
Monogenic syndromes associated with CDH	Syndromes caused by known genes: de Lange, Simpson-Golabi- Behmel, Spondylocostal dysplasia Syndromes caused by unknown genes: Fryns, Donnai-Barrow
Multiplex human kindreds with CDH	Familial clustering consistent with AR and XL inheritance
Co-occurrence of CDH with other congenital malformations	CDH co-exists with CVMs, NTDs, and limb defects more often than expected by chance
Recurring chromosome abnormalities and CDH	'Large' aneuploidy-iso12p, trisomy 18; 'Small' aneuploidy-del 15(q26), del 8(p23)

AR, autosomal recessive; CVMs, cardiovascular malformations; NTDs, neural tube defects; XL, X-linked.

^aMutation in human homologue found in association with CDH.

Tabla 1: Evidencia Científica que apoya la genética como causante de CDH. Pober et al⁽⁵⁵⁾.

Trastornos monogénicos asociados a CDH

La frecuencia de la CDH en desórdenes genéticos de un solo gen es mayor que la esperada por el azar en síndromes como los de Branchman-de Lange⁽⁶⁰⁻⁶²⁾, cráneo-fronto-nasal⁽⁶³⁻⁶⁵⁾, Simpson-Golabi-Behmel⁽⁶⁶⁾, disostosis espón-dilo-costal⁽⁶⁷⁻⁷⁰⁾ y Donnai-Barrow⁽⁷¹⁻⁷³⁾. En consecuencia, se puede hipotetizar que los genes NIPBL, EPNB1, GPC3 y DLL3, implicados respectivamente en los cuatro primeros, interfieren en la formación del diafragma o interrumpen una cadena de su desarrollo⁽⁵⁵⁾.

Anomalías cromosómicas y CDH

El análisis cromosómico de rutina en casos no seleccionados de CDH detecta anomalías cromosómicas en menos del 10% de ellos. Son comunes las cromosomopatías como la trisomía 18, tetrasomía 12p, delección 15q26, delección 8p23 y + Der 22 t(11;22)^(1,55,74). Actualmente es desconocido por qué regiones más amplias de aneuploidías (trisomía 18 y isocromosoma 12p) incrementan el riesgo de padecer CDH, y no parece que pueda dilucidarse en un futuro próximo. Las detección, por el

contrario, de alteraciones cromosómicas menores pueden constituir “puntos calientes” para la identificación de genes involucrados en la CDH.

- Alteraciones cromosómicas mayores asociadas a CDH(55):

- **Isocromosoma 12p** (tetrasomía 12p; Sd Pallister-Killian (PKS))
- **Trisomía 18**
- **Trisomía 22 y t(11;22)**

La trisomía 21 parece tener una baja frecuencia de CDH aunque se han descrito casos aislados en la literatura. La hernia de Morgagni parece ser el tipo más frecuente en la trisomía 21. Así pues, tener tres copias del cromosoma 21 predispondría a alteraciones diafragmáticas anteriores^(58,75).

- Alteraciones cromosómicas menores asociadas a CDH:

- **Del (15)(q26.1-q26.) (DIH1, OMIM %42340):** Casi 2 docenas de casos no relacionados con esta alteración comparten un fenotipo común consistente en CDH, retraso de crecimiento, alteraciones cardiovasculares y de extremidades.
- **Del (8)(p23.1) (DIH2, OMIM %222400):** es la segunda anomalía cromosómica menor asociada a CDH. De todos los pacientes reportados, la CDH está presente en el 20% de sus casos.
- **Cromosoma 8q23 (DIH3, OMIM %610187)**
- **Del (4)(p16) (Wolf-Hirschhorn Syndrome, WHS, OMIM #194190)**
- **Del (1)(q42)**
- **Dup (11)(q23-qter)**

La tabla 2 recoge los síndromes más frecuentemente asociados a CDH(1).

Tabla 2: Síndromes frecuentes relacionados con Hernia Diafragmática Congénita

Síndrome	Gen/Locus	Características Fenotípicas
Pallister-Killian	Tetrasomía 12p	CDH, retraso psicomotor, epilepsia, hipotonía, epicantus, alteraciones visuales y auditivas, nariz aplanada, cardiopatías congénitas, reflujo gastroesofágico, cataratas
Fryns	Desconocido (herencia autosómica recesiva)	CDH, hipoplasia pulmonar, hipoplasia distal de falanges y uñas, puente nasal aplanado, orejas displásicas, micrognatia, hendiduras orofaciales
Gershoni-Baruch	Desconocido (herencia autosómica recesiva)	CDH, omfalocele, malformaciones radiales
Simpson-Golabi-Behmel	GPC3;Xq26	CDH, macrosomía (prenatal y postural), polidactilia, uñas hipoplásicas, retraso mental
Beckwith-Wiedemann	IGF2/H19/p57KIP; 11p15.5	CDH, macrosomía (hemihipertrofia), omfalocele, macroglosia, hipoglicemia neonatal
Microftalmia con defectos dérmicos lineales	HCCS	CDH, cardiomegalia, microftalmia, aplasia dermis
Goltz	PORCN; Xp22	CDH, hipoplasia dérmica focal, hipoplasia dental, sindactilia
Craniofrontonasal	EFNB1; Xp22	CDH, sinostosis coronal, hipertelorismo, anomalías digitales
PAGOD	Desconocido	CDH, omfalocele, dextrocardia, hipoplasia de la arteria pulmonar
Denys-Drash	WT1; 11p13	CDH, glomerulopatía, pseudohermafroditismo masculino

Asociación de la CDH con otras malformaciones congénitas

Aproximadamente el 30-40% de los casos se acompañan de otras malformaciones congénitas, a menudo afectando los sistemas cardiovascular, nervioso, musculoesquelético y genitourinario. A pesar de presentar malformaciones en varios órganos, en estos casos no se pueden todavía identificar razones genéticas o cromosómicas por lo que se les denomina genéricamente formas “no sindrómicas”. La tabla 3 resume las malformaciones asociadas más frecuentes a CDH⁽¹⁾.

- Malformaciones Cardiovasculares: las malformaciones cardiovasculares están presentes en un 10-15% de las CDH no sindrómicas⁽⁷⁶⁾. Si se incluyen las formas sindrómicas o genéticas el porcentaje aumenta hasta un 40%^(56,57,77,78). Las formas más frecuentes son la comunicación interventricular y interauricular y la tetralogía de Fallot. La hipoplasia de cavidades izquierdas puede estar sobrediagnosticada pues puede formar parte de la propia secuencia CDH ya que las estructuras cardíacas izquierdas pueden estar afectadas por la propia hemodinámica causada por el defecto diafragmático izquierdo.
- Malformaciones del Sistema Nervioso Central: presentes en un 5-10% de los casos de CDH no sindrómica. Los más frecuentes son los defectos de tubo neural y la hidrocefalia^(56,57,77,79).
- Malformaciones en extremidades: estos defectos ocurren en un 10% de pacientes con formas no sindrómicas de CDH e incluyen la polidactilia, la sindactilia y defectos de reducción^(58,80). Algunos autores hipotetizan que un defecto en la migración de las células de la cresta neural o la mutación en determinados genes podrían estar implicados en la coexistencia de estos defectos de reducción y la CDH, pero todavía no hay evidencia científica al respecto⁽⁸¹⁾.
- Malformaciones en otros órganos y sistemas: Como vemos en la tabla 3 de Skari et al⁽¹²⁾, muy similar a la descrita por Stoll et al⁽⁵⁶⁾, la CDH se puede asociar a múltiples alteraciones del sistema genital, digestivo, musculoesquelético, pulmonar y craneofacial, con prevalencias bajas. El último grupo mencionado describe una frecuencia de asociaciones con CDH del 60,2% en un grupo de casi 120 pacientes de una cohorte de más de 300,000 sujetos⁽⁵⁶⁾.

Tabla 3. Defectos estructurales asociados a Hernia Diafragmática Congénita (Kosinski et al)

Sistema	Tipo de defecto	Frecuencia estimada (%)	Sistema	Tipo de defecto	Frecuencia estimada (%)
Cardiovascular	Comunicación interventricular	6	Musculo-esquelético	Malf. de extremidades	5
	Comunicación interauricular	3		Pie zambo	4
	Coartación de Aorta	2		Omfalocele	3
	Hipoplasia cavidades izq	2		Anomalías vertebrales	2
	Dextrocardia	1		Artrogriposis	2
	Tetralogía de Fallot	1		Defecto esternal	2
	Transposición de grandes vasos	1		Defecto de la pared abdominal anterior	1
	Ventrículo único	1		Anomalías costales	1
	Atresia tricuspídea	1		Displasia c. de cadera	1
Estenosis pulmonar	1	Ectopia cordis	1		
Gastrointestinal	Malrotación	4	Respiratorio	Secuestro Pulmonar	1
	Malformación Anorrectal	3		Fístula Traqueo-esofágica	1
	Agnesia Vesícula Biliar	1	Sistema Nervioso Central	Defectos de Tubo Neural	3
	Bazo accesorio	1		Hydrocefalia	3
Urogenital	Agnesia renal	3	Craneofacial	Hipoplasia ocular	1
	Riñón poliquístico	1		Labio leporino	2
	Criptorquidia	1		Fisura palatina	2
	Útero bicorne	1			

La malrotación intestinal también podría constituir una consecuencia dentro de la secuencia CDH ya que la rotación y reintroducción del contenido intestinal a la cavidad abdominal en fases tempranas de la gestación (entre las 7 a 11 semanas de gestación) podría coincidir con su herniación a tórax a causa del defecto diafragmático.

En definitiva, la asociación de la CDH con anomalías cromosómicas y otras malformaciones mayores es alta, alrededor del 40%, y se ve incrementada hasta un 50% si se tiene en cuenta la mortalidad oculta o “hidden mortality”, es decir, aquellos casos que fallecen antes de finalizar la gestación. Algunos grupos, incluso, sostienen que la CDH se asocia a otras alteraciones congénitas o genéticas en más de la mitad de los casos⁽⁵⁶⁾. Los avances en el diagnóstico prenatal, tanto en el estudio morfológico como en el terreno genético, están permitiendo una mejor caracterización de este espectro pluripatológico y un consejo prenatal más adecuado, así como una terapia pre y postnatal de mayor calidad.

4.4.

Diagnóstico prenatal y predictores de supervivencia

Al ser tan precoz la formación del defecto, la CDH se puede observar en algunos casos severos durante la **ecografía fetal** del primer trimestre entre las 12-15 semanas de gestación, si bien pueden pasar desapercibidas en casos menos graves⁽⁸²⁾. En primer lugar, pues, los esfuerzos van dirigidos a diferenciar una posible CDH de otras formaciones torácicas que puedan generar imágenes similares.

La Tabla 1 presenta una lista de anomalías que constituyen el **Diagnóstico Diferencial fetal** más frecuente⁽¹⁾. Cualquier alteración que genere imágenes diferentes al parénquima pulmonar en un hemitórax será motivo de diagnóstico diferencial, sobre todo en edades tempranas de la gestación. El complejo o espectro malformativo Malformación Adenomatosa Quística (CPAM) – Secuestro Pulmonar (SP) constituyen uno de los principales diagnósticos diferenciales de la CDH, siendo mucho menores en frecuencia los otros trastornos descritos en la tabla.

Tabla 1 - Lesiones pulmonares fetales más comunes en el Diagnóstico Diferencial de Hernia Diafrágica Congénita (Kosinski et al)

Malformación Adenomatosa Quística (CPAM)
Secuestro Broncopulmonar
Eventración diafrágica
Teratoma
Atresia bronquial
Quistes de duplicidad entéricos
Quistes broncogénicos

En edades más avanzadas y, sobre todo, en el estudio morfológico de segundo trimestre, ya se pueden observar los **signos ecográficos guía** de CDH como son el polihidramnios por compresión esofágica, la presencia del estómago intratorácico junto al corazón en un plano axial a nivel de la ventana de 4 cámaras, el ratio disminuido del área transversa de tórax y pulmón, herniación del hígado a tórax, el desplazamiento mediastínico a la izquierda y la hipoplasia de las cavidades izquierdas cardíacas⁽¹⁾. En casos severos, este compromiso cardíaco de cavidades izquierdas puede desencadenar un hídrops fetal ensombreciendo mucho el pronóstico⁽⁸³⁾. La CDH

derecha es más difícil de diagnosticar pues el hígado herniado es susceptible de ser confundido por parénquima pulmonar (Figura 1). El estudio con doppler puede ser de ayuda pues se puede visualizar correctamente el ductus venoso y el trayecto de las venas suprahepáticas, dando las claves para determinar la posición del hígado⁽⁸⁴⁾. También, la identificación de la vesícula biliar en tórax debe hacer sospechar una CDH derecha.

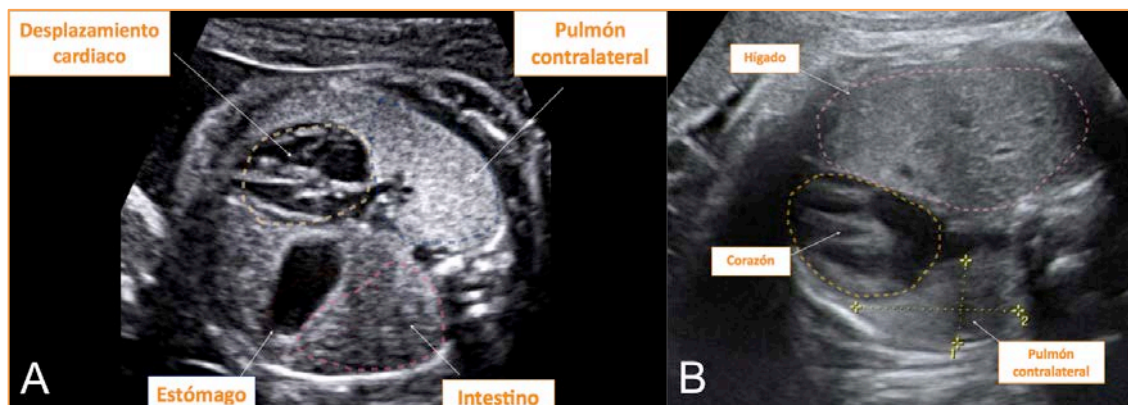


Figura 1: Imagen ecográfica de la CDH. A: CDH izquierda. B: CDH derecha.

La **Resonancia Magnética Nuclear (RMN)** fetal se está utilizando cada vez más frecuentemente una vez establecido el diagnóstico por ecografía. Esta permite una mejor visualización de las estructuras herniadas a tórax y la evaluación de otras malformaciones asociadas que pudieran acontecer (Figura 2). Aporta ventajas importantes en aquellas pacientes obesas o con oligohidramnios donde la visualización por ecografía puede verse comprometida. Además, como veremos más adelante, aporta ventajas en la estimación de la hipoplasia pulmonar gracias a la volumetría pulmonar.

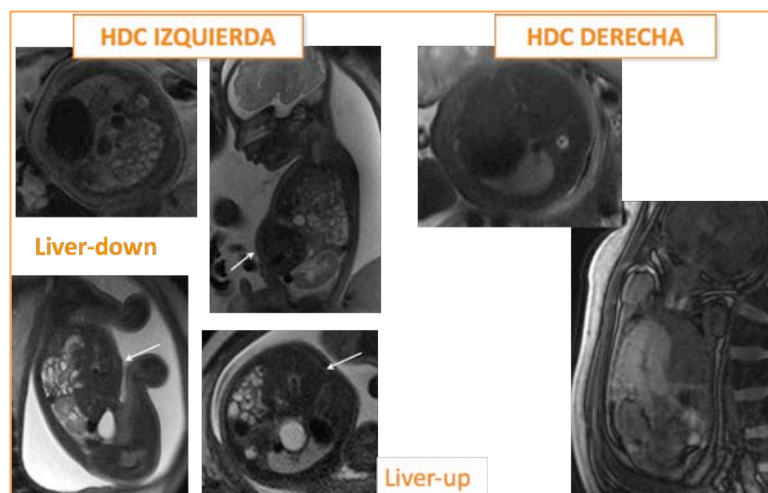


Figura 2: RMN en pacientes con CDH.

Una vez diagnosticado el defecto diafragmático el estudio prenatal va enfocado en dos direcciones: en primer lugar a determinar la existencia de malformaciones asociadas; en segundo, a dilucidar la severidad de la hipoplasia pulmonar. Este screening normalmente se realiza también en el estudio morfológico del segundo trimestre, entre las 18 y 22 semanas de gestación, y es importante que así sea para poder plantear, de requerirse, alternativas de terapia prenatal, que normalmente se indicarían a partir de la semana 26 de gestación.

Como hemos visto anteriormente, la CDH se acompaña en al menos un 40% de otras anomalías congénitas de origen cromosómico o no⁽⁵⁶⁾. El diagnóstico de estas anomalías asociadas tiene un impacto directo en el consejo prenatal. La ecografía tiene un papel protagonista gracias a la instauración de un programa de screening ecográfico prenatal⁽⁸⁵⁾ que incluye una ecocardiografía fetal. La RMN permite ampliar el estudio. El riesgo de anomalías cromosómicas se estima alrededor del 15% y el de padecer síndromes genéticos no cromosómicos alcanza el 25-30%, si bien la gran mayoría se acompaña de otras malformaciones mayores (ver apartado 5.3). El estudio del cariotipo o QF-PCR por **amniocentesis** es otro pilar del diagnóstico prenatal. Particularmente importante es la detección del síndrome de Pallister Killian (tetrasomía 12p), ya que puede presentarse únicamente con CDH y está asociado a retraso mental severo. Despistar una tetrasomía 12p en mosaico en el líquido amniótico es de importante relevancia aunque sólo está al alcance de grupos de genética clínica con mucha experiencia. Hay también diseñados unos kits de análisis mediante microarrays específicos para CDH, pero todavía se hallan en fase experimental⁽⁸⁶⁾.

La **estimación prenatal de la hipoplasia pulmonar** y, por ende, de la supervivencia se basa en la evaluación indirecta del volumen pulmonar. Diversos han sido los índices que han ido evolucionando con el tiempo hasta los indicadores actuales.

El método más utilizado en un principio era la medición bidimensional del diámetro máximo del pulmón del lado no afecto en la proyección ecográfica de cuatro cámaras y relacionarlo con el diámetro máximo cefálico. Este índice se denominó **Lung to Head**

Ratio (LHR) y fue descrito en primer lugar por Merkus et al. ^(87,88) (Figura 3). Un estudio con 184 pacientes demostró que el LHR se correlacionaba con la supervivencia en aquellos casos de CDH izquierda aislada y herniación hepática intratorácica calculado entre las semanas 22 y 28. No fue así para los pacientes sin herniación hepática ⁽⁸⁸⁾. Se postuló como índice fiable, particularmente después de las 24 semanas de gestación y fácilmente reproducible al ser poco explorador dependiente ⁽⁸⁹⁾. Asimismo, el rendimiento coste-efectividad era muy alto.

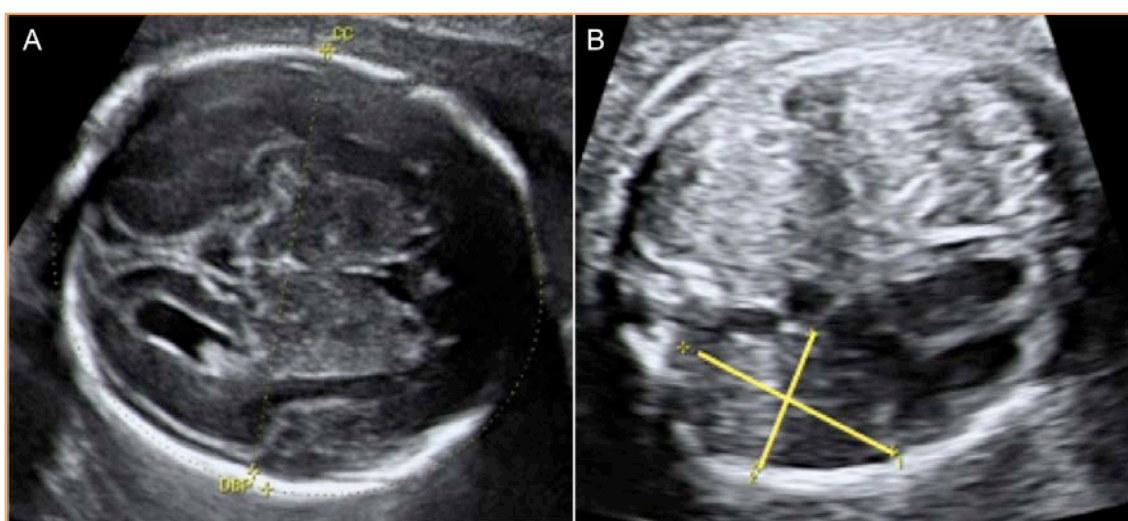


Figura 3: Cálculo ecográfico del LHR. A: Diámetro cefálico máximo. B: Área bidireccional del pulmón contralateral.

Sin embargo, el LHR se incrementa exponencialmente con la edad gestacional en fetos sin defecto diafragmático ⁽⁹⁰⁾. Esta conclusión extraída de un estudio con 650 pacientes motivó la introducción de un nuevo indicador que no se viera influenciado por el paso del tiempo. De esta manera se describió el **Observed to Expected normal mean for gestation (O/E) LHR** o, en otras palabras, el porcentaje del LHR medio para una edad gestacional determinada ⁽⁹¹⁾. La validez de este indicador se confirmó en otro trabajo en el que se comparaba la supervivencia tras la determinación del O/E LHR a las 22-23 semanas de gestación versus las 32-33 semanas (Figura 4), no observando diferencias en el pronóstico ⁽⁹²⁾. El O/E LHR no sólo proveía de una estimación del tamaño pulmonar independiente de la edad gestacional sino también del pronóstico postnatal.

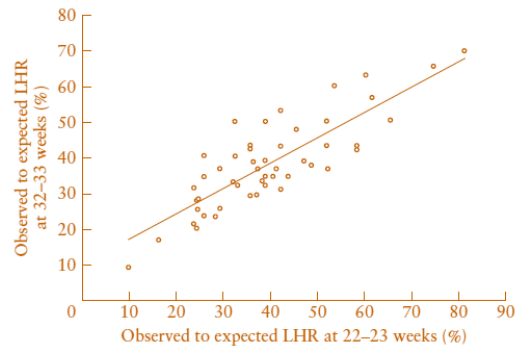


Figura 4: Relación entre el O/E LHR a las 22-23 SG y las 32-33 SG en fetos con CDH. Se muestra la línea de regresión⁽⁹²⁾.

Desde entonces, el **O/E LHR** se considera como el mejor método disponible para evaluar la severidad de la hipoplasia pulmonar en estos pacientes, si bien la sensibilidad para predecir la supervivencia postnatal es del 50%, con un 10% de falsos positivos⁽⁹²⁾. Valores bajos de O/E LHR, combinados con la herniación intratorácica del hígado, se corresponden con un aumento de la mortalidad y de la morbilidad neonatal^(91,93,94). Este algoritmo es el utilizado actualmente por los grupos europeos con programas clínicos en tratamiento fetal de la CDH⁽¹⁵⁾ (Figura 5). Utilizando los mismos criterios de inclusión, el grupo de Toronto reportaba supervivencias similares⁽⁹³⁾.

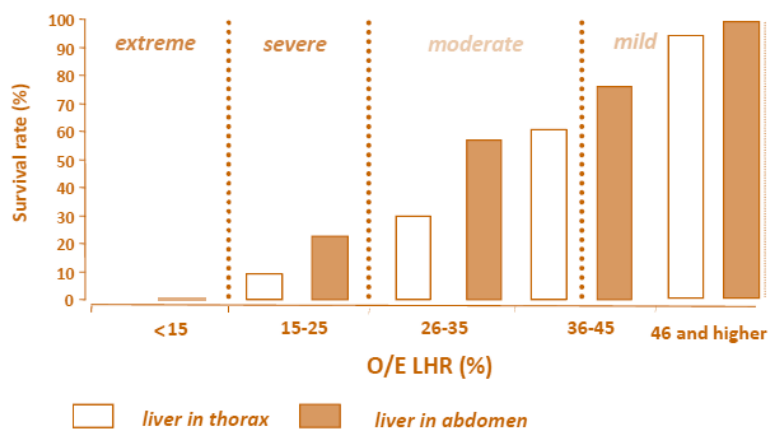


Figura 5: Algoritmo para hernias diafrágicas izquierdas. Correlación del O/E LHR con las tasas de supervivencia para fetos con y sin hígado herniado a tórax, basadas en los datos del registro antenatal de CDH⁽¹⁵⁾.

La mejor manera de calcular el O/E LHR es siguiendo el protocolo de la Tabla 2 utilizando los diámetros máximos del pulmón contralateral a la CDH o el trazado del contorno pulmonar. El LHR esperado por la edad gestacional puede obtenerse aplicando las fórmulas que se detallan en la Tabla 3⁽⁸⁶⁾.

Tabla 2 - Protocolo para la obtención del O/E LHR

- 1 Pulmón contralateral a la CDH próximo a la sonda
- 2 Corte torácico axial 4 cámaras
- 3 Evitar la sombra producida por las cotillas
- 4 Magnificar la imagen para que el tórax fetal ocupe toda la pantalla
- 5 Ubicar los marcadores de acuerdo con el método de medición del área pulmonar
- 6 Dividir el área pulmonar por la Circunferencia Cefálica (mm) para obtener el LHR
- 7 Dividir el LHR obtenido por el LHR esperado para la edad gestacional para obtener el O/E LHR

Tabla 3 - Fórmulas para la obtención del LHR esperado por edad gestacional

LHR esperado	Usando Diámetros Máximos	Usando Contorno Pulmonar
Pulmón Izquierdo	$0.299 \times GA - 2.449 - 0.004 \times GA^2$	$0.176 \times GA - 1.424 - 0.002 \times GA^2$
Pulmón derecho	$0.397 \times GA - 3.314 - 0.004 \times GA^2$	$0.268 \times GA - 2.218 - 0.003 \times GA^2$

GA: Edad Gestacional

El **volumen pulmonar** también se puede estimar mediante la ecografía en 3 dimensiones o la RMN fetal. La volumetría pulmonar se calcula a partir de varios cortes radiológicos. Teniendo en cuenta que la RMN puede realizarse en gestantes y la calidad de las imágenes es de momento superior a la ecografía 3D, teóricamente parece más precisa la estimación por RMN fetal. Sin embargo, este dato se ve también alterado por la edad gestacional y por las variaciones en volumen fetal total o peso para la misma edad gestacional. Así pues, cotejándolo con la edad gestacional y con el volumen corporal se han desarrollado índices como el **O/E volumen ratio**⁽⁹⁵⁻⁹⁷⁾. Sin embargo, su superioridad con los índices ecográficos 2D todavía no está bien establecida⁽⁹⁸⁾.

Actualmente, la mayoría de centros terciarios realizan las medidas 2D y 3D para sus estimaciones de pronóstico de cara a establecer la indicación de tratamiento prenatal.

Por otro lado, la **herniación hepática** en el tórax se ha relacionado desde hace mucho tiempo con la severidad de la hipoplasia pulmonar y tiene mucho impacto, como se puede apreciar en la figura 1, en el pronóstico de la malformación. Tanto es así que constituye un criterio de indicación de tratamiento prenatal cuando se asocia a grados importantes de hipoplasia pulmonar medidos mediante las técnicas radiológicas

previamente descritas. Por ecografía sólo podemos dilucidar si el hígado está “arriba” o “abajo”. Mediante RMN la cuantificación puede ser más precisa, aunque todavía no hay estratificaciones estándar que delimiten mejor el riesgo pronóstico a pesar de los múltiples estudios publicados⁽⁹⁹⁻¹⁰³⁾.

La **posición del estómago en el tórax** también se ha postulado por algunos autores como de valor pronóstico acompañado o no por la herniación del hígado^(104,105). En algunos casos se ha insinuado como un potente predictor de muerte, necesidad de ECMO o soporte neonatal respiratorio prolongado⁽¹⁰⁶⁾. Su aplicación clínica, sin embargo, no se ha extendido por el momento.

Otros factores pronóstico descritos aún en fase experimental son la **vascularización pulmonar fetal** y su capacidad de relajación vascular⁽¹⁰⁷⁾ valorados por ecografía-doppler. El desarrollo de los vasos pulmonares está íntimamente relacionado con el desarrollo de las generaciones bronquiales y del parénquima pulmonar. Se ha demostrado que hay una correlación entre la reducción de la perfusión tisular, el incremento en la impedancia de la arteria intrapulmonar y la disminución del tamaño pulmonar evaluado por el O/E LHR⁽¹⁰⁸⁻¹¹⁰⁾. Se han estudiado varios parámetros desde este punto de vista como son el número de ramas vasculares, el diámetro de los vasos, la reactividad a la inhalación materna de oxígeno, el índice de pulsatilidad de la primera rama intrapulmonar de la arteria pulmonar del pulmón contralateral, etc. Estos parámetros se han relacionado con el O/E LHR y la supervivencia. La aplicación práctica es todavía menor y sólo se practica en centros con un marcado perfil investigador en la materia⁽⁸⁶⁾.

La **hernia diafragmática derecha** (RCDH) parece una entidad distinta a la CDH izquierda y no sólo una variante ya que presenta un pronóstico distinto y una respuesta al tratamiento más pobre con mayor necesidad de soporte con oxigenación con membrana extracorpórea (ECMO)⁽¹¹¹⁾. Constituye el 15% de los casos de CDH (el 1% es bilateral). Los datos clínicos presentan cierta controversia respecto a su evolución siendo publicados resultados algunos mejores aunque por lo general se ha considerado siempre de mucho peor pronóstico que la CDH izquierda para volúmenes

pulmonares similares ^(12,111-114). Casi siempre se acompaña de herniación hepática así que los índices prenatales de severidad tienen que ser por fuerza distintos ⁽¹¹⁵⁾. En este caso se utiliza por regla general el O/E LHR estableciendo una supervivencia del 17% y del 0% para índices de <45% y <30% respectivamente. En caso de cirugía prenatal en pacientes con un O/E LHR <45% se ha llegado a una supervivencia del 42% ⁽⁴⁾ (Figura 6).

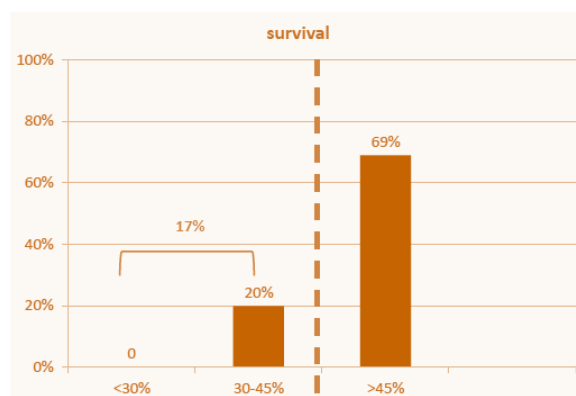


Figura 6: supervivencia para tratamiento postnatal de la Hernia Diafragmática Congénita Derecha ⁽⁴⁾.

En resumen, la ecografía continua siendo la exploración de elección para determinar los índices de severidad de la CDH reservando la RMN para la confirmación de los hallazgos o en pacientes en donde la realización de una ecografía está comprometida como por ejemplo ante un alto índice de masa corporal, un oligohidramnios severo, una posición fetal muy desfavorable o ante patologías pulmonares fetales que impidan una buena ventana ecográfica. El índice O/E LHR es el más utilizado actualmente, junto con el “liver up”. La situación de la cámara gástrica está tomando protagonismo de cara al pronóstico y la valoración de la circulación pulmonar puede tener un papel en el futuro. La CDH derecha presenta un pronóstico más sombrío y su estudio responde a otros rangos en los índices de severidad descritos.

4.5.

Terapia fetal

La historia de la Cirugía Fetal de la CDH tiene varios nombres propios pero el padre sin duda es **Michael R. Harrison**. De hecho, puede considerarse como el padre de toda la Cirugía Fetal en general.

Los primeros estudios experimentales en Cirugía Fetal de la CDH por parte de M. Harrison datan de principios de la década de los 80. Sus primeros objetivos fueron desentrañar la fisiopatología y evaluar la reversibilidad de la hipoplasia pulmonar. En un primer momento introdujo balones de silicona en los hemitórax de fetos ovinos que iba progresivamente hinchando durante el último trimestre de gestación para simular la compresión pulmonar. Estos corderos se deterioraban rápidamente al nacimiento a pesar de medidas avanzadas para la época de resucitación pulmonar y fallecían por distrés respiratorio. Los estudios anatomopatológicos revelaban una hipoplasia pulmonar severa⁽¹¹⁶⁾. Para comprobar si esta hipoplasia pulmonar era reversible, el balón se deshinchaba a los 120 días de gestación (simulando una corrección quirúrgica). Todos los corderos a los que se les deshinchó el balón fueron fácilmente resucitados postnatalmente y presentaron una función pulmonar normal⁽¹¹⁷⁾. Las conclusiones de este trial abrieron las puertas de la terapia fetal: la reparación intraútero de los pacientes con CDH podría permitir el crecimiento de los pulmones hipoplásicos.

Esta teoría tenía algunas debilidades. Esta simulación de la CDH en corderos podría no corresponderse con la fisiopatología humana ya que el defecto está presente desde el primer trimestre y se acompaña, además de la hipoplasia pulmonar, de una hipertensión pulmonar (ver apartado 5.2) y la persistencia de la circulación fetal. Las arteriolas pulmonares presentan una hipertrofia de la muscular con el consiguiente aumento de la resistencia al flujo sanguíneo. Este factor podía no corresponderse con el modelo animal descrito, por lo que el grupo de Harrison empezó a crear el defecto en ovejas a los 60 días de gestación, realizando el estudio morfométrico del lecho

vascular⁽¹¹⁸⁾. Los fetos eran intervenidos intraútero a los 100 días de gestación mientras que los no intervenidos servían de controles. El grupo no reparado mostraba una disminución del área vascular, disminución del número de vasos por campo y un aumento de la capa muscular del árbol arterial. El grupo operado presentaba una mejoría de la hiperplasia pulmonar, el volumen pulmonar se restablecía de manera impresionante y el árbol arterial era prácticamente normal.

Una vez solucionados los temas “hipoplasia pulmonar” e “hipertensión pulmonar”, sólo quedaba desarrollar la técnica quirúrgica que debía realizarse posteriormente en humanos. Así pues, creaban el defecto en fetos de cordero a los 100 días para intervenirlos a los 120⁽¹¹⁹⁾. Los primeros casos fueron un fracaso pues la reducción de las vísceras a la cavidad abdominal aumentaba la presión intraabdominal y comprometía el flujo de los vasos umbilicales, provocando la muerte fetal. Este problema se veía parcialmente compensado mediante la introducción de un silo abdominal de Siláctic. Sin embargo, la descompresión brusca del tórax provocaba un switch mediastínico con compromiso del retorno venoso. Esta eventualidad se pudo soslayar mediante la introducción de Ringer lactato caliente en el tórax antes de cerrar el diafragma. Mediante estas técnicas consiguieron que 6 de 10 corderos fueran viables. Así pues, demostraron que la corrección del defecto diafragmático era plausible técnicamente cuando el procedimiento era ejecutado correctamente y esta observación fue refrendada por otros grupos^(120,121).

Pero antes de ofrecer la cirugía fetal abierta a humanos se debía establecer qué pacientes podrían ser buenos candidatos a esta terapia. Dado que el mejor candidato a terapia fetal sería aquel paciente con pocas o nulas posibilidades de sobrevivir con el tratamiento postnatal estándar, el esfuerzo por obtener índices pronósticos prenatales como los que se describen en el apartado anterior empezó a tener una relevancia capital. Fue una época muy prolífica en las determinaciones ecográficas de estos índices que correlacionaban la hipoplasia pulmonar con el pronóstico, tomando un protagonismo destacado el LHR⁽⁸⁷⁾. El estudio de las asociaciones con otras malformaciones y a causas genéticas también experimentó un auge importante.

Las primeras cirugías fetales abiertas del grupo de Harrison se realizaron después de 1600 intervenciones en feto ovino y 400 en feto de primate durante 15 años⁽¹²²⁾. El abordaje se hacía mediante laparotomía media de la madre, histerotomía 6 cm del margen placentario, exteriorización del lado izquierdo del feto y realización de 2 incisiones (2 step procedure), una torácica y una abdominal. La reducción se realizaba mediante la maniobra que llamaron “push-pull”, es decir, mientras empujaban las vísceras desde el tórax las traccionaban desde el abdomen. El diafragma se suturaba con un parche de Gore-Tex y las vísceras se envolvían en un silo de Gore-Tex. Esta técnica sólo era posible en aquellos pacientes que no tenían herniación hepática a tórax. En los pacientes con “liver up” no era posible esta intervención pues la reducción a abdomen provoca un compromiso inmediato de la vena umbilical y la muerte fetal. Estos trabajos fueron publicados en la década de los 90⁽¹²³⁻¹²⁵⁾. Aunque se documentó una mejoría en la función respiratoria, la supervivencia de este tipo de pacientes (“liver down”) con el tratamiento postnatal estándar se vio que era superior a la de los pacientes sometidos a terapia fetal, a los que debía añadirse la morbilidad de un parto pretérmino y quirúrgica (mortalidad de 12% versus 25% respectivamente). Los pacientes con “liver up” no pudieron ser nunca intervenidos con éxito mediante esta técnica⁽¹²⁵⁾.

Si los 80 fue la década de la cirugía fetal abierta de la CDH, los 90 lo fue de la oclusión traqueal. Gracias a la constatación de que en casos de obstrucción congénita de la vía aérea por otras causas (síndrome CHAOS) se apreciaba una hiperplasia pulmonar importante, los esfuerzos fueron dirigidos en ocluir la tráquea para provocar el crecimiento pulmonar a pesar de la herniación de las vísceras abdominales a tórax. Este procedimiento se bautizó como **PLUG** o “*Plug the Lung Until it Grows*” (ocluye el pulmón mientras crece).

La evidencia experimental en animales de este fenómeno fisiopatológico fue establecida por numerosos grupos⁽¹²⁶⁻¹³²⁾. Durante la gestación, el pulmón fetal produce líquido intrapulmonar que sale hacia el exterior, parte hacia el líquido amniótico y parte se deglute. Estudios experimentales en animales en los que se drenaba el líquido intrapulmonar demostraron un retraso en la maduración pulmonar

mientras que la obstrucción traqueal se acompañaba de una hiperplasia pulmonar notable^(127,128,133–135). En los fetos ovinos ocluidos, el pulmón crece, incluso reduciendo las vísceras herniadas a la cavidad abdominal, y es funcionalmente mejor que los controles. Este abordaje era prometedor para los casos de CDH de mal pronóstico y “liver up”.

El primero que aplicó esta terapia en humanos fue de nuevo MR Harrison en 8 pacientes entre 25 y 28 semanas de gestación. Finalmente, estableció las indicaciones quirúrgicas en aquellos pacientes con un LHR < 1 y con “liver up”. Estos criterios de inclusión han sido vigentes hasta la incorporación del O/E LHR⁽¹³⁶⁾. En 2 ocluyó la tráquea con un plug poliméricos internos y en 6 con clips metálicos mediante cirugía abierta y disección traqueal. Los dispositivos eran extraídos en el momento del nacimiento mediante técnica de EXIT (*Ex Utero Intrapartum Treatment*). El plug translaringeo fue más simple de revertir al nacimiento pero provocó una traqueomalacia severa en un caso y una oclusión incompleta en el segundo. Los clips metálicos con una sutura monofilamento adherida para facilitar su extracción fueron más eficaces con aparente poca lesión traqueal. Los resultados de esta serie de pacientes fueron desalentadores con la muerte de 7/8. Aunque los pulmones de los pacientes ocluidos con éxito mejoraban, las complicaciones acaecidas durante la evolución de estas técnicas limitaron la supervivencia⁽¹³⁷⁾.

FETO (Fetal Endoscopic Tracheal Occlusion)

La historia natural del tratamiento fetal cambió radicalmente con la oclusión traqueal fetoscópica mediante un balón (FETO). Esta técnica nació en Europa a principios de siglo XXI a través del grupo europeo formado inicialmente los grupos de Londres, Barcelona y Lovaina⁽¹³⁸⁾. La evolución de la técnica sufrió varios cambios ante la evidencia de una mala evolución respiratoria de los pacientes que se dejaban con el balón hasta el momento de la cesárea en que se procedía a un EXIT (*Ex Utero Intrapartum Treatment*) para la retirada del balón⁽¹³⁹⁾. La oclusión traqueal prolongada, aún estimulando el crecimiento pulmonar, generaba una depleción de neumocitos tipo II y, por tanto, de surfactante, comprometiendo la repleción de los alveolos. Por este

motivo la estrategia cambió hacia una retirada del balón mediante fetoscopia a las 6 – 8 semanas de su colocación⁽¹⁵⁾.

Actualmente el procedimiento se realiza de manera percutánea bajo anestesia local (Figura 1), junto con una infiltración de analgesia y relajantes musculares al feto (atropina, fentanilo y vecuronio)⁽¹⁴⁰⁾. Se utiliza una cánula vascular de 10 Fr (Cook, Check Flo Performer) y un fetoscopio rígido curvo de 3,3 mm, con dos aperturas para irrigación, por el que se introduce una óptica de 1,3 mm (Figura 2), un catéter de 0,9 mm (Baltacci, Balt) que alberga un balón de látex con marca radio-opaca (fragmento de oro) de 0,6 ml de capacidad que mide 1,5 x 5 mm deshinchado y 7 x 20 mm hinchado (Goldbal 2, Balt) (Figura 3). Estos balones estaban diseñados en un principio para procedimientos vasculares.



Figura 1: Infiltración anestésica del feto guiada por ecografía.

El momento estándar de oclusión se realiza a las 26 – 28 semanas de gestación para los casos de un O/E LHR inferior a 25% con “liver up” en el caso de CDH izquierda y para un O/E LHR menor del 45% en las CDH derechas (ver apartado 5.4 de Diagnóstico Prenatal). Mediante fetoscopia se introduce el balón en la tráquea del feto y se hincha hasta ocluir la totalidad de la luz traqueal (Figuras 2-6).

Actualmente hay en marcha un estudio prospectivo randomizado multicéntrico llamado TOTAL trial en el que se está estudiando la posibilidad de practicar una oclusión traqueal más tardía en aquellos casos menos graves. Los detalles de este

importante estudio serán explicados minuciosamente en el apartado 5.7 – *Estado actual del tema*.

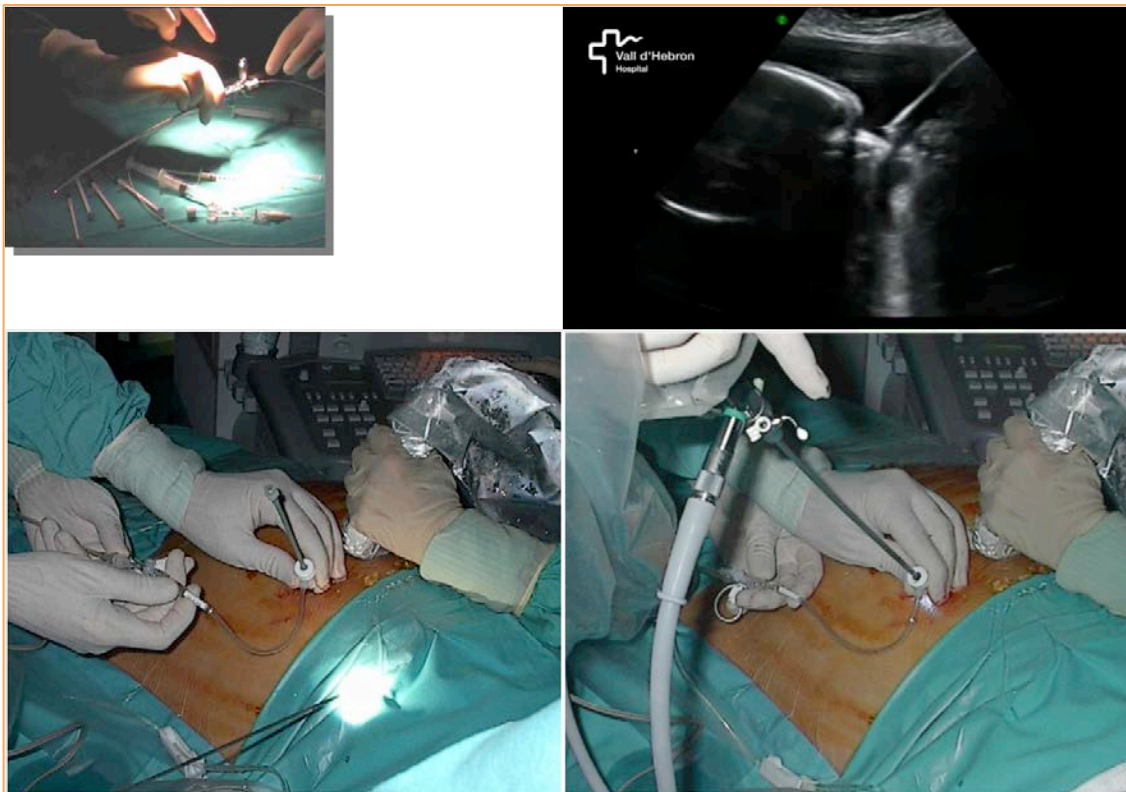


Figura 2: Introducción del fetoscopio bajo control ecográfico.

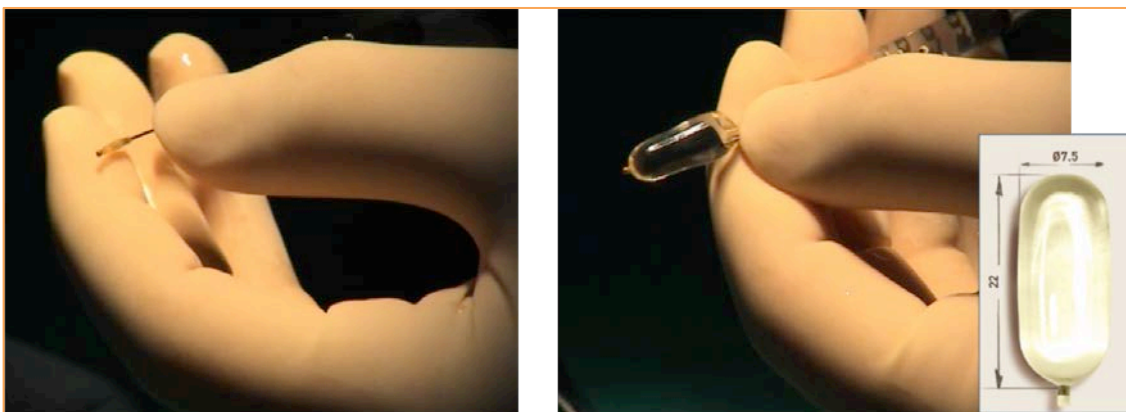


Figura 3: Balón de oclusión traqueal.

La retirada del balón puede realizarse de varias maneras, siendo la más utilizada la segunda fetoscopia y deshinchado del balón mediante unas pinzas o, como en nuestro caso, una fibra de laser a las 34 semanas de gestación. Para ello pueden utilizarse ópticas de mayor calibre (2 mm). Otra manera de deshinchar el Plug es mediante punción endoscópica percutánea, aunque este procedimiento es arriesgado pues

normalmente el balón se encuentra a poca distancia de la carina traqueal y existe el riesgo de punción de estructuras vasculares importantes. En casos extraordinarios, por amenaza de parto prematuro o por rotura prematura de membranas y parto pretérmino, el Plug puede retirarse mediante EXIT o por laringoscopia directa, con peores resultados en términos de supervivencia.



Figura 4: Referencias anatómicas para la oclusión traqueal.



Figura 5: Balón hinchado ocluyendo la luz traqueal.

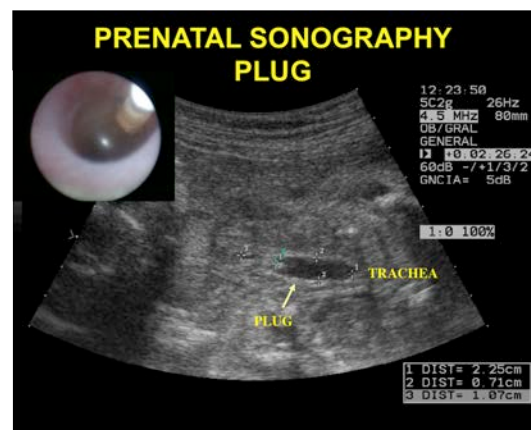


Figura 6: Aspecto ecográfico del PLUG.

La complicación príncipes de este procedimiento es el parto pretérmino, generalmente ocasionado por una Rotura Prematura de Membranas (RPM), que ocurren predominantemente durante las tres semanas posteriores al procedimiento de retirada en el 16.7% de los casos. Aunque la edad gestacional al nacimiento es de 35.3 semanas, uno de cada 3 nacerá antes de las 34 semanas de gestación⁽¹⁵⁾. Frente a una rotura prematura de membranas la paciente ingresa bajo cobertura antibiótica para

vigilancia ante cualquier consecuencia que obligue a un parto de urgencia, momento crítico si todavía no se ha extraído el Plug.

Comparados con los pacientes históricos inscritos en el registro de CDH, el tratamiento fetoscópico de oclusión traqueal con balón (FETO) ha aumentado la supervivencia de los casos severos de CDH izquierda de un 24.1% a un 49.1%($P < 0.001$)⁽¹⁴⁰⁾. Los mayores predictores de supervivencia eran el O/E LHR y la edad gestacional al nacimiento. En cuanto a la CDH derecha, la supervivencia se incrementó en un principio del 0% al 35% y en recientes estudios del 17% al 42%⁽⁴⁾.

La morbimortalidad neonatal viene dada por el grado de hipoplasia pulmonar e hipertensión pulmonar (ver apartado 5.6 – *Tratamientos actuales postnatales*).

Se han descrito pocos efectos secundarios a la oclusión traqueal, y uno de ellos es la traqueomegalia⁽¹⁴¹⁾ (Figura 7). Muchos de estos pacientes presentan un diámetro traqueal alargado en el lugar donde estuvo alojado el balón pero raramente tiene implicación clínica más allá de una tos perruna al esfuerzo enérgico. Parece que esta traqueomegalia disminuye con el crecimiento^(142–145).

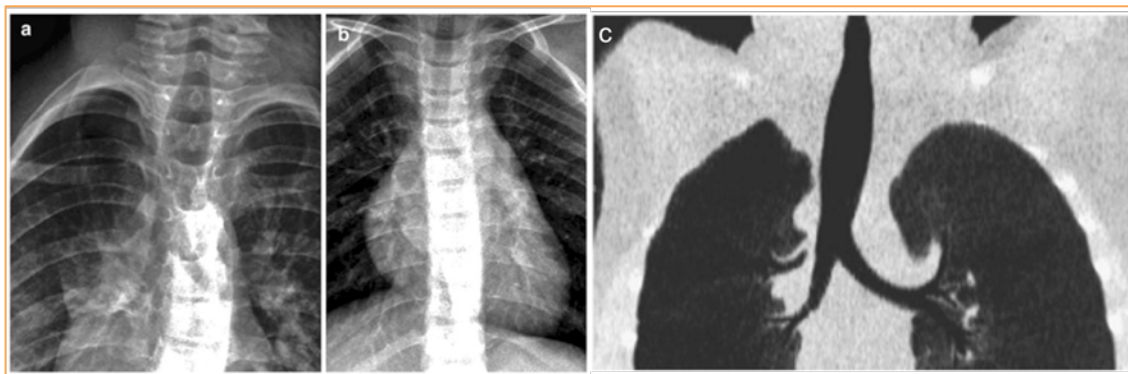


Figura 7: Imágenes radiológicas de traqueomegalia. A: radiografía simple de una tráquea dilatada por efecto del balón. B: tráquea normal a la radiografía simple. C: traqueomegalia estudiada con RNM⁽¹⁴¹⁾.

Más del 70% de estos pacientes necesitarán parches durante el cierre quirúrgico del defecto postnatal, hecho que se correlaciona con el severo grado de hipoplasia pulmonar que presentan antes de la cirugía fetal (ver más detalles en el apartado 5.6 - *Tratamientos actuales postnatales*).

4.6. Tratamientos actuales postnatales

El parto de estos pacientes debería idealmente realizarse en centros especializados, de alto volumen, aptos para cualquier tipo de reanimación neonatal, ya que se ha demostrado un mejor pronóstico y un descenso en la mortalidad⁽¹⁴⁶⁻¹⁴⁸⁾. El parto vaginal inducido lo más avanzado posible, idealmente llevado hasta las 38 semanas de gestación, optimiza la maduración pulmonar de estos pacientes. Algunos grupos defienden el parto electivo por cesárea en los pacientes con diagnóstico prenatal reportando una mejoría marginal, no significativa, de la morbi-mortalidad⁽¹⁴⁹⁾.

Tras el parto los pacientes se intuban para asegurar la vía aérea e iniciar una ventilación suave o “*gentle ventilation*” para evitar el barotrauma. El control de la lábil fisiología de estos pacientes es la primera prioridad previa a la cirugía, que debería posponerse hasta asegurar una estabilidad hemodinámica y respiratoria. En ningún caso debería realizarse la reparación quirúrgica en situaciones de urgencia, sino de manera programada con el equipo neonatal y quirúrgico experto coordinados de forma efectiva⁽¹⁵⁰⁾.

El manejo inicial consiste en la introducción rápida de una sonda nasogástrica para evitar la distensión gástrica, ya que ésta podría comprimir el mediastino, y en asegurar unos accesos vasculares, normalmente umbilicales por su más fácil cateterización inicial, para permitir la extracción de muestras para gasometría y la administración de fluidos y drogas vasoactivas si fuera necesario.

Una vez realizada la estabilización inicial en la sala de partos y aún teniendo en cuenta las exploraciones prenatales, la búsqueda de malformaciones asociadas es mandatoria. Una radiografía de tórax confirma el diagnóstico y una ecografía cardíaca descarta o confirma alteraciones cardíacas y hemodinámicas, ya sean consecuencia de la propia malformación, como la hipoplasia de cavidades izquierdas, o malformaciones cardíacas de diferente naturaleza que puedan aparecer asociadas.

En nuestro medio, un 20-30% de pacientes con CDH pueden pasar desapercibidos durante el periodo prenatal, sobre todo aquellos afectados de CDH del lado derecho, ya que el parénquima pulmonar puede confundirse con facilidad con el parénquima hepático. Estos pacientes pueden manifestar signos de distrés respiratorio inmediato o persistir asintomáticos hasta la edad adulta. Generalmente este último grupo de pacientes adolecen de defectos pequeños con herniación menor de vísceras abdominales o de hernias contenidas por un saco. La oclusión intestinal o el compromiso isquémico de las vísceras herniadas pueden representar otra forma de “debut” de una CDH no diagnosticada previamente⁽¹⁵⁰⁾.

Como comentábamos en secciones anteriores, la introducción del concepto “*gentle ventilation*” fue una de las mayores aportaciones para el tratamiento de estos pacientes. Fue descrita en 1995 por el grupo de Wung et al.⁽¹⁵¹⁾ en el que abogaban por la preservación de la ventilación espontánea, niveles permisivos de hipercapnia y evitar presiones ventilatorias elevadas, idealmente no superiores a los 25 cm de H₂O. El objetivo principal era evitar el daño pulmonar iatrogénico por barotrauma. Varios centros han reportado supervivencias mejoradas hasta el 80% siguiendo estos principios y disminución de la necesidad de ECMO (Extra Corporeal Membrane Oxigenation)^(152,153).

La Ventilación de Alta Frecuencia Oscilatoria (VAFO) es un recurso utilizado frecuentemente para evitar el barotrauma y disminuir la hipercapnia en pacientes inestables. Varios grupos han demostrado mejoras en la supervivencia de estos pacientes graves y constituye el paso previo a la ECMO.

La terapia con *ECMO* fue diseñada para el control de los pacientes con fallo respiratorio de cualquier origen, y tuvo una época dorada en el tratamiento de la CDH grave durante los años 80 y 90s. Sin embargo, un ensayo clínico multicéntrico randomizado y una revisión de Cochrane del 2002 y 2008 no han podido demostrar un beneficio significativo con el uso de esta terapia, que se va paulatinamente abandonando para el tratamiento de la CDH en centros de alta complejidad⁽¹⁵³⁻¹⁵⁵⁾.

La terapia vasodilatadora con **óxido nítrico** (ON) para el tratamiento de la hipertensión pulmonar se ha popularizado y se utiliza en clínica con asiduidad, aunque tampoco se han establecido evidencias poderosas de su beneficio en el tratamiento de la CDH a raíz de otro ensayo clínico controlado multicéntrico randomizado (NINOS) y una nueva revisión Cochrane. En estos estudios no se documentan descensos en la mortalidad ni en la disminución de la necesidad de ECMO⁽¹⁵⁶⁾.

El uso de **sildenafil** (inhibidor de la fosfo-diesterasa) por vía enteral o endovenosa, por el contrario, muestra resultados prometedores como vasodilatador en el tratamiento de la hipertensión pulmonar en estudios con series cortas de pacientes, aunque hay una ausencia de estudios randomizados que confirmen el máximo nivel de evidencia científica^(157,158).

La **cirugía** de la hernia diafragmática se reserva pues, como hemos visto, para aquellos pacientes que presentan un periodo de estabilización hemodinámica y respiratoria y se realiza, idealmente, de forma programada. El objetivo del procedimiento es reducir las vísceras a la cavidad abdominal y el cierre del defecto.

En defectos diafragmáticos pequeños la sutura directa es posible y es la que tiene mejores resultados en términos de morbilidad y supervivencia, en parte por representar un grupo de pacientes que generalmente acaecen de menor grado de hipoplasia pulmonar. Por el contrario, cuando el orificio es amplio suele ser necesaria la introducción de un material protésico para cerrar el defecto. Estos pacientes generalmente presentan una mayor herniación visceral y, por ende, un grado de hipoplasia pulmonar e hipertensión pulmonar mayor, ensombreciendo en mayor grado el pronóstico. El tipo de material protésico a utilizar y la técnica mediante la cual se aplica tiene un impacto directo sobre las complicaciones postoperatorias, principalmente en lo que respecta al índice de recidivas^(152,159). Los materiales más utilizados son el SURGISIS y el GORE-TEX, aunque se han reportado mejores resultados en términos de recidiva con este último⁽¹⁶⁰⁾. El grupo alemán de Manheim preconiza la introducción del parche en forma de cono para permitir que se despliegue a medida que va creciendo el niño y disminuir así el número de recidivas⁽¹⁶¹⁾. En algunos casos, y

sólo utilizado por un número limitado de grupos entre el que se encuentra el nuestro, la utilización de un flap muscular a expensas del músculo transverso abdominal, puede ser de utilidad en aquellos defectos con agenesia completa de diafragma, en ocasiones en combinación con material protésico⁽¹⁶²⁻¹⁶⁶⁾. La razón por la cual se defiende esta técnica es por la capacidad que tiene el tejido muscular de crecer con el niño, característica que no comparte ningún material protésico. Un parche suturado a la pared torácica no crece y, en consecuencia, está destinado a la recurrencia en algún momento durante el medro del paciente. El flap de dorsal ancho también ha sido utilizado para defectos amplios o recidivas^(167,168).

Un gran motivo de debate actualmente es si la cirugía debe realizarse o no por **medios mínimamente invasivos** (toracoscopia o laparoscopia). La cirugía clásica se realiza mediante una incisión subcostal izquierda que permite, en caso necesario, utilizar el flap muscular de músculo transverso. Para ello es recomendable que la laparotomía sea más baja de lo habitual y así se realiza ante la sospecha fundada de defecto diafragmático amplio. Las primeras series de publicaciones sobre el tratamiento toracoscópico de la CDH argumentaban un aumento en el índice de recidivas y problemas en el manejo anestésico por la labilidad de estos pacientes y la necesidad de introducir CO₂ en el tórax para permitir espacio suficiente para trabajar⁽¹⁶⁹⁾. Sin embargo, actualmente se han publicado por grupos expertos en mínima invasión varias series de pacientes con buenos resultados en términos de supervivencia y recidivas cuando la técnica toracoscópica se utiliza en pacientes seleccionados de buen pronóstico⁽¹⁷⁰⁻¹⁷³⁾. La mejora en el trato anestésico, las habilidades quirúrgicas y la optimización de instrumental y materiales hacen entrever que la mínima invasión va a ser protagonista en el tratamiento de la CDH en un futuro próximo, como ha ido sucediendo en todas las facetas de la cirugía pediátrica.

Pocos cirujanos actualmente dejan drenajes torácicos en este tipo de cirugías. Al ser, por definición, un intestino malrotado en algún momento se planteó el debate de realizar en el mismo acto quirúrgico un procedimiento de Ladd para corregir esta malrotación. No existe actualmente ninguna evidencia de que este proceder tenga

ningún beneficio sobre el pronóstico del paciente y aumenta el riesgo de adhesiones oclusivas.

En cuanto a **morbilidad**, la complicación más frecuente es la aparición de *quilotórax* que en ocasiones debe tratarse con octeótrido, drenaje torácico y alimentación parenteral con posterior introducción de triglicéridos de cadena media. El *neumotórax* por barotrauma o por lesión pulmonar quirúrgica puede ser grave aunque es poco frecuente. Sin embargo, la hipoplasia pulmonar del lado afecto impide que el pulmón ocupe inmediatamente el hemitórax operado dando la falsa impresión de neumotórax. La sustitución del aire extrapulmonar por efusión pleural es frecuente y normal hasta que el pulmón se desarrolle y ocupe la totalidad del espacio pleural. En ocasiones una simple toracocentesis es suficiente en casos en que el derrame pleural comprometa la expansión pulmonar.

Complicaciones posteriores, ya más alejadas del periodo perinatal, son la alta incidencia de *reflujo gastroesofágico* y trastornos del *neurodesarrollo* que requerirán de estudio y tratamiento personalizado según el grado.

4.7.

Estado actual del tema

La terapia fetal de la CDH actualmente se desenvuelve en un escenario de evolución. Los resultados de la oclusión traqueal estándar entre las 26 y 28 semanas de gestación para los casos más severos (O/E LHR < 25% + “liver up”) parecen ser mejores que los de pacientes con hipoplasia pulmonar moderada que no son tributarios actualmente de terapia fetal (O/E LHR entre 25-40% con el hígado en cualquier posición o un O/E LHR entre 35-45% con el “liver up”).

Este hecho ha condicionado la aparición del programa **TOTAL trial (Tracheal Occlusion To Accelerate Lung growth)** por parte de grupos europeos liderados por el equipo de Deprest en Bélgica. Este programa empezó en 2010 y todavía está en desarrollo. Consta de dos estudios controlados y randomizados y uno observacional distribuidos como se muestra en la siguiente tabla⁽¹⁵⁾:

Currently used criteria for TOTAL trial in left-sided CDH and the criteria used for right-sided CDH.			
	Left-sided CDH		Right-sided CDH
	RCT	RCT	Observational study
	Total trial “severe”	Total trial “moderate”	Severe
O/E LHR	<25%	25–45.9%	<45%
Liver	Liver “up”	If O/E LHR 25–34.9%: any position If O/E LHR 35–44.9%: liver “up”	Liver “up”
Timing FETO: between (weeks)	27 ⁺⁰ to 29 ⁺⁶ weeks	30 ⁺⁰ to 31 ⁺⁶ weeks	27 ⁺⁰ to 29 ⁺⁶ weeks

CDH, congenital diaphragmatic hernia; O/E LHR, observed/expected lung-to-head ratio; FETO, fetoscopic endoluminal tracheal occlusion.
Ranges mentioned including the limits mentioned.

TABLA 1: criterios de inclusión para el TOTAL trial según figura en la revisión del grupo de Deprest et al⁽¹⁵⁾

Como podemos observar, el estudio randomizado para la oclusión traqueal grave izquierda (TOTAL trial “severe”) aumenta en 1 semana el momento de la introducción del balón (27 – 30 semanas de gestación). Este cambio se realiza, según argumentan los autores, tras analizar su experiencia previa.

Asimismo, se abre paso al tratamiento fetal de una serie de pacientes que hasta el momento actual no eran candidatos a terapia fetal por tener un grado de hipoplasia pulmonar moderado, según figura en los criterios de la tabla 1. El principio es que una oclusión tardía podría mejorar el pronóstico funcional respiratorio en este grupo de pacientes.

Actualmente, pues, la situación en el tratamiento prenatal de la hernia diafragmática congénita continua siendo la oclusión traqueal sólo en los casos graves a las 26-29 semanas de gestación mientras se lleva a cabo el TOTAL trial. Según los resultados del mismo podrán ampliarse las indicaciones a los pacientes con grados menos graves de hipoplasia pulmonar.

Sin embargo, en Estados Unidos la oclusión con balón no se realiza todavía por una pobre aceptación de los resultados publicados hasta la fecha, argumentando que la supervivencia general de estos pacientes con tratamiento estándar conservador ronda el 90%. Además, la FDA ha admitido el plug de Goldbal 2 para uso en la CDH sólo recientemente.

En cuanto a los pacientes con grados de hipoplasia pulmonar extrema, con una supervivencia prácticamente nula (Figuras 1 y 2), no se han desarrollado programas adaptados.

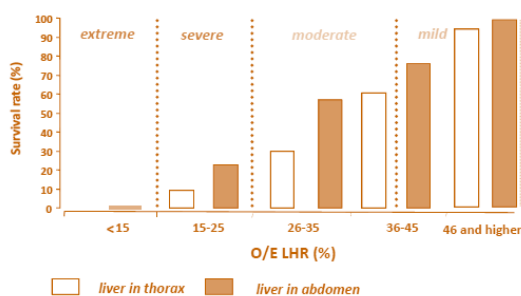


FIGURA 1: supervivencia en CDH izquierdas en función del grado de hipoplasia pulmonar (O/E LHR)⁽¹⁵⁾

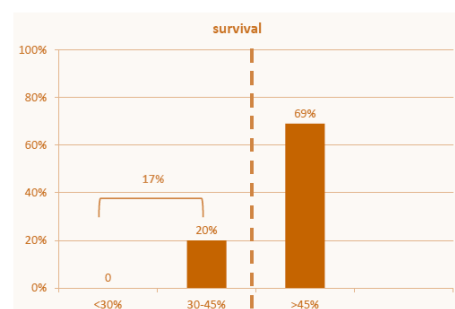


FIGURA 2: supervivencia en CDH derechas en función del grado de hipoplasia pulmonar (O/E LHR)⁽¹⁵⁾

Ruano et al⁽¹⁷⁴⁾ reportó la experiencia conjunta de los grupos de Sao Paulo y Vall d'Hebron de Barcelona en oclusión precoz en casos de hipoplasia pulmonar severa

(<17% O/E LHR). Comparó los resultados de la oclusión precoz (22-24 semanas de gestación) en 8 pacientes con el tratamiento estándar a las 26-30 semanas (n=9) y sin tratamiento (n=10). La supervivencia fue del 62.5% en el grupo de oclusión precoz, 11,1% en el estándar y 0% en el tratamiento postnatal ($p<0.01$).

A pesar de los buenos resultados reportados por estos grupos en una serie pequeña, la oclusión precoz no goza de una aceptación generalizada, motivo por el cual actualmente no se recomienda. Argumentos en contra son el posible mayor índice de rotura prematura de membranas, la dificultad técnica y estandarización del instrumental en fetos más pequeños, además de la pobre experiencia en investigación animal.

El pronóstico de los pacientes con hipoplasia pulmonar extrema continúa siendo muy pobre a pesar del tratamiento fetal actualmente propuesto.

4.8.

Investigación en hipoplasia pulmonar y modelos animales

Los primeros que vislumbraron la posibilidad de que una cirugía prenatal de cierre diafragmático pudiera mejorar el pronóstico de los pacientes con CDH fueron Areechon y Eid en 1963⁽¹⁷⁵⁾. Para ello hacía falta un modelo animal que reprodujera los efectos de la CDH previa a los modelos quirúrgicos de reparación. Estos modelos se han creado en una gran variedad de especies.

El **modelo en rata** es inducido por el teratógeno nitrofén. Sin embargo, el desarrollo pulmonar de la rata es diferente del de los humanos y las técnicas quirúrgicas son más difíciles de realizar por el tamaño de los fetos. De todos modos es un modelo muy utilizado ya que tiene una gestación relativamente corta y es económico. Posee una debilidad importante, y es que el nitrofén puede inducir hipoplasia pulmonar y disminución de las ramificaciones del árbol bronquial (“branching”) en ausencia de defecto diafragmático⁽¹⁷⁶⁾. Este modelo ha permitido la investigación sobre los efectos de la oclusión traqueal (TO) en el desarrollo de la hipoplasia pulmonar y su expresión génica.

En animales más grandes el defecto se crea de manera quirúrgica o introduciendo un balón en la cavidad torácica para replicar los efectos compresivos de la herniación visceral de la CDH. Los **conejos**, a diferencia de las ratas, poseen una fase pseudoglandular del desarrollo pulmonar similar a la de los humanos, y también poseen gestaciones cortas (31 días) y múltiples. El modelo de conejo con CDH y TO ha demostrado la reversión de la hipoplasia pulmonar e hipertensión pulmonar y ha dado mucha información sobre los efectos según el momento de la TO. La oclusión en fase pseudoglandular con un epitelio alveolar inmaduro tenía menos repercusión sobre el crecimiento pulmonar y la producción de surfactante que si se realizaba durante la fase canalicular, donde esta respuesta era más acusada⁽¹⁷⁷⁻¹⁸⁰⁾. Estos hallazgos fueron capitales para decidir el “timing” de la terapia FETO en humanos.

El modelo de **CDH en oveja** ha sido crucial en la investigación sobre CDH. La creación quirúrgica de la CDH hacia los 60-70 días de gestación (de una gestación de 145 días) reproduce fielmente los efectos de shunt cardíaco derecho-izquierdo, hipoxia, descenso del ratio pulmón – masa corporal e hipoplasia pulmonar⁽¹⁸¹⁾. Los cambios histológicos también eran similares a los encontrados postmortem en individuos humanos afectados de CDH⁽¹¹⁸⁾. Aparentemente, el primero en demostrar que la oclusión traqueal hacía crecer los pulmones fue Carmel et al⁽¹⁸²⁾ en 1965 y sus hallazgos fueron refrendados 30 años más tarde por múltiples grupos acuñando el término de PLUG (Plug the Lung Until it Grows)⁽¹²⁹⁾. La oclusión traqueal incrementaba la presión dentro de las vías aéreas, los pulmones crecían e incluso reducían las vísceras a la cavidad abdominal y mejoraban la hipoplasia pulmonar^(121,126-128,130-132,137).

El modelo de oveja ha demostrado que los pulmones tienen una participación importante en la composición del líquido amniótico y que la presión dentro de las vías aéreas se preserva de manera casi constante, mediante la apertura y cierre de la laringe. Normalmente hay una presión negativa (-0.2 a -0.7 mmHg) entre los pulmones y la caja torácica y una presión diferencial de 1.8 – 2 mmHg entre las vías aéreas y el líquido amniótico, que se preserva solo cuando la glotis está cerrada. De este modo, durante la apnea fetal hay una diferencia de presiones con el líquido amniótico de hasta unos 2.7 mmHg. Esta presión dentro del árbol bronquial evita el colapso de las vías respiratorias y permite el desarrollo pulmonar⁽¹⁸³⁾.

La TO en ovejas ha demostrado que induce la síntesis de DNA los 4 días posteriores a la oclusión y que los efectos de la oclusión dependen de 3 factores: momento en la gestación en la que se realiza, tiempo de oclusión y la retirada o no antenatal de la oclusión. Oclusiones precoces generan un mayor crecimiento pulmonar pero tienen más tendencia al hídrops y cambios en la estructura pulmonar que dificultan un correcto intercambio gaseoso mientras que oclusiones tardías aumentan la producción de líquido intrapulmonar estimulando la síntesis de DNA y sus productos derivados (factores de crecimiento)⁽¹⁸⁴⁾.

La no retirada de la oclusión, aún aumentando el espacio de intercambio gaseoso, resulta en una depleción de neumocitos tipo II, responsables de generar el surfactante, de diferenciarse en neumocitos tipo I si es necesario y de asumir funciones reparadoras ante alteraciones en la arquitectura alveolar. El hecho de retirar prenatalmente la oclusión favorece que se regeneren más neumocitos tipo II optimizando la capacidad de intercambio gaseoso en el periodo postnatal⁽¹⁸⁵⁾.

4.9.

Líneas de futuro

Las perspectivas futuras en la investigación y tratamiento de la CDH se pueden englobar en varias facetas:

- Ciencia básica:
 - Se están llevando a cabo estudios de función respiratoria en los pulmones con diversos grados de hipoplasia a nivel experimental con modelos animales. Nuestro grupo está desarrollando actualmente un proyecto de investigación en esta línea. Comprender bien el comportamiento hemodinámico y respiratorio de los pacientes con oclusiones traqueales en diferentes estadios del desarrollo pulmonar puede optimizar el “timing” en clínica humana.
 - El uso de factores de crecimiento (TGF- β y VEGF) y de células pluripotenciales en el momento de la oclusión traqueal es otra línea de investigación establecida en nuestro grupo y puede dar nuevos “insights” en el tratamiento en el futuro, aunque parece que tiene un largo recorrido.
 - Identificación de la expresión proteica del líquido intrapulmonar mediante proteómica. También nuestro grupo está explorando este terreno de cara a comprender qué otros factores de crecimiento se sintetizan y pueden ser relevantes para la maduración pulmonar.

- Ingeniería tisular: se está investigando en la creación de tejido diafragmático para sustituir a largo plazo el material protésico que en ocasiones es necesario para cerrar el defecto.

- Investigación clínica:

- Se necesitan estudios prospectivos y randomizados para verificar la utilidad de diversos fármacos, como por ejemplo el uso de esteroides para reclutar una mayor población de neumocitos tipo II o de drogas vasoactivas utilizadas ya en clínica como en fase experimental. La experimentación clínica en este campo está en constante evolución y paulatinamente puede dar sus frutos.
- La utilización de la ventilación líquida asistida con perfluorocarbono puede pasar de la faceta teórica y la investigación en ciencia básica a la práctica clínica en un futuro no muy lejano, como soporte en los pacientes con distrés respiratorio y soporte extracorpóreo (ECMO).
- Desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas para el tratamiento postnatal está mejorando el tratamiento quirúrgico de estos pacientes y, también, está en constante evolución.
- El desarrollo de la técnica quirúrgica prenatal también puede experimentar cambios a nivel de perfeccionamiento de la técnica con instrumental más pequeño y menos invasivo hasta la realización del procedimiento con control simplemente ecográfico.

A diferencia de otras malformaciones, la CDH constituye una de las líneas más investigadas y en constante evolución gracias al interés que suscita el tratamiento prenatal y la necesidad de comprender los efectos sobre la maduración pulmonar. Aún encontrándose en un momento dulce, la mortalidad y morbilidad de esta patología sigue siendo relativamente alta en nuestro medio y el deseo en mejorarlas es compartido por todos.

4.10.

Motivo de Tesis

Esta tesis nace ante la necesidad de dar una opción terapéutica prenatal eficaz a los pacientes con Hernia Diafragmática Congénita que presentan una hipoplasia pulmonar extrema (<17 % O/E LHR), ya que el tratamiento estándar de oclusión a las 26-29 semanas de gestación no mejora la supervivencia, que está cercana al 0%.

La idea de avanzar la oclusión traqueal a un estadio más precoz de la fase canalicular no tiene respuesta experimental en fetos con CDH, aunque sí hay un trabajo experimental en ovejas previo que evalúa los efectos de la oclusión traqueal entre los 75 y 90 días de gestación, pero en fetos sanos sin hipoplasia pulmonar⁽¹⁸⁶⁾.

Los buenos resultados clínicos obtenidos en una serie corta de pacientes compartidos entre el grupo de Ruano en Sao Paulo y el nuestro de Vall d'Hebron en 2013⁽¹⁷⁴⁾ nos impulsó a estudiar la manera en que crecen estos pulmones en relación con la oclusión estándar, en presencia o ausencia de CDH.

Los resultados del presente estudio pueden abrir las puertas a nuevas líneas de investigación de función respiratoria y de nuevas terapias celulares e, incluso, de una translación rápida a la clínica humana con cierta evidencia científica.

Hipótesis

5.

Hipótesis

Está demostrado que el pulmón hipoplásico secundario a la HDC crece tras la oclusión traqueal estándar tanto en humanos como en animales. Teniendo esto en cuenta, las hipótesis planteadas son las siguientes:

1. La oclusión traqueal fetal en un periodo precoz de la gestación también induce el crecimiento y maduración pulmonar fetal en el pulmón normal y en el hipoplásico secundario a HDC.
2. La oclusión traqueal fetal en un periodo precoz de la gestación ocasiona un crecimiento y maduración pulmonar fetal MAYOR en el pulmón normal y en el hipoplásico secundario a HDC a término que la oclusión traqueal estándar.
3. La oclusión traqueal fetal en un periodo precoz de la gestación revierte el grado de hipoplasia pulmonar en el pulmón hipoplásico (secundario a HDC) en MENOR TIEMPO que la oclusión traqueal estándar.

Consideramos un periodo precoz de la gestación (fase canalicular del desarrollo pulmonar) las 22 semanas de gestación en humanos que corresponden a los 85 días de la gestación ovina, mientras que la oclusión estándar en humanos se realiza a las 26 semanas de gestación que equivalen a los 105 días de la gestación en la oveja (fase sacular del desarrollo pulmonar).



Objetivos concretos

6.

Objetivos concretos

Para mejorar la supervivencia y calidad de vida de los casos más extremos de hipoplasia pulmonar ($LHR < 0.7$) necesitamos inducir un crecimiento y una maduración pulmonar fetal mayor de la conseguida actualmente con la oclusión traqueal estándar. Pensamos, como queda reflejado en las hipótesis expuestas, que una oclusión en una etapa más temprana, durante la fase canalicular del desarrollo pulmonar, puede conseguir este objetivo.

Para poder demostrar las hipótesis previamente mencionadas requerimos del estudio anatómico y morfológico de los sujetos de estudio, así como de la composición histológica de sus pulmones y vías aéreas.

Así pues, los objetivos concretos del proyecto de investigación son:

1. Determinar las alteraciones morfológicas, anatómicas, histológicas e inmunohistoquímicas que se producen por la retención del líquido intrapulmonar tras la oclusión traqueal estándar a los 105 días de gestación en la oveja en un pulmón sano.
2. Determinar los mismos cambios morfológicos, anatómicos, histológicos e inmunohistoquímicos que se producen por la retención del líquido intrapulmonar tras la oclusión traqueal precoz a los 85 días de la gestación ovina en un pulmón sano.
3. Determinar las alteraciones morfológicas, anatómicas, histológicas e inmunohistoquímicas que se producen por la retención del líquido

intrapulmonar tras la oclusión traqueal estándar a los 105 días de gestación en la oveja en un pulmón con HDC.

4. Determinar los mismos cambios morfológicos, anatómicos, histológicos e inmunohistoquímicos que se producen por la retención del líquido intrapulmonar tras la oclusión traqueal precoz a los 85 días de la gestación ovina en un pulmón con HDC.
5. Comparar los resultados entre estos grupos y sujetos control y determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Además de estos objetivos directos del presente estudio podemos dibujar otros derivados de la investigación que son:

6. Detección de proteínas clave y de celularidad que promueven el desarrollo y el crecimiento pulmonar fetal.
7. Aplicación directa (investigación translacional) a la práctica clínica en humanos si se establece una evidencia científica suficiente a favor de la terapia de oclusión precoz en el modelo ovino.
8. Abrir la puerta a otros proyectos de investigación de función respiratoria postnatal de estos sujetos de estudio con la administración de células progenitoras y factores de crecimiento inoculados directamente en la vía aérea en el momento de la oclusión traqueal.

9. Generar un modelo animal del síndrome de oclusión congénita de la vía aérea superior (CHAOS – congenital high airway occlusion syndrome) aprovechando los sujetos sometidos a oclusión precoz en pulmones sanos.



Materiales y Métodos

7.

Materiales y métodos

7.1. Tipo de proyecto:

Estudio experimental en feto ovino enmarcado dentro de la línea de investigación en Cirugía Fetal del grupo de Investigación *Bioengineering, Cell Therapy and Surgery in Congenital Malformations Laboratory* (denominación actual) del Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR).

En líneas generales, el estudio consistió en ocluir la tráquea de los sujetos de estudio de manera precoz y tardía, con y sin la creación de la HDC previamente, para evaluar los efectos anatómicos, morfológicos e histológicos de dicha oclusión y compararlos.

El proyecto se realizó entre agosto de 2010 y diciembre de 2016. La fase experimental en el modelo fetal ovino se llevó a cabo en las instalaciones del estabulario del VHIR donde se realizaron las cirugías, la estabulación de los animales, las cesáreas y la recogida de muestras.

Las muestras biológicas fueron procesadas y conservadas en el laboratorio del grupo de investigación *Bioengineering, Cell Therapy and Surgery in Congenital Malformations Laboratory* perteneciente al VHIR. El estudio y análisis de estas muestras se llevó a cabo en dicho laboratorio y en colaboración con el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitari Vall d'Hebron de Barcelona, todo albergado dentro de la misma Ciudad Sanitaria. El análisis estadístico lo supervisó y coordinó el Servicio de Bioestadística del VHIR.

Este proyecto fue becado por el Instituto de Salud Carlos III, dentro del Ministerio de Economía y Competitividad, con una beca FIS PI10/01724 y contó con la aprobación del Comité de Ética de Experimentación Animal (CEEA) del VHIR con número de registro **49/14 CEEA**.

7.2. Animales:

Se utilizaron ovejas gestantes fechadas, de raza ripollesa, que se alojaron en las instalaciones del estabulario del Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), en Barcelona. Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo de acuerdo con las normas institucionales, que cumplen con los requisitos establecidos por la legislación española (Real Decreto 53/2013) y europea (2010/63 / UE) y aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal del VHIR y el Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural del Govern de Catalunya (Generalitat de Catalunya, Barcelona, España).

Este modelo animal utilizado tuvo su justificación por los siguientes motivos:

- El feto ovino está establecido como el más adecuado para la experimentación en cirugía fetal como lo avalan múltiples publicaciones ^(120,121,126,126,128,131,132,181,185-188).
- Es una especie con una gestación lo suficientemente larga para poder realizar todas las fases de experimentación (es una gestación más próxima a la humana en comparación con otros modelos animales más alejados en la escala filogenética).
- El buen carácter de los animales facilita su manipulación.
- El grupo de investigación *Bioengineering, Cell Therapy and Surgery in Congenital Malformations Laboratory* tiene amplia experiencia en la experimentación en Cirugía Fetal en esta especie.

7.3. Diseño

7.3.1. Grupos experimentales

Para el desarrollo del presente estudio se utilizaron un total de 24 fetos distribuidos en 6 grupos (n=4 por grupo) de acuerdo con las siguientes actuaciones:

A	Normal (Sham)	n=4	<i>Ninguna Acción Quirúrgica</i>
B	Normal + 105 OT	n=4	<i>OT a los 105 DG (= 26 SG en humanos)</i>
C	Normal + 85 OT	n=4	<i>OT a los 85 DG (= 22 SG en humanos)</i>
D	HDC	n=4	<i>Creación de HDC a los 65 DG sin OT</i>
E	HDC + 105 OT	n=4	<i>Creación de HDC y OT a los 105 DG</i>
F	HDC + 85 OT	n=4	<i>Creación de HDC y OT a los 85 DG</i>

OT: oclusión traqueal; DG: días de gestación; SG: semanas de gestación; HDC: hernia diafragmática congénita

La [Figura 1](#) muestra de manera gráfica en qué momento del desarrollo pulmonar fetal se realizaron las cirugías.

Para el grupo A o Sham se reservaron los fetos no operados de las gestaciones dobles, realizándose el acto quirúrgico siempre en el feto izquierdo y reservando para el grupo A el feto derecho. Es Sham en cuanto son fetos sometidos a anestesia y laparotomía materna, pero a los que no se les generó defecto diafragmático.

No se aleatorizaron las inclusiones en los grupos. Estas fueron arbitrarias en función de la disponibilidad de quirófanos y de cirujanos en las fechas adecuadas y se fueron adaptando para completar los grupos dependiendo de cómo se iban distribuyendo las pérdidas (abortos), que fueron lógicamente más frecuentes en los grupos en los que se requerían dos cirugías fetales.

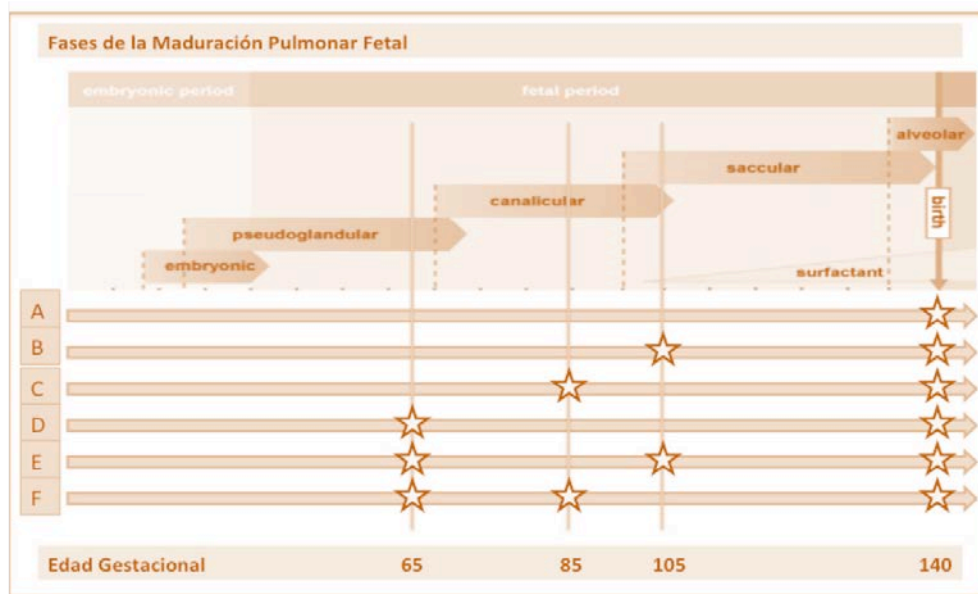


Figura 1: Diagrama de los actos quirúrgicos realizados sobre los sujetos de estudio: creación de HDC a los 65 días de gestación; Oclusión traqueal a los 85 y 105 días de gestación; cesárea electiva a los 140 días de gestación.

No se tuvo en cuenta una curva de aprendizaje pues el grupo de investigación tenía experiencia quirúrgica suficiente en el modelo de oveja como para considerarla superada con los proyectos realizados previamente^(189–192,187).

7.3.2. Fases del proyecto

- I. FASE I: Creación quirúrgica del defecto diafragmático fetal E65
- II. FASE II: Realización de la oclusión traqueal E85/E105
- III. FASE III: Cesárea de los sujetos de estudio (E130-E140) y recogida de las muestras
 - Pulmón: formaldehído (para posterior inclusión en parafina) y muestras congeladas
 - Líquido intrapulmonar: congelación
 - Líquido amniótico: congelación
 - Tráquea: formaldehído (para posterior inclusión en parafina)
- IV. FASE IV: Procesado y estudio de las muestras

- Estudio histológico e inmunohistoquímico
- Estudio electroforético y proteómico
- Estudio metabólico

V. FASE V: Análisis de los resultados

VI. FASE VI: Redacción y defensa del proyecto de tesis

Las tres primeras fases coexistieron en el tiempo y estaban sometidas al ritmo de disponibilidad de ovejas gestantes, que fue muy aleatorio. Estas fases, que corresponden a la proceso experimental propiamente dicho, se ejecutaron entre agosto de 2010 a Febrero de 2014.

La FASE IV se realizó a lo largo del año 2014 y la FASE V, durante el 2015 y primer semestre de 2016.

La redacción del documento se completó a lo largo del primer semestre de 2017.

7.3.3. Procedimiento experimental

FASE I - CREACIÓN QUIRÚRGICA DEL DEFECTO DIAFRAGMÁTICO FETAL (HDC) E65

- a. Se realiza una ecografía de la oveja gestante y se comprueba la edad gestacional del feto ovino entre 68 y 72 días de gestación, que correspondería a las 19-20 semanas de gestación en humanos.

- b. Anestesia de la oveja gestante. El animal se coloca en decúbito-lateral izquierdo a 15º para evitar la compresión de la vena cava. Se realiza la sedación por vía intramuscular, se canaliza un acceso venoso (vena safena) y se induce un nivel anestésico adecuado mediante midazolam + buprenorfina 0.5 mg/Kg endovenosos para proseguir con propofol 10-15 mg/Kg endovenosos. El

- mantenimiento se realiza mediante anestesia inhalatoria (Isoflurane 1.5-2.5 mg/Kg).
- c. Monitorización materna. Se monitorizan el ECG, la presión arterial no invasiva, la frecuencia cardiaca y la temperatura corporal (normal alrededor de 39°C), mediante monitores Horizon, capnógrafo y pulsi-oxímetro Ohmeda.
 - d. Ventilación materna. Conseguido el nivel anestésico, se procede a la intubación endotraqueal que se conecta a un respirador Boyle ciclador modificado a volumétrico. Se controló la presión ventilatoria, volúmenes y FiO₂ del aire inspirado.
 - e. Cirugía de la oveja gestante de los grupos HDC (D, E y F). Laparotomía media materna infraumbilical. Verificación del número de fetos y exteriorización del hemiútero susceptible de cirugía ([Figura 2](#)) procurando que el aporte vascular de las arterias uterinas no se vea condicionado por una insuficiente apertura de la pared abdominal. Histerotomía y fijación de las membranas amnióticas a la pared uterina mediante instrumentos tipo Babcock para impedir un desprendimiento prematuro de las mismas, toma de muestra de líquido amniótico y exposición del feto de cordero, concretamente de la región torácica izquierda. Toracotomía fetal baja (8-9 espacio intercostal) y ruptura del diafragma izquierdo y de su hoja peritoneal subyacente. Herniación del estómago y algunas asas de intestino delgado con pinzas atraumáticas a la cavidad torácica ([Figura 3](#)). Cierre de las costillas con puntos sueltos de PDS 6/0 y de la piel y músculo fetal mediante sutura con PDS 5/0. Cierre de útero con vicryl de 3/0 incluyendo las membranas amnióticas para evitar su desprendimiento, previa reintroducción del líquido amniótico sobrante y 100 mg de cefazolina. Cierre de la laparotomía de la oveja madre en tres planos; aponeurosis con vicryl del 1, Subcutáneo y piel con vicryl del 0. La sutura

subcutánea se fija a planos aponeurótico-musculares para evitar los seromas, que son frecuentes por gravedad en este tipo de heridas en este modelo animal. La sutura cutánea se hace intradérmica para evitar que los animales la dañen con los dientes.

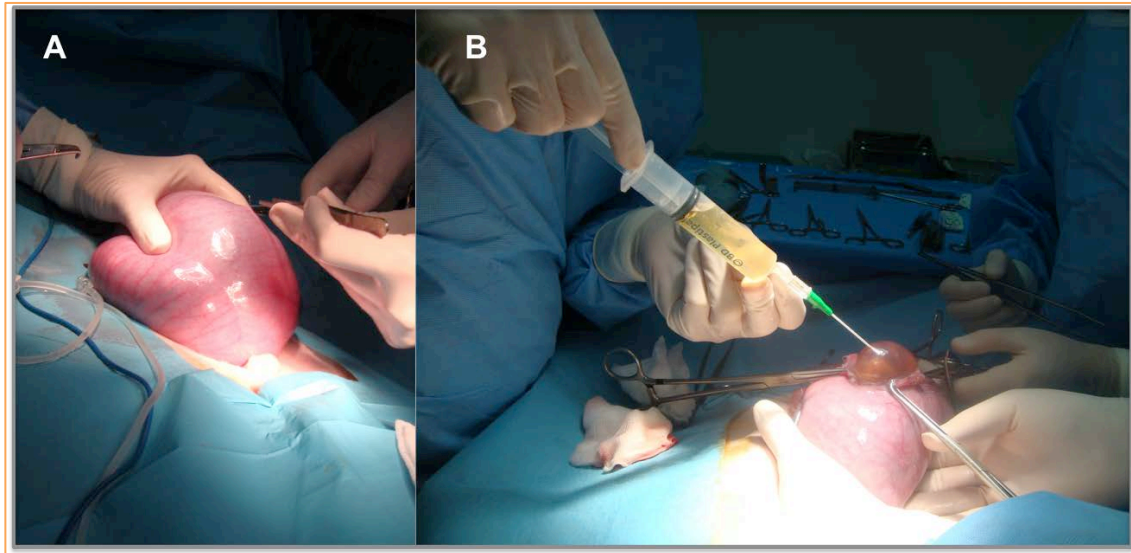


Figura 2: A: exteriorización uterina. B: Extracción de líquido amniótico para estudio.

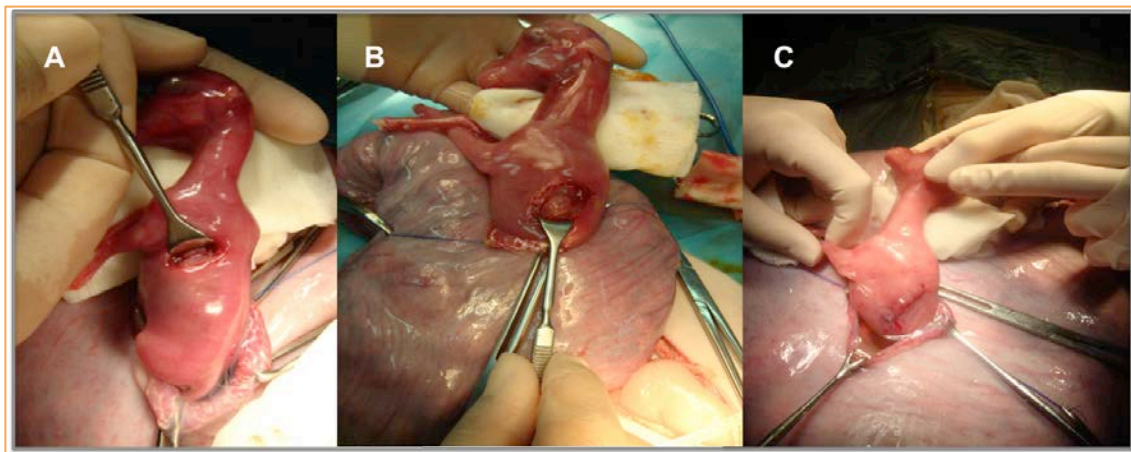


Figura 3: Creación de la Hernia Diafragmática Congénita a los 65 días de gestación. A: toracotomía derecha; B: perforación diafragmática y herniación de vísceras abdominales a cavidad torácica; C: Cierre del defecto torácico mediante PDS 6/0.

FASE 2.- REALIZACION DE LA OCLUSION TRAQUEAL (E85 / E105).

- a. Ecografía de la oveja gestante. Comprobación de la edad gestacional del feto ovino entre 83 y 87 días de gestación, que correspondería a las 22-23 semanas de gestación en humanos (Grupos C y F) y se delimitaría en plena fase canalicular del desarrollo pulmonar, y entre 103-107 días de gestación, que corresponde a las 26 semanas de gestación humanas (Grupos B y E), en la fase sacular (inicios) del desarrollo pulmonar fetal.
- b. Anestesia de la oveja gestante (ver Fase I sección b).
- c. Monitorización materna (ver Fase I sección c).
- d. Ventilación materna (ver Fase I sección d).
- e. Cirugía de la oveja gestante de los grupos OT (B, C, E, y F). Laparotomía media iterativa materna. Histerotomía (siguiendo los principios quirúrgicos explicados previamente), extracción de muestras de líquido amniótico y exposición de la cabeza y cuello del feto. Disección cervical alta de la tráquea fetal ocluyéndola con una ligadura de seda del 0 proximal ([Figura 4](#) y [Figura 5](#)). Al inicio del experimento se ocluían mediante clips quirúrgicos de 5 mm pero abandonamos esta práctica a favor de las ligaduras de seda al verificar en dos fetos una lesión traqueal con los clips que motivó desestimarlos para el proyecto ya que no pudimos garantizar una correcta oclusión traqueal. Posteriormente se procedía al cierre de la cervicotomía fetal con prolene 5/0. Cierre del útero con vicryl 3/0

previa reintroducción de líquido amniótico sobrante y 100 mg d cefazolina. Cierre de la laparotomía materna con vicryl del 1 para aponeurosis y vicryl del 0 para subcutáneo y piel.

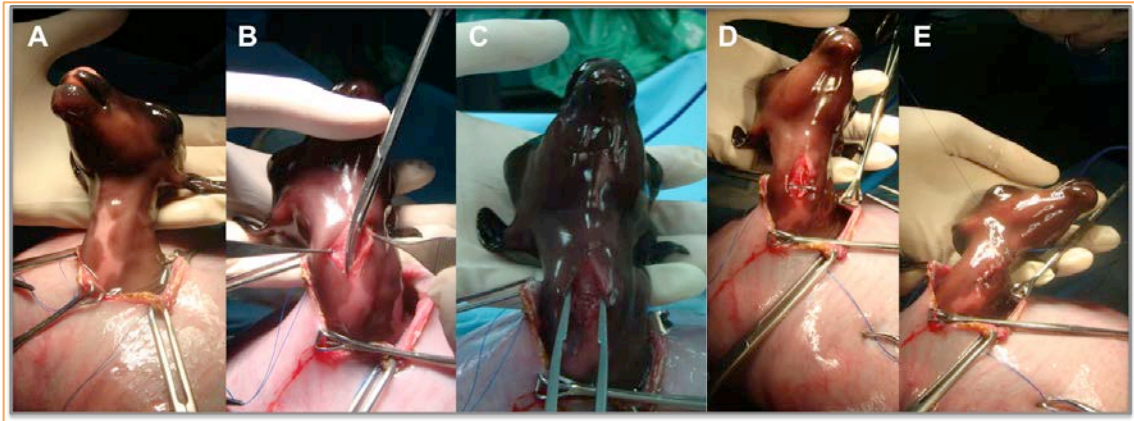


Figura 4: Oclusión traqueal a los 85 días de gestación. A: aspecto del cuello del feto; B: incisión cervical; C: disección traqueal; D: ligadura traqueal (al inicio mediante clips quirúrgicos y posteriormente con ligaduras de seda); E: Cierre de la cervicotomía con PDS 6/0.

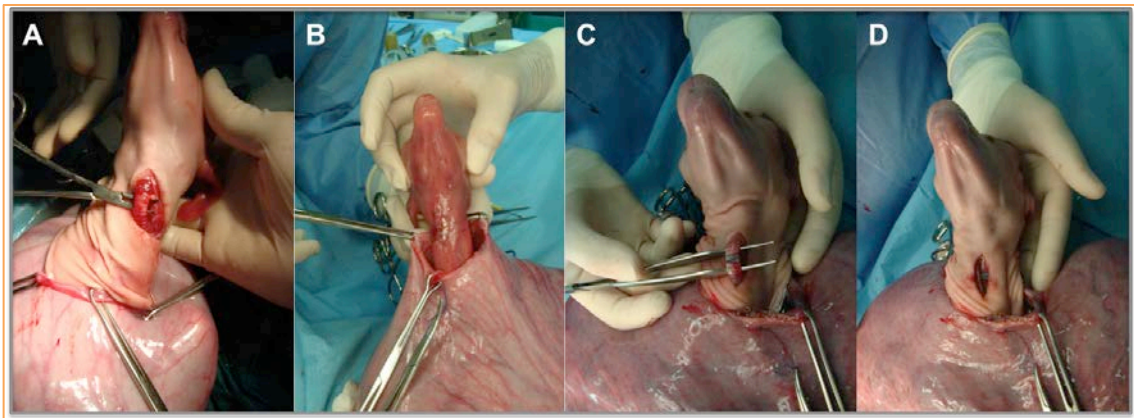


Figura 5: Oclusión traqueal a los 105 días de gestación en dos sujetos de estudio. A y B sujeto 1 y C y D sujeto 2.

FASE 3.- CESÁREA DE TODOS LOS SUJETOS (E140) Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Entre los 130 y 145 (a término) días de gestación se procedió a la cesárea de las ovejas gestantes en para la recogida de las muestras en cada uno de los grupos.

- a. Anestesia de la oveja gestante (ver Fase I punto b).

- b. Monitorización materna (ver Fase I sección c).
- c. Ventilación materna (ver Fase I sección d).
- d. Cesárea: Incisión de laparotomía media iterativa. Exteriorización uterina. Histerotomía, extracción del feto y extracción de líquido amniótico (Figura 6). Eutanasia fetal mediante sobredosis de pentobarbital 200 mg/kg por vía intravenosa (vena umbilical). Peso de los animales en balanza de precisión Pionner PA114C - OHAUS. Disección traqueal y extracción de líquido intrapulmonar mediante punción directa de la tráquea para estudio electroforético, metabolómico y proteómico (Figura 7). Esternotomía media y laparotomía media para disección y exéresis de la tráquea-bronquios y de los pulmones, corazón e hígado del feto según el protocolo de recogida de muestras (Figura 8).

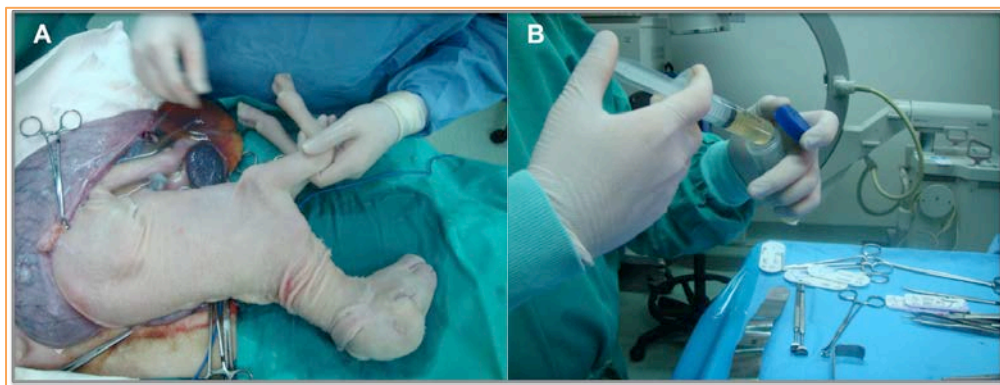


Figura 6: Cesárea del feto y extracción del líquido amniótico.

- e. Eutanasia de los animales gestantes mediante sobredosis de pentobarbital a 200 mg/Kg endovenosos según el artículo “Recomendaciones para la eutanasia

de los animales de experimentación: parte 2. (1997) *Laboratory Animals* **31(1):1-32** .

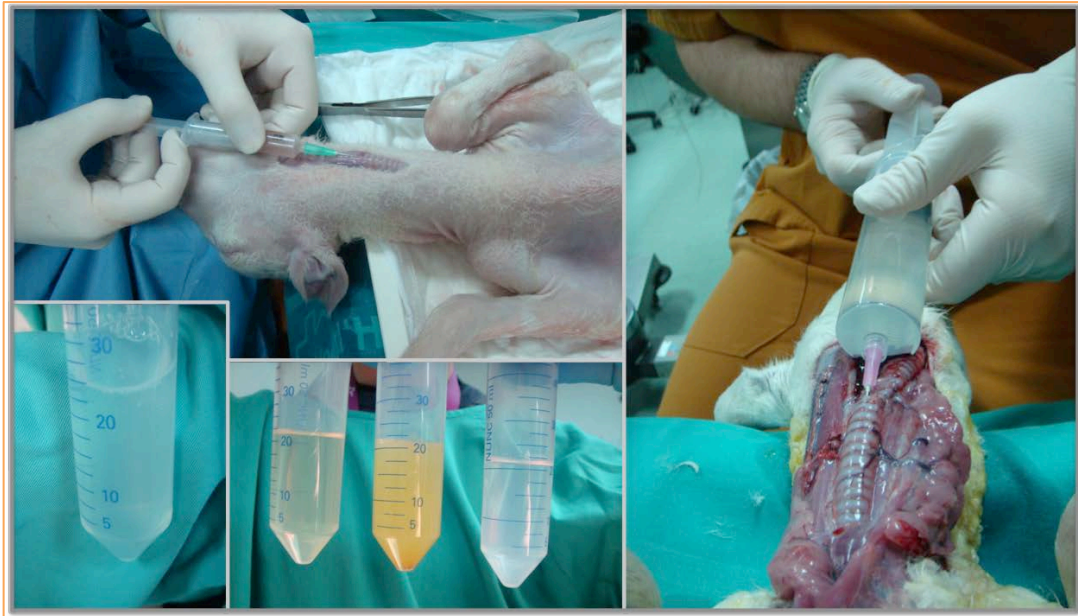


Figura 7: Extracción del líquido intrapulmonar.

CONSIDERACIONES VETERINARIAS

Las ovejas gestantes se estabulaban en grupo ya que son animales gregarios ([Figura 9](#)) al menos una semana antes del acto quirúrgico para la adaptación al medio. Eran analgesiadas con carprofen 2mg/Kg/día subcutáneo en el preoperatorio, terapia que se continuaba en el intra y postoperatorio durante 3 días.

El personal veterinario del estabulario visitaron diariamente a los sujetos de estudio en el postoperatorio controlando los siguientes ítems:

- Aspecto general: bueno-postración.
- Temperatura rectal.
- Estado de las suturas: posible infección. Se limpiaron y desinfectaron 1 vez al día.
- Hemorragias: si-no (posibilidad de abortos).
- Postura: normal-anormal.
- Tiempo de perfusión gingival: <1-2", 1-2", >1-2".

- Color de las mucosas ocular, bucal: rosadas, blanquecinas o violáceas.
- Frecuencia y tipo de respiración: taquipnea-bradipnea y normal-anormal o forzada.
- Frecuencia y valoración del latido cardiaco: taquicardia-bradicardia.
- Comportamiento no provocado: rumiación, movilidad, nivel de alerta.
- Comportamiento a estímulos externos.
- Control de posibles abortos (Figura 10).

Feto ovino 140 días

Tomar muestra de Líquido amniótico en la cesárea....centrifugar y congelar.

Peso total del feto
Peso corazón
Peso pulmones en fresco.

1/ Disección TRAQUEA (ver clip)
2/ Punción de la traquea dilatada (aguja IM)
3/ Extracción de todo el líquido intrapulmonar (LIP)

Recogida en bote de 40 cc
Centrifugar
Rellenar 9 tubitos (Viales Eppendorff) con el líquido más superficial
El resto del líquido se deja en el tubo grande.
CONGELAR sumergiendo los tubos en nitrógeno líquido (en cajita de forexpan)
Conservar en congelación en NEVERA -80 °C

4/ Diseñar y extraer el CORAZÓN.
5/ Diseñar y extraer ambos PULMONES en bloque.
6/ Tomar muestras de PULMON IZDO en trocitos de unos 5 mm Ø para colocarlos dentro de 9 tubitos Eppendorf.
Proceso de CONGELACION y Nevera -80 °C.
7/ Canalizar la traquea con un cateter (ej: doble vía) sellado con bolsa de tabaco de seda.
INFUNDIR bote de suero vacío relleno de FORMOL a una altura de unos 50 cm colgado de un palo de suero, para EXPANDIR los alveolos.
8/ Cuando los pulmones están pletóricos de formol, Tomamos varias muestras de unos 10 mm Ø (en dados) en botes de biopsia con formol.
9/ Otro bote de biopsia con formol para un segmento de TRAQUEA dilatada (3 cm)
10 / Otro bote de biopsia con formol para el CORAZON y un buen trozo de HIGADO (5cm Ø del lóbulo izquierdo hepático)

TODO BIEN ROTULADO:
Nº Oveja: Fecha:
LateTO sin HDC Producto: LIP

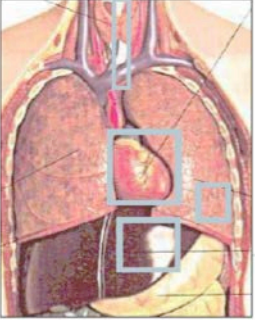
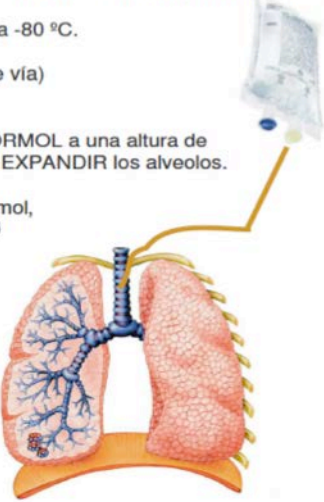



Figura 8: Protocolo de recogida de las muestras y de su procesamiento.

Ante las alteraciones de los parámetros mencionados se aplicaron las medidas correctoras siguientes:

- Ante posturas anormales (espalda curvada o inmovilidad), taquipnea y taquicardia, se intensificó la terapia analgésica.
- Si la temperatura rectal sobrepasó la normalidad, 39°C, se inició un tratamiento antibiótico.
- Ante la evidencia de un aborto o signos sugestivos del mismo se procedió a la verificación del mismo mediante controles diarios de peso y ecografía y se procedió al sacrificio de los animales afectados según el protocolo de eutanasia (Fase III sección e).



Figura 9: Estabulación en grupo de las ovejas.



Figura 10: Evidencia de aborto.

7.3.4. Procesado y estudio de las muestras

El procesamiento y conservación de las muestras se realizó inmediatamente después de la eutanasia de los animales y de la obtención de las mismas para impedir su deterioro.

Las muestras del líquido intrapulmonar y líquido amniótico se separaron en dos partes y se congelaron a -80°C como líquido nativo (congelado directamente tras su obtención) y centrifugado (las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 1500

rpm tras lo cual se recogió el sobrenadante y descartando el pellet con el fin de eliminar la posible población celular presente suspendida en el líquido).

Tras la esternotomía y la laparotomía, previa comprobación de la anatomía torácica y realización de fotos ([Figura 11](#)), se disecaron las vísceras torácicas para extraer en bloque los pulmones y el corazón procurando no dañar el tejido pulmonar. Hecho esto, se separó el corazón de los pulmones respetando la integridad de las vías aéreas. Tras la laparotomía se disecó y se extrajo en bloque la totalidad del hígado.

El tejido pulmonar se procesó de dos formas diferentes. Por un lado se seccionaron 9 fragmentos del lóbulo inferior derecho e izquierdo destinados para ser congelados directamente por inmersión en nitrógeno líquido y conservados en congelación a -80°C , y por otro, tras la infusión por tráquea por gravedad de formaldehído 3,7-4,0% colgado a 50 cm de la pieza para permitir la correcta expansión de los alveolos, seccionamos unos bloques transversales de lóbulo pulmonar izquierdo de 0,5 cm de ancho, que contuvieran el borde libre del lóbulo con su pleura, para conservarlos 48 horas en formaldehído 3,7-4,0% para su posterior inclusión en parafina ([Figura 12](#)).

La tráquea también se seccionó transversalmente y se conservó en formaldehído 3,7-4,0% 48h antes de incluirse en bloques de parafina. Previamente a la formalización, se separaron 9 fragmentos de la tráquea en fresco para ser congelados directamente por inmersión en nitrógeno líquido y conservados en congelación a -80°C .

El corazón se procesó igual que el tejido pulmonar: se seleccionaron 9 pequeños fragmentos de tejido para ser congelados directamente por inmersión en nitrógeno líquido y conservados en tubos Eppendorff en congelación a -80°C y, por otra parte, el resto de corazón a nivel ventricular se incluyó en parafina previa conservación en formaldehído 3,7-4,0% durante 48h (cortes transversales de 0,5 cm de ancho).

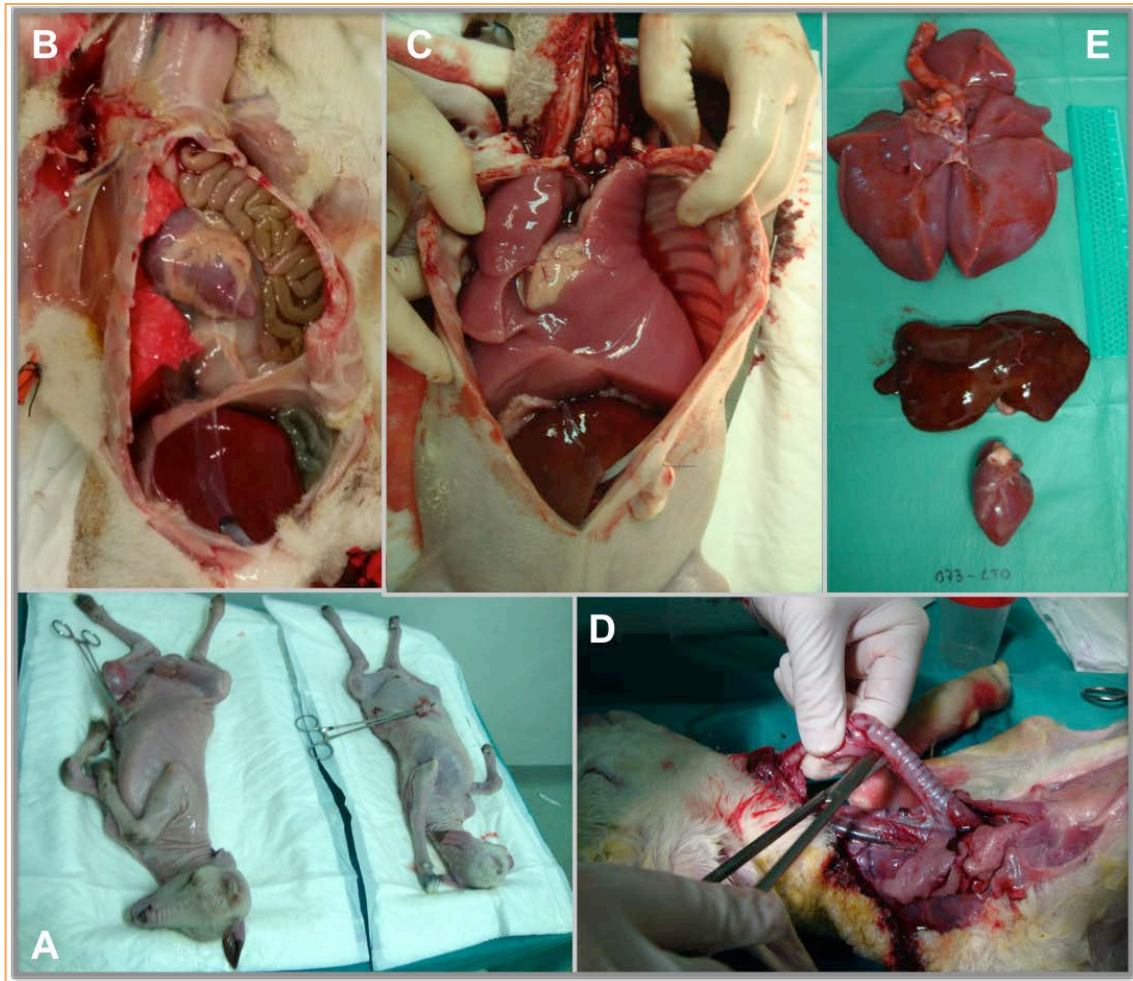


Figura 11: A: fetos de gestación gemelar; B: cesárea de feto intervenido de HDC a los 65 días de gestación, donde se observan las vísceras herniadas a tórax; C: cesárea de feto operado de oclusión traqueal a los 105 días de gestación; D: disección traqueal completa; E: Extracción de los pulmones, hígado y corazón de un sujeto de estudio.

El mismo procedimiento se realizó con el hígado que también se conservó en congelación a -80°C mediante 9 pequeños cortes de tejido conservados en tubos Eppendorff y en inclusión en parafina previa conservación en formaldehído 3,7-4,0% durante 48h (cortes transversales de 0,5 cm de ancho) del lóbulo hepático derecho (Figura 13).

La relación de las muestras obtenidas fue la siguiente:

- Líquido amniótico de los 65/85/140 EG
- Líquido intrapulmonar de los fetos a 140 EG de todos los grupos de estudio

- Tejido pulmonar en fresco (congelado) y en parafina de todos los grupos.
- Tejido cardíaco en fresco (congelado) y en parafina de todos los grupos.
- Tejido hepático en fresco (congelado) y en parafina de todos los grupos.
- Tejido traqueal en fresco (congelado) y en parafina de todos los grupos.

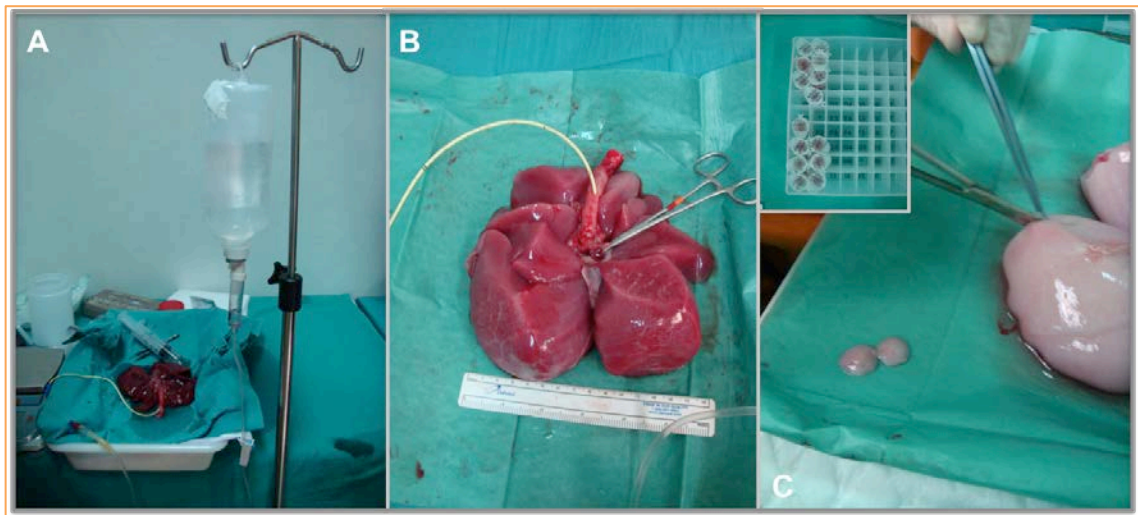


Figura 12: Procesado de la muestra pulmonar. A y B: formulación del tejido a 50 cm de altura; C: Corte de tejido en fresco y almacenamiento en tubos Eppendorff.

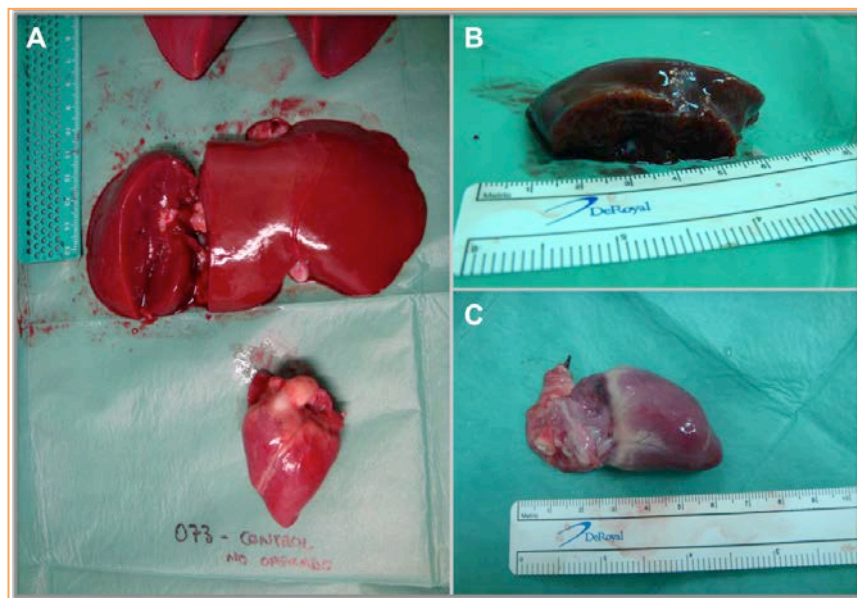


Figura 13: Procesado de la muestra cardíaca y hepática.

Las muestras seleccionadas para estudio en el presente trabajo de tesis fueron únicamente los bloques parafinados de todos los pulmones y tráqueas de los fetos de

los diferentes grupos. Los bloques parafinados de los lóbulos inferiores izquierdos se seccionaron en cortes de 4-5 μm para su estudio histológico e inmunohistoquímico.

Los estudios histológicos e inmunohistoquímicos que se realizaron en las muestras obtenidas fueron los siguientes:

- **Hematoxilina – Eosina:** La hematoxilina tiñe estructuras ácidas al ser básica en tonos azul púrpura mientras que la eosina tiñe componentes básicos en tonos de color rosa gracias a su naturaleza ácida. Permite el estudio de la celularidad y su distribución. Imprescindible para determinar el grado de hipoplasia pulmonar.

- **Tricrómico de Masson:** Nos permite visualizar claramente las fibras de colágeno tipo I que forman fibras gruesas o haces y también evidencia, en menor intensidad, las fibras reticulares. Los tres colorantes empleados nos permiten diferenciar el núcleo celular, el citoplasma y las fibras de colágeno. Nos ayudará a entender procesos de fibrosis.

- **Tinción de fibras elásticas:** Nos ayuda a visualizar la elastina y la fibrina, y nos dará información sobre la elasticidad del parénquima y de las vías aéreas estudiadas. Utilizamos la técnica de Weigert.

- **Inmunohistoquímica:**
 - **CK-cocktail (anticuerpo anti-Citoqueratina):** Este anticuerpo tiñe citoqueratinas presentes en tejidos normales y anormales, con alta sensibilidad y especificidad para reconocer células epiteliales.

- **Actina de músculo liso:** la actina de músculo liso se encuentra en las paredes vasculares, en la musculatura propia y en el estroma de varios tejidos. Es un método útil en la traducción histológica de una posible hipertensión pulmonar al evidenciar el grosor muscular de la barrera alvéolo-capilar.
- **CD34, CD68:** no fueron aptos para tejido ovino.

Las **variables del estudio** fueron las siguientes:

- Parámetros anatómicos:

- Peso de la oveja madre: como en los humanos, hay cierta variabilidad entre sujetos.
- Edad gestacional en el momento de la cesárea, comprendida entre 130 – 145 EG.
- Peso total del feto en gramos (PF): conteniendo el líquido intrapulmonar.
- Peso seco del feto en gramos (PFS): descontando el líquido intrapulmonar.
- Cantidad de líquido intrapulmonar (LIP) extraído en ml.
- Peso de los pulmones secos (PP) (sin el líquido intrapulmonar) en gramos.
- Peso pulmonar total (PPT): peso de los pulmones con el LIP. Tiene en cuenta que el líquido intrapulmonar ocupa el futuro espacio aéreo. Es equivalente al peso y volumen que adquiere en su procesado posterior al introducir formaldehído por la tráquea.

- Peso de los corazones en gramos (PC).
- Peso de los hígados en gramos (PH).
- Ratio Peso del pulmón/Peso del feto seco (PP/PFS): Relaciona el peso del pulmón sin el líquido intrapulmonar con el peso del feto sin el líquido intrapulmonar y elimina así la variabilidad natural entre los pesos de los fetos en el momento de la cesárea. Es una estimación del **volumen intersticial pulmonar total**.
- Ratio Peso del Pulmón Total/Peso del feto (PPT/PF): Cumple la misma función que el ratio anterior pero teniendo en cuenta las diferencias en la cantidad de líquido intrapulmonar entre grupos, que está relacionada directamente con el tiempo de oclusión y con repercusiones anatómicas y hemodinámicas. Es una estimación del **volumen pulmonar total**.
- Ratio Peso del corazón/Peso del feto (PC/PF): relación entre crecimiento cardíaco y el fetal.
- Ratio Peso del Hígado/Peso del feto (PH/PF): relación entre el crecimiento hepático y el fetal.
- Ratio Peso del Corazón/Peso del Pulmón (PC/PP): relación entre el crecimiento cardíaco y pulmonar.
- Ratio Peso de Hígado/Peso del Pulmón (PH/PP): relación entre el crecimiento hepático y el pulmonar.
- Ratio entre el Líquido Intrapulmonar/Peso del Feto Seco (LIP/PFS): nos muestra la relación entre la cantidad de líquido intrapulmonar generado y su impacto en el peso total del feto. **Es una estimación del volumen espacio aéreo pulmonar total**.

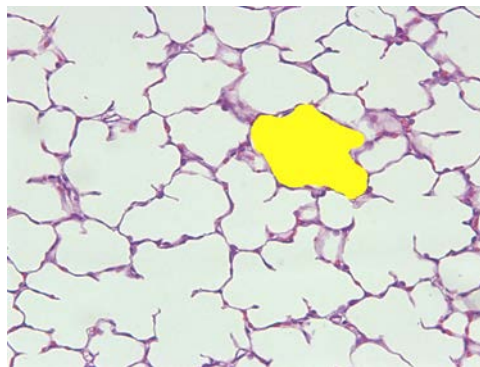
- Morfología macroscópica: descripción de la fisiopatología apreciada macroscópicamente:
 - Presencia de defecto diafragmático y verificación de la migración visceral a tórax en los casos sometidos a la creación de una HDC.
 - Presencia de hídrops fetal, derrame pleural o ascitis.
 - Descripción de cualquier evento no esperado.
 - Verificación de la integridad de la ligadura traqueal.

- Morfología microscópica: cada sección pulmonar se examinó mediante microscopía óptica centrandó la atención en la estructura tisular y la inmadurez. Las estructuras tributarias de estudio morfométrico fueron identificadas para su posterior proceso para el análisis. Valoración subjetiva de las muestras por nuestra anatomopatóloga referente en hipoplasia pulmonar, Dra. Alexandra Navarro. Para este estudio se utilizaron la totalidad de muestras histológicas e inmunohistoquímicas.

- Morfometría: en todos los casos se seleccionó el lóbulo inferior izquierdo, lado de la hernia diafragmática congénita, y las fotografías histológicas se obtuvieron de segmentos periféricos (cerca de la pleura) y en zonas bien repleccionadas con el formol, para estimar el máximo espacio aéreo posible. Para asegurar que los pulmones se analizaran de una manera realmente representativa de los parámetros de estudio, se realizó un muestreo aleatorizado multi-estadío para la selección de las áreas de estudio a aumentos x10 y x20. Se obtuvieron 5 imágenes histológicas para los campos x10 y x20 de cada uno de los lóbulos estudiados (1 por oveja, es decir, 24 sujetos). En total 10 fotografías por sujeto de estudio completando un número de 240. El programa informático utilizado

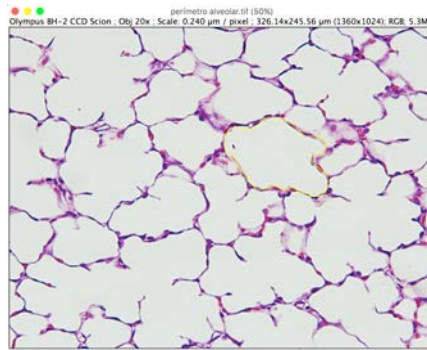
para el estudio fue el **ImageJ1.50i**, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA. Estudiamos la siguientes variables:

- Superficie alveolar por campo: corresponde al espacio aéreo. Se calculó mediante la suma de todas las áreas en μm^2 delimitadas por el intersticio. Esta variable se obtuvo pues de la suma de todas las áreas “blancas” y se relaciona con el área total del campo estudiado. Previamente se eliminaron del campo aquellas regiones que no contenían parénquima pulmonar, como podían ser pleura y espacio extrapulmonar o paquetes vasculares y bronquiales evidentes de gran tamaño. La relación se expresó **en un porcentaje** que estimara qué proporción de tejido es espacio aéreo en cada campo.



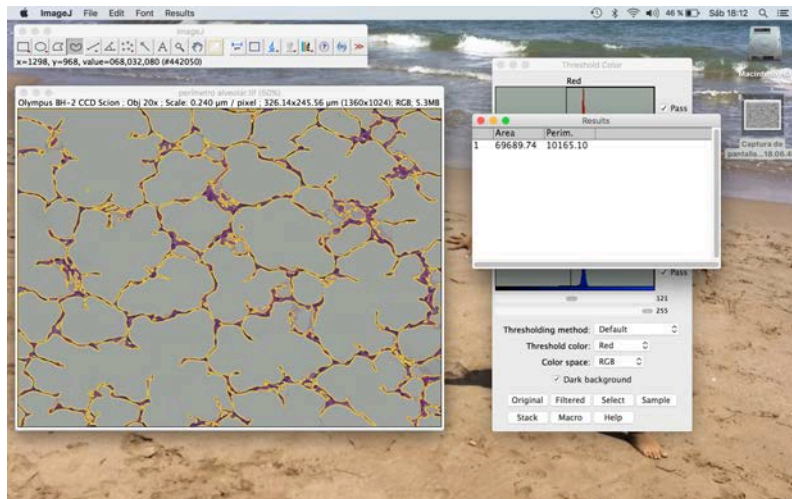
Muestra de una superficie alveolar.

- Superficie intersticial: Corresponde al tejido existente que no es espacio aéreo. Su cálculo equivalía al porcentaje complementario al espacio aéreo hasta completar el 100% del área estudiada por cada campo.
- Superficie de intercambio gaseoso: correspondió al perímetro del espacio aéreo que equivaldría a la superficie por donde se establece el intercambio gaseoso. Fue la suma de los perímetros alveolares.



Perímetro alveolar o superficie de intercambio gaseoso alveolar

El software informático presenta una función que permite el **estudio automático de estas tres variables** en toda la muestra histológica. No hay sesgo de cálculo por factor humano.



Cálculo de la superficie alveolar total del campo en micras (descrito como área en la imagen) y del perímetro alveolar de todo el campo o superficie de intercambio gaseoso acumulada (descrito como perímetro). El área total del campo en este caso ejemplo es de 326,14x245,56 µm. Con estos tres valores podemos deducir el porcentaje de superficie alveolar, superficie intersticial y superficie de intercambio gaseoso:

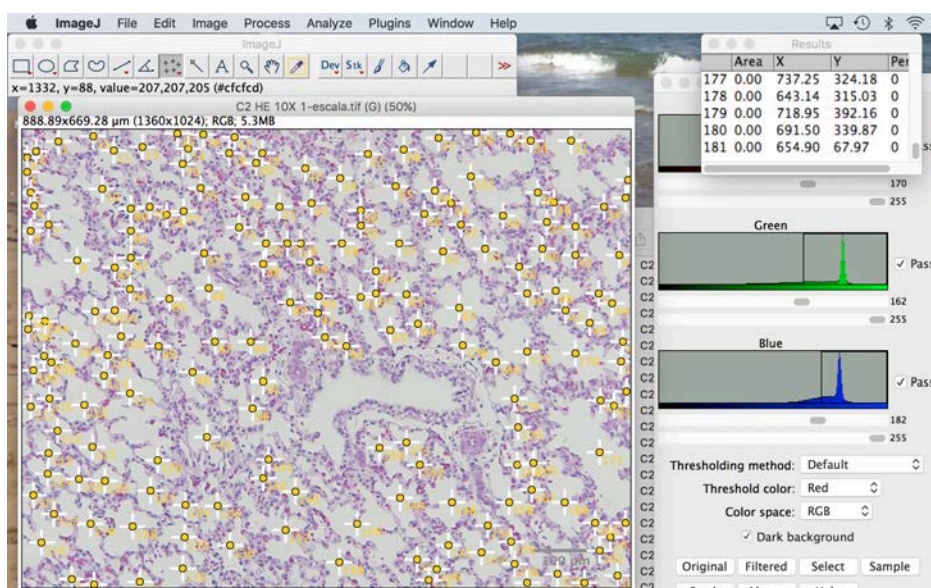
$$\text{Superficie alveolar(\%)} = (\text{Área alveolar} \times 100) / \text{Área total del campo}$$

$$\text{Superficie intersticial(\%)} = 100 - \text{superficie alveolar}$$

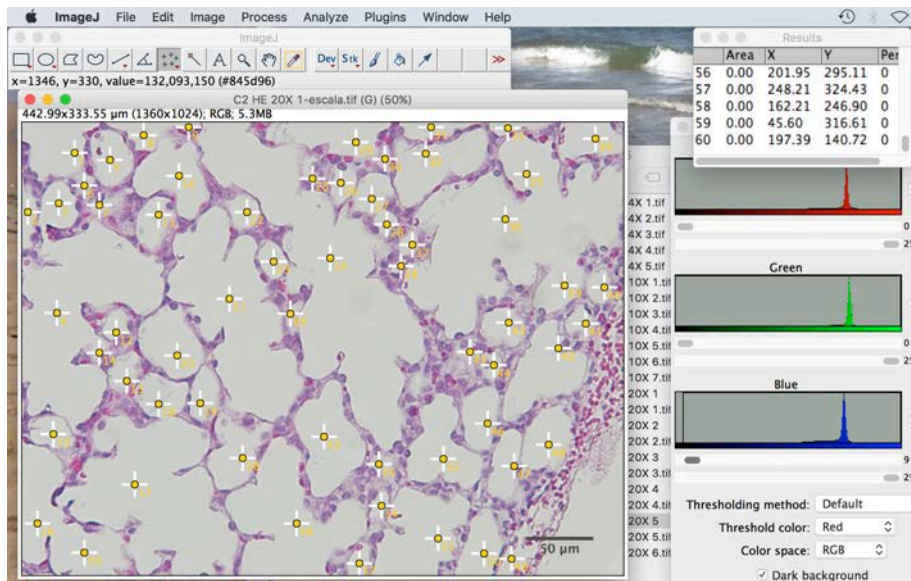
$$\text{Superficie de intercambio gaseoso} = \text{Perímetro alveolar total} / \text{Área total del campo}$$

- *Ratio Intercambio gaseoso por área estudiada*: relacionó la proporción de área de intercambio gaseoso con el área estudiada para estimar qué cantidad de esta área era apta para el intercambio gaseoso.
- *Alveolos por campo*: conteo manual con la ayuda del software informático en x10 y x20 aumentos. Ante la variabilidad de la morfología alveolar se contó como “unidad alveolar” aquel espacio delimitado completamente por tejido intersticial. En algunos casos albergaba unidades acinares grandes y en otros casos alveolos muy pequeños. La metodología ha sido siempre la misma en todas las muestras y se realizó por el mismo investigador (doctorando), siendo este cegado en el conocimiento del grupo de estudio. Aún así, al ser un conteo manual, puede existir cierta probabilidad de error humano que intentamos compensar con la misma metodología de estudio realizada por la misma persona. En los campos x20 el recuento se estimó para un campo de x10, para facilitar la comparación entre grupos, mediante una extrapolación del número de alveolos contados en x20 a un campo x10, según la fórmula:

$$n^{\circ} \text{ Alveolos en x10} = (n^{\circ} \text{ alveolos} * \text{área x10}) / \text{área x20}$$



Contaje de alveolos en un campo x10



Contaje de alveolos en un campo x20

- Área alveolar media: superficie alveolar del campo dividido por el número de alveolos por campo. Estima el tamaño medio de los alveolos.
- Perímetro medio alveolar: perímetro alveolar o superficie de intercambio gaseoso del campo dividido entre el número de alveolos por campo. Estima la superficie de intercambio gaseoso o perímetro alveolar medio.
- Superficie alveolar total (SAT): relaciona el porcentaje de espacio aéreo o área alveolar (SA) con el tamaño del pulmón (peso del pulmón seco + el líquido intrapulmonar o peso pulmonar total (PPT)) del feto al que corresponde la muestra histológica. Nos da un resultado en gramos que corresponde al espacio aéreo total de ese pulmón en concreto. Se calculó mediante simple regla de tres donde:

$$\text{SAT(g)} = (\text{SA(\%)} \times \text{PPT(g)}) / 100$$

- Superficie intersticial total (SIT): relaciona el porcentaje de intersticio (SI) con el tamaño del pulmón (peso del pulmón seco + el líquido intrapulmonar o peso pulmonar total (PPT)) del feto al que corresponde la muestra histológica. Nos ofrece un resultado en gramos que corresponde al tejido intersticial total de ese pulmón en concreto. Se calculó también mediante una simple regla de tres donde:

$$SIT(g) = (SI(\%) + PPT(g)) / 100$$

- Ratio Superficie Alveolar Total/Peso del feto: Nos indica la cantidad de espacio aéreo en relación al peso del feto, eliminando así la variabilidad normal entre pesos fetales a la hora de comparar entre grupos.
- Ratio Superficie Intersticial Total/Peso del feto: Indica la cantidad de parénquima pulmonar en relación con el feto del feto, eliminando así la variabilidad normal entre pesos fetales a la hora de comparar entre grupos. Nos estima el grado de hiperplasia pulmonar.

7.3.5. Análisis de los resultados

El estudio de los **parámetros anatómicos y morfológicos** se llevaron a cabo por el personal investigador en el momento de la obtención y conservación de muestras.

El **análisis morfológico subjetivo** de las muestras histológicas se realizó en el Servicio de Anatomía Patológica por la Dra. S. Navarro, especialista en maduración pulmonar, que llevó a cabo una interpretación subjetiva y ciega de las mismas.

Las **mediciones morfométricas** documentadas previamente fueron realizadas íntegramente por el doctorando.

El **análisis estadístico** de los resultados se realizó con la colaboración de la Unidad de Estadística y Bioinformática del Vall d'Hebron Research Institute (VHIR). Los datos fueron tratados estadísticamente con el programa SPSS de la siguiente manera:

- Para las variables anatómicas se analizaron las diferencias en función de los grupos estudiados. Para cada una de las variables se calculó la media (desviación típica), mediana (intervalo intercuartílico), mínimo y máximo. Para comparar, en cada grupo (sin CDH (A, B y C) y con CDH (D, E y F)) se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis debido al tamaño de la muestra, ya que algunas de las variables analizadas no seguían una distribución normal. Para cada variable se dibujó un diagrama de cajas separado por grupos. En color se marcaron las situaciones en las que se encontraron diferencias significativas y se ajustaron. Si eran significativas, la prueba de Dunn indicó qué dos grupos eran diferentes entre sí ($p < 0.05$). En el caso de comparación entre dos grupos, el test utilizado fue el test de la U de Mann-Whitney.
- Para las variables morfométricas se efectuaron las mismas comparaciones pero teniendo en cuenta que en un mismo sujeto había varias medidas. Para ello ajustamos un modelo de regresión lineal en el que agrupamos las medidas de la misma oveja y comparamos las diferencias que se asociaban con el grupo. Se tomó como referencia el primer grupo del pulmón normal y se indicó la diferencia de cada parámetro con ese grupo (coeficiente). Si el intervalo de confianza no incluía el 0, indicaba que las diferencias eran significativas en ese grupo. En el modelo se incluyeron los aumentos por si dependían de ellos.

La **interpretación de estos resultados** y la **elaboración de la discusión y conclusiones** las realizó el doctorando con toda la información estadísticamente tratada.

Las **referencias** siguen las normas **Vancouver** de ordenación y formato.

Resultados

8.

Resultados

Para obtener todos los sujetos de estudio en los seis grupos y con una edad gestacional adecuada para el estudio (cesárea entre los 130 y 145 días de gestación) se intervinieron un total de **50 ovejas gestantes**.

25 animales se descartaron del estudio por aborto o por ausencia de gestación en el momento de las cirugías. La tasa, pues, de **pérdidas fue del 50 %**. Este porcentaje es congruente con el porcentaje habitual de abortos en estudios similares donde se realizan una o dos cirugías fetales en el mismo sujeto.

De los 25 animales aptos para el estudio se obtuvieron los siguientes números para los distintos grupos:

Grupos		Ovejas											
Pulmón normal	A	Control	87967	7522	46	191	73	87846	76356	7682	76338	33140	21016
	B	TO 105EG	20985	4715	73	87972	7682	20998					
	C	eTO 85EG	87950	87791	46	26891	79						
HDC 65EG	D	HDC Control	87967	84350	33275	76338	84293						
	E	HDC TO 105EG	20993	26515	83715	21016							
	F	HDC eTO 85EG	7522	87878	191	76356	33140						

TABLA 1: segregación de animales en los distintos grupos de estudio.

La oveja 33275, correspondiente al grupo D o de CDH sin reparación posterior, se descartó al objetivarse el cierre completo del diafragma en el momento de la cesárea y, por ende, ante la ausencia de hipoplasia pulmonar.

En aquellos grupos en que el número de sujetos era más abultado que el objetivo (n=4 por grupo) se escogieron para el estudio los fetos con una edad gestacional al nacer superior a los 130 días de gestación y con unas muestras de mejor calidad histológica, sobre todo para el grupo A que era el más numeroso. Recordemos que este grupo se nutrió de las gestaciones dobles, manteniendo un feto sin actuación alguna.

De este modo quedaron los sujetos de estudio organizados de la siguiente manera:

Grupo	Oveja	Sujeto
A	73	E1
	87846	E2
	76356	E3
	7682	E4
B	73	B1
	20985	B2
	87972	B3
	7682	B4
C	87791	F1
	87950	F2
	26891	F4
	79	F5
D	87967	A1
	84350	A2
	76338	A4
	84293	A5
E	20993	C1
	83715	C2
	26515	C3
	21016	C4
F	191	D1
	87878	D3
	76356	D4
	33140	D5

TABLA 2: nomenclatura nueva para análisis ciego

A todos los sujetos se les atribuyó una nueva nomenclatura (en la tabla 2, “Sujeto”) para que la valoración anatomopatológica por parte de los profesionales del Servicio de Anatomía Patológica se realizara sin conocer la segregación grupal correspondiente y evitar un dictamen orientado.

8.1. Parámetros anatómicos

La edad gestacional, el peso de la oveja madre, el peso del feto, el peso del pulmón (seco y con líquido intrapulmonar), corazón, hígado y la cantidad del líquido intrapulmonar extraído, así como los ratios correspondientes descritos en material y métodos (ver apartado 8) están reflejados en la siguiente tabla 3:

Grupo	Sujeto	EG	Peso oveja	Peso feto	Peso feto seco	Peso pulmon	Peso pul total	Peso corazón	peso hígado	LIP	ratio PP/PF	ratio PP/PFS	ratio PPT/PF	ratio PF/EG	ratio PC/PF	ratio PH/PF	ratio PC/PP	ratio PH/PP	ratio LIP/PFS
A	E1	140	79,2	3670	3660	140	150	20	90	10	0,038	0,038	0,041	26,21	0,0054	0,0245	0,1429	0,6429	0,0027
A	E2	144	78	3000	2987,5	200	212,5	40	30	12,5	0,067	0,067	0,071	20,83	0,0133	0,0100	0,2000	0,1500	0,0042
A	E3	144	78,5	2730	2725	80	85	20	90	5	0,029	0,029	0,031	18,96	0,0073	0,0330	0,2500	1,1250	0,0018
A	E4	134	72	2930	2900	90	120	20	70	30	0,031	0,031	0,041	21,87	0,0068	0,0239	0,2222	0,7778	0,0103
B	B1	140	79,2	3000	2945	270	325	20	70	55	0,090	0,092	0,108	21,43	0,0067	0,0233	0,0741	0,2593	0,0187
B	B2	135	54	4500	4330	377	547	26	117	170	0,084	0,087	0,122	33,33	0,0058	0,0260	0,0690	0,3103	0,0393
B	B3	136	66,5	4110	3990	460	580	20	140	120	0,112	0,115	0,141	30,22	0,0049	0,0341	0,0435	0,3043	0,0301
B	B4	134	72	4290	4010	320	600	40	123	280	0,075	0,080	0,140	32,01	0,0093	0,0287	0,1250	0,3844	0,0698
C	F1	137	67	4670	4090	360	940	40	120	580	0,077	0,088	0,201	34,09	0,0086	0,0257	0,1111	0,3333	0,1418
C	F2	133	81	6200	5686	609	1123	120	158	514	0,098	0,107	0,181	46,62	0,0194	0,0255	0,1970	0,2594	0,0904
C	F4	134	43	3580	3070	320	830	10	135	510	0,089	0,104	0,232	26,72	0,0028	0,0377	0,0313	0,4219	0,1661
C	F5	135	82	4120	3490	340	970	20	110	630	0,083	0,097	0,235	30,52	0,0049	0,0267	0,0588	0,3235	0,1805
D	A1	135	89	2600	2595	42	47	23	91	5	0,016	0,016	0,018	19,26	0,0088	0,0350	0,5476	2,1667	0,0019
D	A2	137	79,5	4280	4270	70	80	30	140	10	0,016	0,016	0,019	31,24	0,0070	0,0327	0,4286	2,0000	0,0023
D	A4	134	82	1150	1148	20	22	9	40	2	0,017	0,017	0,019	8,58	0,0078	0,0348	0,4500	2,0000	0,0017
D	A5	140	69	4500	4500	40	40	30	120	0	0,009	0,009	0,009	32,14	0,0067	0,0267	0,7500	3,0000	0,0000
E	C1	146	76,5	4000	3900	230	330	50	130	100	0,058	0,059	0,083	27,40	0,0125	0,0325	0,2174	0,5652	0,0256
E	C2	134	53	3440	3365	160	235	20	100	75	0,047	0,048	0,068	25,67	0,0058	0,0291	0,1250	0,6250	0,0223
E	C3	134	60	2980	2875	130	235	30	150	105	0,044	0,045	0,079	22,24	0,0101	0,0503	0,2308	1,1538	0,0365
E	C4	141	64	3610	3390	280	500	20	80	220	0,078	0,083	0,139	25,60	0,0055	0,0222	0,0714	0,2857	0,0649
F	D1	132	64	2100	1970	350	480	20	150	130	0,167	0,178	0,229	15,91	0,0095	0,0714	0,0571	0,4286	0,0660
F	D3	130	72,5	3920	3720	240	440	40	140	200	0,061	0,065	0,112	30,15	0,0102	0,0357	0,1667	0,5833	0,0538
F	D4	144	78,5	3340	3120	220	440	20	110	220	0,066	0,071	0,132	23,19	0,0060	0,0329	0,0909	0,5000	0,0705
F	D5	134	76,5	4060	3697	270	633	20	180	363	0,067	0,073	0,156	30,30	0,0049	0,0443	0,0741	0,6667	0,0982

TABLA 3: PP: peso pulmón; PF: peso del feto con líquido intrapulmonar; PFS: peso del feto sin líquido intrapulmonar; PPT: peso del pulmón total, con líquido intrapulmonar; EG: edad gestacional en el momento de la cesárea; LIP: líquido intrapulmonar; PC: peso del corazón; PH: peso del hígado.

Análisis de resultados:

- Ratio Peso del Pulmón Total (con líquido intrapulmonar) respecto al Peso Fetal Total (con líquido intrapulmonar) (PPT/PF): El **volumen pulmonar total** se vio incrementado por la oclusión precoz (ETO) y la tardía (LTO) tanto en presencia de CDH (grupos DEF) como en pulmones normales (grupos ABC) de manera estadísticamente significativa ($p=0.0125$ y $p=0.0073$ respectivamente) (Tablas 4 y 5).

Grupos sin CDH (A, B y C):

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.04; 0.06)	4 0.13 (0.02) 0.13 (0.11; 0.14)	4 0.21 (0.03) 0.22 (0.19; 0.23)	12 0.13 (0.07) 0.13 (0.06; 0.19)	0.0073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Dunn's Pairwise Comparison of ratioptpf by grupo

(No adjustment)

Col Mean-	1	2
Row Mean		
2 -1.568929		
0.0583		
3 -3.137858 -1.568929		
0.0009 0.0583		

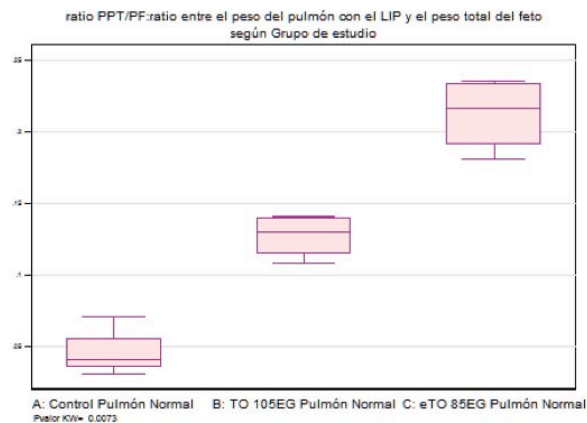


TABLA 4: volumen pulmonar en relación al peso fetal total en los grupos sin CDH: A: control; B: LTO; C: ETO.

Grupos con CDH (D, E y F):

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.02 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	4 0.09 (0.03) 0.08 (0.07; 0.11)	4 0.16 (0.05) 0.14 (0.12; 0.19)	12 0.09 (0.07) 0.08 (0.02; 0.14)	0.0125 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioptpf by grupo
(No adjustment)

Col Mean-		
Row Mean	4	5
5	-1.765045	
	0.0388	
6	-2.941742	-1.176697
	0.0016	0.1197

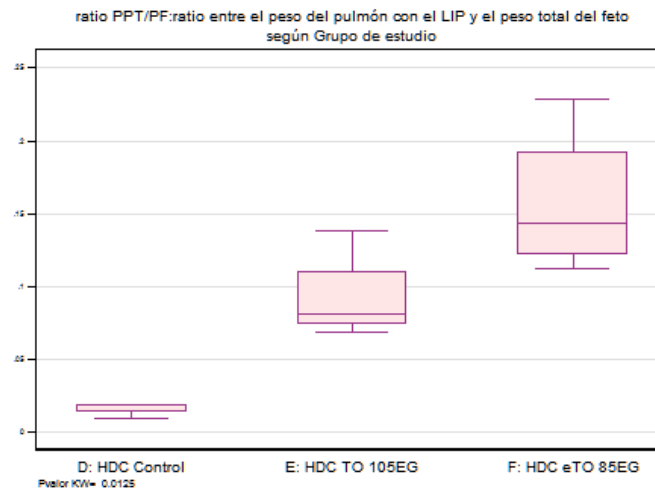


TABLA 5: Volumen pulmonar en relación al peso fetal total en los grupos con CDH: D: CDH; E: CDH + LTO; F: CDH + ETO.

En estos grupos de estudio (con CDH) el crecimiento del pulmón de los grupos con LTO y ETO fue diferente respecto al grupo D (CHD), pero la diferencia entre el grupo E y el F, aun tendiendo a incrementarse, no fue estadísticamente significativa ($p=0.1197$).

Todos los grupos:

Cuando comparamos los seis grupos observamos que en los que se creó la CDH los pulmones tuvieron menos volumen, hecho concordante con la hipoplasia pulmonar que se les supone. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas en los grupos sin oclusión y no significativas en los grupos con oclusión tardía y precoz ($p=0.08$ en ambos grupos).

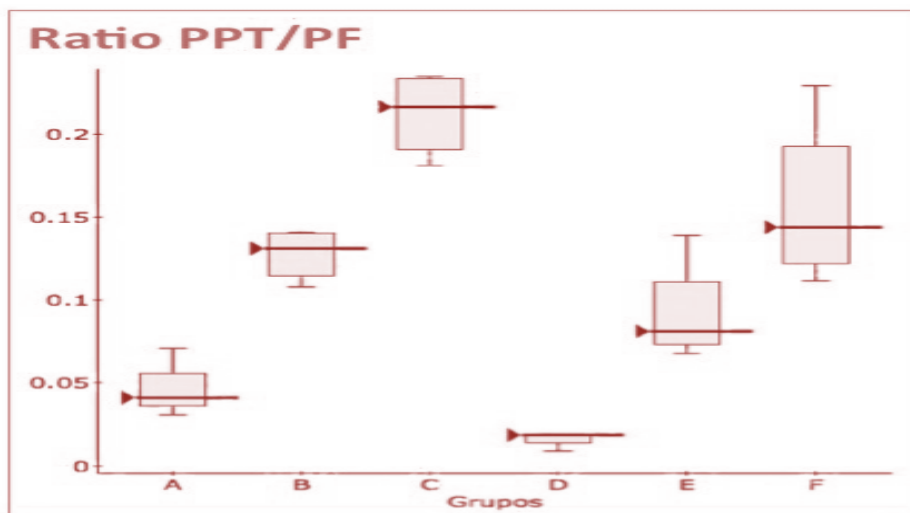


TABLA 6: Volumen pulmonar en relación al peso fetal total para todos los grupos.

Comparación grupo A (control) con grupo D (CDH):

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.04; 0.06)	4 0.02 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	8 0.03 (0.02) 0.03 (0.02; 0.04)	0.0209 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

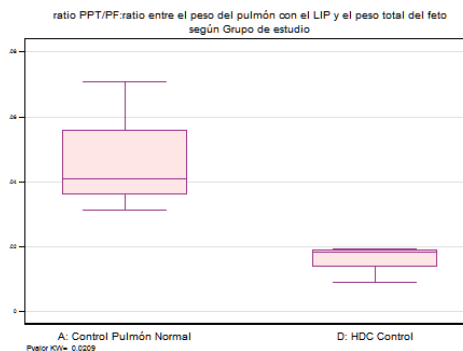


TABLA 7: Volumen pulmonar en relación al peso fetal total para los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 10SEG Pulmón Normal	E: HDC TO 10SEG		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.13 (0.02) 0.13 (0.11; 0.14)	4 0.09 (0.03) 0.08 (0.07; 0.11)	8 0.11 (0.03) 0.11 (0.08; 0.14)	0.0833 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

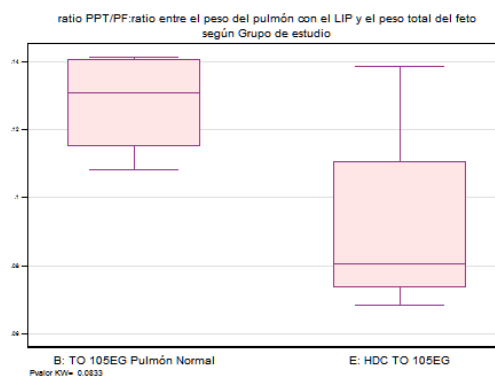


TABLA 8: Volumen pulmonar en relación al peso fetal total para los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.21 (0.03) 0.22 (0.19; 0.23)	4 0.16 (0.05) 0.14 (0.12; 0.19)	8 0.18 (0.05) 0.19 (0.14; 0.23)	0.0833 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

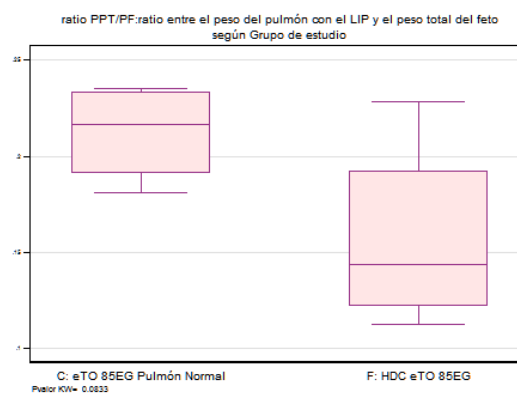


TABLA 9: Volumen pulmonar en relación al peso fetal total para los grupos C y F.

- Ratio Peso del Pulmón (sin líquido intrapulmonar) respecto al Peso Fetal Seco (sin líquido intrapulmonar) (PP/PFS): El **volumen del parénquima pulmonar** también se vio incrementado por la oclusión traqueal, proporcionalmente al tiempo de oclusión, tanto en los grupos con CDH (DEF) como en los que no la padecían (ABC) con p=0.0154 y p=0.0210 respectivamente (Tablas 10 y 11).

Las diferencias entre oclusión precoz y oclusión tardía en los grupos sin CDH y en los grupos con CDH no fueron estadísticamente significativas. Este resultado debe tomarse con cautela pues aunque se extrajo la gran mayoría de líquido intrapulmonar, cierta cantidad pudo quedarse retenida en los pulmones y podría no ser un reflejo adecuado de la cantidad de tejido parenquimatoso o intersticial.

Grupos sin CDH (A, B y C):

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.05)	4 0.09 (0.02) 0.09 (0.08; 0.10)	4 0.10 (0.01) 0.10 (0.09; 0.11)	12 0.08 (0.03) 0.09 (0.05; 0.10)	0.0210 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioppf by grupo
(No adjustment)

Col Mean-	1	2
Row Mean		
-----+		
2	-2.059219	
	0.0197	
3	-2.647568	-0.588348
	0.0041	0.2781

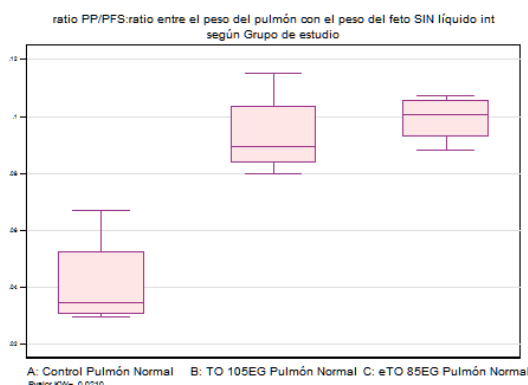


TABLA 10: Volumen del parénquima pulmonar en relación al peso fetal en los grupos sin CDH.

Grupos con CDH (D, E y F)

Variable	Grupo de estudio			Total	P-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.01 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	4 0.06 (0.02) 0.05 (0.05; 0.07)	4 0.10 (0.05) 0.07 (0.07; 0.13)	12 0.06 (0.05) 0.05 (0.02; 0.07)	0.0154 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioppf by grupo
(No adjustment)

```

Col Mean-|
Row Mean |      4      5
-----+-----
5 | -1.863103
   |  0.0312
   |
6 | -2.843684 -0.980581
   |  0.0022  0.1634
    
```

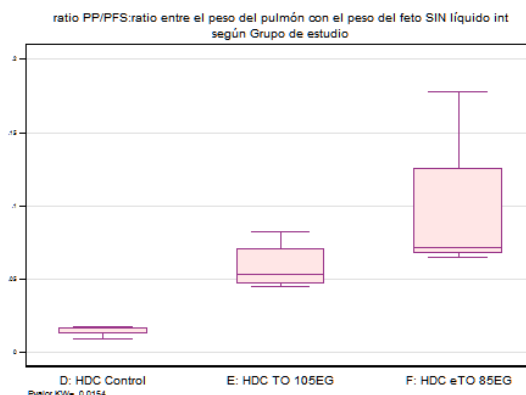


TABLA 11: El volumen del parénquima pulmonar en relación con el peso fetal se ve incrementado por la oclusión traqueal en los grupos con CDH.

Las diferencias en el volumen del parénquima pulmonar para la misma actuación quirúrgica en los grupos con y sin CDH también fueron congruentes con la hipoplasia pulmonar generada por la CDH (Tabla 12). La CDH provocó menor volumen de tejido parenquimatoso y la oclusión traqueal aumentó proporcionalmente el volumen pulmonar.

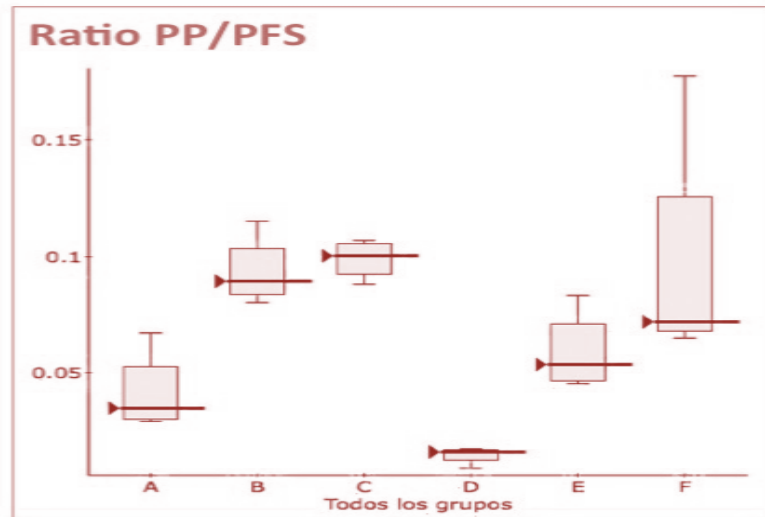


TABLA 12: Diferencias en el volumen del parénquima pulmonar relacionado con el peso del feto entre los grupos sin CDH (A, B y C) y los grupos con CDH (D, E y F).

Comparación grupo A (control) con grupo D (CDH):

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.05)	4 0.01 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	8 0.03 (0.02) 0.02 (0.02; 0.03)	0.0209 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

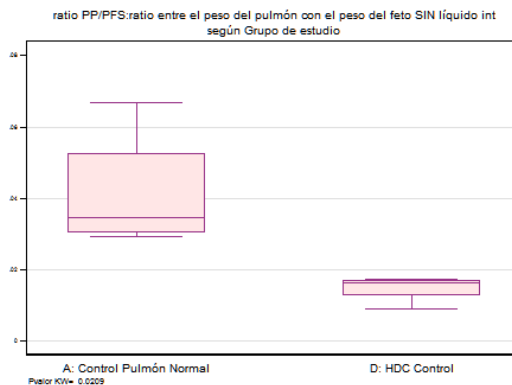


TABLA 13: Volumen del parénquima pulmonar en relación al peso fetal total para los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 10SEG Pulmón Normal	E: HDC TO 10SEG		
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.09 (0.02) 0.09 (0.08; 0.10)	4 0.06 (0.02) 0.05 (0.05; 0.07)	8 0.08 (0.02) 0.08 (0.05; 0.09)	0.0433 ²

1: N
 Media Aritmética(DE)
 Mediana (P25;P75)
 2: / U Mann-Whitney test

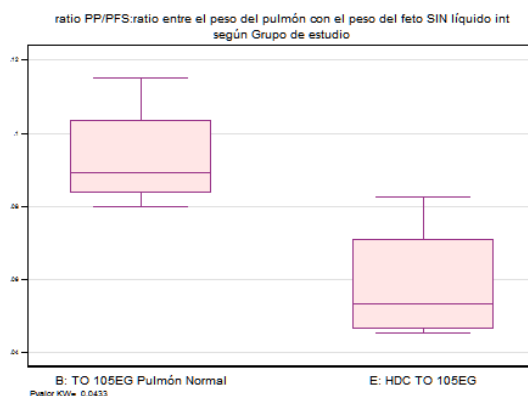


TABLA 14: Volumen del parénquima pulmonar en relación al peso fetal total para los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.10 (0.01) 0.10 (0.09; 0.11)	4 0.10 (0.05) 0.07 (0.07; 0.13)	8 0.10 (0.04) 0.09 (0.07; 0.11)	0.2482 ₂

1: N
 Media Aritmética(DE)
 Mediana (P25;P75)
 2: / U Mann-Whitney test

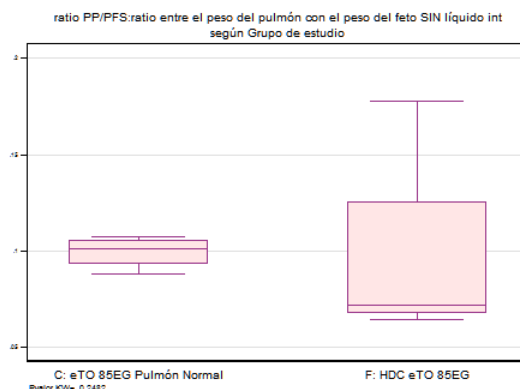


TABLA 15: Volumen del parénquima pulmonar en relación al peso fetal total para los grupos C y F.

Esta última comparación no resultó significativa (p=0.24) de lo que se infiere que el crecimiento pulmonar con la oclusión precoz no presenta diferencias significativas en los pulmones normales o los afectados de CDH. Recordar que, como se ha mencionado anteriormente, puede haber un sesgo con el líquido intrapulmonar remanente y no ser un fiel reflejo del volumen de parénquima pulmonar. La morfometría pudo precisar mejor estos hallazgos.

- Ratio Líquido Intrapulmonar respecto al Peso Fetal Seco (sin líquido intrapulmonar) (LIP/PFS): el líquido intrapulmonar se vio incrementado con la oclusión traqueal proporcionalmente al tiempo de oclusión tanto en presencia como en ausencia de CDH (Tablas 16 y 17).

Grupos sin CDH (A, B y C):

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.01)	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	4 0.14 (0.04) 0.15 (0.12; 0.17)	12 0.06 (0.07) 0.03 (0.01; 0.12)	0.0073 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiolippfs by grupo
(No adjustment)

Col Mean-		
Row Mean	1	2
-----+		
2	-1.568929	
	0.0583	
3	-3.137858	-1.568929
	0.0009	0.0583

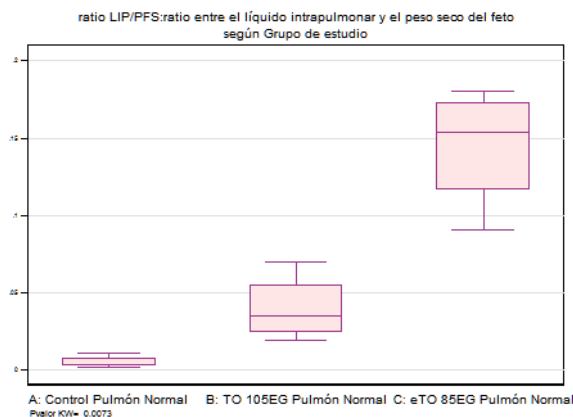


TABLA 16: Cantidad de líquido intrapulmonar en relación con el peso del feto en los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.00)	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	4 0.07 (0.02) 0.07 (0.06; 0.08)	12 0.04 (0.03) 0.03 (0.00; 0.07)	0.0097 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiolippfs by grupo
(No adjustment)

```

Col Mean-|
Row Mean |      4      5
-----+-----
5 | -1.666987
  |  0.0478
  |
6 | -3.039800 -1.372813
  |  0.0012  0.0849
    
```

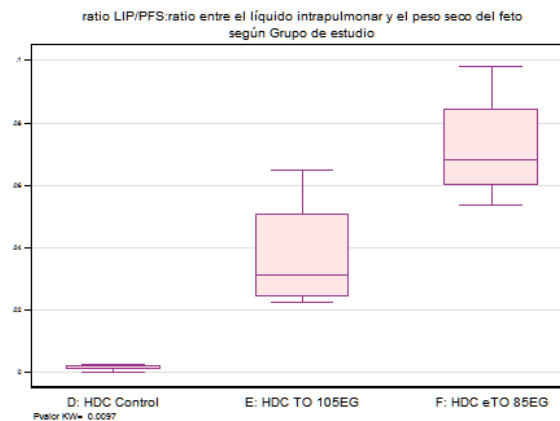


TABLA 17: Cantidad de líquido intrapulmonar en relación con el peso del feto en los grupos con CDH (D, E y F).

El líquido intrapulmonar generado en presencia de CDH fue menor que en los pulmones normales para la misma actuación quirúrgica (Tabla 18), pero no estadísticamente significativo.

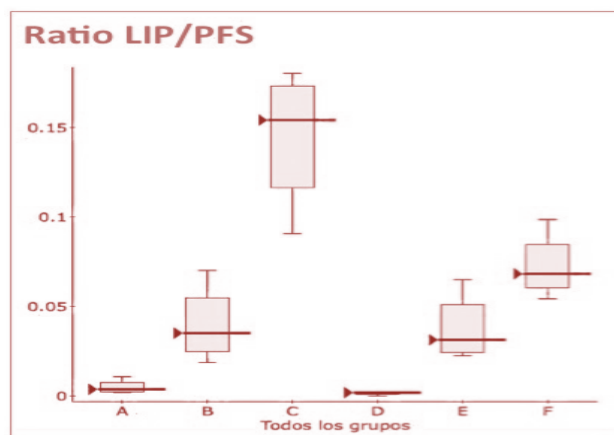


TABLA 18: Líquido intrapulmonar generado por la oclusión traqueal en relación con el peso fetal para los distintos grupos sin (A, B y C) y con CDH (D, E y F).

Comparación grupo A (control) con grupo D (CDH)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.01)	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.00)	8 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.00)	0.0833 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

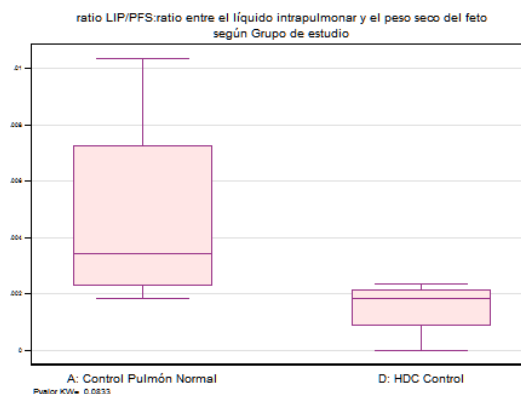


TABLA 19: Cantidad de líquido intrapulmonar en relación con el peso del feto en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	8 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	0.7728 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

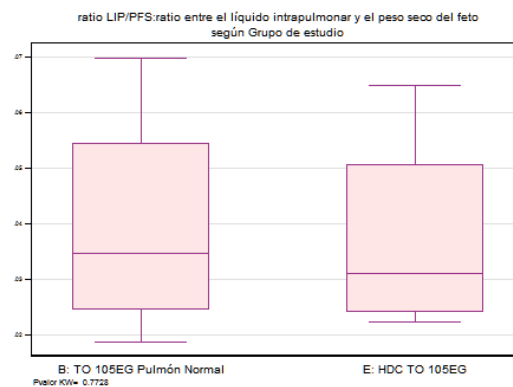


TABLA 20: Cantidad de líquido intrapulmonar en relación con el peso del feto en los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO)

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.14 (0.04) 0.15 (0.12; 0.17)	4 0.07 (0.02) 0.07 (0.06; 0.08)	8 0.11 (0.05) 0.09 (0.07; 0.15)	0.0433 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

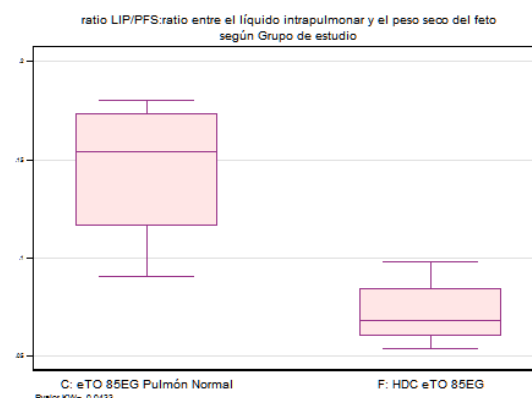


TABLA 21: Cantidad de líquido intrapulmonar en relación con el peso del feto en los grupos C y F.

El líquido intrapulmonar es un reflejo del espacio aéreo de los pulmones, pues el lugar que ocupa el líquido intrapulmonar será ocupado por aire en el periodo postnatal. Así pues podemos afirmar que la oclusión traqueal aumentó volumétricamente el espacio aéreo de los pulmones tanto con como sin CDH. El aumento del LIP en la LTO no presentó diferencias entre los grupos con y sin

CDH, mientras que ante una ETO los pulmones sin CDH generaron más LIP que los pulmones con CDH (p=0.0433).

- Ratio Peso del Corazón respecto al Peso Fetal (PC/PF): no se detectaron diferencias significativas entre el **peso de los corazones** para los distintos grupos de estudio (Tabla 22).

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.01) 0.01 (0.00; 0.01)	12 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.7939 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	12 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.9810 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

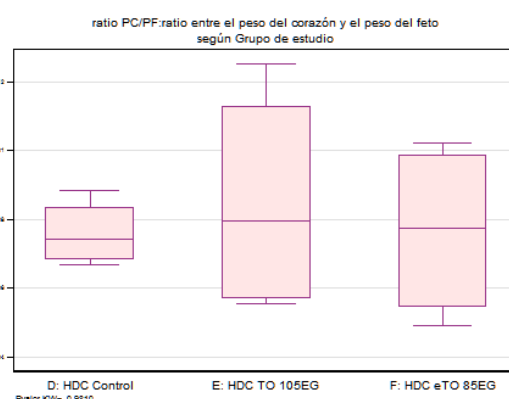
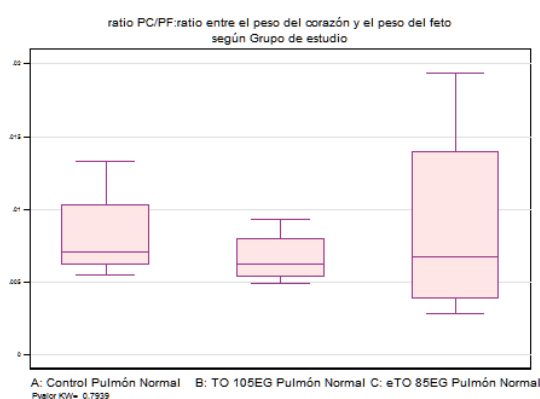


TABLA 22: Volumen de los corazones en relación con el peso del feto para los distintos grupos.

- Ratio Peso del Hígado respecto al Peso Fetal (PH/PF): tampoco no se detectaron diferencias significativas entre el peso de los hígados para los distintos grupos de estudio (Tabla 23).

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.02 (0.01) 0.02 (0.02; 0.03)	4 0.03 (0.00) 0.03 (0.02; 0.03)	4 0.03 (0.01) 0.03 (0.03; 0.03)	12 0.03 (0.01) 0.03 (0.02; 0.03)	0.3897 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.03 (0.00) 0.03 (0.03; 0.03)	4 0.03 (0.01) 0.03 (0.03; 0.04)	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.03; 0.06)	12 0.04 (0.01) 0.03 (0.03; 0.04)	0.1672 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

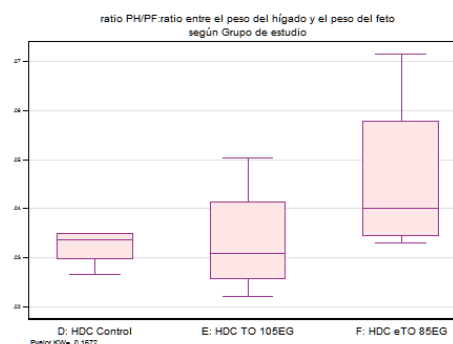
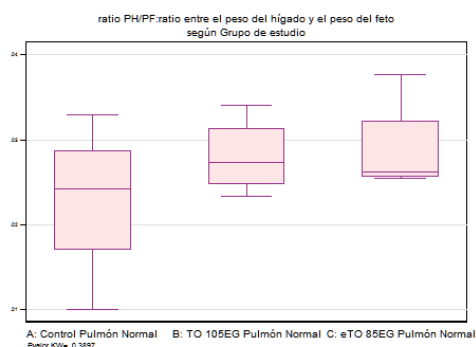


TABLA 23: Volumen de los hígados en relación con el peso del feto para los distintos grupos

- Ratio Peso del feto respecto a la Edad Gestacional (PF/EG): El peso del feto ponderado por la edad gestacional se incrementó con la oclusión traqueal respecto al grupo control en los grupos sin CDH (p=0.0435), tendencia que no se observó en los grupos con CDH (p=0.981) (Tablas 24 y 25).

Grupos sin CDH (A, B y C):

• Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 21.97 (3.08) 21.35 (19.90;24.04)	4 29.25 (5.37) 31.12 (25.82;32.67)	4 34.48 (8.63) 32.30 (28.62;40.35)	12 28.57 (7.71) 28.47 (21.65;32.67)	0.0435 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

Warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiopfeg by grupo
(No adjustment)

```
Col Mean-|
Row Mean |      1      2
-----+-----
2 | -1.666987
   |  0.0478
   |
3 | -2.451452 -0.784465
   |  0.0071  0.2164
```

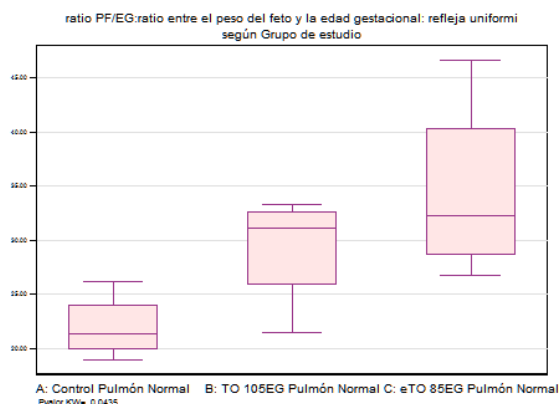


TABLA 24: Peso corregido por edad gestacional para los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 22.81 (11.15) 25.25 (13.92;31.69)	4 25.23 (2.16) 25.64 (23.92;26.53)	4 24.89 (6.84) 26.67 (19.55;30.23)	12 24.31 (7.02) 25.64 (20.75;30.23)	0.9810 ₂

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

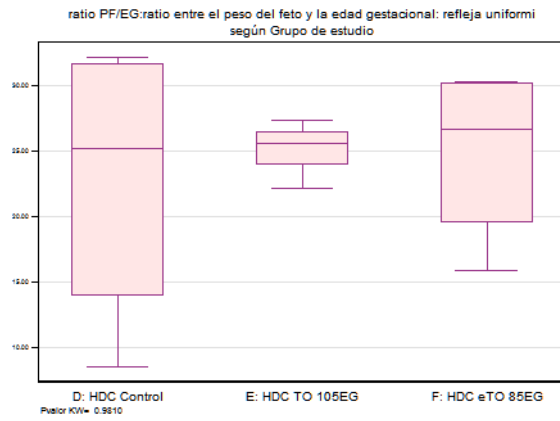


TABLA 25: Peso corregido por edad gestacional para los grupos con CDH (D, E y F).

Todos los grupos:

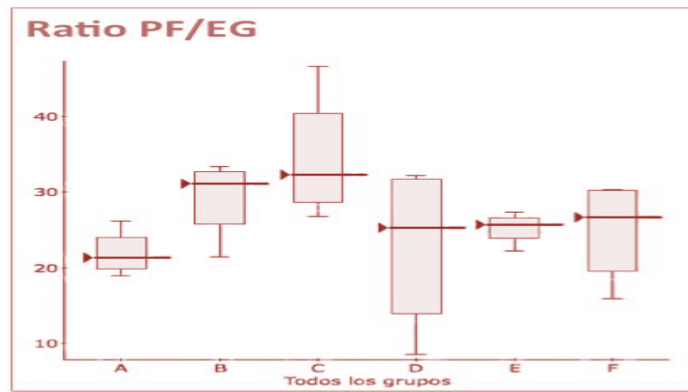


TABLA 26: Relación de los pesos por edad gestacional en los diferentes grupos.

8.2. Morfología

En la siguiente tabla se detallan las observaciones cualitativas (sin posibilidad de análisis estadístico) derivadas del estudio anatomopatológico de las muestras histológicas e inmunohistoquímicas (ver Anexo 13.1. Imágenes histológicas analizadas).

		MUSCULAR (V Y VA)	PNEUMOCITOS	PNEUMOCITOS II	CAPILARES	FASE	ARTERIAS	FIBROSIS	AREAS COLAPSO	DESCAMACIÓN	INTERSTICIO
A	E1	Normal	Aplanados	Normales	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
	E2	control	Normal	Aplanados	Normales	Normales	Alveolar	Normales	no	No	Normal
	E3	Normal	Aplanados	Normales	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
	E4	Normal	Aplanados	Normales	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
B	B1	Normal	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
	B2	LTO	Hiperplasia hiliar	Aplanados	Normales	Normales	Alveolar	Normales	No	No	Normal
	B3	Normal	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
	B4	Normal	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Ligeramente engrosado
C	F1	Normal	Aplanados	Normales	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
	F2	ETO	Normal	Aplanados	Muy disminuidos	Normales	Alveolar	Normales	No	No	Ligeramente engrosado
	F4	Normal	Aplanados	Muy disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Aumentado-mesenquimal
	F5	Normal	Aplanados-cúbicos	Muy disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Aumentado-mesenquimal
D	A1	Normal	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	Si, pocas	No	Normal
	A2	CDH	Normal	Aplanados-cúbicos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	Si, perihiliar	No	Normal
	A4	Normal	Cúbicos	Normales	Normales	Sacular-Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	Si	No	Aumentado-mesenquimal
	A5	Hiperplasia hiliar	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Ligeramente engrosado
E	C1	Hiperplasia hiliar	Cúbicos	Disminuidos	Congestivos	Sacular-Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Normal
	C2	Normal	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Normal
	C3	CDH+LTO	Normal	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Normales	No	No	Normal
	C4	Hiperplasia hiliar	Aplanados	Disminuidos	Normales	Alveolar	Normales	No	No	No	Normal
F	D1	Hiperplasia hiliar	Aplanados tumefactr	Normales	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Normal
	D3	CDH+ETO	Normal	Aplanados tumefactr	Disminuidos	Congestivos	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	Edematoso
	D4	Normal	Cúbicos	Muy disminuidos	Normales	Sacular	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Muy engrosado (mesnquimal)
	D5	Normal	Aplanados tumefactr	Muy disminuidos	Normales	Alveolar	Engrosamiento adventicia	No	No	No	Ligeramente engrosado

El estudio de las unidades alveolares a la hematoxilina-eosina demostró:

- Un aplanamiento de las células (**neumocitos tipo I**) adecuado para la edad gestacional en todas los sujetos de estudio de los grupos sin CDH salvo en un individuo del grupo C (ETO) en el que el epitelio tenía aspecto cuboideo en parte de la muestra. Esta observación identificaba estos casos como en **fase alveolar** del desarrollo pulmonar.
- Las células alveolares (pneumocitos tipo I) de las muestras con CDH y oclusión precoz (Grupo F) se mostraron, en la mayoría de los sujetos, tumefactas.
- Mayor proporción del epitelio cuboideo en general en los grupos con CDH (2/4 en el grupo D, 1/4 en el grupo E y 1/4 en el F), identificando una **fase sacular** del desarrollo pulmonar en estos casos.

- Una disminución de la cantidad de **neumocitos tipo II** en los grupos con oclusión traqueal y pulmón normal respecto a los controles. En los grupos con CDH ya se identificaban peor en su grupo control (D-CDH) y estaban también francamente disminuídos en los grupos ocluídos.
- Sólo se evidenciaron áreas de colapso en muestras del grupo D (CDH). El resto de pulmones estaban bien repleccionados.

El estudio vascular reveló:

- Unos capilares en general normales en todos los grupos con cierta congestión en dos individuos, uno del grupo E y otro del grupo F.
- Las arteriolas presentaban un engrosamiento adventicial en algunos casos de oclusión precoz en pulmón normal (grupo C) y en los grupos con CDH (D, E y F).

En cuanto al estudio del colágeno y fibrosis no se halló una distribución anómala del colágeno en ninguno de los grupos, descartando así la presencia de fibrosis en las muestras.

No se evidenció descamación de células epiteliales en ninguna de las muestras.

El análisis de las fibras elásticas no mostró una distribución aparentemente distinta en las muestras estudiadas.

El intersticio pulmonar era normal en los casos sin CDH salvo por el grupo C (ETO) donde se observó un engrosamiento mesenquimal marcado en la mayoría de las muestras. En los grupos con CDH observamos un engrosamiento intersticial para el grupo control (D), normalidad ante la LTO y vuelta al engrosamiento con edema en el grupo CDH-ETO (F).

Las vías aéreas perdían su arquitectura normal con la oclusión traqueal, sobre todo en los sujetos sin CDH, quedando proporcionalmente más repleccionadas (redondas) con el tiempo de oclusión traqueal.

8.3. Morfometría

En las siguientes tablas se resumen **todos los resultados morfométricos** tras el análisis de las histologías (Anexo 1) según se detalla en el apartado 8 de Materiales y Métodos (Tabla 14). Se trata de una transcripción por fragmentos de la base de datos realizada para el estudio estadístico, con un total de 240 muestras, 40 por grupo. Finaliza con un CODEBOOK donde se detallan las variables de estudio de la base de datos (ya explicitadas en el apartado 8 Materiales y Métodos).

Grup Actuació	Sjeto ID	aum super_f_alv	superf_total %superf_alv	%superf_alv	superf_inti super	inter_ratio	inter_ratio	inter_ratio	cont_alv	esp_aereo	perim_alv	alv_campo2alv	campo1 peso_pulmo LIP	PP+LIP	peso_feto	Superf_alv_total	Superf_inters_total	ratio_SAT/PI ratio	SIT/PIF		
1 C	E1	E1 HE 10X1	10 436661,15	552254,34	79,07	20,93	58960,37	0,11	321	1360,32	183,68	99999,00	345,79	140	150	3670	118,60	31,40	0,032	0,009	
1 C	E1	E1 HE 10X2	10 423133,16	556076,76	76,09	23,91	61129,45	0,11	349	1212,42	175,16	99999,00	373,37	140	150	3670	114,14	35,86	0,031	0,010	
1 C	E1	E1 HE 10X3	10 455182,89	582403,96	78,16	21,84	58887,07	0,10	326	1396,27	180,64	99999,00	333,00	140	150	3670	117,23	32,77	0,032	0,009	
1 C	E1	E1 HE 10X5	10 419532,88	576094,07	72,82	27,18	68401,5	0,12	331	1267,47	206,65	99999,00	341,81	140	150	3670	109,24	40,76	0,030	0,011	
1 C	E1	E1 HE 10X6	10 454333,22	579786,62	78,36	21,64	6296,39	0,11	381	1192,48	163,51	99999,00	390,94	140	150	3670	117,54	32,46	0,032	0,009	
1 C	E1	E1 HE 20X1	20 68381,86	102770,08	66,54	33,46	20802,25	0,20	113	605,15	184,09	162,47	654,13	140	150	3670	99,81	50,19	0,027	0,014	
1 C	E1	E1 HE 20X2	20 6825,36	135911,19	71,24	28,76	22657,45	0,17	130	744,81	174,29	141,33	569,04	140	150	3670	106,86	43,14	0,029	0,012	
1 C	E1	E1 HE 20X3	20 106637,98	147760,21	72,17	27,83	23931,48	0,16	127	839,67	188,44	127,00	511,33	140	150	3670	108,25	41,75	0,029	0,011	
1 C	E1	E1 HE 20X5	20 99506,1	141883,93	70,13	29,87	26869,25	0,19	148	672,34	181,55	154,13	620,55	140	150	3670	105,20	44,80	0,029	0,012	
1 C	E1	E1 HE 20X6	20 81471,72	114716,92	71,02	28,98	21242,68	0,19	122	667,80	174,12	157,14	632,68	140	150	3670	106,53	43,47	0,029	0,012	
1 C	E2	E2 HE 10X3	10 357808,56	545941,45	65,54	34,46	75158,86	0,14	371	964,44	202,58	99999,00	404,28	200	12,5	212,5	3000	139,27	73,23	0,046	0,024
1 C	E2	E2 HE 10X4	10 334616,95	49532,20	67,56	32,44	79965,28	0,15	397	842,86	191,35	99999,00	476,89	200	12,5	212,5	3000	143,58	68,92	0,048	0,023
1 C	E2	E2 HE 10X5	10 406546,22	594910,26	68,34	31,66	81985,89	0,14	417	974,93	196,61	99999,00	417,00	200	12,5	212,5	3000	145,22	67,28	0,049	0,022
1 C	E2	E2 HE 10X6	10 391994,70	568788,11	68,92	31,08	79762,20	0,14	429	913,74	185,93	99999,00	448,70	200	12,5	212,5	3000	146,45	66,05	0,049	0,022
1 C	E2	E2 HE 10X7	10 465164,09	594910,26	78,19	21,81	76394,97	0,13	430	1081,78	177,66	99999,00	490,00	200	12,5	212,5	3000	166,16	46,34	0,055	0,015
1 C	E2	E2 HE 20X1	20 81638,09	130177,19	62,71	37,29	27530,84	0,21	115	709,90	239,40	130,53	525,55	200	12,5	212,5	3000	133,27	79,23	0,044	0,026
1 C	E2	E2 HE 20X2	20 89380,69	147760,21	60,49	39,51	32578,49	0,22	152	588,03	214,33	152,00	611,98	200	12,5	212,5	3000	128,54	83,96	0,043	0,028
1 C	E2	E2 HE 20X3	20 96220,37	147760,21	65,12	34,88	28838,57	0,20	142	677,61	203,09	142,00	571,72	200	12,5	212,5	3000	138,38	74,12	0,046	0,025
1 C	E2	E2 HE 20X4	20 76285,52	120900,05	63,10	36,90	26306,03	0,22	122	625,29	215,62	149,10	600,32	200	12,5	212,5	3000	134,08	78,42	0,045	0,026
1 C	E2	E2 HE 20X6	20 96651,03	147760,21	65,41	34,59	28199,69	0,19	145	666,56	194,48	145,00	583,80	200	12,5	212,5	3000	139,00	73,50	0,046	0,025
1 C	E3	E3 HE 10X1	10 379243,33	557693,07	68,05	31,95	67804,01	0,12	402	943,39	168,67	99999,00	429,13	80	5	85	2730	57,84	27,16	0,021	0,010
1 C	E3	E3 HE 10X2	10 320012,46	482169,76	66,37	33,63	57166,87	0,12	352	909,13	162,41	99999,00	434,30	80	5	85	2730	56,41	28,59	0,021	0,010
1 C	E3	E3 HE 10X3	10 413533,20	594910,26	69,51	30,49	75168,52	0,13	435	950,65	172,80	99999,00	435,00	80	5	85	2730	59,09	25,91	0,022	0,009
1 C	E3	E3 HE 10X4	10 379606,44	575342,35	65,98	34,02	70669,58	0,12	472	804,25	149,72	99999,00	488,05	80	5	85	2730	56,08	28,92	0,021	0,011
1 C	E3	E3 HE 10X6	10 376791,74	567025,55	66,45	33,55	77032,21	0,14	481	783,35	160,15	99999,00	504,65	80	5	85	2730	56,48	28,52	0,021	0,010
1 C	E3	E3 HE 20X1	20 38568,49	65423,55	58,95	41,05	15782,58	0,24	80	482,11	197,28	180,68	727,46	80	5	85	2730	50,11	34,89	0,018	0,013
1 C	E3	E3 HE 20X2	20 95453,58	139217,08	68,56	31,44	26230,35	0,19	130	734,26	201,77	137,98	555,52	80	5	85	2730	58,28	26,72	0,021	0,010
1 C	E3	E3 HE 20X4	20 104866,84	147760,21	70,97	29,03	24065	0,16	127	825,72	189,49	127,00	511,33	80	5	85	2730	60,33	24,67	0,022	0,009
1 C	E3	E3 HE 20X5	20 79536,13	135930,4	58,51	41,49	29518,94	0,22	115	691,62	256,69	125,01	503,31	80	5	85	2730	49,74	35,26	0,018	0,013
1 C	E3	E3 HE 20X6	20 106958,94	147760,21	72,39	27,61	24655,97	0,17	123	869,58	200,46	123,00	495,22	80	5	85	2730	61,53	23,47	0,023	0,009
1 C	E4	E4 HE 10X2	10 331413,51	502620,66	65,94	34,06	58619,27	0,12	365	907,98	160,60	99999,00	432,02	90	30	120	2930	79,12	40,88	0,027	0,014
1 C	E4	E4 HE 10X3	10 384673,67	594910,26	64,66	35,34	77003,93	0,13	412	933,67	186,90	99999,00	412,00	90	30	120	2930	77,59	42,41	0,026	0,014
1 C	E4	E4 HE 10X4	10 391837,5	566891,85	69,12	30,88	71522,48	0,13	462	848,13	154,81	99999,00	484,83	90	30	120	2930	82,94	37,06	0,028	0,013
1 C	E4	E4 HE 10X5	10 278707,41	381063,98	73,14	26,86	47026,06	0,12	283	984,83	166,17	99999,00	441,81	90	30	120	2930	87,77	32,23	0,030	0,011
1 C	E4	E4 HE 10X6	10 404459,87	537835,8	75,20	24,80	67798,34	0,13	389	1039,74	174,29	99999,00	430,28	90	30	120	2930	90,24	29,76	0,031	0,010
1 C	E4	E4 HE 20X1	20 91733,37	135659,86	67,63	32,37	25710,31	0,19	126	728,04	204,05	137,26	552,65	90	30	120	2930	81,16	38,84	0,028	0,013
1 C	E4	E4 HE 20X2	20 76762,86	116096,02	66,12	33,88	21933,95	0,19	119	645,07	184,32	151,46	609,79	90	30	120	2930	79,34	40,66	0,027	0,014
1 C	E4	E4 HE 20X4	20 94426,42	147760,21	63,91	36,09	30878,66	0,21	140	674,47	220,56	140,00	563,67	90	30	120	2930	76,69	43,31	0,026	0,015
1 C	E4	E4 HE 20X5	20 97557,67	147760,21	66,02	33,98	27931,04	0,19	120	812,98	232,76	120,00	483,14	90	30	120	2930	40,77	40,77	0,027	0,014
1 C	E4	E4 HE 20X6	20 103103,02	147760,21	69,78	30,22	26272,43	0,18	139	741,75	189,01	139,00	559,64	90	30	120	2930	83,73	36,27	0,029	0,012

GrupActuació	Sujeto ID	aum:superf_alv	superf_total	%superf_alv	%superf_intr	superf_intr	superf_intr:ratio	inter_:	comt_alv	esp_aereo	perim_alv	alv_campo3	alv_campo1	peso_pulmo	LIP	PP-LIP	peso_feto	Superf_alv_total	Superf_intrs_total	total_ratio	SAT/Pratio	SIT/Pr
2 LTO	B1	HE 10X1	10	472963,14	594910,26	79,50	20,50	65365,83	0,11	260	1819,09	251,41	99999,00	260,00	270	55	325	3000	258,38	66,62	0,086	0,022
2 LTO	B1	HE 10X2	10	386429,38	532623,33	72,55	27,45	62022,55	0,12	289	1337,13	214,61	99999,00	322,80	270	55	325	3000	235,79	89,21	0,079	0,030
2 LTO	B1	HE 10X3	10	357570,7	498063,48	71,79	28,21	60203,4	0,12	308	1160,94	195,47	99999,00	367,89	270	55	325	3000	233,32	91,68	0,078	0,031
2 LTO	B1	HE 10X4	10	446948,63	594910,26	75,13	24,87	62971,14	0,11	284	1573,76	221,73	99999,00	284,00	270	55	325	3000	244,17	80,83	0,081	0,027
2 LTO	B1	HE 10X5	10	455015,53	594910,26	76,48	23,52	62099,02	0,10	311	1463,07	199,68	99999,00	311,00	270	55	325	3000	248,58	76,42	0,083	0,025
2 LTO	B1	HE 20X1	20	109813,79	147760,21	74,32	25,68	20030,58	0,14	94	1168,23	213,09	94,00	378,46	270	55	325	3000	241,54	83,46	0,081	0,028
2 LTO	B1	HE 20X2	20	89440,64	128832,25	69,42	30,58	17998,39	0,14	100	894,41	179,98	114,69	461,77	270	55	325	3000	225,63	99,37	0,075	0,033
2 LTO	B1	HE 20X3	20	69427,48	97482,02	71,22	28,78	14141,17	0,15	72	964,27	196,41	109,14	439,40	270	55	325	3000	231,47	93,53	0,077	0,031
2 LTO	B1	HE 20X4	20	85761,7	123853,47	69,74	30,76	21184,64	0,17	109	786,80	194,35	130,04	523,56	270	55	325	3000	225,04	99,96	0,075	0,033
2 LTO	B1	HE 20X5	20	88290,61	130425,46	67,69	32,31	21765,01	0,17	114	774,48	190,92	129,15	519,99	270	55	325	3000	220,01	104,99	0,073	0,035
2 LTO	B2	HE 10X1	10	434652,21	581656,1	74,73	25,27	68746,99	0,12	253	1717,99	271,73	99999,00	258,77	377	170	547	4500	408,75	138,25	0,091	0,031
2 LTO	B2	HE 10X2	10	273476,14	371662,57	73,58	26,42	48761,99	0,13	191	1431,81	255,30	99999,00	305,73	377	170	547	4500	402,49	144,51	0,089	0,032
2 LTO	B2	HE 10X3	10	348581,94	496653,78	70,19	29,81	71991,02	0,14	299	1165,83	240,77	99999,00	358,15	377	170	547	4500	383,92	165,08	0,085	0,036
2 LTO	B2	HE 10X4	10	352819,58	493739,12	71,46	28,54	68445,92	0,14	283	1246,71	241,86	99999,00	340,99	377	170	547	4500	390,88	156,12	0,087	0,035
2 LTO	B2	HE 10X5	10	421945,69	594910,26	70,93	29,07	84134,7	0,14	330	1278,62	254,95	99999,00	330,00	377	170	547	4500	387,96	159,04	0,086	0,035
2 LTO	B2	HE 20X1	20	93091,67	137191,51	67,86	32,14	21624,22	0,16	106	878,22	204,00	114,17	459,65	377	170	547	4500	371,17	175,83	0,082	0,039
2 LTO	B2	HE 20X2	20	56233,95	83362,33	67,46	32,54	13834,69	0,17	64	878,66	216,17	113,44	456,73	377	170	547	4500	368,99	178,01	0,082	0,040
2 LTO	B2	HE 20X3	20	101966,79	147760,21	69,01	30,99	22565,03	0,15	82	1243,50	275,18	82,00	330,15	377	170	547	4500	377,48	169,52	0,084	0,038
2 LTO	B2	HE 20X4	20	105604,67	142051,88	74,34	25,66	19870,25	0,14	89	1186,57	223,26	92,58	372,73	377	170	547	4500	406,65	140,35	0,090	0,031
2 LTO	B2	HE 20X5	20	85581,86	126294,96	67,76	32,24	21585,38	0,17	96	891,48	224,85	112,32	452,21	377	170	547	4500	370,67	176,33	0,082	0,039
2 LTO	B3	HE 10X1	10	351265,92	492860,84	71,27	28,73	64429	0,13	237	1482,13	271,85	99999,00	286,07	460	120	580	4110	413,37	166,63	0,101	0,041
2 LTO	B3	HE 10X2	10	443930,16	594910,26	74,62	25,38	68909,8	0,12	275	1614,29	250,58	99999,00	275,00	460	120	580	4110	432,80	147,20	0,105	0,036
2 LTO	B3	HE 10X3	10	384574,56	535862,65	71,77	28,23	74150,89	0,14	238	1615,86	311,56	99999,00	264,23	460	120	580	4110	416,25	163,75	0,101	0,040
2 LTO	B3	HE 10X4	10	355497,16	492935,59	72,12	27,88	68279,43	0,14	217	1638,24	314,65	99999,00	261,89	460	120	580	4110	418,29	161,71	0,102	0,039
2 LTO	B3	HE 10X5	10	451665,15	594910,26	75,92	24,08	69821,4	0,12	262	1723,91	266,49	99999,00	262,00	460	120	580	4110	440,35	139,65	0,107	0,034
2 LTO	B3	HE 20X1	20	111739,31	147760,21	75,62	24,38	17021,38	0,12	58	1926,54	293,47	58,00	233,52	460	120	580	4110	438,61	141,39	0,107	0,034
2 LTO	B3	HE 20X2	20	89784,19	130423,13	68,84	31,16	18034,85	0,14	63	1425,15	286,27	71,37	287,37	460	120	580	4110	399,28	180,72	0,097	0,044
2 LTO	B3	HE 20X3	20	42598,94	63088,28	67,52	32,48	10721,66	0,17	48	887,48	223,37	112,42	452,63	460	120	580	4110	391,63	188,37	0,095	0,046
2 LTO	B3	HE 20X4	20	93428,65	137283,4	68,06	31,94	22848,01	0,17	88	1061,69	259,64	94,72	381,34	460	120	580	4110	394,72	185,28	0,096	0,045
2 LTO	B3	HE 20X5	20	105446,26	147760,21	71,36	28,64	21505,58	0,15	93	1133,83	231,24	93,00	374,44	460	120	580	4110	413,91	166,09	0,101	0,040
2 LTO	B4	HE 10X1	10	315283,13	432772,61	72,85	27,15	66264,04	0,15	174	1811,97	382,90	99999,00	239,19	320	280	600	4290	437,11	162,89	0,102	0,038
2 LTO	B4	HE 10X2	10	341006,3	508244,08	67,09	32,91	84587,68	0,17	246	1386,20	343,85	99999,00	287,95	320	280	600	4290	402,57	197,43	0,094	0,046
2 LTO	B4	HE 10X3	10	359352,47	537162,99	66,90	33,10	90698,8	0,17	250	1437,41	362,80	99999,00	276,88	320	280	600	4290	401,39	198,61	0,094	0,046
2 LTO	B4	HE 10X4	10	298322,31	427813,46	69,73	30,27	66183,91	0,15	178	1675,97	371,82	99999,00	247,52	320	280	600	4290	418,39	181,61	0,098	0,042
2 LTO	B4	HE 10X5	10	360545,16	485383,45	74,28	25,72	63417,48	0,13	201	1793,76	315,51	99999,00	246,36	320	280	600	4290	445,68	154,32	0,104	0,036
2 LTO	B4	HE 20X1	20	88943,87	125677,14	70,77	29,23	17774,31	0,14	55	1617,16	323,17	64,66	260,35	320	280	600	4290	424,63	175,37	0,099	0,041
2 LTO	B4	HE 20X2	20	61356,18	99608,91	61,60	38,40	17190,62	0,17	66	929,64	260,46	97,90	394,18	320	280	600	4290	369,58	230,42	0,086	0,054
2 LTO	B4	HE 20X3	20	97219,2	147760,21	65,80	34,20	26926,94	0,18	91	1068,34	295,90	91,00	366,38	320	280	600	4290	394,77	205,23	0,092	0,048
2 LTO	B4	HE 20X4	20	101401,06	147760,21	68,63	31,37	23906,85	0,16	75	1352,01	318,76	75,00	301,96	320	280	600	4290	411,75	188,25	0,096	0,044
2 LTO	B4	HE 20X5	20	80683,18	113639,58	71,00	29,00	19145,27	0,17	80	1008,54	239,32	104,02	418,80	320	280	600	4290	426,00	174,00	0,099	0,041

Grup Actuació	Sujeto ID	aum super_f_aliv	superf_totai	%superf_aliv	%superf_inti	superf_inti	inter_c	cont_aliv	esp_aereo	perim_aliv	aliv_campo2	aliv_campo1	peso_pulmo	LIP	PP-LIP	peso_feto	Superf_aliv	total Superf	inters	total ratio	SAT/PI ratio	ST/PI
3 ETO	F1	F1 HE 10X 1	10	476787,7	563705,93	84,58	15,42	46802,15	0,08	186	2563,37	251,62	99999,00	196,30	360	580	940	4670	795,06	144,94	0,170	0,031
3 ETO	F1	F1 HE 10X 2	10	477203,35	570720,68	83,61	16,39	48885,87	0,09	182	2622,00	268,60	99999,00	189,71	360	580	940	4670	785,97	154,03	0,168	0,033
3 ETO	F1	F1 HE 10X 3	10	460946,1	557987,24	82,61	17,39	49848,78	0,09	190	2426,03	262,36	99999,00	202,57	360	580	940	4670	776,52	163,48	0,166	0,035
3 ETO	F1	F1 HE 10X 4	10	498213	594910,26	83,75	16,25	52521,98	0,09	187	2664,24	280,87	99999,00	187,00	360	580	940	4670	787,21	152,79	0,169	0,033
3 ETO	F1	F1 HE 10X 5	10	426859,14	512467,19	83,29	16,71	43969,18	0,09	189	2258,51	232,64	99999,00	219,41	360	580	940	4670	782,97	157,03	0,168	0,034
3 ETO	F1	F1 HE 20X 1	20	60249,44	75359,89	79,95	20,05	9124,4	0,12	47	1281,90	194,14	92,15	371,03	360	580	940	4670	751,52	188,48	0,161	0,040
3 ETO	F1	F1 HE 20X 2	20	126907,9	147760,21	85,89	14,11	14980,87	0,10	59	2150,98	253,91	59,00	237,55	360	580	940	4670	807,34	132,66	0,173	0,028
3 ETO	F1	F1 HE 20X 3	20	113556,92	135071,41	84,07	15,93	14728,86	0,11	45	2523,49	327,17	49,23	198,20	360	580	940	4670	790,27	149,73	0,169	0,032
3 ETO	F1	F1 HE 20X 4	20	128575,92	147760,21	87,02	12,98	13807,24	0,09	50	2571,52	276,14	50,00	201,31	360	580	940	4670	817,96	122,04	0,175	0,026
3 ETO	F1	F1 HE 20X 5	20	68390,03	83347,9	82,05	17,95	9793,31	0,12	43	1590,47	227,75	76,23	306,92	360	580	940	4670	771,30	168,70	0,165	0,036
3 ETO	F2	F2 HE 10X 1	10	418837,95	542542,49	77,20	22,80	23404,49	0,04	34	12318,76	688,37	99999,00	37,28	609	514	1123	6200	866,95	256,05	0,140	0,041
3 ETO	F2	F2 HE 10X 2	10	459782,45	594910,26	77,29	22,71	28478,63	0,05	35	13136,64	813,68	99999,00	35,00	609	514	1123	6200	867,92	255,08	0,140	0,041
3 ETO	F2	F2 HE 10X 3	10	33392,43	465267,47	75,95	24,05	26232,51	0,06	25	14135,70	1053,14	99999,00	31,97	609	514	1123	6200	852,97	270,03	0,138	0,044
3 ETO	F2	F2 HE 10X 4	10	191610,2	260302,72	73,61	26,39	14924,32	0,06	18	10645,01	829,13	99999,00	41,14	609	514	1123	6200	826,65	296,35	0,133	0,048
3 ETO	F2	F2 HE 10X 5	10	463987,2	594910,26	77,99	22,01	27045,94	0,05	33	14060,22	819,57	99999,00	33,00	609	514	1123	6200	875,86	247,14	0,141	0,040
3 ETO	F2	F2 HE 20X 1	20	117126,79	147760,21	79,27	20,73	9414,74	0,06	11	10647,89	855,89	11,00	44,29	609	514	1123	6200	890,18	232,82	0,144	0,038
3 ETO	F2	F2 HE 20X 2	20	114492,94	147760,21	75,46	24,54	10231,64	0,07	16	6968,31	639,48	16,00	64,42	609	514	1123	6200	847,36	275,64	0,137	0,044
3 ETO	F2	F2 HE 20X 3	20	94775,92	115098,99	82,34	17,66	7611,54	0,07	4	23693,98	1902,89	5,14	20,67	609	514	1123	6200	924,71	198,29	0,149	0,032
3 ETO	F2	F2 HE 20X 5	20	120935,81	147760,21	81,85	18,15	9100	0,06	11	10994,16	827,27	11,00	44,29	609	514	1123	6200	203,87	203,87	0,148	0,033
3 ETO	F2	F2 HE 20X 6	20	105083,61	147760,21	71,12	28,88	13182,32	0,09	16	6567,73	823,90	16,00	64,42	609	514	1123	6200	798,65	324,35	0,129	0,052
3 ETO	F3	F3 HE 10X 1	10	490498,52	594910,26	82,45	17,55	39139,16	0,07	48	10218,72	815,40	99999,00	48,00	320	510	830	3580	684,33	145,67	0,191	0,041
3 ETO	F3	F3 HE 10X 2	10	431896,89	540188,72	79,95	20,05	38454,14	0,07	34	12702,85	1131,00	99999,00	37,44	320	510	830	3580	663,61	166,39	0,185	0,046
3 ETO	F3	F3 HE 10X 3	10	424651,03	547361,1	77,58	22,42	36680,69	0,07	65	6533,09	564,32	99999,00	70,65	320	510	830	3580	643,93	186,07	0,180	0,052
3 ETO	F3	F3 HE 10X 4	10	480803,64	594910,26	80,82	19,18	31668,57	0,05	37	12994,69	855,91	99999,00	37,00	320	510	830	3580	670,80	159,20	0,187	0,044
3 ETO	F3	F3 HE 10X 5	10	401222,68	514840,62	77,93	22,07	33828,93	0,07	37	10843,86	914,30	99999,00	42,75	320	510	830	3580	646,83	183,17	0,181	0,051
3 ETO	F3	F3 HE 20X 3	20	123934,75	147760,21	83,88	16,12	11214,49	0,08	13	9533,44	862,65	13,00	52,34	320	510	830	3580	696,17	133,83	0,194	0,037
3 ETO	F3	F3 HE 20X 4	20	62215,28	82273,74	75,62	24,38	10166,14	0,12	9	6912,81	1129,57	16,16	65,08	320	510	830	3580	627,64	202,36	0,175	0,057
3 ETO	F3	F3 HE 20X 5	20	118890,4	147760,21	80,46	19,54	13112,24	0,09	18	6605,02	728,46	18,00	72,47	320	510	830	3580	667,83	162,17	0,187	0,045
3 ETO	F3	F3 HE 20X 6	20	114475,76	147760,21	77,47	22,53	20149,63	0,14	11	10406,89	183,78	11,00	44,29	320	510	830	3580	643,03	186,97	0,180	0,052
3 ETO	F3	F3 HE 20X 7	20	48538,46	67165,73	72,27	27,73	7592,52	0,11	9	5393,16	843,61	19,80	79,72	320	510	830	3580	599,81	230,19	0,168	0,064
3 ETO	F5	F5 HE 10X 1	10	268099,83	512555,62	52,29	47,71	66006,97	0,13	42	6381,90	1571,59	99999,00	48,75	340	630	970	3120	507,26	462,74	0,163	0,148
3 ETO	F5	F5 HE 10X 2	10	36089,12	594910,26	60,63	39,37	64411,38	0,11	46	7841,07	1404,25	99999,00	46,00	340	630	970	3120	588,10	381,90	0,188	0,122
3 ETO	F5	F5 HE 10X 3	10	370539,51	594910,26	62,28	37,72	48569,24	0,08	40	9263,49	1214,23	99999,00	40,00	340	630	970	3120	604,16	365,84	0,194	0,117
3 ETO	F5	F5 HE 10X 4	10	339883,47	594910,26	56,12	43,88	52267,99	0,09	54	6183,03	967,93	99999,00	54,00	340	630	970	3120	544,40	425,60	0,174	0,136
3 ETO	F5	F5 HE 10X 6	10	243998,05	503323,8	48,48	51,52	43188,37	0,09	38	6421,00	1136,54	99999,00	44,91	340	630	970	3120	470,23	499,77	0,151	0,160
3 ETO	F5	F2 HE 20X 1	20	58921,27	129637,67	45,45	54,55	32365,58	0,25	15	3928,08	2157,71	17,10	68,84	340	630	970	3120	440,87	529,13	0,141	0,170
3 ETO	F5	F2 HE 20X 2	20	81110,13	147760,21	54,89	45,11	26555,29	0,18	19	4288,95	1397,65	19,00	76,50	340	630	970	3120	532,46	437,54	0,171	0,140
3 ETO	F5	F2 HE 20X 3	20	67310,56	147760,21	45,55	54,45	36187,88	0,24	15	4487,37	2412,53	15,00	60,39	340	630	970	3120	441,87	528,13	0,142	0,169
3 ETO	F5	F2 HE 20X 4	20	85992,89	147760,21	58,20	41,80	23770,17	0,16	18	4777,38	1320,57	18,00	72,47	340	630	970	3120	564,52	405,48	0,181	0,130
3 ETO	F5	F2 HE 20X 5	20	22616,13	49513,95	45,68	54,32	10063,3	0,20	10	2261,61	1006,33	29,84	120,15	340	630	970	3120	443,06	526,94	0,142	0,169

GrupActuació	Sujeto ID	aumsuperf_alv	superf_total	%superf_alv	%superf_inti	superf_intercratio	inter_i	cont_alv	esp_aereo	perim_alv	alv_campo2	alv_campo1	peso_puimo	LIP	PP+LIP	peso_foto	Superf_alv_total	Superf_inters_total	ratio_SAT	Piratio_S17/PF		
4 CDH	A1	A1 HE 10X 1	10	327135,29	504677,11	64,82	35,18	105327,24	0,21	324	1009,68	325,08	99999,00	381,93	42	5	47	2600	30,47	16,53	0,012	0,006
4 CDH	A1	A1 HE 10X 2	10	342125,09	531598,1	64,36	35,64	107065,54	0,20	349	980,30	306,78	99999,00	390,57	42	5	47	2600	30,25	16,75	0,012	0,006
4 CDH	A1	A1 HE 10X 3	10	336182,99	527217,35	63,77	36,23	109283,33	0,21	342	982,99	319,54	99999,00	385,91	42	5	47	2600	29,97	17,03	0,012	0,007
4 CDH	A1	A1 HE 10X 4	10	386395,63	594910,26	64,95	35,05	115444,98	0,19	309	1250,47	373,61	99999,00	309,00	42	5	47	2600	30,53	16,47	0,012	0,006
4 CDH	A1	A1 HE 10X 5	10	383412,63	594910,26	64,45	35,55	113601,27	0,19	242	1584,35	469,45	99999,00	242,00	42	5	47	2600	30,29	16,71	0,012	0,006
4 CDH	A1	A1 HE 20X 1	20	99104,62	147760,21	63,01	36,99	31848,24	0,22	92	1012,01	346,18	92,00	370,41	42	5	47	2600	29,61	17,39	0,011	0,007
4 CDH	A1	A1 HE 20X 2	20	79516,18	134028,12	59,33	40,67	31306,68	0,23	107	743,14	292,59	117,96	474,94	42	5	47	2600	27,88	19,12	0,011	0,007
4 CDH	A1	A1 HE 20X 3	20	64340,9	108064,51	59,54	40,46	28365,8	0,26	95	677,27	298,59	129,90	522,99	42	5	47	2600	27,98	19,02	0,011	0,007
4 CDH	A1	A1 HE 20X 4	20	50876,5	87989,28	57,82	42,18	23712,56	0,27	87	584,79	272,56	146,10	588,22	42	5	47	2600	27,18	19,82	0,010	0,008
4 CDH	A1	A1 HE 20X 5	20	74958,3	125424,4	59,76	40,24	29494,44	0,24	106	707,15	278,25	124,88	502,78	42	5	47	2600	28,09	18,91	0,011	0,007
4 CDH	A2	A2 HE 10X 1	10	416896,4	539905,93	77,22	22,78	61659,5	0,11	214	1948,11	288,13	99999,00	235,80	70	10	80	4280	61,77	18,23	0,014	0,004
4 CDH	A2	A2 HE 10X 2	10	442174,45	594910,26	74,33	25,67	68190,53	0,11	297	1488,80	229,60	99999,00	297,00	70	10	80	4280	59,46	20,54	0,014	0,005
4 CDH	A2	A2 HE 10X 3	10	229712,66	338134,79	67,94	32,06	49146,25	0,15	190	1209,01	258,66	99999,00	334,28	70	10	80	4280	54,35	25,65	0,013	0,006
4 CDH	A2	A2 HE 10X 4	10	406788,43	594910,26	68,38	31,62	81263,4	0,14	282	1442,51	288,17	99999,00	282,00	70	10	80	4280	54,70	25,30	0,013	0,006
4 CDH	A2	A2 HE 10X 5	10	172991,91	254040,66	68,10	31,90	38521,24	0,15	119	1453,71	323,71	99999,00	278,67	70	10	80	4280	54,48	25,52	0,013	0,006
4 CDH	A2	A2 HE 20X 1	20	97803,61	147760,21	66,19	33,81	20480,73	0,14	70	1397,19	292,58	70,00	281,83	70	10	80	4280	52,95	27,05	0,012	0,006
4 CDH	A2	A2 HE 20X 2	20	87603,4	121255,38	72,25	27,75	16641,67	0,14	67	1307,51	248,38	81,65	328,72	70	10	80	4280	57,80	22,20	0,014	0,005
4 CDH	A2	A2 HE 20X 3	20	80985,89	117303,55	69,04	30,96	17744,32	0,15	59	1372,64	300,75	74,32	299,22	70	10	80	4280	55,23	24,77	0,013	0,006
4 CDH	A2	A2 HE 20X 4	20	88241,49	128349,92	68,75	31,25	18688,62	0,15	79	1116,98	236,49	90,95	366,17	70	10	80	4280	55,00	25,00	0,013	0,006
4 CDH	A2	A2 HE 20X 5	20	104325,41	147760,21	70,60	29,40	18959,93	0,13	67	1557,10	282,97	67,00	269,75	70	10	80	4280	56,48	23,52	0,013	0,005
4 CDH	A4	A4 HE 10X 1	10	292803,12	432047,26	67,77	32,23	72479,24	0,17	218	1343,13	332,47	99999,00	300,18	20	2	22	1150	14,91	7,09	0,013	0,006
4 CDH	A4	A4 HE 10X 2	10	286622,66	434392,48	65,98	34,02	92630,2	0,21	193	1485,09	479,95	99999,00	264,32	20	2	22	1150	14,52	7,48	0,013	0,007
4 CDH	A4	A4 HE 10X 3	10	212489,55	334045,38	63,61	36,39	75282,08	0,23	174	1221,20	432,66	99999,00	309,88	20	2	22	1150	13,99	8,01	0,012	0,007
4 CDH	A4	A4 HE 10X 4	10	346280,71	504238,82	68,67	31,33	106665,54	0,21	179	1934,53	595,90	99999,00	211,19	20	2	22	1150	15,11	6,89	0,013	0,006
4 CDH	A4	A4 HE 10X 5	10	322602,03	471112,17	68,48	31,52	98969,23	0,21	171	1886,56	578,77	99999,00	215,94	20	2	22	1150	15,06	6,94	0,013	0,006
4 CDH	A4	A4 HE 20X 1	20	57154,16	96956,92	58,95	41,05	22147,78	0,23	57	1002,70	388,56	86,87	349,74	20	2	22	1150	12,97	9,03	0,011	0,008
4 CDH	A4	A4 HE 20X 2	20	79078,83	130317,67	60,68	39,32	26904,72	0,21	60	1317,98	448,41	68,03	273,90	20	2	22	1150	13,35	8,65	0,012	0,008
4 CDH	A4	A4 HE 20X 3	20	42199,05	75014,01	56,25	43,75	15946,43	0,21	33	1278,76	483,23	65,00	261,71	20	2	22	1150	12,38	9,62	0,011	0,008
4 CDH	A4	A4 HE 20X 4	20	64911,62	147760,21	43,93	56,07	38620,92	0,26	53	1224,75	728,70	53,00	213,39	20	2	22	1150	9,66	12,34	0,008	0,011
4 CDH	A4	A4 HE 20X 5	20	66845,62	113579,95	58,85	41,15	18270,31	0,16	40	1671,14	456,76	52,04	209,51	20	2	22	1150	12,95	9,05	0,011	0,008
4 CDH	A5	A5 HE 10X 1	10	248357,86	414429,43	59,93	40,07	66167,26	0,16	186	1335,26	355,74	99999,00	267,00	40	0	40	4500	23,97	16,03	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 10X 2	10	316186,62	540131,05	58,54	41,46	78569,29	0,15	233	1357,02	337,21	99999,00	256,63	40	0	40	4500	23,42	16,58	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 10X 3	10	261988,37	453239,74	57,80	42,20	58802,69	0,13	185	1416,15	317,85	99999,00	242,83	40	0	40	4500	23,12	16,88	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 10X 4	10	316158,43	534657,15	59,13	40,87	73878,18	0,14	213	1484,31	346,85	99999,00	237,00	40	0	40	4500	23,65	16,35	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 10X 5	10	307174,8	594910,26	51,63	48,37	80825,31	0,14	169	1817,60	478,26	99999,00	169,00	40	0	40	4500	20,65	19,35	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 20X 1	20	65182,28	147760,21	44,11	55,89	23823,79	0,16	74	880,84	321,94	74,00	297,94	40	0	40	4500	17,65	22,35	0,004	0,005
4 CDH	A5	A5 HE 20X 2	20	72061,96	135049,76	53,36	46,64	27009,16	0,20	72	1000,86	375,13	78,78	317,17	40	0	40	4500	21,34	18,66	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 20X 3	20	63739,73	115879,89	55,00	45,00	21105,87	0,18	71	897,74	297,27	90,53	364,50	40	0	40	4500	22,00	18,00	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 20X 4	20	77653,47	147760,21	52,55	47,45	29138,62	0,20	66	1176,57	441,49	66,00	265,73	40	0	40	4500	21,02	18,98	0,005	0,004
4 CDH	A5	A5 HE 20X 5	20	38790,45	69123,93	56,12	43,88	11479,53	0,17	44	881,60	260,90	94,05	378,68	40	0	40	4500	22,45	17,55	0,005	0,004

Grup Actuació	Sujeto ID	sum_superf_alv	superf_alv	%superf_alv	%superf_alv	intr_super	interc_ratio	inter_c	cont_alv	esp_aereo	perim_alv	alv_campo2	alv_campo1	peso_pulmo	LIP	PP-LIP	peso_feto	Superf_alv_total	Superf_inters_total	ratio_SAT/PI	ratio_S17/PI
5 CDH LTO C1	C1 HE 10X 1	10	348368,58	524523,47	66,42	33,58	9884,37	0,19	130	2679,76	760,33	99999,00	147,44	230	100	330	4000	219,17	110,83	0,055	0,028
5 CDH LTO C1	C1 HE 10X 2	10	347200,22	594910,26	58,36	41,64	128796,04	0,22	156	2225,64	825,62	99999,00	156,00	230	100	330	4000	192,59	137,41	0,048	0,034
5 CDH LTO C1	C1 HE 10X 3	10	361981,72	594910,26	60,85	39,15	114760,64	0,19	176	2056,71	652,05	99999,00	176,00	230	100	330	4000	200,79	129,21	0,050	0,032
5 CDH LTO C1	C1 HE 10X 4	10	408962,79	594910,26	68,74	31,26	120624,71	0,20	169	2419,90	713,76	99999,00	169,00	230	100	330	4000	226,85	103,15	0,057	0,026
5 CDH LTO C1	C1 HE 10X 5	10	354360,29	594910,26	59,57	40,43	123118,8	0,21	169	2096,81	728,51	99999,00	169,00	230	100	330	4000	196,57	133,43	0,049	0,033
5 CDH LTO C1	C1 HE 20X 1	20	76729,76	147760,21	51,93	48,07	50417,6	0,34	98	782,96	514,47	98,00	394,57	230	100	330	4000	171,36	158,64	0,043	0,040
5 CDH LTO C1	C1 HE 20X 2	20	82750,66	140159,89	59,04	40,96	35981,49	0,26	59	1402,55	609,86	62,20	250,43	230	100	330	4000	194,83	135,17	0,049	0,034
5 CDH LTO C1	C1 HE 20X 3	20	74681,17	110767	67,42	32,58	24149,21	0,22	39	1914,90	619,21	52,02	209,46	230	100	330	4000	222,49	107,51	0,056	0,027
5 CDH LTO C1	C1 HE 20X 4	20	107481,49	147760,21	72,74	27,26	34267,57	0,23	59	1821,72	580,81	59,00	237,55	230	100	330	4000	240,04	89,96	0,060	0,022
5 CDH LTO C1	C1 HE 20X 5	20	100588,86	147760,21	68,08	31,92	39523,49	0,27	76	1323,54	520,05	76,00	305,99	230	100	330	4000	224,65	105,35	0,056	0,026
5 CDH LTO C2	C2 HE 10X 1	10	408405,31	594910,26	68,65	31,35	116396,62	0,20	181	2256,38	643,08	99999,00	181,00	160	75	235	3440	161,33	73,67	0,047	0,021
5 CDH LTO C2	C2 HE 10X 2	10	396501,77	521340,08	76,05	23,95	69061,62	0,13	173	2291,92	399,20	99999,00	197,41	160	75	235	3440	178,73	56,27	0,052	0,016
5 CDH LTO C2	C2 HE 10X 3	10	417966,59	594910,26	70,26	29,74	79476,9	0,13	188	2223,23	422,75	99999,00	188,00	160	75	235	3440	165,10	69,90	0,048	0,020
5 CDH LTO C2	C2 HE 10X 4	10	438189,16	564905,38	77,57	22,43	6084,53	0,11	148	2960,74	411,10	99999,00	155,86	160	75	235	3440	182,29	52,71	0,053	0,015
5 CDH LTO C2	C2 HE 10X 5	10	436553,04	594910,26	73,38	26,62	75090,15	0,13	167	2614,09	449,64	99999,00	167,00	160	75	235	3440	172,45	62,55	0,050	0,018
5 CDH LTO C2	C2 HE 20X 1	20	109932,41	138689,02	79,27	20,73	17240,54	0,12	60	1832,21	287,34	63,92	257,37	160	75	235	3440	186,27	48,73	0,054	0,014
5 CDH LTO C2	C2 HE 20X 2	20	110737,72	147760,21	74,94	25,06	20218,52	0,14	54	2050,70	374,42	54,00	217,41	160	75	235	3440	176,12	58,88	0,051	0,017
5 CDH LTO C2	C2 HE 20X 3	20	106971,25	147760,21	72,40	27,60	26959,96	0,18	77	1389,24	350,13	77,00	310,02	160	75	235	3440	170,13	64,87	0,049	0,019
5 CDH LTO C2	C2 HE 20X 4	20	114097,51	147760,21	77,22	22,78	27072,05	0,18	73	1562,98	370,85	73,00	293,91	160	75	235	3440	181,46	53,54	0,053	0,016
5 CDH LTO C2	C2 HE 20X 5	20	112898,14	147760,21	76,41	23,59	26805,57	0,18	77	1466,21	348,12	77,00	310,02	160	75	235	3440	179,55	55,45	0,052	0,016
5 CDH LTO C3	C3 HE 10X 1	10	474133,03	557547,1	85,04	14,96	39742,99	0,07	54	8780,24	735,98	99999,00	57,62	130	105	235	2980	199,84	35,16	0,067	0,012
5 CDH LTO C3	C3 HE 10X 2	10	489495,92	594910,26	82,28	17,72	48346,38	0,08	83	5897,54	582,49	99999,00	83,00	130	105	235	2980	193,36	41,64	0,065	0,014
5 CDH LTO C3	C3 HE 10X 3	10	431933,87	594910,26	72,60	27,40	64171,26	0,11	139	3107,44	461,66	99999,00	139,00	130	105	235	2980	170,62	64,38	0,057	0,022
5 CDH LTO C3	C3 HE 10X 4	10	340467,34	480973,98	70,79	29,21	55695,4	0,12	127	2680,85	438,55	99999,00	157,08	130	105	235	2980	166,35	68,65	0,056	0,023
5 CDH LTO C3	C3 HE 10X 5	10	413859,63	594910,26	69,57	30,43	74793,63	0,13	173	2392,25	432,33	99999,00	173,00	130	105	235	2980	163,48	71,52	0,055	0,024
5 CDH LTO C3	C3 HE 20X 1	20	103584,19	147760,21	70,10	29,90	20619,29	0,14	59	1755,66	349,48	59,00	237,55	130	105	235	2980	164,74	70,26	0,055	0,024
5 CDH LTO C3	C3 HE 20X 2	20	112391	146803,85	76,56	23,44	19665,19	0,13	52	2161,37	378,14	52,34	210,73	130	105	235	2980	179,91	55,09	0,060	0,018
5 CDH LTO C3	C3 HE 20X 3	20	108344,05	146803,85	73,80	26,20	22117,16	0,15	46	2355,31	480,81	46,30	186,41	130	105	235	2980	173,43	61,57	0,058	0,021
5 CDH LTO C3	C3 HE 20X 4	20	114212,35	146803,85	77,80	22,20	19276,67	0,13	41	2785,67	470,16	41,27	166,15	130	105	235	2980	182,83	52,17	0,061	0,018
5 CDH LTO C3	C3 HE 20X 5	20	118386,85	146803,85	80,64	19,36	13558,49	0,09	34	3481,97	398,78	34,22	137,78	130	105	235	2980	189,51	45,49	0,064	0,015
5 CDH LTO C4	C4 HE 10X 1	10	444308,6	561388,78	79,14	20,86	48278,7	0,09	131	3391,67	368,54	99999,00	138,82	280	220	500	3610	395,72	104,28	0,110	0,029
5 CDH LTO C4	C4 HE 10X 2	10	454901,11	594910,26	76,47	23,53	50826,54	0,09	110	4135,46	462,06	99999,00	110,00	280	220	500	3610	382,33	117,67	0,106	0,033
5 CDH LTO C4	C4 HE 10X 3	10	449342,99	594910,26	75,53	24,47	47485,1	0,08	106	4239,08	447,97	99999,00	106,00	280	220	500	3610	377,66	122,34	0,105	0,034
5 CDH LTO C4	C4 HE 10X 4	10	43250,89	594910,26	72,83	27,17	52965,68	0,09	113	3834,08	468,72	99999,00	113,00	280	220	500	3610	364,13	135,87	0,101	0,038
5 CDH LTO C4	C4 HE 10X 5	10	416732,03	594910,26	70,05	29,95	60639,09	0,10	147	2834,91	412,51	99999,00	147,00	280	220	500	3610	350,25	149,75	0,097	0,041
5 CDH LTO C4	C4 HE 20X 1	20	99316,18	132196,2	75,13	24,87	18313,61	0,14	40	2482,90	457,84	44,71	180,01	280	220	500	3610	375,64	124,36	0,104	0,034
5 CDH LTO C4	C4 HE 20X 2	20	113679,9	146803,85	77,44	22,56	22114,83	0,15	51	2229,02	433,62	51,33	206,67	280	220	500	3610	387,18	112,82	0,107	0,031
5 CDH LTO C4	C4 HE 20X 3	20	106472,95	146803,85	72,53	27,47	24147,41	0,16	55	1935,87	439,04	55,36	222,88	280	220	500	3610	362,64	137,36	0,100	0,038
5 CDH LTO C4	C4 HE 20X 4	20	115763,72	146803,85	78,86	21,14	17974,19	0,12	35	3307,53	513,55	35,23	141,83	280	220	500	3610	394,28	105,72	0,109	0,029
5 CDH LTO C4	C4 HE 20X 5	20	103219,98	146803,85	70,31	29,69	22636,18	0,15	60	1720,33	377,27	60,39	243,14	280	220	500	3610	351,56	148,44	0,097	0,041

Grup Actuació	Sujeto ID	arm superf_alv	superf_total	%superf_alv	%superf_intu	superf_intu	inter_ratio	inter_cont_alv	est_sereo	perim_alv	alv_campo2	alv_campo1	peso_pulmo	LIP	PP-LIP	peso_feto	Superf_alv_total	Superf_inters_total	ratio_SAT/Pratio_SIT/PP		
6 CDH ETO D1	D1 HE 10X1	10	385132,64	526778,59	73,11	26,89	67244,79	0,13	219	1758,60	307,05	99999,00	247,32	350	130	480	2100	350,93	129,07	0,167	0,061
6 CDH ETO D1	D1 HE 10X2	10	449946,17	594910,26	75,63	24,37	63713,11	0,11	184	2445,36	346,27	99999,00	184,00	350	130	480	2100	363,04	116,96	0,173	0,056
6 CDH ETO D1	D1 HE 10X3	10	285904,99	385023,71	74,26	25,74	47793,54	0,12	153	1868,66	312,38	99999,00	236,40	350	130	480	2100	356,43	123,57	0,170	0,059
6 CDH ETO D1	D1 HE 10X4	10	390122,6	513523,86	75,97	24,03	60700,21	0,12	177	2204,08	342,94	99999,00	205,05	350	130	480	2100	364,65	115,35	0,174	0,055
6 CDH ETO D1	D1 HE 10X5	10	459041,39	594910,26	77,16	22,84	69652,52	0,12	204	2250,20	341,43	99999,00	204,00	350	130	480	2100	370,37	109,63	0,176	0,052
6 CDH ETO D1	D1 HE 20X1	20	108748,84	146803,85	74,08	25,92	20590,42	0,14	54	2013,87	381,30	54,35	218,83	350	130	480	2100	355,57	124,43	0,169	0,059
6 CDH ETO D1	D1 HE 20X2	20	115428,93	146803,85	78,63	21,37	19563,86	0,13	52	2219,79	376,23	52,34	210,73	350	130	480	2100	377,41	102,59	0,180	0,049
6 CDH ETO D1	D1 HE 20X3	20	11232,67	146803,85	76,45	23,55	2103,14	0,14	71	1556,79	292,11	72,47	291,77	350	130	480	2100	366,96	113,04	0,175	0,054
6 CDH ETO D1	D1 HE 20X4	20	113363,87	146803,85	77,22	22,78	20063,11	0,14	71	1596,67	288,58	71,46	287,72	350	130	480	2100	370,66	109,34	0,177	0,052
6 CDH ETO D1	D1 HE 20X6	20	114270,22	146803,85	77,84	22,16	22921,53	0,16	71	1609,44	322,84	71,46	287,72	350	130	480	2100	373,63	106,37	0,178	0,051
6 CDH ETO D3	D3 HE 10X1	10	301885,17	440577,56	68,52	31,48	92432,11	0,21	51	5919,32	1812,39	99999,00	68,87	240	200	440	3920	301,49	138,51	0,077	0,035
6 CDH ETO D3	D3 HE 10X2	10	334574,74	474743,9	70,47	29,53	82014,01	0,17	41	8160,36	2000,34	99999,00	51,38	240	200	440	3920	310,09	129,91	0,079	0,033
6 CDH ETO D3	D3 HE 10X3	10	349903,26	510033,32	68,49	31,51	116463,84	0,23	62	5633,92	1878,45	99999,00	77,07	240	200	440	3920	301,34	138,66	0,077	0,035
6 CDH ETO D3	D3 HE 10X4	10	347024,65	470869,75	73,70	26,30	91736,81	0,19	95	3689,19	972,75	99999,00	117,95	240	200	440	3920	321,84	118,16	0,082	0,030
6 CDH ETO D3	D3 HE 20X1	20	101632,97	146803,85	69,23	30,77	41314,66	0,28	23	4418,82	1796,29	23,15	93,21	240	200	440	3920	304,61	135,39	0,078	0,035
6 CDH ETO D3	D3 HE 20X2	20	58950,18	78701,51	74,90	25,10	25179,17	0,32	13	4534,63	1936,86	24,41	98,27	240	200	440	3920	329,58	110,42	0,084	0,028
6 CDH ETO D3	D3 HE 20X3	20	107855,88	146803,85	73,47	26,53	42838,36	0,29	48	2247,00	892,47	48,31	194,52	240	200	440	3920	323,27	116,73	0,082	0,030
6 CDH ETO D3	D3 HE 20X4	20	122711,46	146803,85	83,59	16,41	21499,95	0,15	9	13634,61	2388,88	9,06	36,47	240	200	440	3920	367,79	72,21	0,094	0,018
6 CDH ETO D3	D3 HE 20X5	20	120240,87	146803,85	81,91	18,09	22685,42	0,15	10	12024,09	2268,54	10,07	40,52	240	200	440	3920	360,39	79,61	0,092	0,020
6 CDH ETO D4	D4 HE 10X1	10	374728,95	594910,26	62,99	37,01	133321,07	0,22	41	9139,73	3251,73	99999,00	41,00	220	220	440	3340	277,15	162,85	0,083	0,049
6 CDH ETO D4	D4 HE 10X2	10	385320,18	594910,26	64,77	35,23	93498,59	0,16	28	13761,44	3339,24	99999,00	28,00	220	220	440	3340	284,99	155,01	0,085	0,046
6 CDH ETO D4	D4 HE 10X3	10	343866,89	594910,26	57,80	42,20	93430,92	0,16	37	9293,70	2525,16	99999,00	37,00	220	220	440	3340	254,33	185,67	0,076	0,056
6 CDH ETO D4	D4 HE 10X4	10	324418,81	594910,26	54,53	45,47	110959,38	0,19	42	7724,26	2641,89	99999,00	42,00	220	220	440	3340	239,94	200,06	0,072	0,060
6 CDH ETO D4	D4 HE 10X6	10	354098	594910,26	59,52	40,48	78111,48	0,13	45	7868,84	1735,81	99999,00	45,00	220	220	440	3340	261,89	178,11	0,078	0,053
6 CDH ETO D4	D4 HE 20X1	20	100732,94	146803,85	68,62	31,38	28573,86	0,19	8	12591,62	3571,73	8,05	32,42	220	220	440	3340	301,92	138,08	0,090	0,041
6 CDH ETO D4	D4 HE 20X2	20	89333,57	146803,85	60,85	39,15	31398,68	0,21	9	9925,95	3488,74	9,06	36,47	220	220	440	3340	267,75	172,25	0,080	0,052
6 CDH ETO D4	D4 HE 20X3	20	87438,75	146803,85	59,56	40,44	23810,19	0,16	15	5829,25	1587,35	15,10	60,79	220	220	440	3340	262,07	177,93	0,078	0,053
6 CDH ETO D4	D4 HE 20X4	20	90519,48	146803,85	61,66	38,34	15563,18	0,11	11	8229,04	1414,83	11,07	44,58	220	220	440	3340	271,30	168,70	0,081	0,051
6 CDH ETO D5	D5 HE 10X2	10	375983,6	594910,26	53,86	46,14	121260,77	0,20	152	2108,19	797,77	99999,00	152,00	270	363	633	4060	308,91	131,09	0,092	0,039
6 CDH ETO D5	D5 HE 10X3	10	379843,65	594910,26	63,85	36,15	66351,71	0,11	91	4174,11	729,14	99999,00	91,00	270	363	633	4060	404,16	228,84	0,100	0,056
6 CDH ETO D5	D5 HE 10X4	10	314549,11	594910,26	52,87	47,13	121233,32	0,20	104	3024,51	1165,72	99999,00	104,00	270	363	633	4060	334,69	298,31	0,082	0,073
6 CDH ETO D5	D5 HE 10X5	10	275759,75	514927,16	53,55	46,45	10181,43	0,20	107	2577,19	945,62	99999,00	123,62	270	363	633	4060	338,99	294,01	0,083	0,072
6 CDH ETO D5	D5 HE 20X1	20	90411,22	146803,85	61,59	38,41	38329,26	0,26	36	2511,42	1068,70	36,23	145,89	270	363	633	4060	389,84	243,16	0,096	0,060
6 CDH ETO D5	D5 HE 20X2	20	88729,66	146803,85	60,44	39,56	40747,28	0,28	34	2609,70	1198,45	34,22	137,78	270	363	633	4060	382,59	250,41	0,094	0,062
6 CDH ETO D5	D5 HE 20X3	20	89274,43	146803,85	60,81	39,19	34821,62	0,24	38	2349,33	916,36	38,25	153,99	270	363	633	4060	384,94	248,06	0,095	0,061
6 CDH ETO D5	D5 HE 20X4	20	86162,19	146803,85	58,69	41,31	40898,72	0,28	24	3590,09	1704,11	24,16	97,26	270	363	633	4060	371,52	261,48	0,092	0,064
6 CDH ETO D5	D5 HE 20X5	20	86563,29	146803,85	58,97	41,03	35918,1	0,24	36	2404,54	997,73	36,23	145,89	270	363	633	4060	373,25	259,75	0,092	0,064

CODEBOOK

Grupo	Grupo al que pertenece la muestra
Actuación	Intervenciones en el grupo en cuestión
Sujeto	Sujeto de estudio
ID	Identificación de la muestra
aumentos	aumentos de la imagen
superf_alv	area en μm^2
superf_total	area total del campo en μm^2
%superf_alv	porcentaje de superficie alveolar ($\text{superf_alv} \cdot 100 / \text{superf_total}$)
%superf_inters	porcentaje de superficie intersticial ($100 - \% \text{superf_alv}$)
super_interc	superficie de intercambio gaseoso (perímetro del área alveolar) (μm)
ratio_inter_area	ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de estudio ($\text{super_interc} / \text{superf_total}$)
cont_alv	número de alveolos
esp_aereo	superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)
perim_alv	Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)
alv_campo20x	alveolos por campo a un aumento de 20X
alv_campo10x	alveolos por campo en un aumento de 10X
peso_pulmon	peso del pulmón de la oveja en gramos
LIP	líquido intrapulmonar
PP+LIP	peso seco del pulmón + lip = peso pulmonar total
peso_feto	peso del feto en gramos
Superf_alv_total	superficie alveolar total en relación con el tamaño pulmonar en gramos.
Superf_inters_total	superficie intersticial total en relación con el tamaño pulmonar en gramos.
ratio_SAT/PF	ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto
ratio_SIT/PF	ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

TABLA 27: Base de datos se EXCEL con su CODEBOOK de todos los datos morfométricos estudiados para cada una de las muestras de los diferentes grupos.

Análisis de resultados

- Superficie alveolar por campo: se calculó la superficie alveolar por campo de cada una de las muestras ponderándolas como porcentaje del área estudiada del campo estimando la cantidad de **espacio aéreo por muestra**.

El estudio estadístico no demostró diferencias entre los grupos sin y con CDH (Tablas 28 y 29).

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.9418
	B: TO 105EG Pulmón Normal	-5.4e+03	(-7.6e+04; 6.5e+04)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	6943.105	(-6.3e+04; 7.7e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1606.90 ; AIC model= 3219.81 ; BIC model= 3228.17

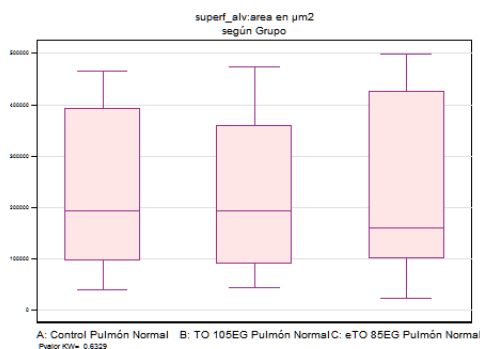


TABLA 28: Porcentaje de espacio aéreo por campo en las muestras de los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

VARIABLE	Coficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo D: HDC Control	0		0.1407
E: HDC TO 105EG	6.4e+04	(1191.725; 1.3e+05)	
F: HDC eTO 85EG	3.2e+04	(-3.1e+04; 9.5e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1593.26 ; AIC model= 3192.53 ; BIC model= 3200.89

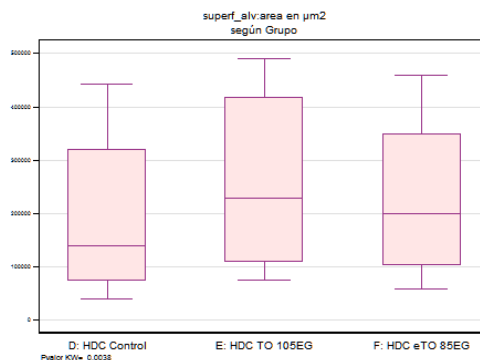


TABLA 29: Porcentaje de espacio aéreo por campo en las muestras de los grupos con CDH (D,E y F).

En la comparación por grupos con y sin CDH con la misma actuación quirúrgica tampoco se hallaron diferencias significativas.

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

VARIABLE	Coficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo A: Control Pulmón Normal	0		0.1753
D: HDC Control	-4.5e+04	(-1.1e+05; 1.9e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1063.68 ; AIC model= 2131.37 ; BIC model= 2136.13

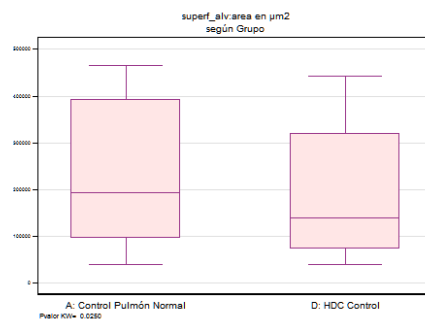


TABLA 30: Porcentaje de espacio aéreo por campo en las muestras de los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.4824
	E: HDC TO 105EG	2.5e+04	(-4.4e+04; 9.3e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1069.48 ; AIC model= 2142.97 ; BIC model= 2147.73

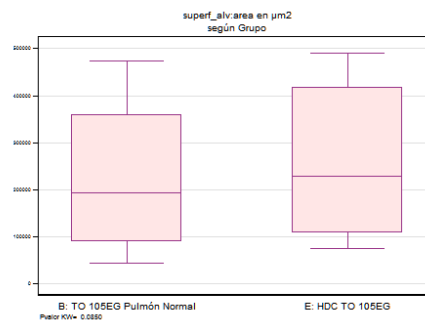


TABLA 31: Porcentaje de espacio aéreo por campo en las muestras de los grupos B y E.

Comparación grupo E (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.5729
	F: HDC eTO 85EG	-1.9e+04	(-8.6e+04; 4.8e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1067.56 ; AIC model= 2139.11 ; BIC model= 2143.88

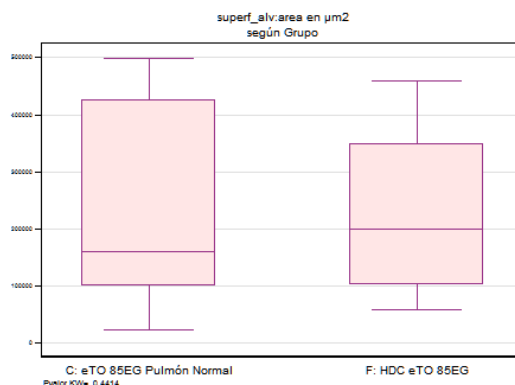


TABLA 32: Porcentaje de espacio aéreo por campo en las muestras de los grupos E y F.

- Superficie intersticial por campo: equivalente a la cantidad de **tejido intersticial** en el campo estudiado. Fue el porcentaje complementario a la superficie alveolar.

El tejido intersticial pareció disminuir en progresivamente con la oclusión traqueal en los grupos sin CDH con $p=0.05$ (Tabla 33) y en los grupos con CDH con $p=0.00$ (Tabla 34) con respecto a sus controles.

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

VARIABLE	Coficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo A: Control Pulmón Normal	0		0.0536
B: TO 105EG Pulmón Normal	-2.304	(-5.878; 1.270)	
C: eTO 85EG Pulmón Normal	-4.466	(-8.041;-0.892)	

1: Normal approximation

LL model= -420.60 ; AIC model= 847.19 ; BIC model= 855.56

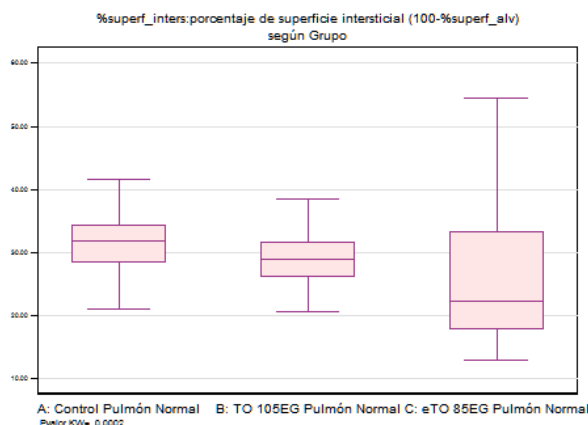


TABLA 33: Proporción de tejido intersticial por campo en los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-10.020	(-13.356;-6.683)	
	F: HDC eTO 85EG	-5.504	(-8.840;-2.168)	

1: Normal approximation

LL model= -412.33 ; AIC model= 830.65 ; BIC model= 839.01

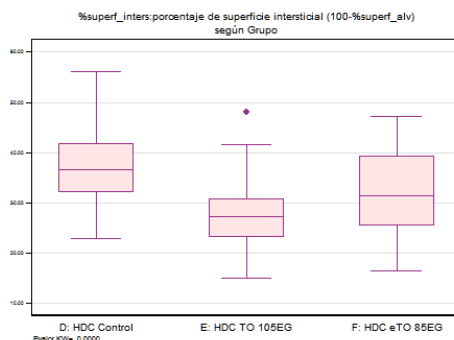


TABLA 34: Proporción de tejido intersticial por campo en los grupos con CDH (D, E y F).

Al comparar los grupos sin y con CDH observamos que la hernia diafragmática condicionó un mayor porcentaje de tejido intersticial en los controles y en los grupos con ETO (C y F) (Tablas 35 y 37).

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	6.557	(3.792; 9.323)	

1: Normal approximation

LL model= -259.87 ; AIC model= 523.73 ; BIC model= 528.50

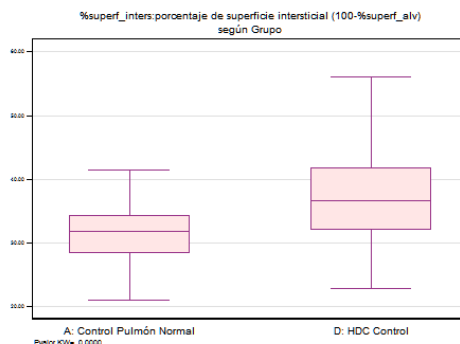


TABLA 35: Proporción de tejido intersticial por campo en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.3490
	E: HDC TO 105EG	-1.158	(-3.567; 1.251)	

1: Normal approximation

LL model= -248.84 ; AIC model= 501.67 ; BIC model= 506.44

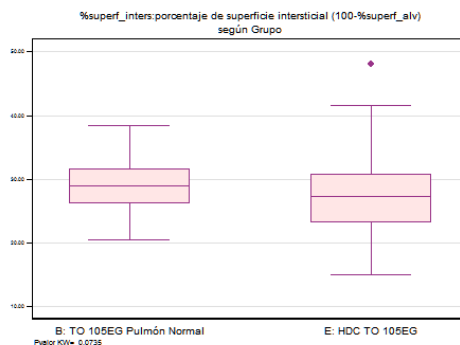


TABLA 36: Proporción de tejido intersticial por campo en los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0250
	F: HDC eTO 85EG	5.520	(0.786;10.254)	

1: Normal approximation

LL model= -302.87 ; AIC model= 609.75 ; BIC model= 614.51

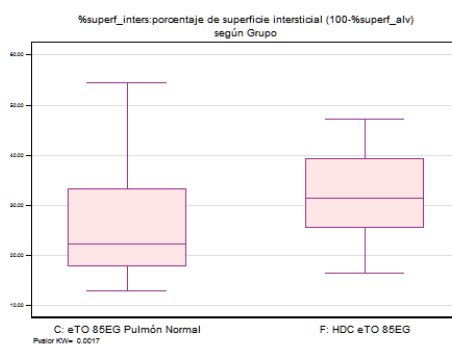


TABLA 37: Proporción de tejido intersticial por campo en los grupos C y F.

- Ratio Intercambio gaseoso por área estudiada: correspondió a la suma de los perímetros alveolares (superficie de intercambio gaseoso) en relación con el área estudiada. Refleja el **espacio de intercambio gaseoso**.

La oclusión traqueal disminuyó el espacio de intercambio gaseoso de manera significativa en los grupos sin CDH (Tabla 38) y en los grupos con CDH exceptuando el F (CDH + ETO) (Tabla 39).

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
B: TO 105EG Pulmón Normal	-0.015	(-0.032; 0.002)	
C: eTO 85EG Pulmón Normal	-0.060	(-0.077;-0.043)	

1: Normal approximation

LL model= 222.75 ; AIC model= -439.50 ; BIC model= -431.13

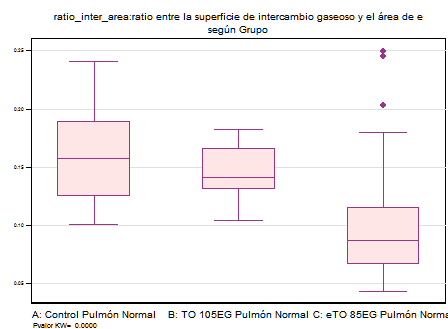


TABLA 38: Relación entre el área de intercambio gaseoso por campo en los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo D: HDC Control	0		0.0170
E: HDC TO 105EG	-0.029	(-0.052;-0.005)	
F: HDC eTO 85EG	0.002	(-0.021; 0.026)	

1: Normal approximation

LL model= 183.51 ; AIC model= -361.01 ; BIC model= -352.65

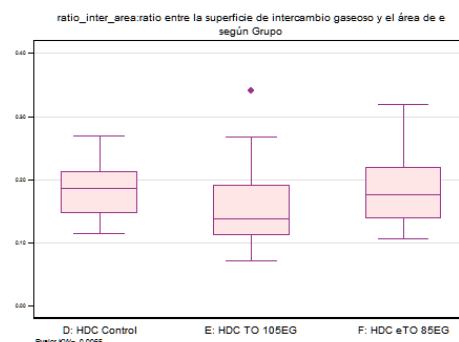


TABLA 39: Relación entre el área de intercambio gaseoso por campo en los grupos con CDH (D, E y F).

La CDH incrementó de manera significativa el espacio de intercambio gaseoso en los controles y en la oclusión precoz (Tablas 40 y 42). No en la oclusión tardía (Tabla 41).

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0123
	D: HDC Control	0.023	(0.005; 0.041)	

1: Normal approximation

LL model= 143.45 ; AIC model= -282.90 ; BIC model= -278.13

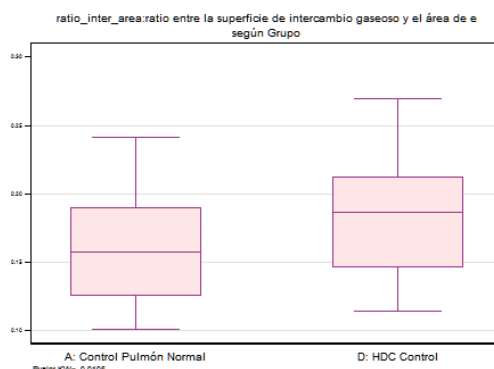


TABLA 40: Relación entre el área de intercambio gaseoso por campo en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.3204
	E: HDC TO 105EG	0.010	(-0.009; 0.029)	

1: Normal approximation

LL model= 137.17 ; AIC model= -270.35 ; BIC model= -265.58

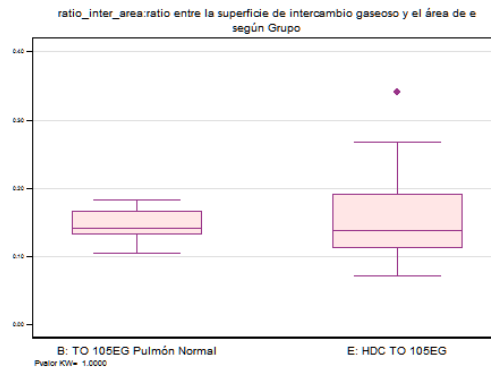


TABLA 41: Relación entre el área de intercambio gaseoso por campo en los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0000
	F: HDC eTO 85EG	0.086	(0.062; 0.109)	

1: Normal approximation

LL model= 122.34 ; AIC model= -240.68 ; BIC model= -235.92

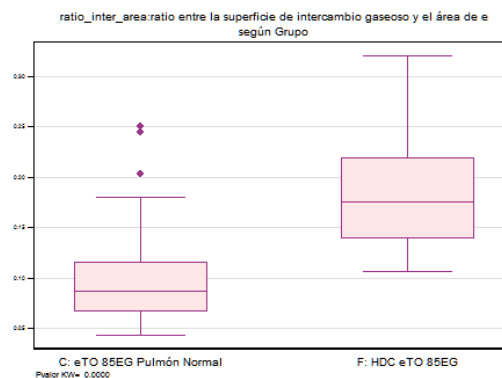


TABLA 42: Relación entre el área de intercambio gaseoso por campo en los grupos E y F.

- Alveolos por campo: las **unidades alveolares** estudiadas (ver apartado 8 de Material y Métodos) mostraron un claro descenso por campo tanto en los grupos sin y con CDH (Tablas 43 y 44).

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	-156.116	(-194.091;-118.141)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	-399.712	(-437.687;-361.737)	

1: Normal approximation

LL model= -704.18 ; AIC model= 1414.36 ; BIC model= 1422.72

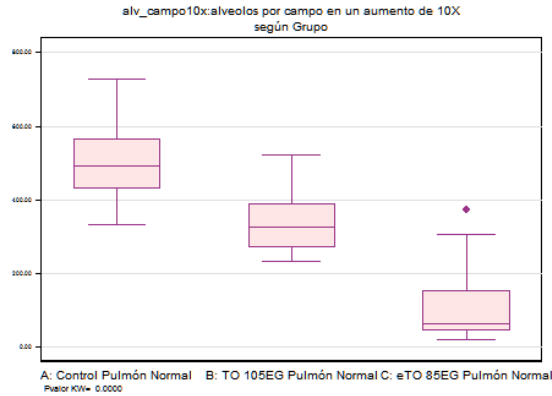


TABLA 43: Unidades alveolares por campo en los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

	VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-122.433	(-157.568;-87.298)	
	F: HDC eTO 85EG	-191.507	(-226.642;-156.372)	

1: Normal approximation

LL model= -694.85 ; AIC model= 1395.70 ; BIC model= 1404.06

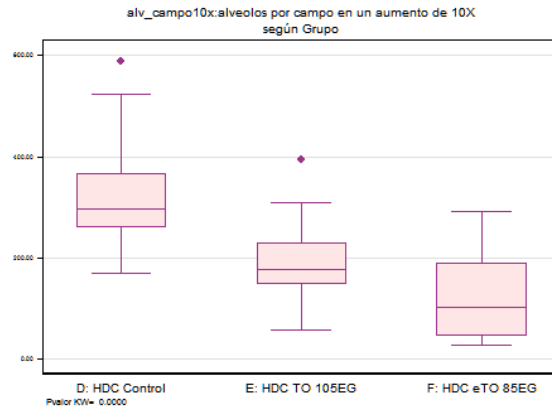


TABLA 44: Unidades alveolares por campo en los grupos con CDH (D, E y F).

Cuando comparamos entre los grupos con y sin CDH observamos que en presencia de CDH el número de alveolos por campo disminuyó de manera significativa y la tendencia fue progresivamente mayor en relación con el tiempo de oclusión traqueal (Tabla 45). Este dato es congruente con la

percepción de una menor ramificación del árbol bronquial en presencia de CDH (hipoplasia pulmonar) y con un estímulo de este “branching” mediante la oclusión traqueal. Sin embargo, la diferencia en el número de unidades alveolares no fue significativa para oclusiones precoces (ETO) con o sin CDH.

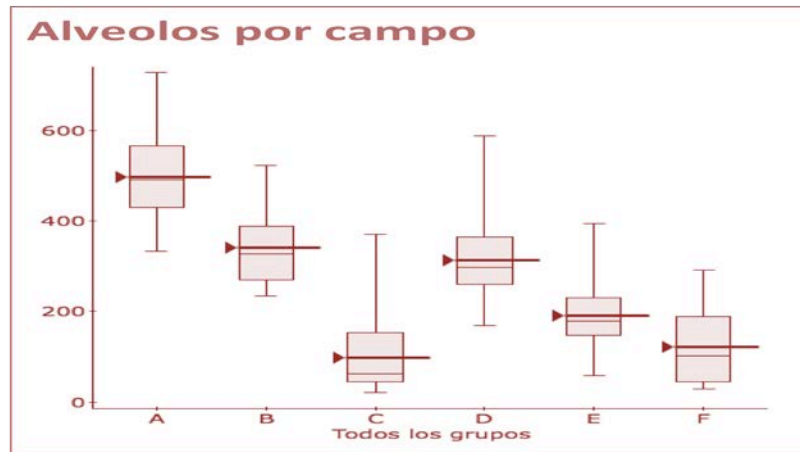


TABLA 45: Comparación entre grupos sin y con CDH de las unidades alveolares por campo.

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

	VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	-183.706	(-223.806;-143.606)	

1: Normal approximation

LL model= -473.81 ; AIC model= 951.62 ; BIC model= 956.38

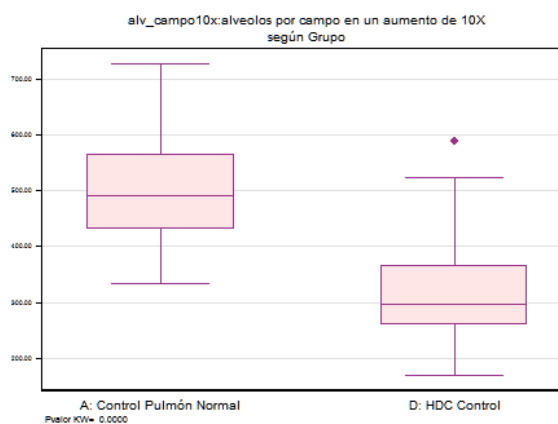


TABLA 46: Unidades alveolares por campo en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-150.023	(-183.008;-117.038)	

1: Normal approximation

LL model= -458.18 ; AIC model= 920.36 ; BIC model= 925.13

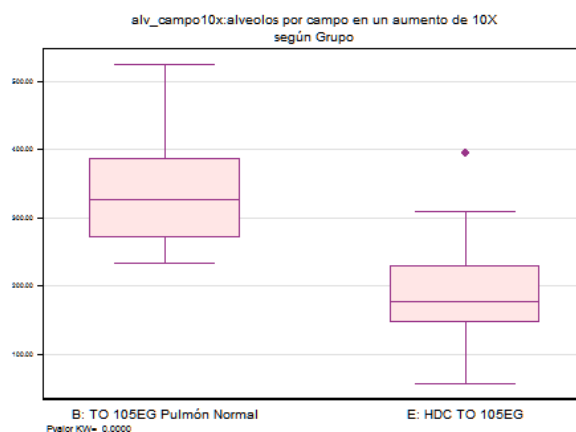


TABLA 47: Unidades alveolares por campo en los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.1900
	F: HDC eTO 85EG	24.499	(-11.817;60.815)	

1: Normal approximation

LL model= -465.88 ; AIC model= 935.76 ; BIC model= 940.52

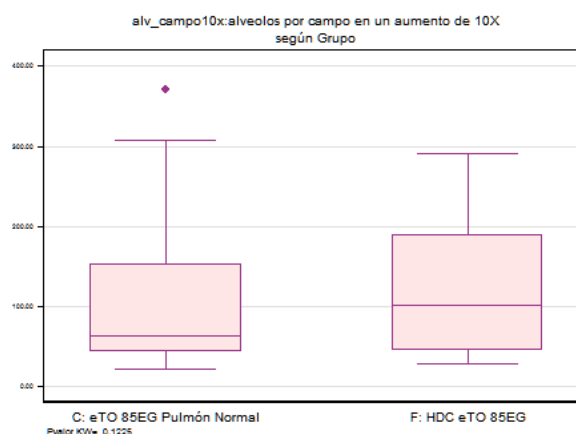


TABLA 48: Unidades alveolares por campo en los grupos C y F.

- Área media alveolar: el **tamaño de las unidades alveolares** fue en aumento con la oclusión traqueal tanto en los grupos sin como con CDH (Tablas 49 y 50).

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	453.428	(-753.926;1660.782)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	6486.619	(5279.265;7693.973)	

1: Normal approximation

LL model= -1119.29 ; AIC model= 2244.58 ; BIC model= 2252.94

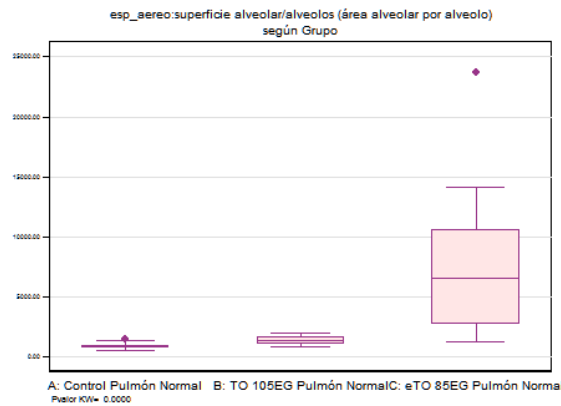


TABLA 49: Comparación del área media alveolar entre los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	1361.045	(305.804;2416.285)	
	F: HDC eTO 85EG	4067.171	(3011.931;5122.412)	

1: Normal approximation

LL model= -1103.13 ; AIC model= 2212.26 ; BIC model= 2220.62

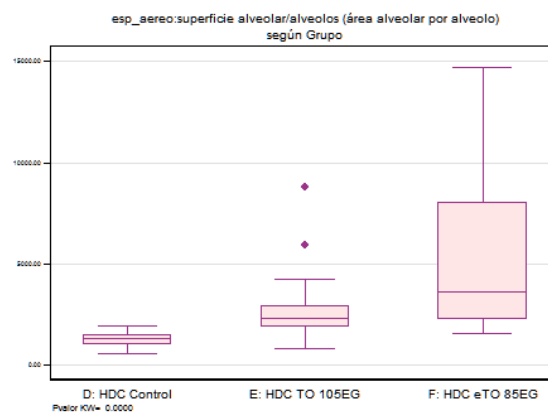


TABLA 50: Comparación del área media alveolar entre los grupos con CDH (D, E y F).

Las unidades alveolares fueron más grandes en los grupos con CDH salvo para la oclusión precoz, que resultaron ser más pequeños (Tabla 53).

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	403.124	(278.501;527.747)	

1: Normal approximation

LL model= -564.52 ; AIC model= 1133.04 ; BIC model= 1137.81

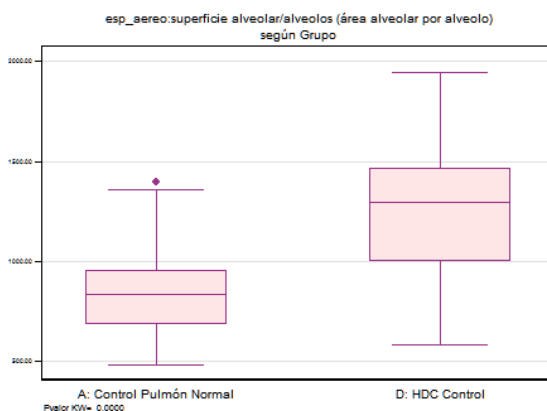


TABLA 51: Comparación del área media alveolar entre los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	1310.741	(872.944;1748.538)	

1: Normal approximation

LL model= -665.04 ; AIC model= 1334.08 ; BIC model= 1338.84

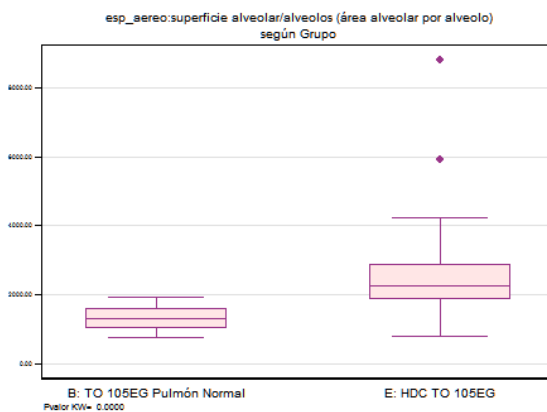


TABLA 52: Comparación del área media alveolar entre los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0419
	F: HDC eTO 85EG	-2.0e+03	(-3.9e+03;-105.915)	

1: Normal approximation

LL model= -782.90 ; AIC model= 1569.81 ; BIC model= 1574.57

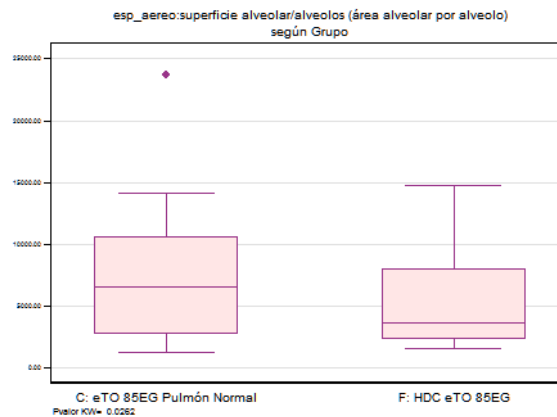


TABLA 53: Comparación del área media alveolar entre los grupos C y F.

Todos los grupos:

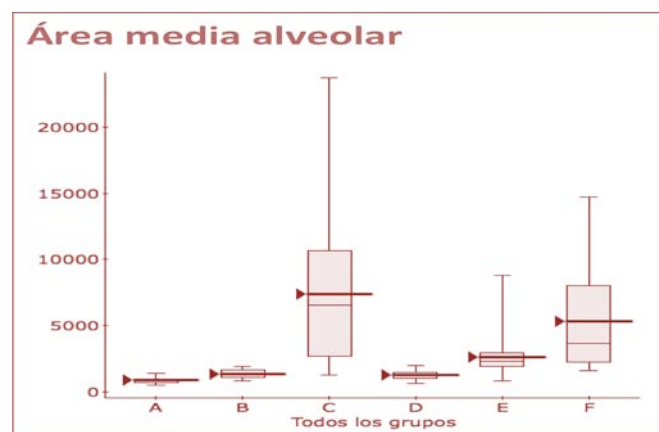


TABLA 54: Comparación entre grupos con y sin CDH del tamaño de los alveolos.

- Perímetro medio alveolar: tanto en los grupos sin CDH como en los que se les creó la CDH el **perímetro medio de los alveolos** (superficie de intercambio gaseoso) fue aumentando en relación con el tiempo de oclusión traqueal (Tabla 55 y 56), hecho congruente con el aumento del tamaño alveolar documentado en el apartado anterior.

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	70.581	(-68.241;209.404)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	713.119	(574.296;851.942)	

1: Normal approximation

LL model= -859.73 ; AIC model= 1725.46 ; BIC model= 1733.82

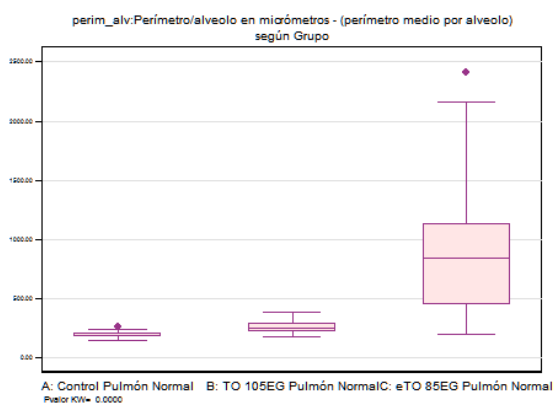


TABLA 55: Perímetro medio de los alveolos por campo en los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos sin CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	130.018	(-134.241;394.276)	
	F: HDC eTO 85EG	1097.913	(833.655;1362.171)	

1: Normal approximation

LL model= -936.98 ; AIC model= 1879.96 ; BIC model= 1888.32

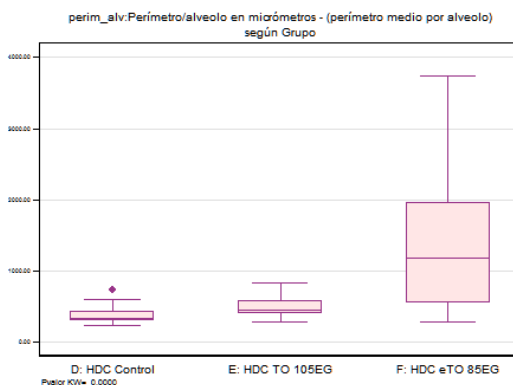


TABLA 56: Perímetro medio de los alveolos por campo en los grupos con CDH (D, E y F).

El perímetro alveolar apareció aumentado en los grupos con CDH, hecho que podría reflejar que una depleción del líquido intrapulmonar en estos grupos condicione una falta de repleción de los complejos alveolares con un aumento de la superficie de intercambio (Tablas 57-60).

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	173.100	(138.952;207.249)	

1: Normal approximation

LL model= -460.95 ; AIC model= 925.91 ; BIC model= 930.67

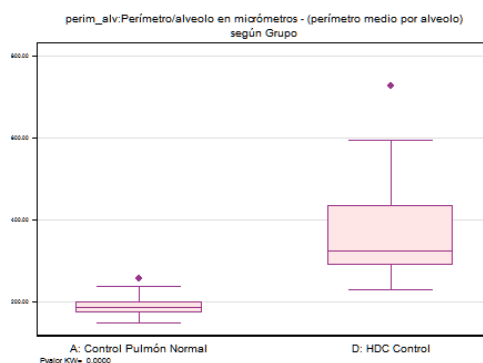


TABLA 57: Perímetro medio de los alveolos por campo en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	232.537	(188.658;276.415)	

1: Normal approximation

LL model= -481.01 ; AIC model= 966.02 ; BIC model= 970.79

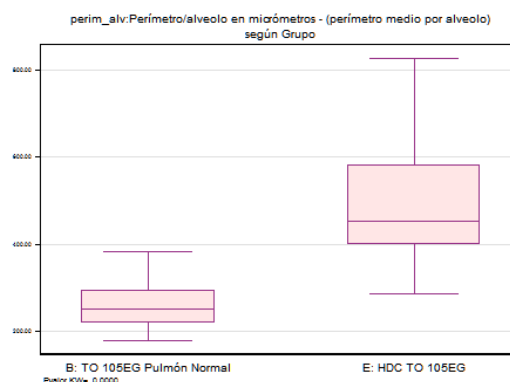


TABLA 58: Perímetro medio de los alveolos por campo en los grupos B y E.

Comparación grupo C (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0034
	F: HDC eTO 85EG	557.894	(196.557;919.232)	

1: Normal approximation

LL model= -649.68 ; AIC model= 1303.37 ; BIC model= 1308.13

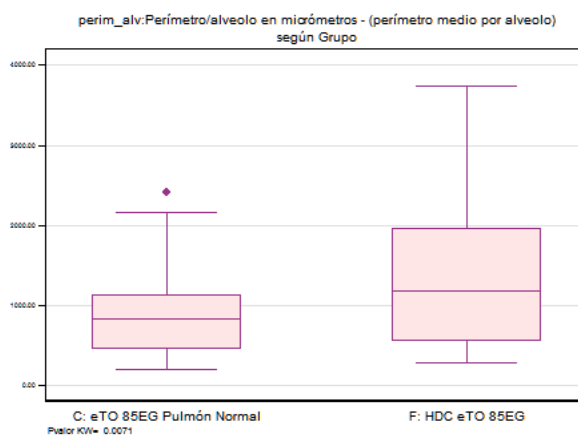


TABLA 59: **Perímetro medio de los alveolos por campo en los grupos C y F.**

Todos los grupos:

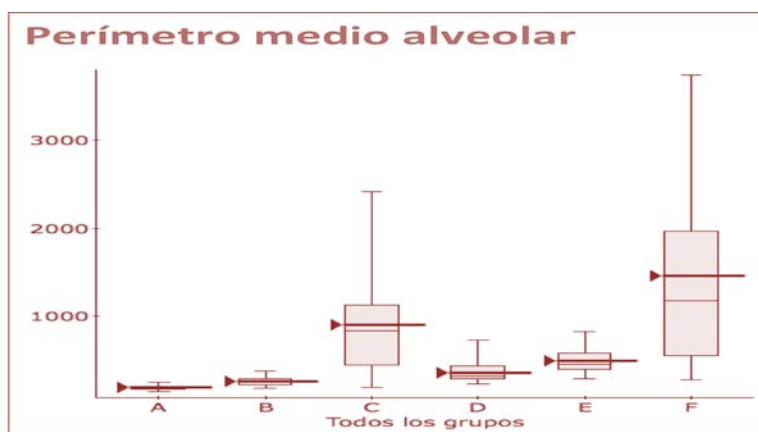


TABLA 60: **Relación del perímetro medio alveolar entre los grupos sin y con CDH.**

- *Ratio Superficie Alveolar Total / Peso del feto:* una vez obtenida una estimación de la superficie alveolar total para cada pulmón, ponderando la superficie alveolar (porcentaje) con el peso total del pulmón en cuestión (ver tabla 27 y apartado 8 de Materiales y Métodos) se demostró que el **espacio aéreo total de los**

pulmones se incrementaba significativamente en relación con el tiempo de oclusión traqueal tanto en presencia como en ausencia de CDH cuando lo ponderamos con el peso fetal para eliminar la variabilidad fisiológica en los pesos de los fetos (Tablas 61 y 62). En otras palabras, el líquido intrapulmonar que ocupa el espacio que postnatalmente será espacio aéreo se incrementó proporcionalmente con la oclusión traqueal.

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

	VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	0.059	(0.053; 0.065)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0.132	(0.126; 0.138)	

1: Normal approximation

LL model= 346.42 ; AIC model= -686.83 ; BIC model= -678.47

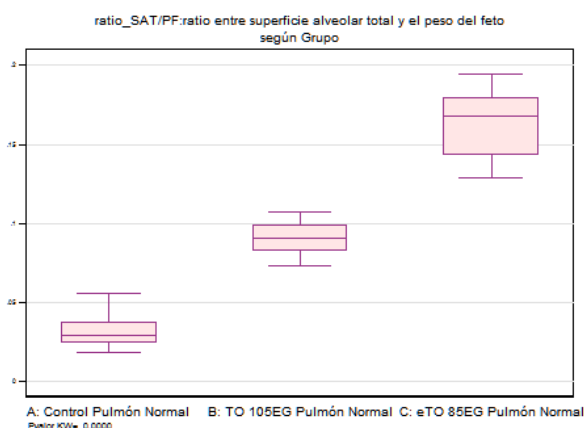


TABLA 61: Superficie alveolar de todo el pulmón en relación con el peso del feto en los grupos sin CDH (A, B y C).

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

	VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	0.056	(0.045; 0.068)	
	F: HDC eTO 85EG	0.097	(0.086; 0.109)	

1: Normal approximation

LL model= 268.41 ; AIC model= -530.83 ; BIC model= -522.46

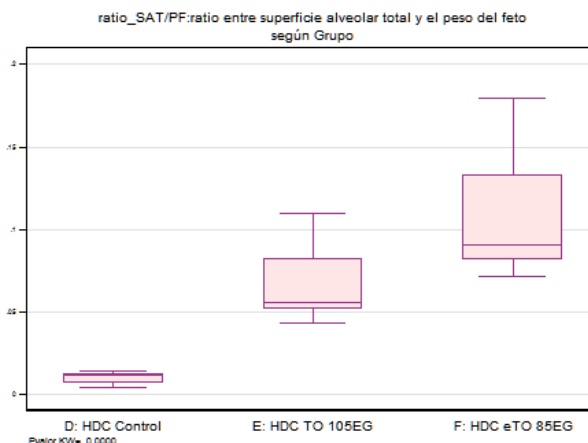


TABLA 62: Superficie alveolar de todo el pulmón en relación con el peso del feto en los grupos con CDH (D, E y F).

Al comparar los grupos sin y con CDH se observó que estos últimos tenían menos espacio aéreo total, con un incremento menos acentuado en relación con el tiempo de oclusión traqueal (Tablas 63-66). Puede ser una traducción de la menor producción de líquido intrapulmonar en los sujetos con CDH.

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

	VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	-0.021	(-0.024;-0.018)	

1: Normal approximation

LL model= 279.22 ; AIC model= -554.44 ; BIC model= -549.68

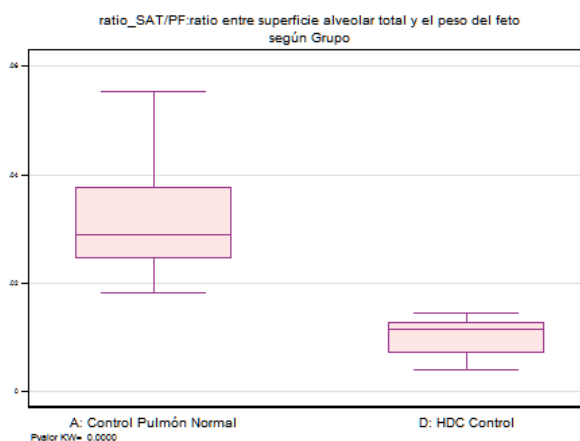


TABLA 63: Superficie alveolar de todo el pulmón en relación con el peso del feto en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-0.024	(-0.031;-0.016)	

1: Normal approximation

LL model= 212.61 ; AIC model= -421.22 ; BIC model= -416.46

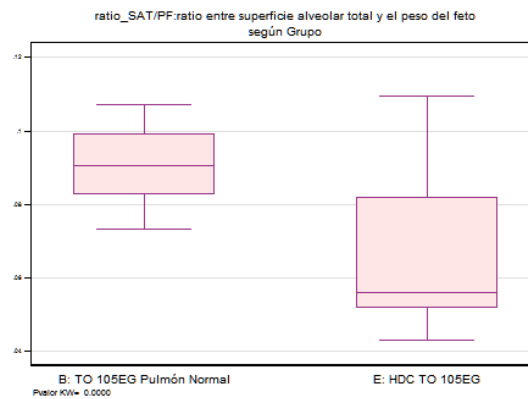


TABLA 64: Superficie alveolar de todo el pulmón en relación con el peso del feto en los grupos B y E.

Comparación grupo E (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0000
	F: HDC eTO 85EG	-0.056	(-0.070;-0.043)	

1: Normal approximation

LL model= 165.59 ; AIC model= -327.18 ; BIC model= -322.41

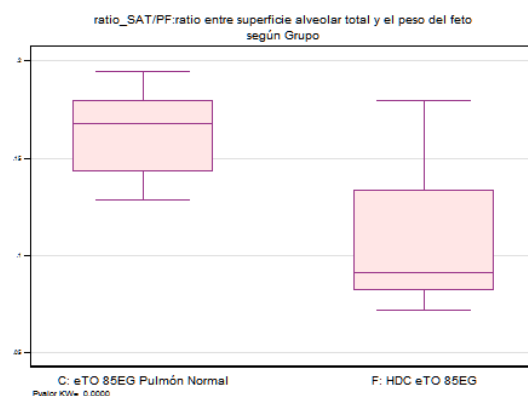


TABLA 65: Superficie alveolar de todo el pulmón en relación con el peso del feto en los grupos E y F.

Todos los grupos:

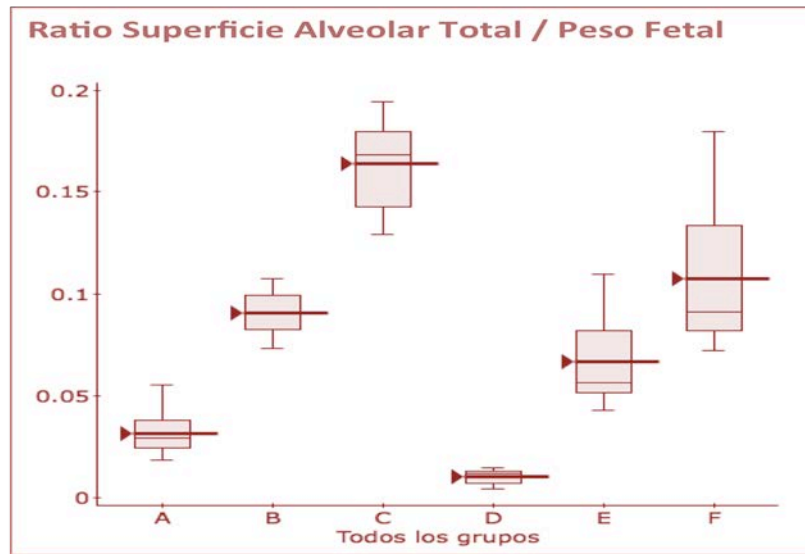


TABLA 66: Diferencias entre el grupo sin CDH y el grupo con CDH en el ratio de superficie alveolar total – peso fetal.

- Ratio Superficie Intersticial Total / Peso del feto: una vez obtenida una estimación de la superficie intersticial total para cada pulmón, ponderando la superficie intersticial (porcentaje) con el peso total del pulmón en cuestión (ver tabla 27 y apartado 8 de Materiales y Métodos) se demostró que el **tejido parenquimatoso** de los pulmones se incrementaba significativamente en relación con el tiempo de oclusión traqueal tanto en presencia como en ausencia de CDH cuando lo ponderamos con el peso fetal para eliminar la variabilidad fisiológica en los pesos de los fetos (Tablas 67 y 68). Esto demostró que el tejido pulmonar también crece en relación con el tiempo de oclusión traqueal, y no sólo el espacio aéreo o líquido intrapulmonar.

Grupos sin CDH (A, B y C):

Number of obs = 120

	VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	0.023	(0.010; 0.035)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0.053	(0.041; 0.065)	

1: Normal approximation

LL model= 260.12 ; AIC model= -514.23 ; BIC model= -505.87

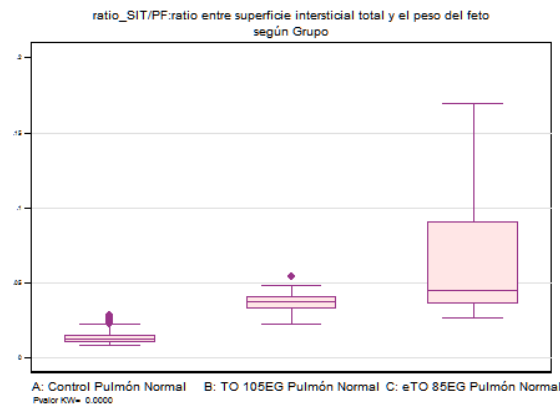


TABLA 67: Tejido parenquimatoso pulmonar total ponderado por el peso del feto en los grupos sin CDH.

Grupos con CDH (D, E y F):

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	0.019	(0.015; 0.024)	
	F: HDC eTO 85EG	0.044	(0.040; 0.048)	

1: Normal approximation

LL model= 389.89 ; AIC model= -773.78 ; BIC model= -765.42

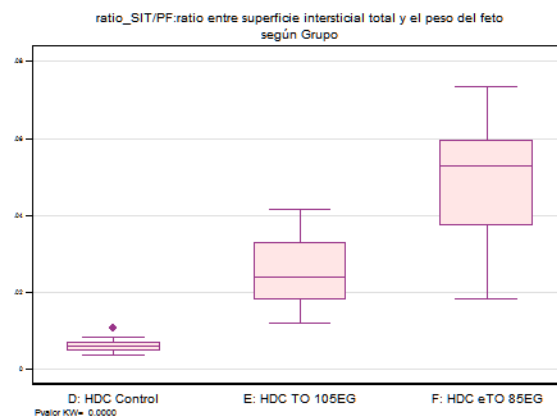


TABLA 68: Tejido parenquimatoso pulmonar total ponderado por el peso del feto en los grupos con CDH.

Al comparar los grupos sin y con CDH se observó que el tejido parenquimatoso pulmonar total en los grupos con CDH era significativamente menor que el de los grupos sin CDH (Tablas 69-72), hecho congruente con la teoría de un menor desarrollo del tejido pulmonar en los fetos con CDH.

Comparación grupo A (Control) con grupo D (CDH):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	-0.009	(-0.010;-0.007)	

1: Normal approximation

LL model= 323.54 ; AIC model= -643.09 ; BIC model= -638.32

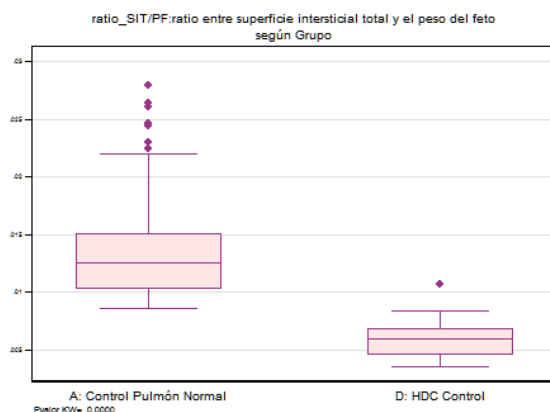


TABLA 69: Tejido parenquimatoso pulmonar total ponderado por el peso del feto en los grupos A y D.

Comparación grupo B (LTO) con grupo E (CDH + LTO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-0.012	(-0.015;-0.008)	

1: Normal approximation

LL model= 277.26 ; AIC model= -550.52 ; BIC model= -545.76

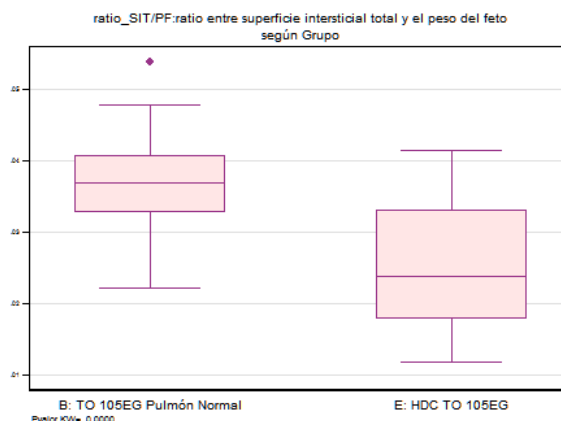


TABLA 70: Tejido parenquimatoso pulmonar total ponderado por el peso del feto en los grupos B y E.

Comparación grupo E (ETO) con grupo F (CDH + ETO):

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0270
	F: HDC eTO 85EG	-0.018	(-0.033;-0.002)	

1: Normal approximation

LL model= 155.25 ; AIC model= -306.51 ; BIC model= -301.74

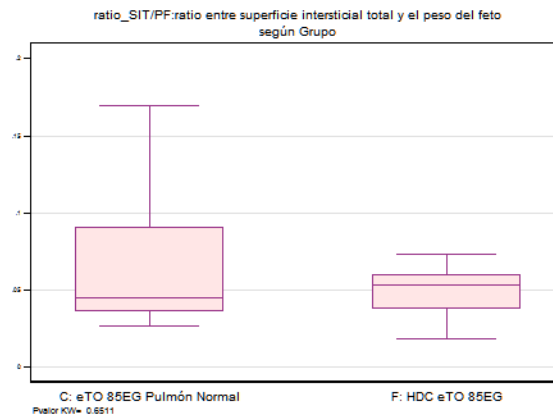


TABLA 71: Tejido parenquimatoso pulmonar total ponderado por el peso del feto en los grupos E y F.

Todos los grupos:

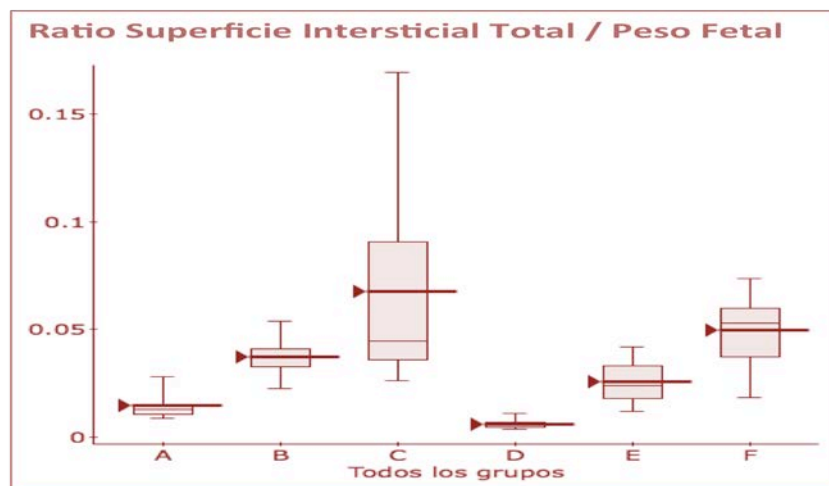


TABLA 72: Comparación del tejido pulmonar ponderado con el peso fetal entre los grupos sin y con CDH.

8.4. Resumen de los resultados

Haciendo una recopilación de la información relatada anteriormente y considerando sólo las comparaciones estadísticamente significativas, según resume la tabla 73, podemos afirmar los siguientes resultados:

Los efectos de la oclusión traqueal en los grupos sin y con CDH fueron:

- Un aumento en el tamaño fetal para los grupos sin CDH.
- El volumen pulmonar total, del líquido intrapulmonar, del espacio aéreo total y del parénquima pulmonar total aumentó en todos los grupos, sin y con CDH, para las oclusiones tardías (LTO) y tempranas (ETO) en relación al control de cada grupo (A y D respectivamente).
- El espacio aéreo total del pulmón creció de manera significativa con la oclusión traqueal en los dos brazos del estudio (sin y con CDH). Las diferencias entre la ETO y la LTO también fueron significativas en los dos grupos.
- El tejido pulmonar total creció de manera significativa con la oclusión traqueal en los dos grupos (sin y con CDH). Las diferencias entre ETO y LTO también fueron significativas en los dos brazos del estudio.
- Para la misma área de estudio en las muestras histológicas (mismo campo y mismos aumentos), la superficie alveolar no aumentó significativamente, pero el volumen intersticial sí disminuyó proporcionalmente con la LTO y la ETO.
- El número de alveolos por campo disminuyó significativamente para las oclusiones traqueales precoz y tardía en ambos brazos del estudio (sin y con CDH), y su tamaño y perímetro siguieron la misma tendencia.
- La superficie de intercambio gaseoso por campo, contrariamente, disminuyó proporcionalmente con la oclusión tardía y precoz en los dos brazos del estudio.
- No se hallaron diferencias significativas en el peso de los corazones y de los hígados con la oclusión traqueal.

EFECTOS DE LA OCLUSIÓN TRAQUEAL			Grupos sin CDH				Grupos con CDH			
Estudio	Variable	Estimación	A-Control	B-LTO	C-ETO	p	D-CDH	E-CDH+LTO	F-CDH+ETO	p
Tamaño fetal	ratio PF/EG*	Tamaño del feto	21.3 (19.9;24.0)	31.1 (25.8;32.6)	32.3 (28.6;40.3)	0.04	25.5 (13.92;31.6)	25.6 (23.9;26.5)	26.6 (19.5;30.2)	0.98
Tamaño del pulmón	ratio PPT/PF*	Volumen pulmonar total	0.04 (0.04;0.06)	0.13 (0.11;0.14)	0.22 (0.19;0.23)	<0.01	0.02 (0.01;0.02)	0.08 (0.07;0.11)	0.14 (0.12;0.19)	0.01
	ratio PP/PFS*	Volumen del parénquima pulmonar	0.03 (0.03;0.05)	0.09 (0.08;0.10)	0.10 (0.09;0.11)	0.02	0.02 (0.01;0.02)	0.05 (0.05;0.07)	0.07 (0.07;0.013)	0.01
	ratio LIP/PFS*	Volumen de líquido intrapulmonar	0.00 (0.00;0.01)	0.03 (0.02;0.05)	0.15 (0.12;0.17)	<0.01	0.00 (0.00;0.00)	0.03 (0.02;0.05)	0.07 (0.06;0.08)	<0.01
Espacio aéreo	Superficie Alveolar x campo**	Espacio aéreo por campo	0	-5.4e+03 (-7.6e+04; 6.5e+04)	6943.105 (-6.3e+04; 7.7e+04)	0.94	0	6.4e+04 (1191.725; 1.3e+05)	3.2e+04 (-3.1e+04; 9.5e+04)	0.14
	ratio SAT/PF**	Espacio aéreo total del pulmón	0	0.059 (0.053; 0.065)	0.132 (0.126; 0.138)	<0.01	0	0.056 (0.045; 0.068)	0.097 (0.086; 0.109)	<0.01
	Ratio intercambio gaseoso campo**	Superficie de intercambio gaseoso por campo	0	-0.015 (-0.032; 0.002)	-0.060 (-0.077; 0.043)	<0.01	0	-0.029 (-0.052; -0.005)	0.002 (-0.021; 0.026)	0.01
Intersticio	Superficie intersticial por campo**	Tejido intersticial por campo	0	-2.304 (-5.878; 1.270)	-4.466 (-8.041; -0.892)	0.05	0	-10.020 (-13.356; -6.683)	-5.504 (-8.840; -2.168)	<0.01
	ratio SIT/PF**	Volumen del Parénquima pulmonar total	0	0.023 (0.010; 0.035)	0.053 (0.041; 0.065)	<0.01	0	0.019 (0.015; 0.024)	0.044 (0.040; 0.048)	<0.01
Tipo de unidades alveolares	Alveolos por campo**	Unidades alveolares por campo	0	-156.116 (-194.091; -118.141)	-399.712 (-437.687; -361.737)	<0.01	0	-122.433 (-157.568; -87.298)	-191.507 (-226.642; -156.372)	<0.01
	Área media alveolar**	Tamaño de los alveolos	0	453.428 (-753.926; 1660.782)	6486.619 (5279.265; 7693.973)	<0.01	0	1361.045 (305.804; 2416.285)	4067.171 (3011.931; 5122.412)	<0.01
	Perímetro medio alveolar**	Superficie de intercambio gaseoso por alveolo	0	70.581 (-68.241; 209.404)	713.119 (574.296; 851.942)	<0.01	0	130.018 (-134.241; 394.276)	1097.913 (833.655; 1362.171)	<0.01
Otros datos	ratio PC/PF*	Tamaño del corazón	0.01 (0.01;0.01)	0.01 (0.01;0.01)	0.01 (0.00;0.01)	0.79	0.01 (0.01;0.01)	0.01 (0.01;0.01)	0.01 (0.01;0.01)	0.98
	ratio PH/PF*	Tamaño del hígado	0.02 (0.02;0.03)	0.03 (0.02;0.03)	0.03 (0.03;0.03)	0.38	0.03 (0.03;0.03)	0.03 (0.03;0.04)	0.04 (0.03;0.06)	0.16

TABLA 73: Resumen de las variables anatómicas y morfométricas estudiadas comparando el efecto de la oclusión traqueal en los grupos con pulmón normal (A, B y C) y en los grupos con CDH. Se detalla la significancia estadística según la prueba utilizada. *Kruskal-Wallis test. **Regresión multivariante. CDH: hernia diafragmática congénita. En negrita se marca los resultados estadísticamente significativos. Significancia estadística si p<0.05.

Los efectos de la Hernia Diafragmática Congénita sobre los grupos de estudio (Tabla 74), comparando aquellos que recibieron la misma actuación quirúrgica, fueron:

- Los volúmenes totales de los pulmones y del parénquima pulmonar fue, en general, menor en los sujetos con CDH.
- El espacio aéreo total y el volumen intersticial total fueron menores en los sujetos con CDH, así como la superficie de intercambio gaseoso.
- Los alveolos para el mismo campo histológico eran menos numerosos, más grandes y con más perímetro en los grupos con CDH.
- El porcentaje de tejido intersticial por campo fue superior en los grupos con CDH (salvo los grupos con LTO).

EFECTOS DE LA CDH			COMPARATIVAS PULMÓN NORMAL - CDH								
Estudio	Variable	Estimación	A-Control	D-CDH	p	B-LTO	E-CDH+LTO	p	C-ETO	F-CDH+ETO	p
Tamaño del pulmón	ratio PPT/PF*	Volumen pulmonar total	0.04 (0.04;0.06)	0.02 (0.01;0.02)	0.02	0.13 (0.11;0.14)	0.08 (0.07;0.11)	0.08	0.22 (0.19;0.23)	0.14 (0.12;0.19)	0.08
	ratio PP/PFS*	Volumen del parénquima pulmonar	0.03 (0.03;0.05)	0.02 (0.01;0.02)	0.02	0.09 (0.08;0.10)	0.05 (0.05;0.07)	0.04	0.10 (0.09;0.11)	0.07 (0.07;0.013)	0.24
	ratio LIP/PFS*	Volumen de líquido intrapulmonar	0.00 (0.00;0.01)	0.00 (0.00;0.00)	0.08	0.03 (0.02;0.05)	0.03 (0.02;0.05)	0.77	0.15 (0.12;0.17)	0.07 (0.06;0.08)	0.04
Espacio aéreo	Superficie Alveolar x campo**	Espacio aéreo por campo	0	-4.5e+04 (-1.1e+05;1.9e+04)	0.17	0	2.5e+04 (-4.4e+04;9.3e+04)	0.48	0	-1.9e+04 (-8.6e+04;4.8e+04)	0.57
	ratio SAT/PF**	Espacio aéreo total del pulmón	0	-0.021 (-0.024;-0.018)	<0.01	0	-0.024 (-0.031;-0.016)	<0.01	0	-0.056 (-0.07;-0.043)	<0.01
	Ratio intercambio gaseoso por campo**	Superficie de intercambio gaseoso por campo	0	0.023 (0.005;0.041)	0.01	0	0.01(-0.009;0.029)	0.32	0	0.086 (0.062;0.109)	<0.01
Intersticio	Superficie intersticial por campo**	Tejido intersticial por campo	0	6.55 (3.79;9.32)	<0.01	0	-1.15 (-3.56;1.25)	0.34	0	5.52 (0.78;10.25)	0.02
	ratio SIT/PF**	Volumen del Parénquima pulmonar total	0	-0.009 (-0.010;-0.007)	<0.01	0	-0.012 (-0.015;-0.008)	<0.01	0	-0.018 (-0.033;-0.002)	0.02
Tipo de unidades alveolares	Alveolos por campo**	Unidades alveolares por campo	0	-183.7 (-223.8;-143.6)	<0.01	0	-150.02 (-183;-117.03)	<0.01	0	24.49 (-11.81;60.81)	0.19
	Área media alveolar**	Tamaño de los alveolos	0	403.12 (278.5;527.74)	<0.01	0	1310.74 (872.94;1748.53)	<0.01	0	-2.0e+03 (-3.9e+03;105,91)	0.04
	Perímetro medio alveolar**	Superficie de intercambio gaseoso por alveolo	0	173.1 (138.95;207.24)	<0.01	0	232.53 (188.658;276.41)	<0.01	0	557.89 (196.55;919.33)	<0.01

TABLA 74: Resumen de las variables anatómicas y morfométricas estudiadas comparando el efecto de la hernia diafragmática por parejas (con y sin CDH) entre aquellos grupos con la misma intervención. Se detalla la significancia estadística según la prueba utilizada. *U Mann-whitney test. **Regresión multivariante. CDH: hernia diafragmática congénita. En negrita se marca los resultados estadísticamente significativos. Significancia estadística si $p < 0.05$.

El estudio cualitativo de la histología mostró (sin soporte estadístico):

- Una deplección importante de los neumocitos tipo II en las muestras ocluidas.
- Una replección mayor de las vías aéreas principales en presencia de oclusión traqueal, proporcional al tiempo de oclusión.
- Un aumento de la pared vascular adventicial en las arteriolas en las muestras con CDH y tras la oclusión traqueal precoz en los grupos sin CDH.
- No se hallaron áreas de fibrosis relevante en ninguna de las muestras.
- Sólo en el grupo D (CDH) se hallaron áreas de colapso peri-hiliar.
- No se encontraron procesos descamativos en ninguna de las muestras.
- No se encontraron diferencias en la distribución de las fibras elásticas entre grupos.

- El intersticio se encontró engrosado (mesenquimal) de forma llamativa en los grupos con oclusión precoz, tanto con CDH como sin CDH, y en el grupo D (CDH).
- Todas las muestras se presentaron en fase alveolar salvo un individuo de cada grupo con CDH, que evidenciaba una fase sacular.

Discusión

9.

Discusión

La evolución histórica del tratamiento de la Hernia Diafragmática Congénita (CDH) ha experimentado en las últimas décadas una innovación revolucionaria, la terapia fetal. Mucho antes, después de su descripción a mediados del siglo XIX⁽⁷⁾ y hasta la primera mitad del siglo XX, la mayor preocupación médica en estos pacientes era el cierre del defecto diafragmático⁽¹⁹³⁾ y abundaba el convencimiento de que debía realizarse cuanto antes, mejor⁽⁶⁾. Más tarde se constataron los actuales pilares fisiopatológicos de la CDH, la hipoplasia pulmonar y la hipertensión pulmonar⁽¹⁷⁵⁾. Se entendió que estos pacientes nacían con un hándicap respiratorio y hemodinámico que limitaría sus expectativas de vida y los esfuerzos se centraron en la mejora de la asistencia respiratoria y de la terapia inotrópica⁽¹⁸¹⁾. El defecto diafragmático pasó a un segundo pero importante plano, con el desarrollo de nuevos abordajes quirúrgicos, creación de nuevos materiales sintéticos y dibujando una futura terapia en ingeniería tisular.

Casi simultáneamente, a finales de siglo XX, se pasó del interés en controlar y tratar la hipoplasia pulmonar al nacimiento y los primeros años de vida a un impulso por entender por qué los pulmones eran hipoplásicos y disfuncionales. Los estudios experimentales en animales, gracias a los modelos ya mencionados, gozaron de un gran auge que permitió entender que los pulmones de estos pacientes eran pequeños, con menos ramificaciones bronquiales, con alteraciones vasculares evidentes y condicionaban unas alteraciones cardíacas y hemodinámicas que daban respuesta a la clínica observada en humanos^(121,177,180,184). El crecimiento de estos estudios fue exponencial y sigue siendo motivo de numerosas publicaciones en el presente. La hipoplasia pulmonar, ya sea generada por una CDH o por otro motivo, constituye un caballo de batalla en la clínica neonatológica actual y, pese a sustanciosos avances, todavía constituye una importante fuente de morbilidad y mortalidad en nuestros días.

La experimentación en oclusión traqueal, iniciada ya hace varias décadas⁽¹⁸²⁾, se ha extendido en los últimos 20 años dando denodada evidencia de que los pulmones

ocluídos crecen en gran proporción. Pocos son, sin embargo, los estudios que demuestran que la función de estos pulmones realmente mejora tras la oclusión traqueal. Son más grandes, sí, pero ¿funcionan bien? Esta pregunta es recurrente a lo largo de todo el presente estudio realizado y, sin duda, con este trabajo no podemos llegar a responderla en su totalidad. Sin embargo, es cierto que obtenemos en parte la respuesta gracias a la experiencia en la terapia clínica con la oclusión traqueal a las 26-29 semanas de gestación. Los resultados publicados en términos de supervivencia (que va de la mano con la función respiratoria) muestran una clara evidencia de que estos pulmones crecen y funcionan mejor que aquellos a los que no se les practica esta cirugía con los mismos criterios de inclusión^(4,15).

Parece claro que para que un pulmón cumpla su función es necesaria una barrera alveolo-capilar íntegra, aplanada (neumocitos tipo I) y con capilares de paredes finas para permitir un correcto intercambio gaseoso. Esta es la arquitectura habitual en la fase alveolar del desarrollo pulmonar. Asimismo se necesitan neumocitos tipo II para generar surfactante y regenerar la población de neumocitos tipo I, además de una suficiente área de intercambio gaseoso como para garantizar las necesidades globales de oxígeno. La aparición de un intersticio denso, fibrótico y poco elástico, hará entrever una dificultad en el intercambio gaseoso por tener una barrera alveolo-capilar más engrosada. Los hallazgos de un epitelio cuboidal y un aumento del estroma intersticial son característicos de fases más tempranas del desarrollo pulmonar (sacular, canalicular) y, obviamente, el pulmón no estará todavía preparado para el intercambio gaseoso. Estos hallazgos son los que buscamos en el presente estudio para intentar interpretar si los pulmones obtenidos serán aptos estructuralmente o no para un correcto y suficiente intercambio gaseoso.

Los motivos que favorecen el crecimiento pulmonar son sólo parcialmente conocidos. Sabemos que el pulmón genera sus ramificaciones bronquiales dentro de un estroma pulmonar, acompañadas por el árbol vascular, gracias a la producción de líquido intrapulmonar que impide que las vías aéreas se colapsen y su contenido molecular permite su ramificación o "*branching*", entre otros probables motivos. La presión dentro de las vías aéreas fetales está algo más incrementada que la del líquido

amniótico cuando la glotis está cerrada facilitando que las ramificaciones crezcan dentro del estroma pulmonar⁽¹⁸³⁾. Además del efecto mecánico del aumento de presión dentro del árbol respiratorio en desarrollo (que actualmente creemos que es el único que reproducimos con la oclusión traqueal) se está hipotetizando sobre el papel de otras sustancias proteicas en la señalización y estímulo de la maduración pulmonar, como son los factores de crecimiento, segregados por el epitelio pulmonar. Múltiples estudios relacionan la participación del TGF- β (*transforming growth factor beta*) con la maduración pulmonar⁽¹⁹⁴⁾, así como la del VEGF (*vascular endothelial growth factor*)⁽³¹⁾ con la ramificación del lecho vascular. Otras sustancias se están relacionando con la maduración pulmonar y desarrollo vascular pero, objetivamente, se derivan pocas interpretaciones fisiopatológicas con suficiente evidencia científica. Las aproximaciones proteómicas futuras derivadas de las muestras de este estudio pueden abrir nuevas líneas de investigación. El mapeo de las proteínas más expresadas en el líquido intrapulmonar puede ser relevante para identificar nuevos “*targets*” para la investigación en ciencia básica.

Efectos de la CDH sobre el pulmón:

Nuestros hallazgos fueron plenamente congruentes con los previamente publicados^(17,21,22,38,121,177,181). Tanto el volumen pulmonar total (ratio PPT/PF) como el volumen del parénquima pulmonar (ratio PP/PFS) se mostraron menores en el grupo con CDH respecto al control ($p=0.02$). Una segunda estimación del volumen de parénquima intersticial total derivada del estudio morfométrico (SIT/PF) también fue congruente con las determinaciones previas confirmando un menor volumen de tejido en los sujetos con CDH ($P<0.01$). Los pulmones, en efecto, eran más pequeños en relación al tamaño corporal. El espacio aéreo total que podían albergar estos pulmones (ratio SAT/PF) era menor que en los controles ($p<0.01$). Parece congruente: pulmón de menor tamaño, menos espacio aéreo y menor superficie de intercambio gaseoso.

La observación al microscopio y los estudios morfométricos demostraron que el grupo con CDH presentaba un menor espacio aéreo por campo sin alcanzar la significación

estadística (superficie alveolar por campo $p=0.17$) y poseía un mayor porcentaje de tejido intersticial (superficie intersticial por campo) con $p<0.01$. El parénquima estaba más engrosado, con áreas de colapso y epitelio respiratorio cuboidal en alguno de los sujetos, revelando una fase más inmadura de desarrollo pulmonar (sacular). La superficie de intercambio gaseoso por campo estaba aumentada ($P<0.01$), hecho congruente con la ausencia de repleción de los espacios aéreos que eran menos numerosos (alveolos por campo $P<0.01$), más abigarrados (perímetro medio alveolar $P<0.01$) y más grandes (área media alveolar $P<0.01$). De ello se deduce una menor ramificación bronquial, ya que ésta da lugar a espacios más numerosos y pequeños, bien repleccionados. Las arterias distales se hallaron engrosadas y se apreció un descenso en el número de neumocitos tipo II.

De todo ello se deduce que los pulmones de los sujetos con CDH son más hipoplásicos. Poseen menor volumen, menor tejido pulmonar, una barrera alveolo-capilar más engrosada, menor espacio aéreo y un estadio evolutivo más inmaduro. El aumento del grosor de los vasos arteriales, a expensas de su capa arterial media, explicaría también la hipertensión pulmonar que sufren estos pacientes en el periodo postnatal. A pesar de que el modelo quirúrgico ovino no puede controlar el grado de severidad de la hipoplasia pulmonar, ya que hay variabilidad interindividual respecto a la cantidad de vísceras herniadas a tórax después de crear el defecto, todos los sujetos de este grupo presentaron signos de hipoplasia pulmonar en mayor o menor grado (Figura 1).

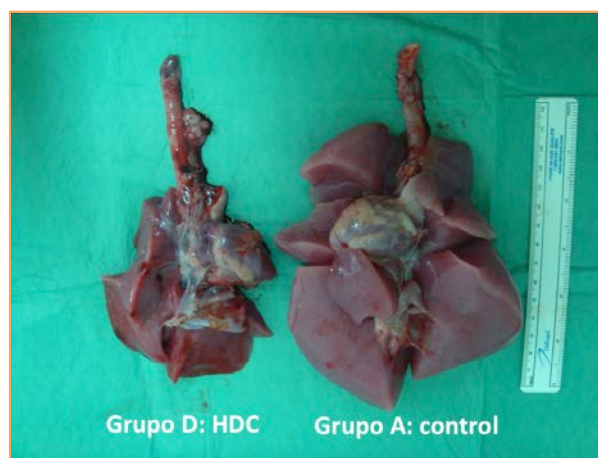


Figura 1: Diferencias entre unos pulmones con CDH y los sham.

Efectos de la oclusión traqueal sobre el pulmón:

El primer hallazgo encontrado fue un aumento de peso de los fetos relacionado con el tiempo de oclusión traqueal respecto al control en los grupos con pulmón sano ($p=0.04$). Los sujetos con una oclusión larga (ETO) además presentaban un aspecto hidrópico con ascitis importante. Este aumento de peso está relacionado muy probablemente con la producción aumentada de líquido intrapulmonar que en el grupo de oclusión precoz fue muy elevada (entre 510 y 630 cc) y con la presencia de ascitis en este mismo grupo. En cambio, los fetos salieron con un peso muy homogéneo en el brazo de CDH a pesar de la oclusión traqueal. Teniendo en cuenta que la cantidad de líquido intrapulmonar extraída fue superior a los controles y proporcional a la duración de la oclusión en ambos brazos ($P<0.01$), el aumento de peso debe tener un origen multifactorial que todavía está por dilucidar.

En cuanto a los pulmones, la volumetría confirmó lo que ya otros autores apuntaban en estudios previos^(127,128,130,131,178,179,184,195). Tanto el volumen pulmonar total (ratio PPT/PF) como el volumen del parénquima pulmonar (ratio PP/PFS) y la cantidad de líquido intrapulmonar extraída (ratio LIP/PFS) fueron estadísticamente superiores a los controles en ambos brazos del estudio, sin y con CDH (Tabla 73 de la sección de resultados) (Figura 2). Este crecimiento pulmonar se vio refrendado por la morfometría histológica donde se hallaron unos mayores espacios aéreos totales (ratio SAT/PF $P<0.01$) en relación a los controles, de nuevo, en ambos brazos del estudio. La estimación del volumen intersticial total de los pulmones también indicó un crecimiento del parénquima pulmonar (ratio SIT/PF $P<0.01$). En cuanto a la arquitectura alveolar, los pulmones ocluidos presentaban menos unidades alveolares por campo con un área y perímetro mayor por alveolo ($P<0.01$). El tejido intersticial por campo también fue menor en ambos brazos ($p=0.05$ y $P<0.01$) y la superficie de intercambio gaseoso por campo, también inferior con la oclusión traqueal precoz y tardía ($P<0.01$). Estos hallazgos van a favor de una arquitectura microscópica favorable al intercambio gaseoso al disminuir el intersticio entre los alveolos. La menor superficie de intercambio por campo, generada por un aumento en la replección de las vías aéreas terminales provocado por el aumento de presión del líquido

intrapulmonar, se ve compensada por un aumento en el volumen total de estos pulmones. La oclusión traqueal prolongada (sin desoclusión) se acompañó de un descenso en la población de neumocitos tipo II, como también está documentado⁽¹⁸⁵⁾. Este descenso podría condicionar una producción de surfactante insuficiente para la expansión pulmonar y el intercambio gaseoso al nacimiento.

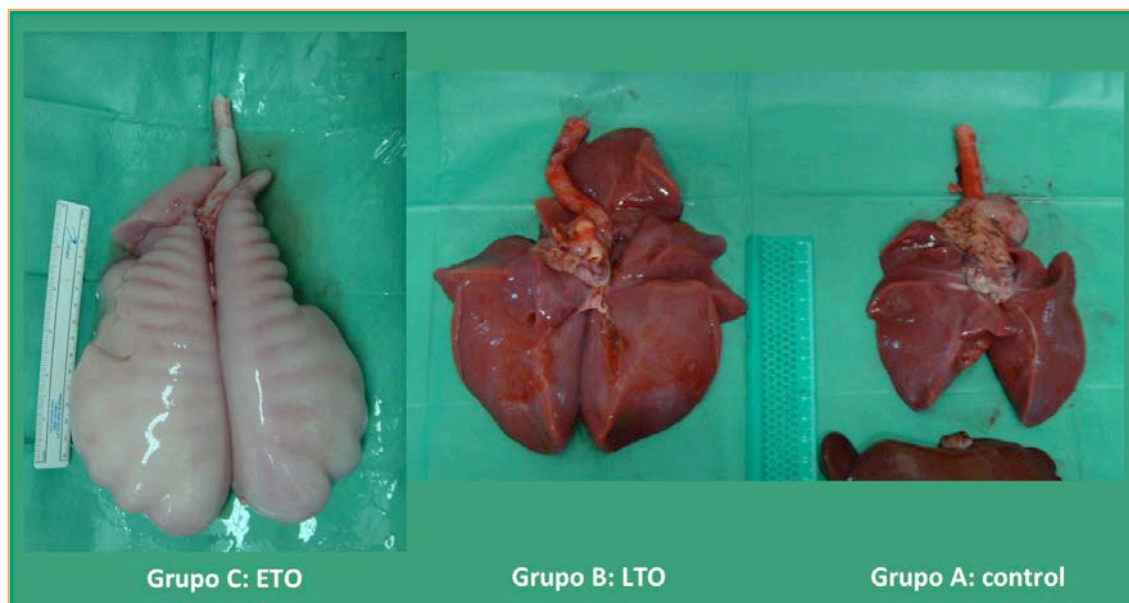


Figura 2: Diferencias en el tiempo de oclusión traqueal en los grupos sin CDH. ETO: *early tracheal occlusion*. LTO: *late tracheal occlusion*.

Si observamos los efectos de la oclusión traqueal en los sujetos con CDH constatamos al estudio cualitativo de la histología que los espacios aéreos crecen, se repleccionan mejor, el epitelio madura (se aplanan) y el intersticio entre espacios aéreos se hace menos prominente, sobre todo para oclusiones tardías. Podemos interpretar que los pulmones se hacen más aptos para el intercambio gaseoso o maduran. Esta lectura es congruente con estudios previos⁽¹²⁸⁾ y con los resultados clínicos de la terapia fetal de oclusión traqueal⁽¹⁵⁾.

Por otro lado, como es bien conocido, la CDH afecta al desarrollo cardíaco, generalmente por compromiso del tracto de salida de las cavidades izquierdas por compresión, provocando en ocasiones una hipoplasia de las mismas. Constituye el segundo pilar de la hipótesis de “dual hit” o doble agresión⁽²²⁾. Esta alteración no fue estudiada en el presente proyecto pero, de estar presente, no tuvo participación

significativa en el peso de las corazonas ya que esta variable no se vio afectada por la oclusión traqueal.

Tampoco el peso de los hígados, aun tendiendo a aumentar según el tiempo de oclusión, presentó diferencias en ninguno de los brazos del estudio. En los sujetos con ETO el hígado exhibía un aspecto congestivo en el momento de la cesárea, particularmente en fetos hidrópicos, hecho congruente con la disminución del gasto cardíaco y el fallo cardíaco derecho presente en estos animales.

Así pues, la oclusión traqueal hace aumentar el tamaño de los pulmones, generando más líquido intrapulmonar y estimulando el crecimiento de los espacios aéreos y del parénquima pulmonar, con el desarrollo de una arquitectura acinar en teoría favorable para el intercambio gaseoso. La deplección de neumocitos tipo II, sin embargo, podría comprometer la función respiratoria postnatal de no ser tratada.

Diferencias entre la oclusión traqueal precoz (ETO) y la tardía (LTO):

El hecho de que la oclusión traqueal hace crecer y madurar los pulmones ha quedado demostrado con gran evidencia científica. Sin embargo, el efecto de una oclusión traqueal en edades precoces del desarrollo pulmonar está poco estudiada, sobre todo en sujetos con CDH. Probyn *et al*⁽¹⁸⁶⁾ realizó un trabajo experimental en ovejas en el cual se ocluían 2 grupos de 4 sujetos a los 75 y 80 días de gestación respectivamente y se comparaban con un grupo control (sham). La oclusión se realizaba sobre sujetos con pulmón normal y se procedía a la eutanasia a los 91 días. Las conclusiones del estudio mostraban un crecimiento importante de los pulmones pero a expensas de un feto hidrópico y un parénquima pulmonar poco apto para el intercambio gaseoso. Lo que se deriva de este estudio es que la oclusión en fases tempranas del periodo canalicular tiene un potencial muy importante de hiperplasia pulmonar, como aparecen en los casos humanos de CHAOS (síndrome de oclusión congénita de las vías aéreas superiores) donde la hiperplasia pulmonar es extraordinaria y normalmente se acompaña de *hidrops fetalis*. El análisis del parénquima pulmonar a los 91 días de gestación, por otro lado, debería mostrar, aún sin oclusión traqueal, una fase todavía

canalicular del desarrollo pulmonar. El parénquima, en este estadio, es todavía muy prominente entre espacios aéreos y normalmente imposibilita el correcto intercambio gaseoso. La interpretación de estos hallazgos en el estudio de Probyn no parece, en consecuencia, adecuada. En la presente investigación, la oclusión precoz la consideramos a los 85 días de gestación, más avanzada la fase canalicular, y los pulmones se estudiaron a término. El hecho diferencial más importante, sin embargo, es que en nuestro caso realizamos la oclusión traqueal también 2 grupos con hipoplasia pulmonar (CDH).

Cuando comparamos la oclusión precoz con la tardía en nuestros dos brazos de estudio (sin y con CDH) evidenciamos algunos hechos diferenciales. El crecimiento del volumen pulmonar (PPT/PF), aun incrementándose, no alcanzó la significancia estadística en ninguno de los brazos (tablas 5 y 6 de resultados), quizá influenciado por el limitado tamaño de la muestra inherente a este tipo de estudios con animales de gran tamaño. El mismo fenómeno se observó para el volumen de parénquima pulmonar (PP/PFS) y la cantidad de líquido intrapulmonar (LIP/PFS), aunque este último se acercaba mucho a la significancia estadística ($p=0.058$ sin CDH y $p=0.084$ con CDH) (tablas 10-11 y 17-18 de los resultados).

Para el mismo tiempo de oclusión, tampoco se alcanzaron diferencias significativas entre los pulmones sanos y los hipoplásicos con CDH para estas variables salvo en comparaciones puntuales (ver tabla 74 de los resultados), aunque los valores eran netamente inferiores en presencia de la malformación. Sí alcanzó una significancia estadística la cantidad de líquido intrapulmonar generado por los pulmones sanos ante una oclusión precoz en relación con los pulmones hipoplásicos (CDH), dando a entender que en ausencia de CDH las oclusiones traqueales aumentan más la producción de líquido que en pulmones hipoplásicos. Este fenómeno tiene como explicación plausible una menor producción de líquido por parte de un epitelio más inmaduro, como es el caso de la CDH.

El examen histológico reveló que tanto el espacio aéreo total como el tejido intersticial total eran significativamente mayores en presencia de una oclusión precoz (ETO)

respecto a la tardía (LTO) en los dos brazos del estudio. Los pulmones de las oclusiones precoces tenían menos alveolos, más grandes y con más perímetro por campo. Sin embargo, la cantidad de tejido intersticial por campo no resultó diferente, indicando la existencia de una barrera alveolo-capilar similar para las ETO y las LTO, ya fuera en presencia como en ausencia de CDH (ver tablas 33-72 del apartado de resultados).

Cuando comparamos los grupos con y sin CDH para el mismo tiempo de oclusión también observamos unas diferencias mayoritariamente significativas en casi todas las variables de estudio a favor de los pulmones normales (tabla 74). Es decir, el crecimiento de los pulmones, tanto del volumen total como del espacio aéreo y del tejido parenquimatoso, es proporcional al tiempo de oclusión traqueal y significativamente más acentuado en el grupo con pulmones normales.

Particularmente interesante resulta el análisis de la morfología histológica de los pulmones. A nivel mesenquimal observamos un intersticio generalmente más engrosado y edematoso en las oclusiones precoces tanto en presencia como en ausencia de CDH. Este factor puede tener una implicación negativa en la capacidad de intercambio gaseoso del pulmón en la vida extrauterina. También es cierto que las arteriolas pulmonares experimentan un progresivo engrosamiento de su capa adventicial también relacionado directamente con el tiempo de oclusión traqueal, traducción posiblemente de un proceso inflamatorio crónico. Sin embargo, oclusiones tardías en presencia de CDH parecen mejorar este comportamiento vascular con menores tasas de engrosamiento de su capa adventicia respecto a los controles, que ya de por sí se acompañan de arteriolas engrosadas principalmente a expensas de su capa media. Esta observación favorece la teoría de un mejor patrón vascular, con una capa media más adelgazada, que podría tener efectos beneficiosos disminuyendo la hipertensión pulmonar.

Aunque no se detectan variaciones en el tipo de epitelio pulmonar relacionado con el tiempo de oclusión traqueal en el brazo de pulmones normales (se mantiene la fase alveolar), esta maduración sí que tiende a resultar más acentuada en los grupos con CDH, con un aplanamiento epitelial (neumocitos tipo I) aunque para oclusiones

prolongadas (CDH-ETO) estas células aparecen tumefactas y algo desestructuradas. Cómo se comportará esta unidad alveolo-capilar en la vida extrauterina es una cuestión importante que no puede responderse con el presente estudio. Es necesario el diseño de futuros estudios funcionales respiratorios en estos grupos experimentales para concluir que, además de más grandes y aparentemente más maduros, el comportamiento de estos pulmones es suficiente para un intercambio gaseoso efectivo.

Consideraciones sobre la oclusión traqueal y la población de neumocitos tipo II:

Parece evidente que la oclusión traqueal prolongada sin desoclusión, como representa nuestra cohorte de sujetos de estudio, conlleva una deplección importante de los neumocitos tipo II proporcional al tiempo de oclusión traqueal. Este efecto está bien documentado para oclusiones estándar o tardías y no se modifica, según nuestros datos, para oclusiones precoces⁽¹⁸⁴⁾. Como comentábamos en apartados anteriores, una disminución de esta población epitelial puede producir un descenso de la producción de surfactante que impida la correcta apertura de las vías aéreas inmediatamente después del nacimiento. Además, una función importante de estos neumocitos es la de reparación epitelial, ya que pueden diferenciarse en neumocitos tipo I en caso de alteración de la barrera alveolo-capilar. Si la deplección del número de neumocitos tipo II se relaciona o no con los constantes esfuerzos regenerativos del epitelio por la agresión continuada provocada por el aumento de presiones de las vías aéreas por el líquido intrapulmonar retenido es algo que queda por dilucidar, aunque parece una explicación plausible.

Esta disminución de neumocitos tipo II también explicaría por qué en los inicios de la oclusión traqueal en humanos en los que se retiraba el balón mediante EXIT (*ex utero intrapartum treatment*) en el momento del nacimiento los pacientes presentaban unas dificultades en el soporte ventilatorio extremas y unas bajas tasas de supervivencia. Esta observación condicionó un cambio de estrategia con la retirada fetoscópica del balón 6-8 semanas después de su introducción, mejorando significativamente los resultados funcionales⁽¹⁵⁾.

Desde el punto de vista experimental también se ha demostrado que la población de neumocitos tipo II se regenera una vez finalizada la oclusión traqueal^(133,184). Al no realizar en nuestro estudio la desoclusión traqueal no podemos confirmar el efecto regenerador sobre esta estirpe celular pero parece lógico extrapolar que, de realizarse, podríamos evidenciar este fenómeno. Los pulmones ocluidos en nuestro estudio, a tenor de los resultados obtenidos, de la evidencia científica reportada y la experiencia clínica, parecen poco susceptibles de tener viabilidad en el periodo postnatal inmediato. El diseño de nuevos estudios contemplando la retirada de la oclusión traqueal tras un intervalo razonable podrían dar la clave definitiva de cómo se comporta este grupo celular tan importante para la función respiratoria. La desoclusión podría tener también efectos regeneradores sobre la tumefacción epitelial y mesenquimal experimentada por la oclusión traqueal prolongada (ETO). Idealmente, sería necesaria la comparación de los pulmones ante idénticos periodos oclusivos pero en diferentes estadios del desarrollo pulmonar. Todas estas incógnitas no quedan resueltas en nuestro estudio y requieren de futuras líneas de experimentación.

Limitaciones del estudio:

El presente estudio se ha realizado sobre un modelo quirúrgico de CDH al que sólo se le atribuye una de las dos vertientes de la hipótesis “*dual hit*”, la compresión del parénquima pulmonar por las vísceras herniadas o efecto mecánico. El influjo genético sobre la hipoplasia pulmonar, la otra vertiente de la hipótesis, no se ve representado por este modelo. Los resultados clínicos y anatomopatológicos podrían verse afectados por esta razón en relación a la CDH congénita, en la que se le supone un hándicap en el desarrollo pulmonar más precoz que el reproducido por este modelo.

Desgraciadamente no disponemos de un modelo animal con gestación prolongada que reproduzca fielmente la CDH con hipoplasia pulmonar extrema, que en realidad es la población diana de este estudio. La creación del defecto diafragmático, aunque amplia, no garantiza que la migración visceral al tórax sea homogénea entre todos los sujetos y, más particularmente, que genere una hipoplasia pulmonar extrema.

Trabajar con grados variables de hipoplasia pulmonar requeriría en condiciones ideales una n mucho más extensa para cada uno de los grupos. Si dispusiéramos de un modelo de hipoplasia pulmonar extrema, la terapia con oclusión precoz podría ser mejor evaluada y más extrapolable a la clínica humana.

Hay ciertas partes del análisis que están sujetas a la interpretación subjetiva, particularmente la observación de la morfología histológica. Estos datos no son fácilmente cuantificables y, por ello, carecen de soporte estadístico. La reproductibilidad futura de estas observaciones puede contener un sesgo de variabilidad inter-observador, si bien es cierto que, en el presente trabajo, el especialista anatomopatólogo encargado de este análisis morfológico tisular llevó a cabo el estudio desconociendo en todo momento el grupo al que pertenecían las muestras analizadas.

Un mayor número de sujetos por grupo podría probablemente dotar de significación estadística a ciertas variables que se quedan cerca de ella. La envergadura logística y económica del proyecto, sin embargo, dificultó mucho la inclusión de más sujetos debido al alto porcentaje de pérdidas secundarias a las cirugías fetales, en ocasiones dobles.

La ausencia de liberación de la oclusión traqueal semanas después de establecerla limita desfavorablemente la interpretación clínica de los resultados. La terapia actual en humanos contempla esta desoclusión. Previsiblemente, la arquitectura pulmonar acinar podría haber sido más adecuada para el intercambio gaseoso de haberse realizado esta desoclusión traqueal. Por este motivo hemos empezado recientemente un nuevo diseño con desoclusión traqueal y estudio funcional postnatal para tratar de dar respuesta a esta hipótesis.

Fortalezas del estudio:

El análisis morfométrico realizado con soporte informático representa una novedad en el análisis de las muestras pulmonares, eliminando la posibilidad de error humano y

obtención de datos al máximo. Representa una metodología fácilmente reproducible que contrasta con estudios previos en que el factor humano tenía una relevancia destacada. Bien es cierto que ciertas medidas, como el conteo de unidades respiratorias, pueden conllevar cierto error humano pero este problema se intentó resolver mediante la realización del conteo por un único investigador y con la misma metodología.

Es la primera vez que se evalúan los efectos de la oclusión traqueal precoz a una edad gestacional coherente con una aplicación clínica en humanos⁽¹⁷⁴⁾ y sobre pulmones con hernia diafrágica congénita. Los efectos de la oclusión traqueal precoz pueden ser extrapolables a los que se producirían en humanos.

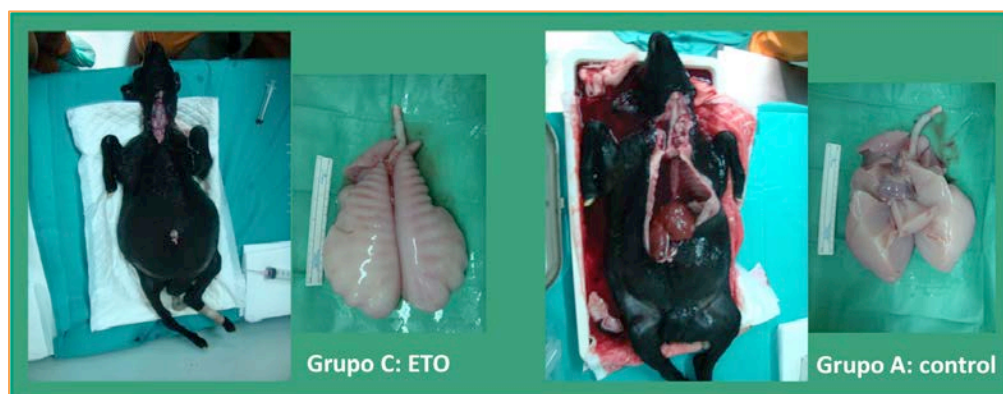


Figura 3: Oclusión traqueal precoz en pulmón sano versus su control (sham). Obsérvese el aspecto hídrico del feto del grupo C con oclusión precoz.

Interpretación general de los resultados:

Los pulmones ocluidos precozmente (fase canalicular) parecen tener más potencial de crecimiento y maduración que a edades más tardías de oclusión (fase sacular). Los efectos en pulmones sanos son exagerados, generando hiperplasia pulmonar, y conllevan unas repercusiones hemodinámicas en forma de *hídrops* que no parecen adecuadas para la vida postnatal (Figura 3). Sin embargo, en presencia de la hipoplasia pulmonar provocada por la hernia diafrágica congénita no son tan abigarrados y podrían constituir una ventaja en casos de una afectación extrema. Falta por dilucidar la respuesta funcional de estos pulmones y el efecto beneficioso de una desoclusión traqueal a edades adecuadas, posiblemente monitorizadas por ecografía en función de

la respuesta en el desarrollo pulmonar. Son necesarios nuevos estudios en esta línea, que ya se están llevando a cabo por nuestro grupo, para responder a estas incógnitas.

Teniendo en cuenta la casi nula supervivencia de los pacientes afectados de hernia diafragmática congénita con hipoplasia pulmonar extrema (O/E LHR < 17%) no parece descabellado considerar que, en casos seleccionados, con la familia dispuesta a seguir la gestación y a asumir el carácter experimental de la terapia, esta oclusión precoz pudiera llevarse a cabo en la clínica humana en el momento actual. Debido a que las vías aéreas de estos pacientes humanos de 22-24 semanas de gestación son más pequeñas, los dispositivos actuales en términos de material de fetoscopia y balón de oclusión necesitan adaptarse para tal fin.

Conclusiones

10.

Conclusiones

1. La hernia diafragmática congénita condiciona unos pulmones más hipoplásicos e inmaduros que los controles con pulmón normal en el feto ovino.
2. La oclusión pulmonar en el pulmón normal provoca un incremento significativo del tejido pulmonar y del espacio aéreo, así como en la producción de líquido intrapulmonar, en el feto ovino, preservando la fase alveolar del desarrollo pulmonar.
3. La oclusión pulmonar en el pulmón hipoplásico por hernia diafragmática congénita condiciona un incremento significativo del tejido pulmonar, del espacio aéreo y de la producción de líquido intrapulmonar en el feto ovino, además de mejorar su estado madurativo pulmonar respecto a los controles.
4. La oclusión pulmonar temprana en la fase canalicular del desarrollo pulmonar de los pulmones sanos induce un incremento mayor del tejido pulmonar, del líquido intrapulmonar y del espacio aéreo, aunque generando unas alteraciones más desfavorables para intercambio gaseoso y control hemodinámico, que la oclusión traqueal tardía en fase sacular del desarrollo pulmonar en el feto ovino.
5. La oclusión traqueal temprana en fase canalicular del desarrollo pulmonar en los pulmones con hipoplasia pulmonar generada por la hernia diafragmática creada quirúrgicamente produce un incremento mayor del tejido pulmonar, del espacio aéreo y del líquido intrapulmonar que la oclusión traqueal tardía en fase sacular del desarrollo pulmonar en el feto ovino.
6. La oclusión traqueal temprana en fase canalicular del desarrollo pulmonar, en presencia de pulmón sano, genera unas alteraciones en la microestructura

pulmonar más desfavorables para el intercambio gaseoso y control hemodinámico que la oclusión traqueal temprana en presencia de una hipoplasia pulmonar generada por la creación quirúrgica de una hernia diafragmática congénita en el feto ovino.

7. Tanto la oclusión traqueal estándar como la prolongada generan una deplección significativa de la población de neumocitos tipo II en ausencia de desoclusión traqueal. Por tanto, una segunda intervención para desocluir la tráquea podría mejorar las condiciones pulmonares para una permitir una función mejor tras el parto.
8. En casos de hipoplasia pulmonar extrema provocada por una hernia diafragmática congénita, los pacientes humanos podrían beneficiarse de la terapia prenatal de oclusión traqueal en fases más tempranas del desarrollo pulmonar seguida de una desoclusión planificada semanas después para minimizar los efectos negativos de la oclusión traqueal prolongada y optimizar los resultados.

Referencias

11. Referencias

1. Kosiński P, Wielgoś M. Congenital diaphragmatic hernia: pathogenesis, prenatal diagnosis and management - literature review. *Ginekol Pol.* 2017;88(1):24–30.
2. Pober BR. Overview of Epidemiology, Genetics, Birth Defects, and Chromosome Abnormalities Associated With CDH. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007 May 15;145C(2):158–71.
3. Tovar JA. Congenital diaphragmatic hernia. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:1.
4. DeKoninck P, Gomez O, Sandaite I, Richter J, Nawapun K, Eerdeken A, et al. Right-sided congenital diaphragmatic hernia in a decade of fetal surgery. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2015 Jun;122(7):940–6.
5. Kotecha S, Barbato A, Bush A, Claus F, Davenport M, Delacourt C, et al. Congenital diaphragmatic hernia. *Eur Respir J.* 2012 Apr;39(4):820–9.
6. Golombek SG. The history of congenital diaphragmatic hernia from 1850s to the present. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2002 May;22(3):242–6.
7. Bochdalek VA. Einige Betrachtungen uber die entstehung des angeborenen zweunch fellbrunches als bietrage zur patholoischen anatomie der ilernien. *Vierteljahrschrift fur die praktische. Heilkunde.* 1848;19:89–97.
8. Bodwitch HI. A treatise on diaphragmatic hernia. *Buffalo Med J.* 1853;9(11):65–95.
9. Walker EW. Diaphragmatic hernia. *Int J Surg JAMA J Am Med Assoc.* 1900;35:778.
10. Livingston. Diseases of the newly born. In: Emmett Holt L, editor. *The Diseases of Infancy and Childhood.* 2nd ed. New York: Appleton and Company; 1903. p. 116.
11. Wright JCE, Budd JLS, Field DJ, Draper ES. Epidemiology and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a 9-year experience. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2011 Mar;25(2):144–9.
12. Skari H, Bjornland K, Haugen G, Egeland T, Emblem R. Congenital diaphragmatic hernia: a meta-analysis of mortality factors. *J Pediatr Surg.* 2000 Aug;35(8):1187–97.
13. Bétrémieux P, Gaillot T, de la Pintièrre A, Beuchée A, Pasquier L, Habonimana E, et al. Congenital diaphragmatic hernia: prenatal diagnosis permits immediate intensive care with high survival rate in isolated cases. A population-based study. *Prenat Diagn.* 2004 Jul;24(7):487–93.
14. Mah VK, Chiu P, Kim PCW. Are we making a real difference? Update on “hidden mortality” in the management of congenital diaphragmatic hernia. *Fetal Diagn Ther.* 2011;29(1):40–5.
15. Deprest J, Brady P, Nicolaidis K, Benachi A, Berg C, Vermeesch J, et al. Prenatal management of the fetus with isolated congenital diaphragmatic hernia in the era of the

TOTAL trial. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014 Dec;19(6):338–48.

16. Mayer S, Metzger R, Kluth D. The embryology of the diaphragm. *Semin Pediatr Surg.* 2011 Aug;20(3):161–9.
17. Pierro M, Thébaud B. Understanding and treating pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014 Dec;19(6):357–63.
18. Adzick NS, Vacanti JP, Lillehei CW, O'Rourke PP, Crone RK, Wilson JM. Fetal diaphragmatic hernia: ultrasound diagnosis and clinical outcome in 38 cases. *J Pediatr Surg.* 1989 Jul;24(7):654–7; discussion 657–8.
19. George DK, Cooney TP, Chiu BK, Thurlbeck WM. Hypoplasia and immaturity of the terminal lung unit (acinus) in congenital diaphragmatic hernia. *Am Rev Respir Dis.* 1987 Oct;136(4):947–50.
20. Lipsett J, Cool JC, Runciman SI, Ford WD, Kennedy JD, Martin AJ, et al. Morphometric analysis of preterm fetal pulmonary development in the sheep model of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc.* 2000 Feb;3(1):17–28.
21. Guilbert TW, Gebb SA, Shannon JM. Lung hypoplasia in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia occurs early in development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Dec;279(6):L1159–71.
22. Keijzer R, Liu J, Deimling J, Tibboel D, Post M. Dual-hit hypothesis explains pulmonary hypoplasia in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia. *Am J Pathol.* 2000 Apr;156(4):1299–306.
23. Thébaud B, Tibboel D, Rambaud C, Mercier JC, Bourbon JR, Dinh-Xuan AT, et al. Vitamin A decreases the incidence and severity of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Am J Physiol.* 1999 Aug;277(2 Pt 1):L423–9.
24. Beurskens LWJE, Schrijver LH, Tibboel D, Wildhagen MF, Knapen MFCM, Lindemans J, et al. Dietary vitamin A intake below the recommended daily intake during pregnancy and the risk of congenital diaphragmatic hernia in the offspring. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2013 Jan;97(1):60–6.
25. Beurskens LWJE, Tibboel D, Lindemans J, Duvekot JJ, Cohen-Overbeek TE, Veenma DCM, et al. Retinol status of newborn infants is associated with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatrics.* 2010 Oct;126(4):712–20.
26. Thébaud B, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia: where have all the vessels gone? Roles of angiogenic growth factors in chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 May 15;175(10):978–85.
27. Lin MI, Sessa WC. Vascular endothelial growth factor signaling to endothelial nitric oxide synthase: more than a FleeTing moment. *Circ Res.* 2006 Sep 29;99(7):666–8.
28. Thébaud B, Ladha F, Michelakis ED, Sawicka M, Thurston G, Eaton F, et al. Vascular endothelial growth factor gene therapy increases survival, promotes lung angiogenesis, and prevents alveolar damage in hyperoxia-induced lung injury: evidence that angiogenesis participates in alveolarization. *Circulation.* 2005 Oct 18;112(16):2477–86.

29. Oue T, Yoneda A, Shima H, Taira Y, Puri P. Increased vascular endothelial growth factor peptide and gene expression in hypoplastic lung in nitrofen induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Pediatr Surg Int*. 2002 May;18(4):221–6.
30. Okazaki T, Sharma HS, Aikawa M, Yamataka A, Nagai R, Miyano T, et al. Pulmonary expression of vascular endothelial growth factor and myosin isoforms in rats with congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg*. 1997 Mar;32(3):391–4.
31. Chang R, Andreoli S, Ng Y-S, Truong T, Smith SR, Wilson J, et al. VEGF expression is downregulated in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg*. 2004 Jun;39(6):825–8; discussion 825–8.
32. Shehata SM, Mooi WJ, Okazaki T, El-Banna I, Sharma HS, Tibboel D. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in lungs of newborn infants with congenital diaphragmatic hernia and pulmonary hypertension. *Thorax*. 1999 May;54(5):427–31.
33. Boucherat O, Franco-Montoya M-L, Delacourt C, Martinovic J, Masse V, Elie C, et al. Defective angiogenesis in hypoplastic human fetal lungs correlates with nitric oxide synthase deficiency that occurs despite enhanced angiopoietin-2 and VEGF. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010 Jun;298(6):L849–56.
34. Borghesi A, Massa M, Campanelli R, Bollani L, Tziella C, Figar TA, et al. Circulating endothelial progenitor cells in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Sep 15;180(6):540–6.
35. Baker CD, Black CP, Ryan SL, Balasubramaniam V, Abman SH. Cord blood endothelial colony-forming cells from newborns with congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr*. 2013 Sep;163(3):905–7.
36. Acker SN, Seedorf GJ, Abman SH, Nozik-Grayck E, Partrick DA, Gien J. Pulmonary artery endothelial cell dysfunction and decreased populations of highly proliferative endothelial cells in experimental congenital diaphragmatic hernia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013 Dec;305(12):L943–52.
37. Alphonse RS, Vadivel A, Fung M, Shelley WC, Critser PJ, Ionescu L, et al. Existence, functional impairment, and lung repair potential of endothelial colony-forming cells in oxygen-induced arrested alveolar growth. *Circulation*. 2014 May 27;129(21):2144–57.
38. O’Toole SJ, Irish MS, Holm BA, Glick PL. Pulmonary vascular abnormalities in congenital diaphragmatic hernia. *Clin Perinatol*. 1996 Dec;23(4):781–94.
39. Sluiter I, van der Horst I, van der Voorn P, Boerema-de Munck A, Buscop-van Kempen M, de Krijger R, et al. Premature differentiation of vascular smooth muscle cells in human congenital diaphragmatic hernia. *Exp Mol Pathol*. 2013 Feb;94(1):195–202.
40. Shinkai T, Shima H, Solari V, Puri P. Expression of vasoactive mediators during mechanical ventilation in nitrofen-induced diaphragmatic hernia in rats. *Pediatr Surg Int*. 2005 Mar;21(3):143–7.
41. Lath NR, Galambos C, Rocha AB, Malek M, Gittes GK, Potoka DA. Defective pulmonary innervation and autonomic imbalance in congenital diaphragmatic hernia. *Am J Physiol Lung*

Cell Mol Physiol. 2012 Feb 15;302(4):L390–8.

42. Schmidt AF, Rojas-Moscoso JA, Gonçalves FLL, Gallindo RM, Mónica FZ, Antunes E, et al. Increased contractility and impaired relaxation of the left pulmonary artery in a rabbit model of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int*. 2013 May;29(5):489–94.

43. Luong C, Rey-Perra J, Vadivel A, Gilmour G, Sauve Y, Koonen D, et al. Antenatal sildenafil treatment attenuates pulmonary hypertension in experimental congenital diaphragmatic hernia. *Circulation*. 2011 May 17;123(19):2120–31.

44. Nair J, Lakshminrusimha S. Update on PPHN: mechanisms and treatment. *Semin Perinatol*. 2014 Mar;38(2):78–91.

45. Okazaki T, Sharma HS, McCune SK, Tibboel D. Pulmonary vascular balance in congenital diaphragmatic hernia: enhanced endothelin-1 gene expression as a possible cause of pulmonary vasoconstriction. *J Pediatr Surg*. 1998 Jan;33(1):81–4.

46. Coppola CP, Au-Fliegner M, Gosche JR. Endothelin-1 pulmonary vasoconstriction in rats with diaphragmatic hernia. *J Surg Res*. 1998 Apr;76(1):74–8.

47. Thébaud B, de Lagausie P, Forgues D, Aigrain Y, Mercier JC, Dinh-Xuan AT. ET(A)-receptor blockade and ET(B)-receptor stimulation in experimental congenital diaphragmatic hernia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000 May;278(5):L923–32.

48. De Lagausie P, de Buys-Roessingh A, Ferkdadji L, Saada J, Aisenfisz S, Martinez-Vinson C, et al. Endothelin receptor expression in human lungs of newborns with congenital diaphragmatic hernia. *J Pathol*. 2005 Jan;205(1):112–8.

49. Keller RL, Tacy TA, Hendricks-Munoz K, Xu J, Moon-Grady AJ, Neuhaus J, et al. Congenital diaphragmatic hernia: endothelin-1, pulmonary hypertension, and disease severity. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Aug 15;182(4):555–61.

50. Shehata SMK, Sharma HS, Mooi WJ, Tibboel D. Pulmonary hypertension in human newborns with congenital diaphragmatic hernia is associated with decreased vascular expression of nitric-oxide synthase. *Cell Biochem Biophys*. 2006;44(1):147–55.

51. Solari V, Piotrowska AP, Puri P. Expression of heme oxygenase-1 and endothelial nitric oxide synthase in the lung of newborns with congenital diaphragmatic hernia and persistent pulmonary hypertension. *J Pediatr Surg*. 2003 May;38(5):808–13.

52. De Rooij JD, Hösgör M, Ijzendoorn Y, Rottier R, Groenman FA, Tibboel D, et al. Expression of angiogenesis-related factors in lungs of patients with congenital diaphragmatic hernia and pulmonary hypoplasia of other causes. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc*. 2004 Oct;7(5):468–77.

53. Sood BG, Wykes S, Landa M, De Jesus L, Rabah R. Expression of eNOS in the lungs of neonates with pulmonary hypertension. *Exp Mol Pathol*. 2011 Feb;90(1):9–12.

54. Black SM, Johengen MJ, Ma ZD, Bristow J, Soifer SJ. Ventilation and oxygenation induce endothelial nitric oxide synthase gene expression in the lungs of fetal lambs. *J Clin Invest*. 1997 Sep 15;100(6):1448–58.

55. Pober BR. Overview of epidemiology, genetics, birth defects, and chromosome abnormalities associated with CDH. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007 May 15;145C(2):158–71.
56. Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth M-P. Associated malformations in cases with congenital diaphragmatic hernia. *Genet Couns Geneva Switz.* 2008;19(3):331–9.
57. Dott MM, Wong L-YC, Rasmussen SA. Population-based study of congenital diaphragmatic hernia: risk factors and survival in Metropolitan Atlanta, 1968-1999. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2003 Apr;67(4):261–7.
58. Torfs CP, Curry CJ, Bateson TF, Honoré LH. A population-based study of congenital diaphragmatic hernia. *Teratology.* 1992 Dec;46(6):555–65.
59. Colvin J, Bower C, Dickinson JE, Sokol J. Outcomes of congenital diaphragmatic hernia: a population-based study in Western Australia. *Pediatrics.* 2005 Sep;116(3):e356–63.
60. Cunniff C, Curry CJ, Carey JC, Graham JM, Williams CA, Stengel-Rutkowski S, et al. Congenital diaphragmatic hernia in the Brachmann-de Lange syndrome. *Am J Med Genet.* 1993 Nov 15;47(7):1018–21.
61. Marino T, Wheeler PG, Simpson LL, Craigo SD, Bianchi DW. Fetal diaphragmatic hernia and upper limb anomalies suggest Brachmann-de Lange syndrome. *Prenat Diagn.* 2002 Feb;22(2):144–7.
62. Pankau R, Jänig U. Diaphragmatic defect in Brachmann-de Lange syndrome: a further observation. *Am J Med Genet.* 1993 Nov 15;47(7):1024–5.
63. Vasudevan PC, Twigg SRF, Mulliken JB, Cook JA, Quarrell OWJ, Wilkie AOM. Expanding the phenotype of craniofrontonasal syndrome: two unrelated boys with *EFNB1* mutations and congenital diaphragmatic hernia. *Eur J Hum Genet EJHG.* 2006 Jul;14(7):884–7.
64. Brooks AS, van Dooren M, Hoogeboom J, Gischler S, Willems PJ, Tibboel D. Congenital diaphragmatic hernia in a female patient with craniofrontonasal syndrome. *Clin Dysmorphol.* 2002 Apr;11(2):151–3.
65. McGaughran J, Rees M, Battin M. Craniofrontonasal syndrome and diaphragmatic hernia. *Am J Med Genet.* 2002 Jul 15;110(4):391–2.
66. Chen E, Johnson JP, Cox VA, Golabi M. Simpson-Golabi-Behmel syndrome: congenital diaphragmatic hernia and radiologic findings in two patients and follow-up of a previously reported case. *Am J Med Genet.* 1993 Jun 15;46(5):574–8.
67. Park Y, Gong G, Choe G, Yu E, Kim KS, Lee I. Jarcho-Levin syndrome--a report of an autopsy case with cytogenetic analysis. *J Korean Med Sci.* 1993 Dec;8(6):471–5.
68. Martínez-Frías ML, Bermejo E, Paisán L, Martín M, Egüés J, López JA, et al. Severe spondylocostal dysostosis associated with other congenital anomalies: a clinical/epidemiologic analysis and description of ten cases from the Spanish registry. *Am J Med Genet.* 1994 Jul 1;51(3):203–12.
69. Lam YH, Eik-Nes SH, Tang MH, Lee CP, Nicholls JM. Prenatal sonographic features of

spondylocostal dysostosis and diaphragmatic hernia in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999 Mar;13(3):213–5.

70. Rodríguez LM, García-García I, Correa-Rivas MS, García-Fragoso L. Pulmonary hypoplasia in Jarcho-Levin syndrome. *P R Health Sci J*. 2004 Mar;23(1):65–7.

71. Donnai D, Barrow M. Diaphragmatic hernia, exomphalos, absent corpus callosum, hypertelorism, myopia, and sensorineural deafness: a newly recognized autosomal recessive disorder? *Am J Med Genet*. 1993 Oct 1;47(5):679–82.

72. Gripp KW, Donnai D, Clericuzio CL, McDonald-McGinn DM, Guttenberg M, Zackai EH. Diaphragmatic hernia-exomphalos-hypertelorism syndrome: a new case and further evidence of autosomal recessive inheritance. *Am J Med Genet*. 1997 Feb 11;68(4):441–4.

73. Chassaing N, Lacombe D, Carles D, Calvas P, Saura R, Bieth E. Donnai-Barrow syndrome: four additional patients. *Am J Med Genet A*. 2003 Sep 1;121A(3):258–62.

74. Lurie IW. Where to look for the genes related to diaphragmatic hernia? *Genet Couns Geneva Switz*. 2003;14(1):75–93.

75. Marin J, Lopoo J. An infant with trisomy 21 and tachypnea. *Pediatr Emerg Care*. 2006 Mar;22(3):170–2.

76. Lin AE, Pober BR, Adatia I. Congenital diaphragmatic hernia and associated cardiovascular malformations: type, frequency, and impact on management. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2007 May 15;145C(2):201–16.

77. Dillon E, Renwick M, Wright C. Congenital diaphragmatic herniation: antenatal detection and outcome. *Br J Radiol*. 2000 Apr;73(868):360–5.

78. Tonks A, Wyldes M, Somerset DA, Dent K, Abhyankar A, Bagchi I, et al. Congenital malformations of the diaphragm: findings of the West Midlands Congenital Anomaly Register 1995 to 2000. *Prenat Diagn*. 2004 Aug;24(8):596–604.

79. David TJ, Illingworth CA. Diaphragmatic hernia in the south-west of England. *J Med Genet*. 1976 Aug;13(4):253–62.

80. Van Dooren MF, Brooks AS, Tibboel D, Torfs CP. Association of congenital diaphragmatic hernia with limb-reduction defects. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2003 Aug;67(8):578–84.

81. Hou JW, Wang TR. Extreme Poland anomaly associated with congenital diaphragmatic hernia. *Eur J Pediatr*. 1999 May;158(5):433–4.

82. Daskalakis G, Anastasakis E, Souka A, Manoli A, Koumpis C, Antsaklis A. First trimester ultrasound diagnosis of congenital diaphragmatic hernia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2007 Dec;33(6):870–2.

83. Rossi A, Delabaere A, Delmas-Laurichesse H, Beaufrère AM, Lémery D, Gallot D. The challenge of prenatal identification of congenital diaphragmatic hernia in the context of hydrops. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014 Nov;182:238–9.

84. Sananes N, Britto I, Akinkuotu AC, Olutoye OO, Cass DL, Sangi-Haghpeykar H, et al. Improving the Prediction of Neonatal Outcomes in Isolated Left-Sided Congenital Diaphragmatic Hernia by Direct and Indirect Sonographic Assessment of Liver Herniation. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. 2016 Jul;35(7):1437–43.
85. Dillon E, Renwick M, Wright C. Congenital diaphragmatic herniation: antenatal detection and outcome. *Br J Radiol*. 2000 Apr;73(868):360–5.
86. García-Posada, Olga Gómez, Josep Maria Martínez, Bienvenido Puerto, Eduard Gratacós. Congenital diaphragmatic hernia: Prognosis and current status of fetal therapy. A practice guideline. *Diagnóstico Prenat*. 2012;23:126–33.
87. Metkus AP, Filly RA, Stringer MD, Harrison MR, Adzick NS. Sonographic predictors of survival in fetal diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg*. 1996 Jan;31(1):148–51; discussion 151–2.
88. Jani J, Keller RL, Benachi A, Nicolaidis KH, Favre R, Gratacos E, et al. Prenatal prediction of survival in isolated left-sided diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006 Jan;27(1):18–22.
89. Yang SH, Nobuhara KK, Keller RL, Ball RH, Goldstein RB, Feldstein VA, et al. Reliability of the lung-to-head ratio as a predictor of outcome in fetuses with isolated left congenital diaphragmatic hernia at gestation outside 24-26 weeks. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Jul;197(1):30.e1–7.
90. Gucciardo L, Deprest J, Done' E, Van Mieghem T, Van de Velde M, Gratacos E, et al. Prediction of outcome in isolated congenital diaphragmatic hernia and its consequences for fetal therapy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2008 Feb;22(1):123–38.
91. Jani J, Nicolaidis KH, Keller RL, Benachi A, Peralta CFA, Favre R, et al. Observed to expected lung area to head circumference ratio in the prediction of survival in fetuses with isolated diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Jul;30(1):67–71.
92. Jani J, Nicolaidis KH, Benachi A, Moreno O, Favre R, Gratacos E, et al. Timing of lung size assessment in the prediction of survival in fetuses with diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Jan;31(1):37–40.
93. Alfaraj MA, Shah PS, Bohn D, Pantazi S, O'Brien K, Chiu PP, et al. Congenital diaphragmatic hernia: lung-to-head ratio and lung volume for prediction of outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Jul;205(1):43.e1–8.
94. King SK, Alfaraj M, Gaitero R, O'Brien K, Moraes T, Humpl T, et al. Congenital diaphragmatic hernia: Observed/expected lung-to-head ratio as a predictor of long-term morbidity. *J Pediatr Surg*. 2016 May;51(5):699–702.
95. Cannie MM, Jani JC, Van Kerkhove F, Meerschaert J, De Keyzer F, Lewi L, et al. Fetal body volume at MR imaging to quantify total fetal lung volume: normal ranges. *Radiology*. 2008 Apr;247(1):197–203.
96. Cannie M, Jani J, Meersschaert J, Allegaert K, Done' E, Marchal G, et al. Prenatal prediction of survival in isolated diaphragmatic hernia using observed to expected total fetal lung volume determined by magnetic resonance imaging based on either gestational age or

fetal body volume. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Oct;32(5):633–9.

97. Jani J, Cannie M, Sonigo P, Robert Y, Moreno O, Benachi A, et al. Value of prenatal magnetic resonance imaging in the prediction of postnatal outcome in fetuses with diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Nov;32(6):793–9.

98. Jani JC, Cannie M, Peralta CFA, Deprest JA, Nicolaides KH, Dymarkowski S. Lung volumes in fetuses with congenital diaphragmatic hernia: comparison of 3D US and MR imaging assessments. *Radiology*. 2007 Aug;244(2):575–82.

99. Mayer S, Klaritsch P, Petersen S, Done E, Sandaite I, Till H, 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 Nov;31(11):1086–96.

100. Ruano R, Lazar DA, Cass DL, Zamora IJ, Lee TC, Cassady CI, et al. Fetal lung volume and quantification of liver herniation by magnetic resonance imaging in isolated congenital diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014 Jun;43(6):662–9.

101. Werneck Britto IS, Olutoye OO, Cass DL, Zamora IJ, Lee TC, Cassady CI, et al. Quantification of liver herniation in fetuses with isolated congenital diaphragmatic hernia using two-dimensional ultrasonography. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 Aug;46(2):150–4.

102. Cannie MM, Cordier A-G, De Laveaucoupet J, Franchi-Abella S, Cagneaux M, Prodhomme O, et al. Liver-to-thoracic volume ratio: use at MR imaging to predict postnatal survival in fetuses with isolated congenital diaphragmatic hernia with or without prenatal tracheal occlusion. *Eur Radiol*. 2013 May;23(5):1299–305.

103. 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 Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010 May;35(5):609–14.

104. Kitano Y, Okuyama H, Saito M, Usui N, Morikawa N, Masumoto K, et al. Re-evaluation of stomach position as a simple prognostic factor in fetal left congenital diaphragmatic hernia: a multicenter survey in Japan. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Mar;37(3):277–82.

105. Cordier A-G, Cannie MM, Guilbaud L, De Laveaucoupet J, Martinovic J, Nowakowska D, et al. Stomach position versus liver-to-thoracic volume ratio in left-sided congenital diaphragmatic hernia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2015 Jan;28(2):190–5.

106. Lusk LA, Wai KC, Moon-Grady AJ, Basta AM, Filly R, Keller RL. Fetal ultrasound markers of severity predict resolution of pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Mar 19;

107. Claus F, Sandaite I, DeKoninck P, Moreno O, Cruz Martinez R, Van Mieghem T, et al. Prenatal anatomical imaging in fetuses with congenital diaphragmatic hernia. *Fetal Diagn Ther*.

2011;29(1):88–100.

108. Moreno-Alvarez O, Cruz-Martinez R, Hernandez-Andrade E, Done E, Gómez O, Deprest J, et al. Lung tissue perfusion in congenital diaphragmatic hernia and association with the lung-to-head ratio and intrapulmonary artery pulsed Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010 May;35(5):578–82.

109. Moreno-Alvarez O, Hernandez-Andrade E, Oros D, Jani J, Deprest J, Gratacos E. Association between intrapulmonary arterial Doppler parameters and degree of lung growth as measured by lung-to-head ratio in fetuses with congenital diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Feb;31(2):164–70.

110. Ruano R, Aubry M-C, Barthe B, Mitanchez D, Dumez Y, Benachi A. Quantitative analysis of fetal pulmonary vasculature by 3-dimensional power Doppler ultrasonography in isolated congenital diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Dec;195(6):1720–8.

111. Schaible T, Kohl T, Reinshagen K, Brade J, Neff KW, Stressig R, et al. Right- versus left-sided congenital diaphragmatic hernia: postnatal outcome at a specialized tertiary care center. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2012 Jan;13(1):66–71.

112. Berdan EA, Saltzman DA. Right- versus left-sided congenital diaphragmatic hernia--can we trust the data? *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2012 Jan;13(1):103–4.

113. Nagata K, Usui N, Kanamori Y, Takahashi S, Hayakawa M, Okuyama H, et al. The current profile and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a nationwide survey in Japan. *J Pediatr Surg*. 2013 Apr;48(4):738–44.

114. Bryner BS, Kim AC, Khouri JS, Drongowski RA, Bruch SW, Hirschl RB, et al. Right-sided congenital diaphragmatic hernia: high utilization of extracorporeal membrane oxygenation and high survival. *J Pediatr Surg*. 2009 May;44(5):883–7.

115. Hedrick HL, Crombleholme TM, Flake AW, Nance ML, von Allmen D, Howell LJ, et al. Right congenital diaphragmatic hernia: Prenatal assessment and outcome. *J Pediatr Surg*. 2004 Mar;39(3):319–23; discussion 319–23.

116. Harrison MR, Jester JA, Ross NA. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. I. The model: intrathoracic balloon produces fatal pulmonary hypoplasia. *Surgery*. 1980 Jul;88(1):174–82.

117. Harrison MR, Bressack MA, Churg AM, de Lorimier AA. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. II. Simulated correction permits fetal lung growth with survival at birth. *Surgery*. 1980 Aug;88(2):260–8.

118. Adzick NS, Outwater KM, Harrison MR, Davies P, Glick PL, deLorimier AA, et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. IV. An early gestational fetal lamb model for pulmonary vascular morphometric analysis. *J Pediatr Surg*. 1985 Dec;20(6):673–80.

119. Harrison MR, Ross NA, de Lorimier AA. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. III. Development of a successful surgical technique using abdominoplasty to avoid compromise of umbilical blood flow. *J Pediatr Surg*. 1981 Dec;16(6):934–42.

120. Soper RT, Pringle KC, Scofield JC. Creation and repair of diaphragmatic hernia in the fetal lamb: techniques and survival. *J Pediatr Surg.* 1984 Feb;19(1):33–40.
121. Pringle KC, Turner JW, Schofield JC, Soper RT. Creation and repair of diaphragmatic hernia in the fetal lamb: lung development and morphology. *J Pediatr Surg.* 1984 Apr;19(2):131–40.
122. Harrison MR, Adzick NS. Fetal surgical techniques. *Semin Pediatr Surg.* 1993 May;2(2):136–42.
123. Harrison MR, Adzick NS, Longaker MT, Goldberg JD, Rosen MA, Filly RA, 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 May 31;322(22):1582–4.
124. Harrison MR, Adzick NS, Flake AW, Jennings RW. The CDH two-step: a dance of necessity. *J Pediatr Surg.* 1993 Jun;28(6):813–6.
125. Harrison MR, Adzick NS, Flake AW, Jennings RW, Estes JM, MacGillivray TE, et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero: VI. Hard-earned lessons. *J Pediatr Surg.* 1993 Oct;28(10):1411–7; discussion 1417–8.
126. DiFiore JW, Fauza DO, Slavin R, Wilson JM. Experimental fetal tracheal ligation and congenital diaphragmatic hernia: a pulmonary vascular morphometric analysis. *J Pediatr Surg.* 1995 Jul;30(7):917–23; discussion 923–4.
127. Wilson JM, DiFiore JW, Peters CA. Experimental fetal tracheal ligation prevents the pulmonary hypoplasia associated with fetal nephrectomy: possible application for congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 1993 Nov;28(11):1433–9; discussion 1439–40.
128. 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 Feb;29(2):248–56; discussion 256–7.
129. Hedrick MH, Estes JM, Sullivan KM, Bealer JF, Kitterman JA, Flake AW, et al. Plug the lung until it grows (PLUG): a new method to treat congenital diaphragmatic hernia in utero. *J Pediatr Surg.* 1994 May;29(5):612–7.
130. Bealer JF, Skarsgard ED, Hedrick MH, Meuli M, VanderWall KJ, Flake AW, et al. The “PLUG” odyssey: adventures in experimental fetal tracheal occlusion. *J Pediatr Surg.* 1995 Feb;30(2):361–4; discussion 364–5.
131. Beierle EA, Langham MR, Cassin S. In utero lung growth of fetal sheep with diaphragmatic hernia and tracheal stenosis. *J Pediatr Surg.* 1996 Jan;31(1):141–6; discussion 146–7.
132. Luks FI, Gilchrist BF, Jackson BT, Piasecki GJ. Endoscopic tracheal obstruction with an expanding device in a fetal lamb model: preliminary considerations. *Fetal Diagn Ther.* 1996 Feb;11(1):67–71.
133. Flageole H, Evrard VA, Piedboeuf B, Laberge JM, Lerut TE, Deprest JA. The plug-unplug sequence: an important step to achieve type II pneumocyte maturation in the fetal lamb

model. *J Pediatr Surg*. 1998 Feb;33(2):299–303.

134. Deprest JA, Evrard VA, Van Ballaer PP, Verbeken E, Vandenberghe K, Lerut TE, et al. Tracheoscopic endoluminal plugging using an inflatable device in the fetal lamb model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998 Dec;81(2):165–9.

135. Evrard null, Verbeken null, Vandenberghe null, Lerut null, Flageole null, Deprest null. Endoscopic In Utero Tracheal Plugging in the Fetal Lamb to Treat Congenital Diaphragmatic Hernia. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1996 Aug;3(4, Supplement):S11.

136. Harrison MR, Keller RL, Hawgood SB, Kitterman JA, Sandberg PL, Farmer DL, et al. A randomized trial of fetal endoscopic tracheal occlusion for severe fetal congenital diaphragmatic hernia. *N Engl J Med*. 2003 Nov 13;349(20):1916–24.

137. Harrison MR, Adzick NS, Flake AW, VanderWall KJ, Bealer JF, Howell LJ, et al. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero VIII: Response of the hypoplastic lung to tracheal occlusion. *J Pediatr Surg*. 1996 Oct;31(10):1339–48.

138. Gratacós E, Deprest J. Current experience with fetoscopy and the Eurofoetus registry for fetoscopic procedures. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000 Sep;92(1):151–9.

139. Deprest J, Gratacos E, Nicolaides KH, FETO Task Group. Fetoscopic tracheal occlusion (FETO) for severe congenital diaphragmatic hernia: evolution of a technique and preliminary results. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004 Aug;24(2):121–6.

140. Jani JC, Nicolaides KH, Gratacós E, Valencia CM, Doné E, Martínez J-M, et al. Severe diaphragmatic hernia treated by fetal endoscopic tracheal occlusion. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009 Sep;34(3):304–10.

141. Enriquez G, Cadavid L, Garcés-Iñigo E, Castellote A, Piqueras J, Peiró JL, et al. Tracheobronchomegaly following intrauterine tracheal occlusion for congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Radiol*. 2012 Aug;42(8):916–22.

142. Zani A, Sellars M, Allen P, Tyraskis A, Nicolaides K, Greenough A, et al. Tracheomegaly in infants with severe congenital diaphragmatic hernia treated with fetal endoluminal tracheal occlusion. *J Pediatr*. 2014 Jun;164(6):1311–5.

143. Jani J, Valencia C, Cannie M, Vuckovic A, Sellars M, Nicolaides KH. Tracheal diameter at birth in severe congenital diaphragmatic hernia treated by fetal endoscopic tracheal occlusion. *Prenat Diagn*. 2011 Jul;31(7):699–704.

144. Speggorin S, Fierens A, McHugh K, Roebuck DJ, McLaren CA, Mok Q, et al. Bronchomegaly as a complication of fetal endoscopic tracheal occlusion. A caution and a possible solution. *J Pediatr Surg*. 2011 May;46(5):e1–3.

145. Breyssem L, Debeer A, Claus F, Proesmans M, De Keyzer F, Lewi P, et al. Cross-sectional study of tracheomegaly in children after fetal tracheal occlusion for severe congenital diaphragmatic hernia. *Radiology*. 2010 Oct;257(1):226–32.

146. Skari H, Bjornland K, Frenckner B, Friberg LG, Heikkinen M, Hurme T, et al. Congenital diaphragmatic hernia: a survey of practice in Scandinavia. *Pediatr Surg Int*. 2004

May;20(5):309–13.

147. Javid PJ, Jaksic T, Skarsgard ED, Lee S, Canadian Neonatal Network. Survival rate in congenital diaphragmatic hernia: the experience of the Canadian Neonatal Network. *J Pediatr Surg*. 2004 May;39(5):657–60.

148. Tsao K, Lally KP. The Congenital Diaphragmatic Hernia Study Group: a voluntary international registry. *Semin Pediatr Surg*. 2008 May;17(2):90–7.

149. Frenckner BP, Lally PA, Hintz SR, Lally KP, Congenital Diaphragmatic Hernia Study Group. Prenatal diagnosis of congenital diaphragmatic hernia: how should the babies be delivered? *J Pediatr Surg*. 2007 Sep;42(9):1533–8.

150. Losty PD. Congenital diaphragmatic hernia: where and what is the evidence? *Semin Pediatr Surg*. 2014 Oct;23(5):278–82.

151. Wung JT, Sahni R, Moffitt ST, Lipsitz E, Stolar CJ. Congenital diaphragmatic hernia: survival treated with very delayed surgery, spontaneous respiration, and no chest tube. *J Pediatr Surg*. 1995 Mar;30(3):406–9.

152. Jawaid WB, Qasem E, Jones MO, Shaw NJ, Losty PD. Outcomes following prosthetic patch repair in newborns with congenital diaphragmatic hernia. *Br J Surg*. 2013 Dec;100(13):1833–7.

153. Bennett CC, Johnson A, Field DJ, Elbourne D, UK Collaborative ECMO Trial Group. UK collaborative randomised trial of neonatal extracorporeal membrane oxygenation: follow-up to age 4 years. *Lancet Lond Engl*. 2001 Apr 7;357(9262):1094–6.

154. Elbourne D, Field D, Mugford M. Extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure in newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(1):CD001340.

155. Mugford M, Elbourne D, Field D. Extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure in newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jul 16;(3):CD001340.

156. Finer NN, Barrington KJ. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Oct 18;(4):CD000399.

157. Noori S, Friedlich P, Wong P, Garingo A, Seri I. Cardiovascular effects of sildenafil in neonates and infants with congenital diaphragmatic hernia and pulmonary hypertension. *Neonatology*. 2007;91(2):92–100.

158. Bialkowski A, Moenkemeyer F, Patel N. Intravenous sildenafil in the management of pulmonary hypertension associated with congenital diaphragmatic hernia. *Eur J Pediatr Surg Off J Austrian Assoc Pediatr Surg Al Z Kinderchir*. 2015 Apr;25(2):171–6.

159. Moss RL, Chen CM, Harrison MR. Prosthetic patch durability in congenital diaphragmatic hernia: a long-term follow-up study. *J Pediatr Surg*. 2001 Jan;36(1):152–4.

160. Tsai J, Sulkowski J, Adzick NS, Hedrick HL, Flake AW. Patch repair for congenital diaphragmatic hernia: is it really a problem? *J Pediatr Surg*. 2012 Apr;47(4):637–41.

161. Loff S, Wirth H, Jester I, Hosie S, Wollmann C, Schaible T, et al. Implantation of a cone-

shaped double-fixed patch increases abdominal space and prevents recurrence of large defects in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2005 Nov;40(11):1701–5.

162. Barnhart DC, Jacques E, Scaife ER, Yoder BA, Meyers RL, Harman A, et al. Split abdominal wall muscle flap repair vs patch repair of large congenital diaphragmatic hernias. *J Pediatr Surg.* 2012 Jan;47(1):81–6.

163. Joshi SB, Sen S, Chacko J, Thomas G, Karl S. Abdominal muscle flap repair for large defects of the diaphragm. *Pediatr Surg Int.* 2005 Aug;21(8):677–80.

164. Masumoto K, Nagata K, Souzaki R, Uesugi T, Takahashi Y, Taguchi T. Effectiveness of diaphragmatic repair using an abdominal muscle flap in patients with recurrent congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2007 Dec;42(12):2007–11.

165. Nasr A, Struijs M-C, Ein SH, Langer JC, Chiu PPL. Outcomes after muscle flap vs prosthetic patch repair for large congenital diaphragmatic hernias. *J Pediatr Surg.* 2010 Jan;45(1):151–4.

166. Scaife ER, Johnson DG, Meyers RL, Johnson SM, Matlak ME. The split abdominal wall muscle flap--a simple, mesh-free approach to repair large diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2003 Dec;38(12):1748–51.

167. Barbosa RF, Rodrigues J, Correia-Pinto J, Costa-Ferreira A, Cardoso A, Reis JC, et al. Repair of a large congenital diaphragmatic defect with a reverse latissimus dorsi muscle flap. *Microsurgery.* 2008;28(2):85–8.

168. Sydorak RM, Hoffman W, Lee H, Yingling CD, Longaker M, Chang J, et al. Reversed latissimus dorsi muscle flap for repair of recurrent congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2003 Mar;38(3):296–300; discussion 296–300.

169. Lansdale N, Alam S, Losty PD, Jesudason EC. Neonatal endosurgical congenital diaphragmatic hernia repair: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg.* 2010 Jul;252(1):20–6.

170. Costerus S, Zahn K, van de Ven K, Vlot J, Wessel L, Wijnen R. Thoracoscopic versus open repair of CDH in cardiovascular stable neonates. *Surg Endosc.* 2016 Jul;30(7):2818–24.

171. He Q-M, Zhong W, Zhang H, Li L, Wang Z, Tan Y, et al. Standardized Indications to Assist in the Safe Thoracoscopic Repair of Congenital Diaphragmatic Hernia in Neonates. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2016 May;26(5):399–403.

172. Vijfhuizen S, Deden AC, Costerus SA, Sloots CEJ, Wijnen RMH. Minimal access surgery for repair of congenital diaphragmatic hernia: is it advantageous?--An open review. *Eur J Pediatr Surg Off J Austrian Assoc Pediatr Surg Al Z Kinderchir.* 2012 Oct;22(5):364–73.

173. Weaver KL, Baerg JE, Okawada M, Miyano G, Barsness KA, Lacher M, et al. A Multi-Institutional Review of Thoracoscopic Congenital Diaphragmatic Hernia Repair. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2016 Oct;26(10):825–30.

174. Ruano R, Peiro JL, da Silva MM, Campos J a. DB, Carreras E, Tannuri U, et al. Early fetoscopic tracheal occlusion for extremely severe pulmonary hypoplasia in isolated congenital diaphragmatic hernia: preliminary results. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound*

Obstet Gynecol. 2013 Jul;42(1):70–6.

175. Areechon W, Reid L. Hypoplasia of lung with congenital diaphragmatic hernia. *Br Med J*. 1963 Jan 26;1(5325):230–3.

176. Snowise S, Johnson A. Tracheal occlusion for fetal diaphragmatic hernia. *Am J Perinatol*. 2014 Aug;31(7):605–16.

177. Wu J, Yamamoto H, Gratacos E, Ge X, Verbeken E, Sueishi K, et al. Lung development following diaphragmatic hernia in the fetal rabbit. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2000 Dec;15(12):2483–8.

178. Wu J, Ge X, Verbeken EK, Gratacós E, Yesildaglar N, Deprest JA. Pulmonary effects of in utero tracheal occlusion are dependent on gestational age in a rabbit model of diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg*. 2002 Jan;37(1):11–7.

179. Roubliova XI, Verbeken EK, Wu J, Vaast P, Jani J, Deprest JA. Effect of tracheal occlusion on peripheric pulmonary vessel muscularization in a fetal rabbit model for congenital diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 Sep;191(3):830–6.

180. Roubliova XI, Deprest JA, Biard JM, Ophalvens L, Gallot D, Jani JC, et al. Morphologic changes and methodological issues in the rabbit experimental model for diaphragmatic hernia. *Histol Histopathol*. 2010;25(9):1105–16.

181. Kent GM, Olley PM, Creighton RE, Dobbins T, Bryan MH, Symchych P, et al. Hemodynamic and pulmonary changes following surgical creation of a diaphragmatic hernia in fetal lambs. *Surgery*. 1972 Sep;72(3):427–33.

182. Carmel JA, Friedman F, Adams FH. FETAL TRACHEAL LIGATION AND LUNG DEVELOPMENT. *Am J Dis Child* 1960. 1965 May;109:452–6.

183. Harding R, Bocking AD, Sigger JN. Influence of upper respiratory tract on liquid flow to and from fetal lungs. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1986 Jul;61(1):68–74.

184. Khan PA, Cloutier M, Piedboeuf B. Tracheal occlusion: a review of obstructing fetal lungs to make them grow and mature. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2007 May 15;145C(2):125–38.

185. Chiu PPL. New Insights into Congenital Diaphragmatic Hernia - A Surgeon's Introduction to CDH Animal Models. *Front Pediatr*. 2014;2:36.

186. Probyn ME, Wallace MJ, Hooper SB. Effect of increased lung expansion on lung growth and development near midgestation in fetal sheep. *Pediatr Res*. 2000 Jun;47(6):806–12.

187. Pelizzo G, Mimmi MC, Peiro JL, Marotta M, Amoroso F, Fusillo M, et al. Congenital diaphragmatic hernia: endotracheal fluid phospholipidic profile following tracheal occlusion in an experimental model. *J Perinat Med*. 2017 Feb 1;45(2):219–25.

188. Liao SL, Luks FI, Piasecki GJ, Wild YK, Papadakis K, De Paepe ME. Late-gestation tracheal occlusion in the fetal lamb causes rapid lung growth with type II cell preservation. *J Surg Res*. 2000 Jul;92(1):64–70.

189. Fontecha CG, Peiro JL, Sevilla JJ, Aguirre M, Soldado F, Fresno L, et al. Fetoscopic coverage of experimental myelomeningocele in sheep using a patch with surgical sealant. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011 Jun;156(2):171–6.
190. Fontecha CG, Peiro JL, Aguirre M, Soldado F, Añor S, Fresno L, et al. Inert patch with bioadhesive for gentle fetal surgery of myelomeningocele in a sheep model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009 Oct;146(2):174–9.
191. Peiro JL, Fontecha CG, Ruano R, Esteves M, Fonseca C, Marotta M, et al. Single-Access Fetal Endoscopy (SAFE) for myelomeningocele in sheep model I: amniotic carbon dioxide gas approach. *Surg Endosc.* 2013 Oct;27(10):3835–40.
192. Soldado F, Peiró JL, Aguirre M, Moll X, García-Fontecha C, Giné C, et al. Extremity amniotic band syndrome in fetal lamb. I: An experimental model of limb amputation. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(6):1607–10.
193. Irish MS, Holm BA, Glick PL. Congenital diaphragmatic hernia. A historical review. *Clin Perinatol.* 1996 Dec;23(4):625–53.
194. Vuckovic A, Herber-Jonat S, Flemmer AW, Ruehl IM, Votino C, Segers V, et al. Increased TGF- β : a drawback of tracheal occlusion in human and experimental congenital diaphragmatic hernia? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2016 Feb 15;310(4):L311–27.
195. Gonçalves FLL, Figueira RL, Gallindo RM, Simões ALB, Coleman A, Peiró JL, et al. Tracheal occlusion and ventilation changes the nitric oxide pathway in congenital diaphragmatic hernia model. *J Surg Res.* 2016 Jun 15;203(2):466–75.



Anexos

12.1. Anexo 1: Imágenes histológicas analizadas

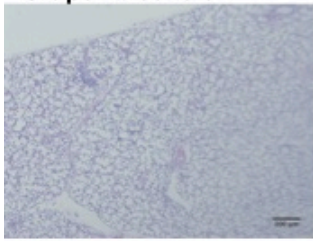
A continuación se expondrán todas las imágenes histológicas a partir de las cuales se realizó el estudio morfológico histológico por parte del Servicio de Anatomía Patológica (Dra. Navarro) y el estudio morfométrico (doctorando) tal y como se detalla en el apartado 8 de Materiales y Métodos.

Las imágenes histológicas se muestran de la siguiente manera:

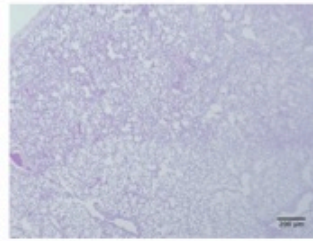
- Hematoxilina Eosina x4 aumentos: 5 imágenes por sujeto de estudio.
- Hematoxilina Eosina x10 aumentos: 5 imágenes por sujeto de estudio.
- Hematoxilina Eosina x20 aumentos: 5 imágenes por sujeto de estudio.
- Tricrómico de Masson x10 aumentos: 1 imágenes por sujeto de estudio.
- Fibras Elásticas x10 aumentos: 1 imágenes por sujeto de estudio.

Hematoxilina Eosina x4

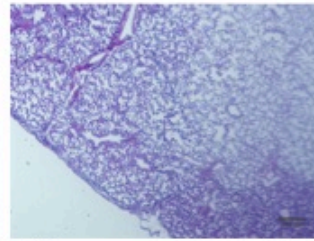
Grupo A: Control



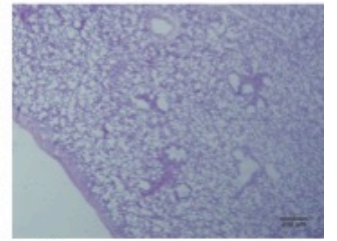
E1



E2

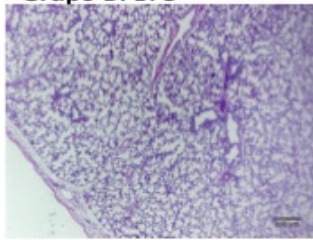


E3

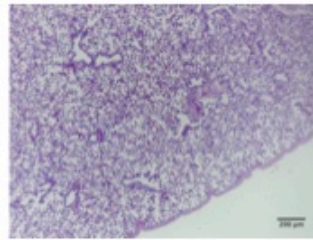


E4

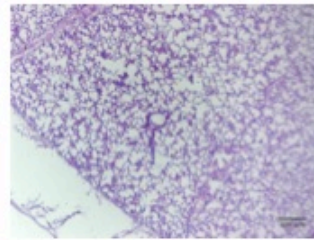
Grupo B: LTO



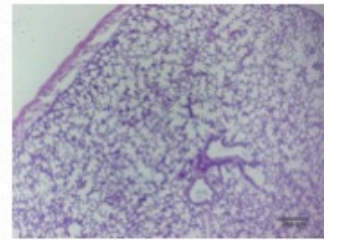
B1



B2

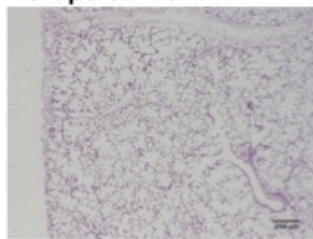


B3

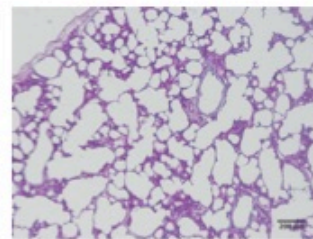


B4

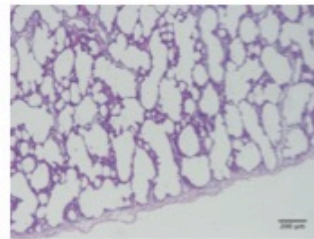
Grupo C: ETO



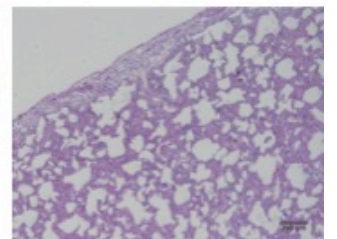
F1



F2

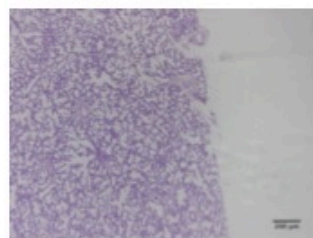


F4

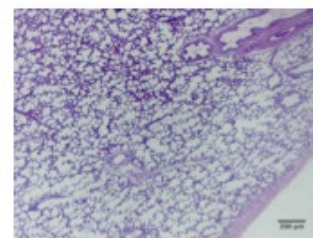


F5

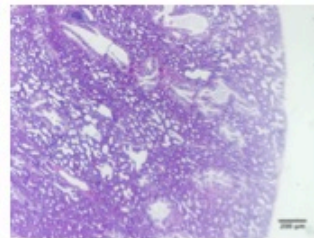
Grupo D: CDH



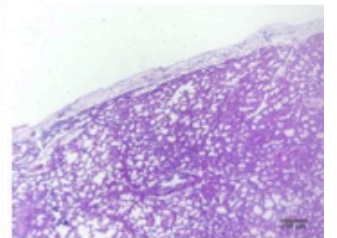
A1



A2

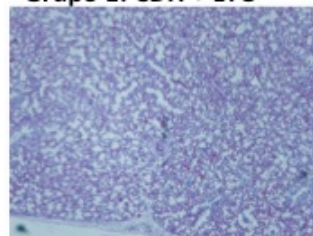


A4

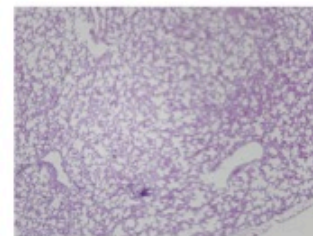


A5

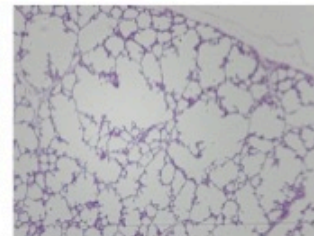
Grupo E: CDH + LTO



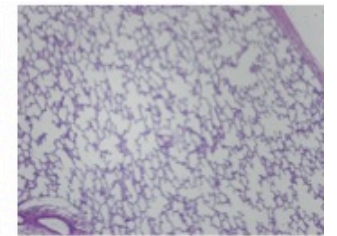
C1



C2

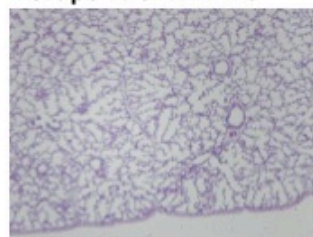


C3

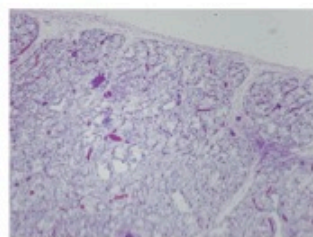


C4

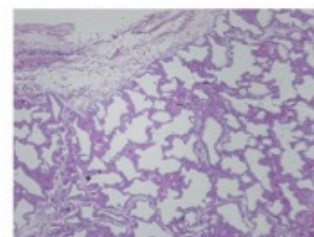
Grupo F: CDH + ETO



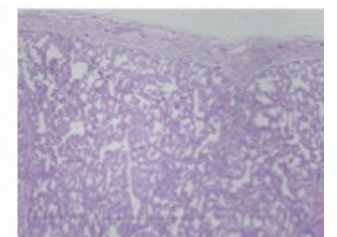
D1



D3



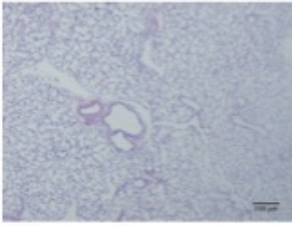
D4



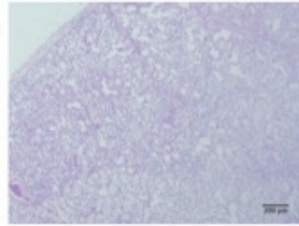
D5

Hematoxilina Eosina x4

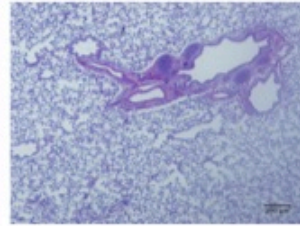
Grupo A: Control



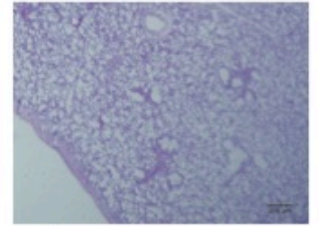
E1



E2

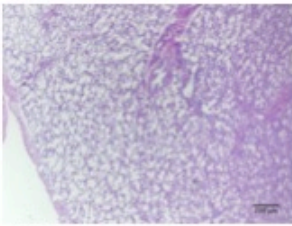


E3

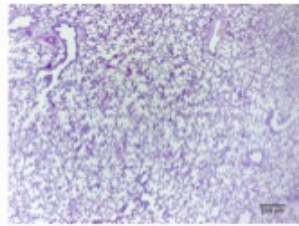


E4

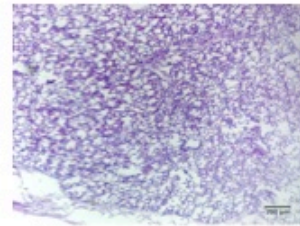
Grupo B: LTO



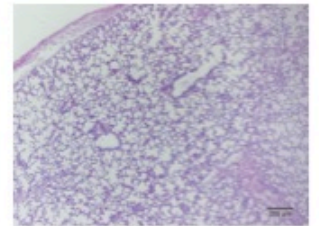
B1



B2

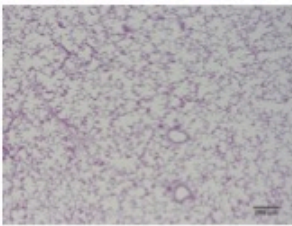


B3

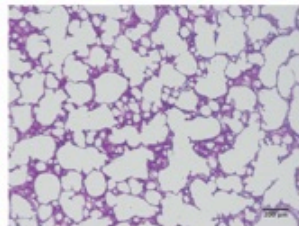


B4

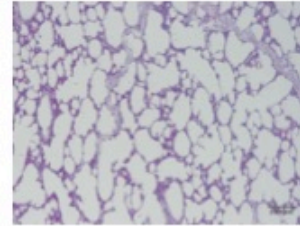
Grupo C: ETO



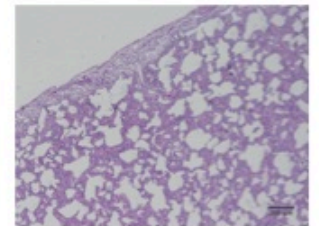
F1



F2

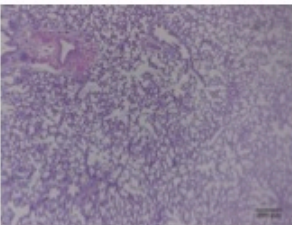


F4

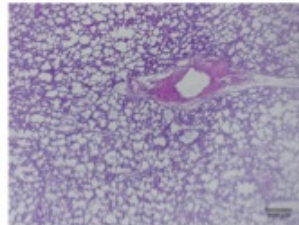


F5

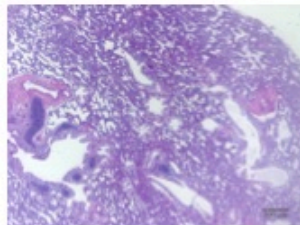
Grupo D: CDH



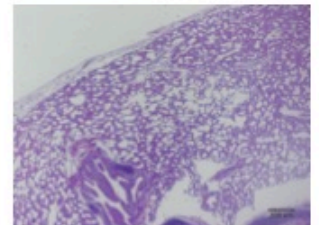
A1



A2

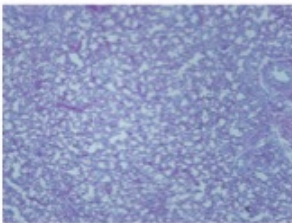


A4

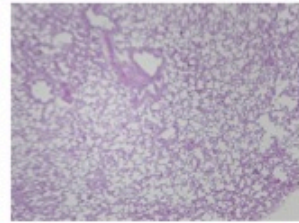


A5

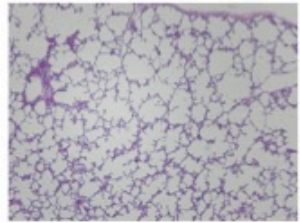
Grupo E: CDH + LTO



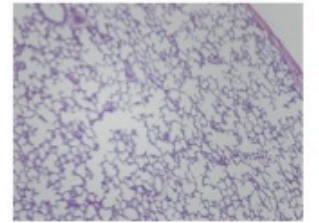
C1



C2

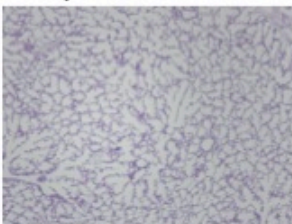


C3

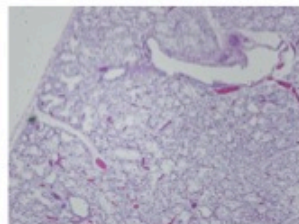


C4

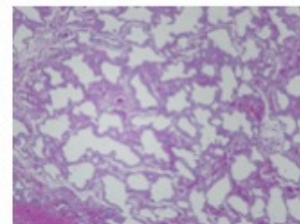
Grupo F: CDH + ETO



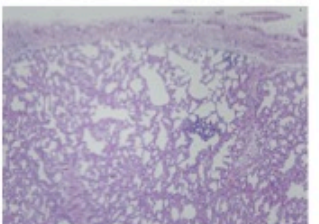
D1



D3



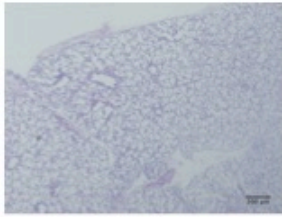
D4



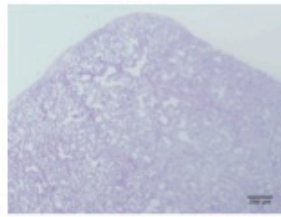
D5

Hematoxilina Eosina x4

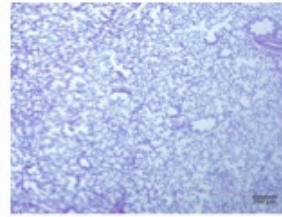
Grupo A: Control



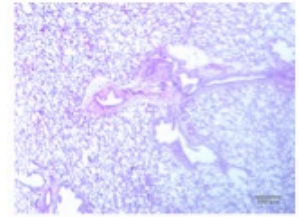
E1



E2

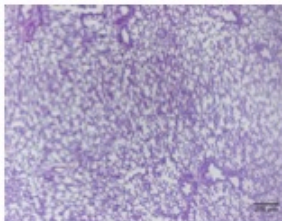


E3

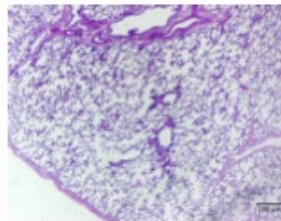


E4

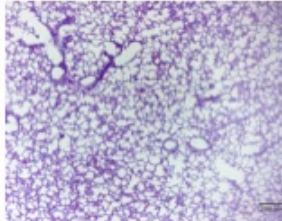
Grupo B: LTO



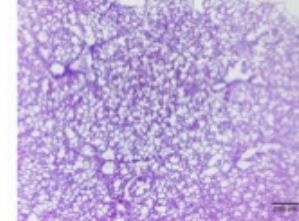
B1



B2

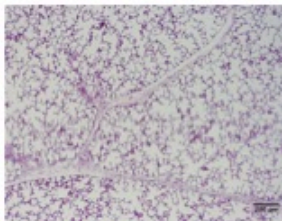


B3

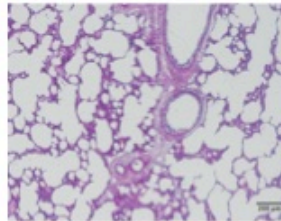


B4

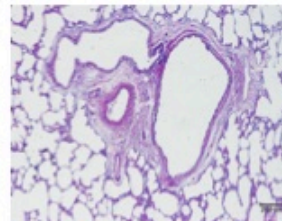
Grupo C: ETO



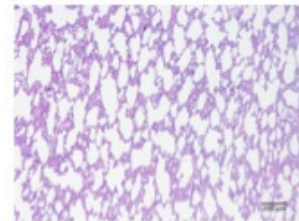
F1



F2

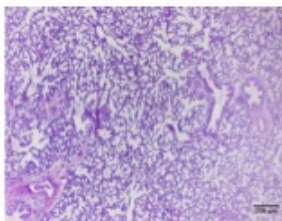


F4

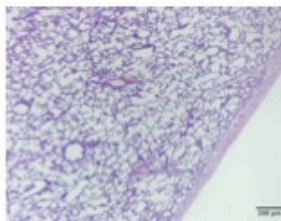


F5

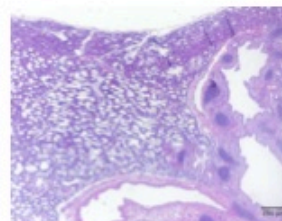
Grupo D: CDH



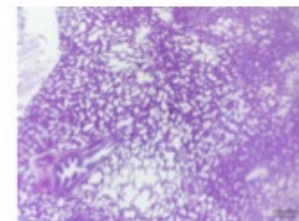
A1



A2

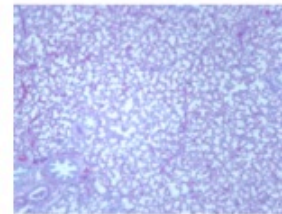


A4

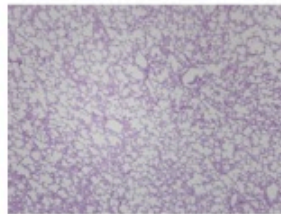


A5

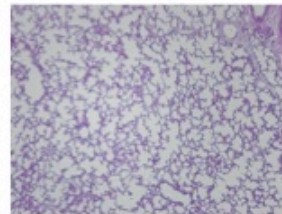
Grupo E: CDH + LTO



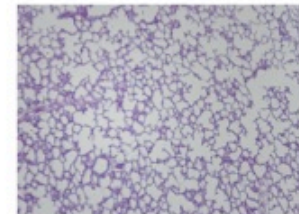
C1



C2

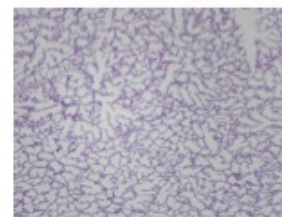


C3

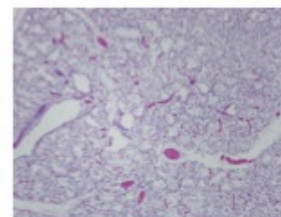


C4

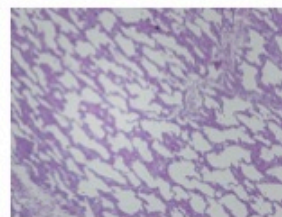
Grupo F: CDH + ETO



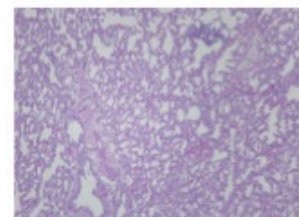
D1



D3



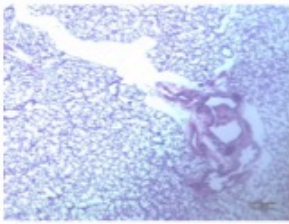
D4



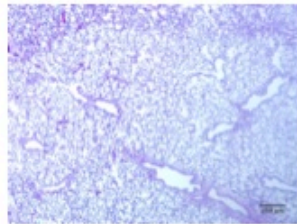
D5

Hematoxilina Eosina x4

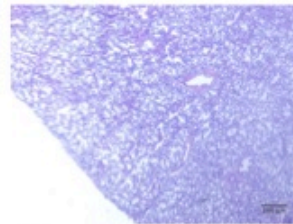
Grupo A: Control



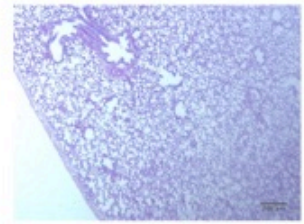
E1



E2

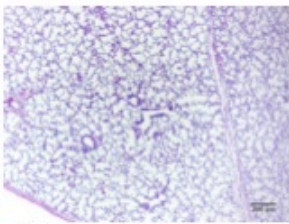


E3

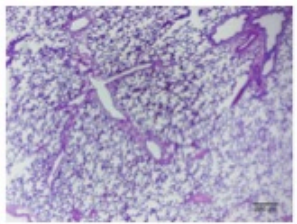


E4

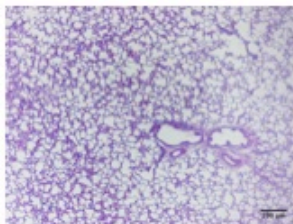
Grupo B: LTO



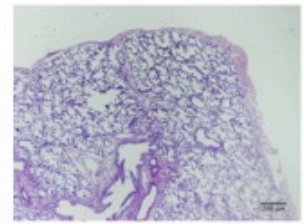
B1



B2

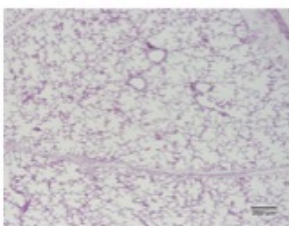


B3

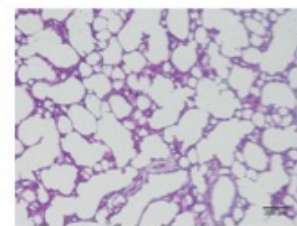


B4

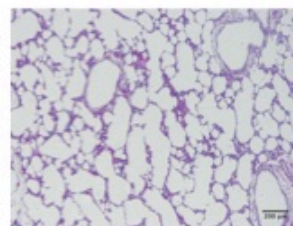
Grupo C: ETO



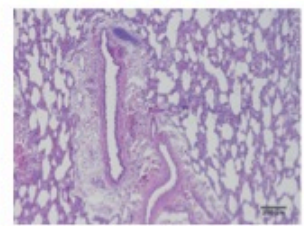
F1



F2

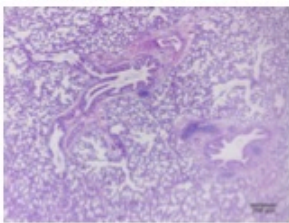


F4

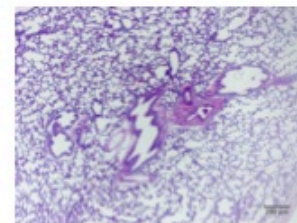


F5

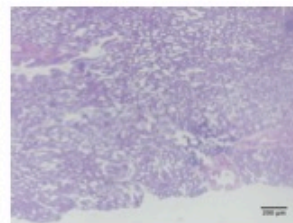
Grupo D: CDH



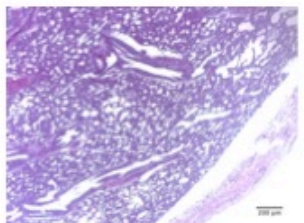
A1



A2

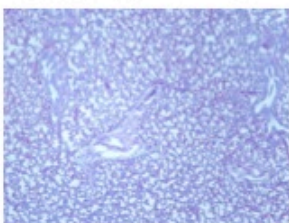


A4

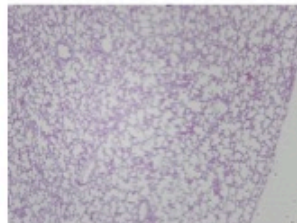


A5

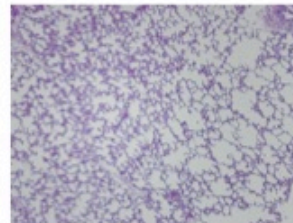
Grupo E: CDH + LTO



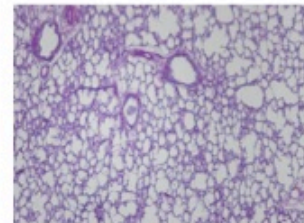
C1



C2

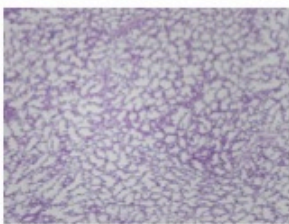


C3

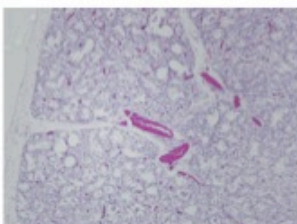


C4

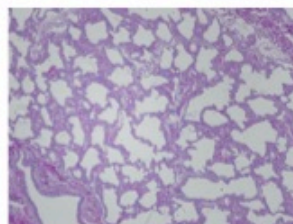
Grupo F: CDH + ETO



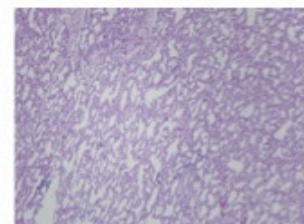
D1



D3



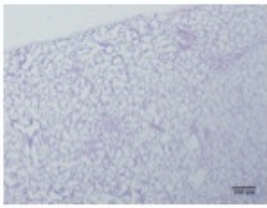
D4



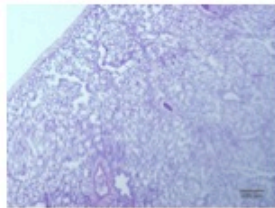
D5

Hematoxilina Eosina x4

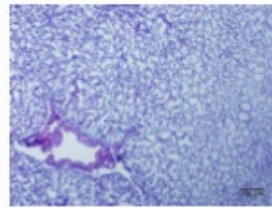
Grupo A: Control



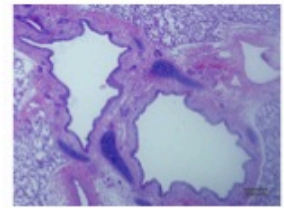
E1



E2

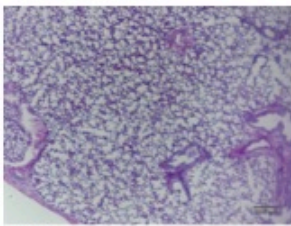


E3

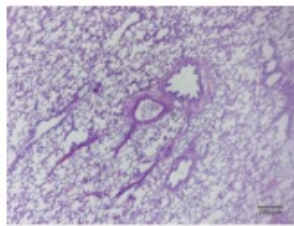


E4

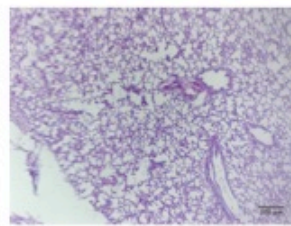
Grupo B: LTO



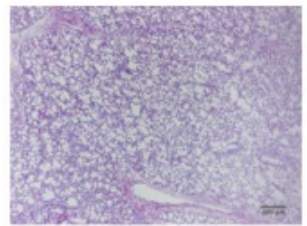
B1



B2

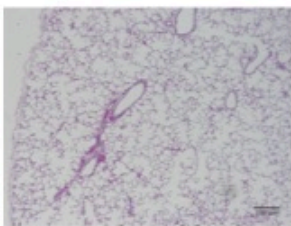


B3

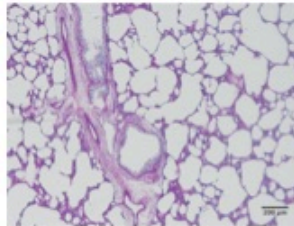


B4

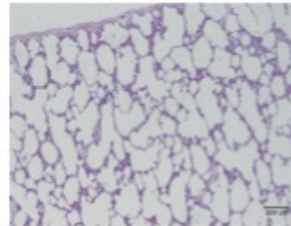
Grupo C: ETO



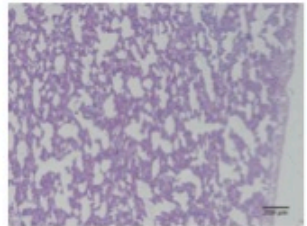
F1



F2

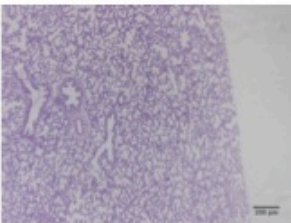


F4

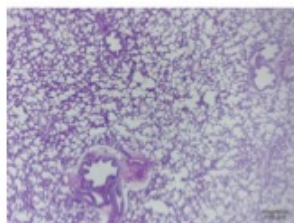


F5

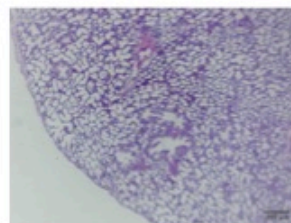
Grupo D: CDH



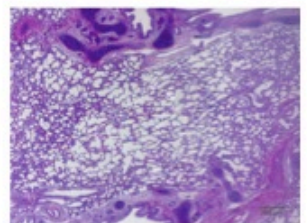
A1



A2

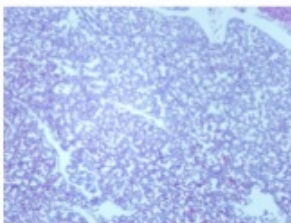


A4

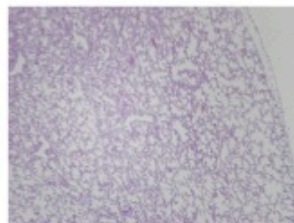


A5

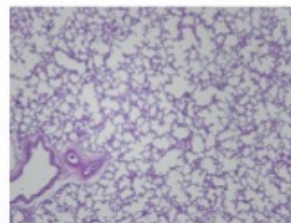
Grupo E: CDH + LTO



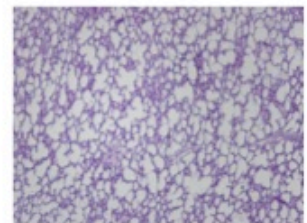
C1



C2

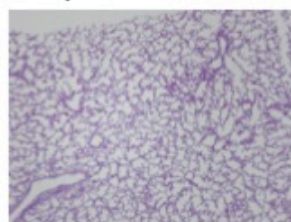


C3

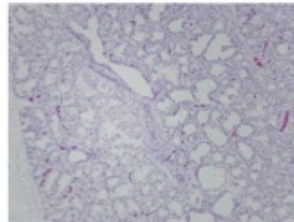


C4

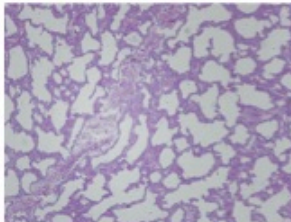
Grupo F: CDH + ETO



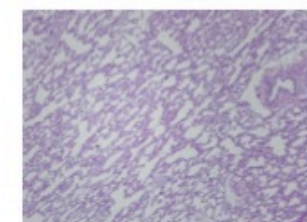
D1



D3



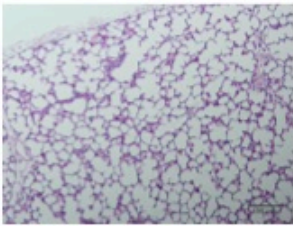
D4



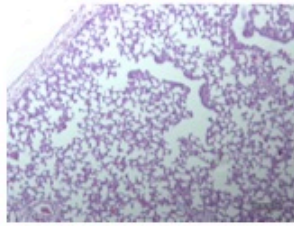
D5

Hematoxilina Eosina x10

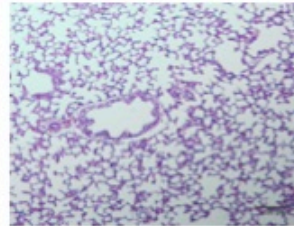
Grupo A: Control



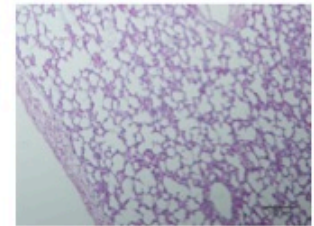
E1



E2

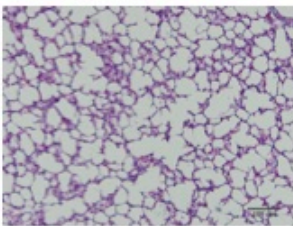


E3

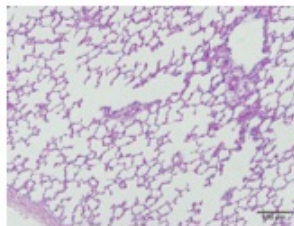


E4

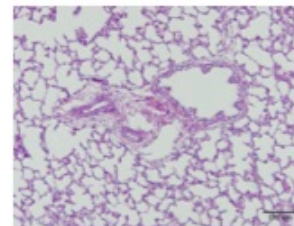
Grupo B: LTO



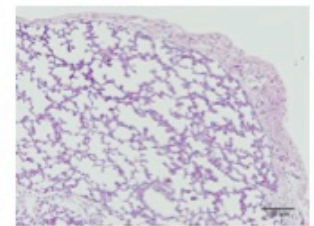
B1



B2

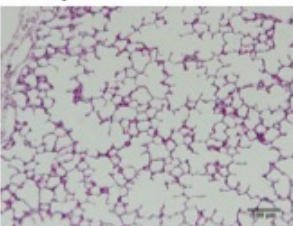


B3

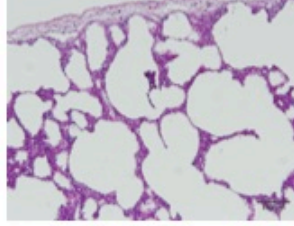


B4

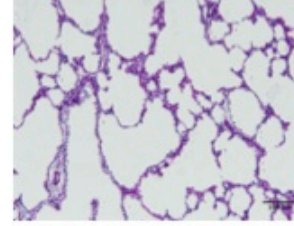
Grupo C: ETO



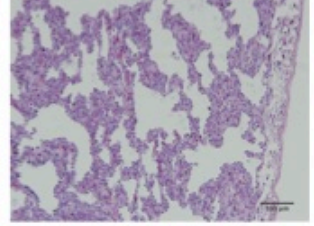
F1



F2

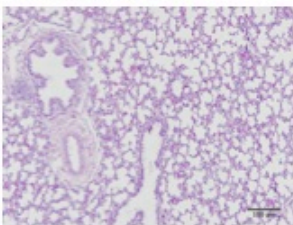


F4

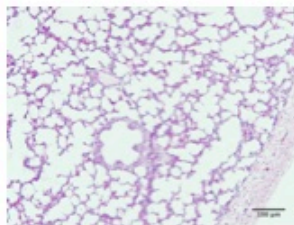


F5

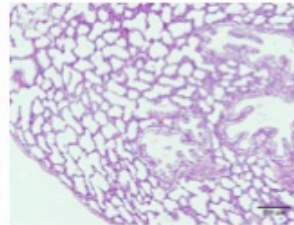
Grupo D: CDH



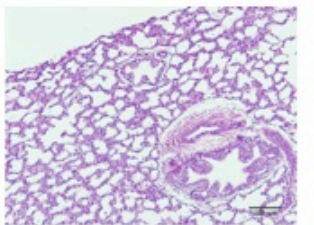
A1



A2

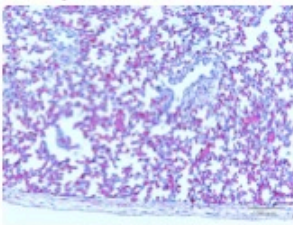


A4

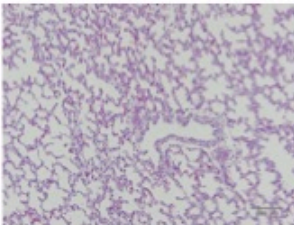


A5

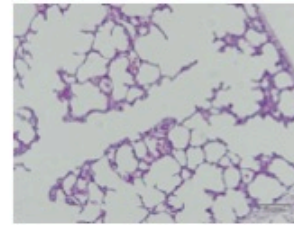
Grupo E: CDH + LTO



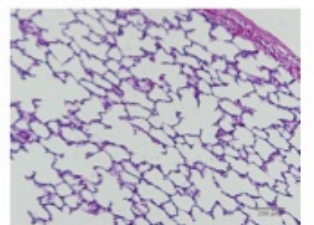
C1



C2

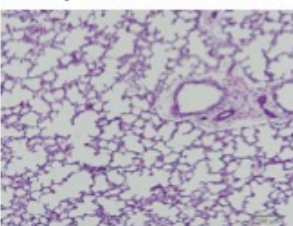


C3

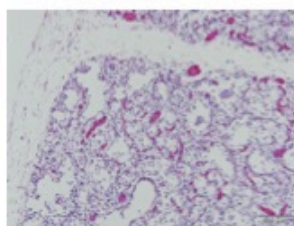


C4

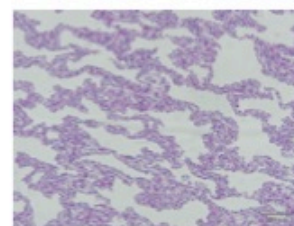
Grupo F: CDH + ETO



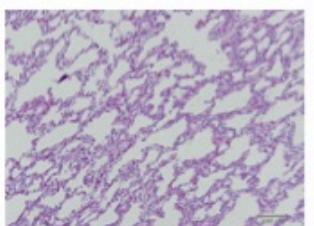
D1



D3



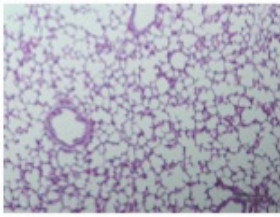
D4



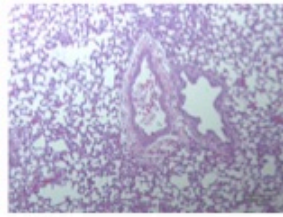
D5

Hematoxilina Eosina x10

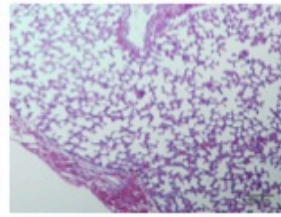
Grupo A: Control



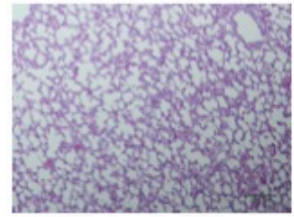
E1



E2

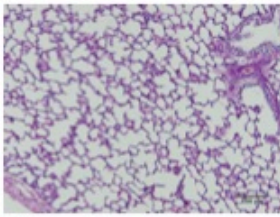


E3

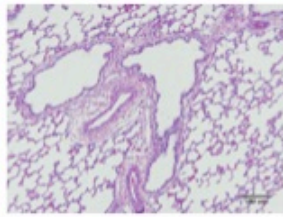


E4

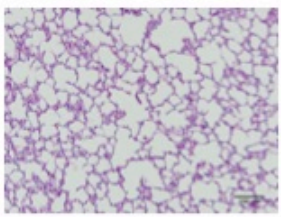
Grupo B: LTO



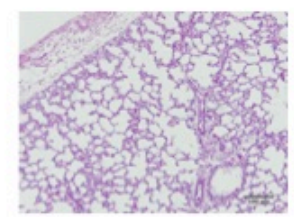
B1



B2

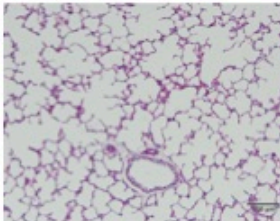


B3

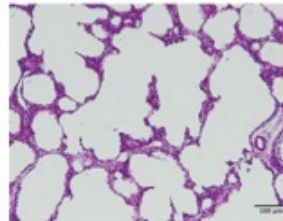


B4

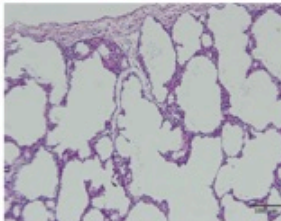
Grupo C: ETO



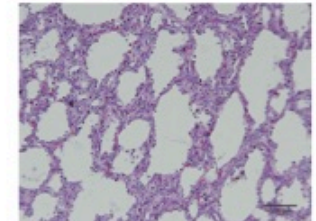
F1



F2

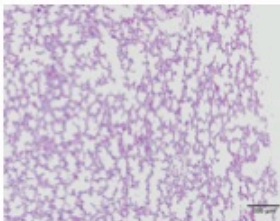


F4

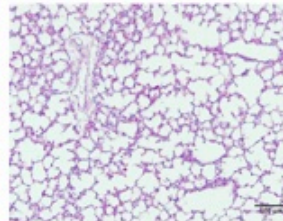


F5

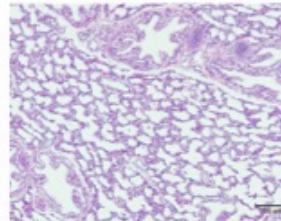
Grupo D: CDH



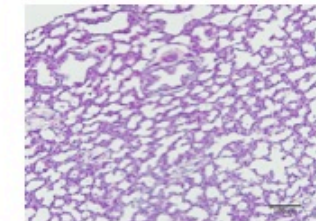
A1



A2

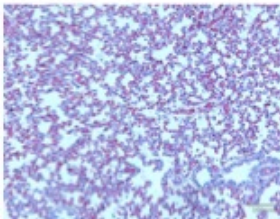


A4

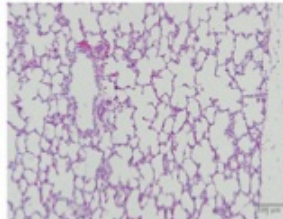


A5

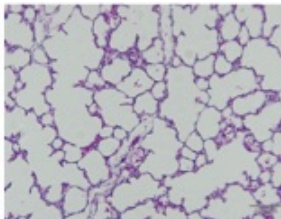
Grupo E: CDH + LTO



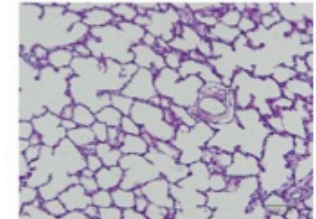
C1



C2

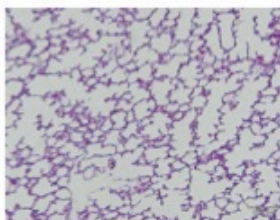


C3

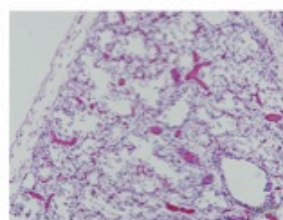


C4

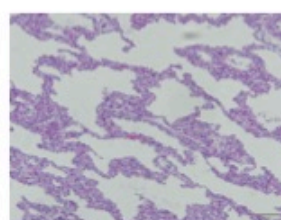
Grupo F: CDH + ETO



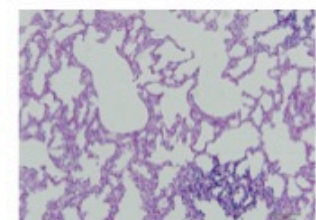
D1



D3



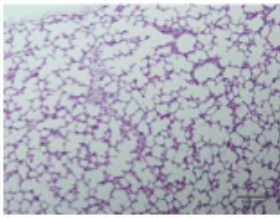
D4



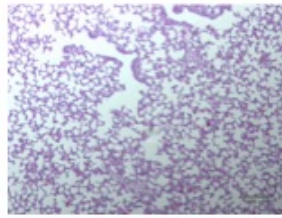
D5

Hematoxilina Eosina x10

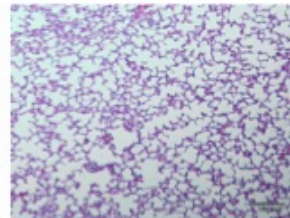
Grupo A: Control



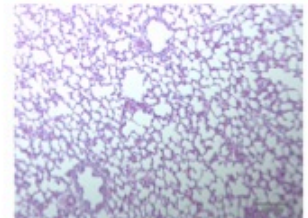
E1



E2

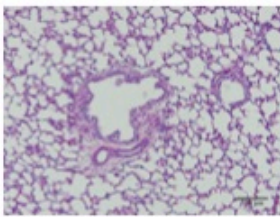


E3

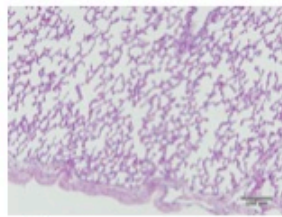


E4

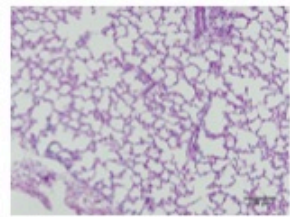
Grupo B: LTO



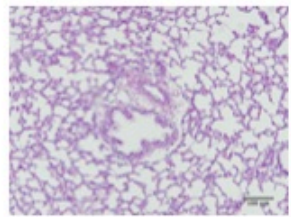
B1



B2

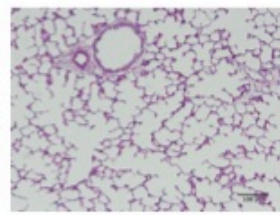


B3

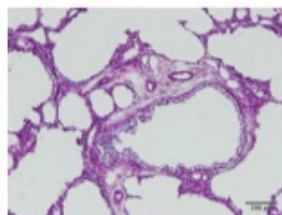


B4

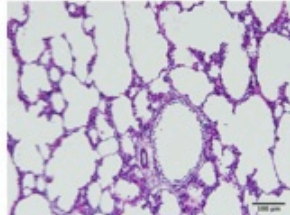
Grupo C: ETO



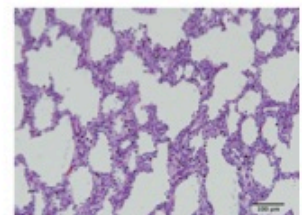
F1



F2

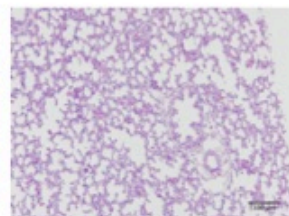


F4

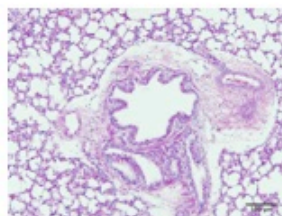


F5

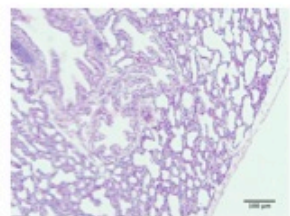
Grupo D: CDH



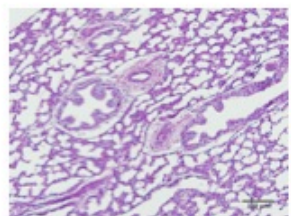
A1



A2

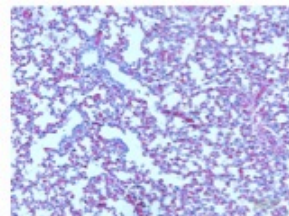


A4

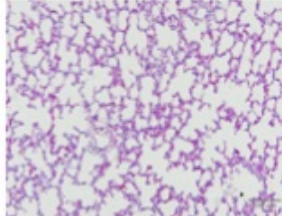


A5

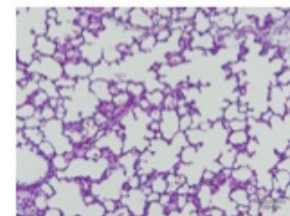
Grupo E: CDH + LTO



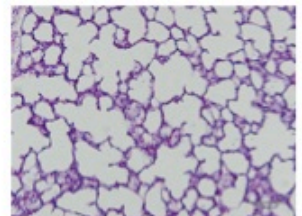
C1



C2

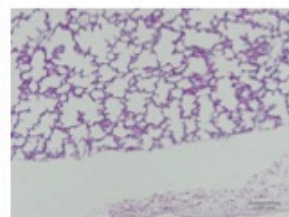


C3

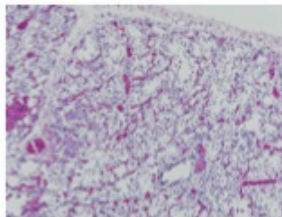


C4

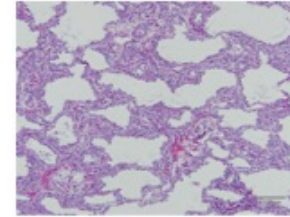
Grupo F: CDH + ETO



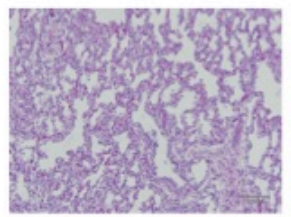
D1



D3



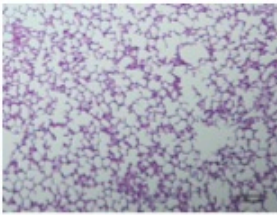
D4



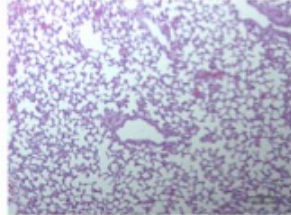
D5

Hematoxilina Eosina x10

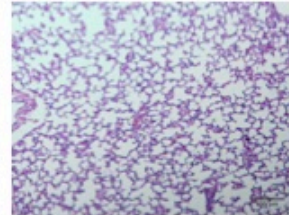
Grupo A: Control



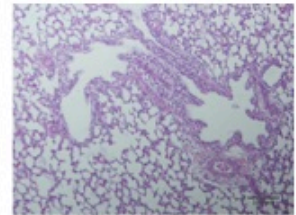
E1



E2

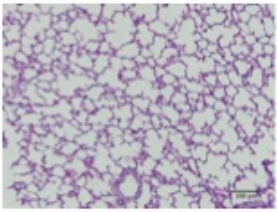


E3

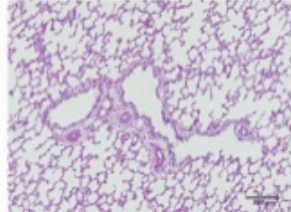


E4

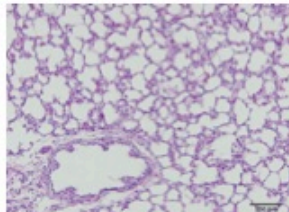
Grupo B: LTO



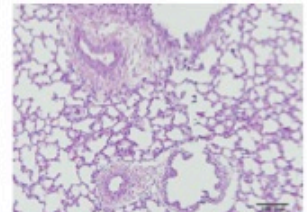
B1



B2

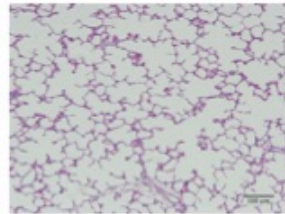


B3

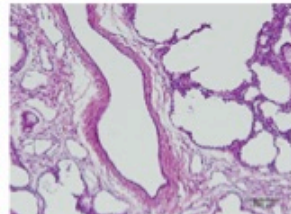


B4

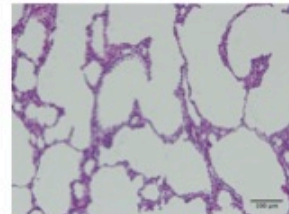
Grupo C: ETO



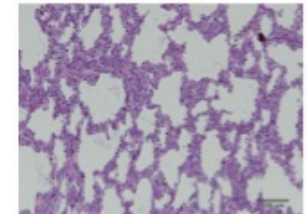
F1



F2

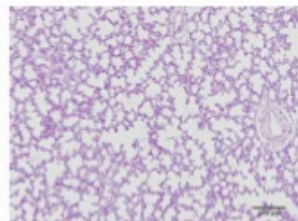


F4

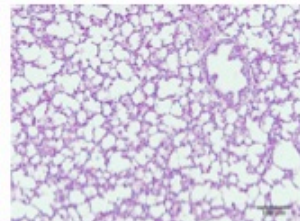


F5

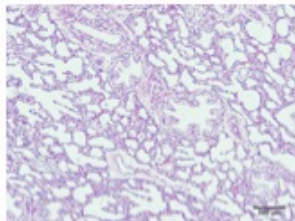
Grupo D: CDH



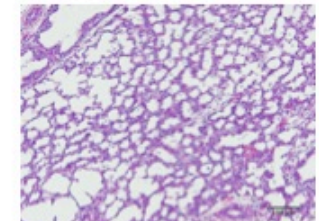
A1



A2

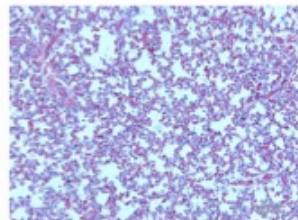


A4

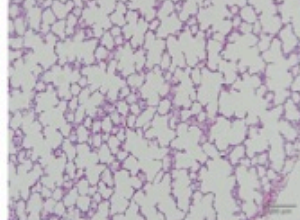


A5

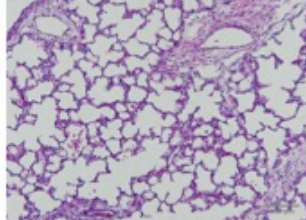
Grupo E: CDH + LTO



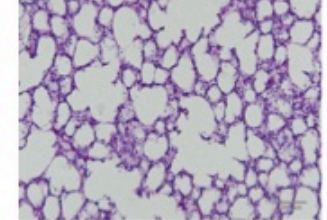
C1



C2

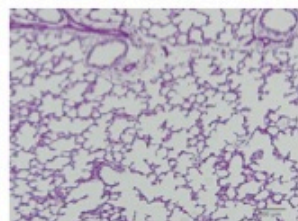


C3

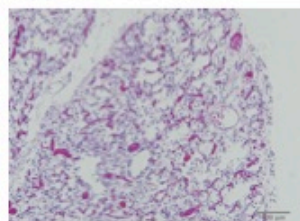


C4

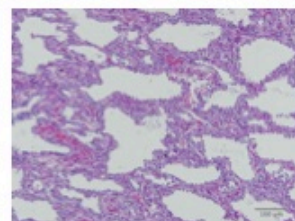
Grupo F: CDH + ETO



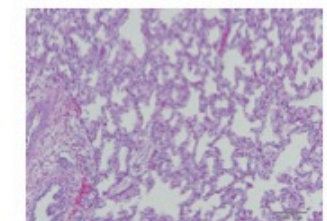
D1



D3



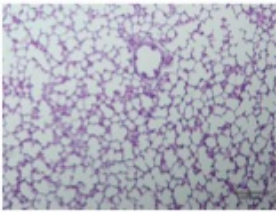
D4



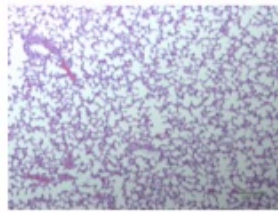
D5

Hematoxilina Eosina x10

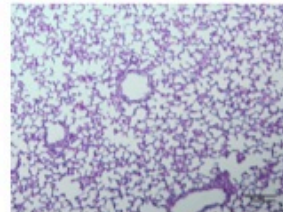
Grupo A: Control



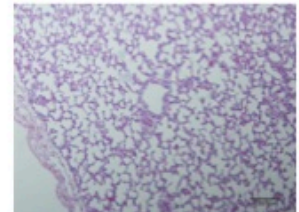
E1



E2

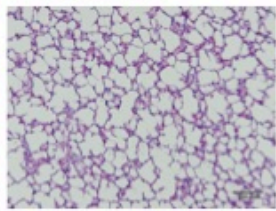


E3

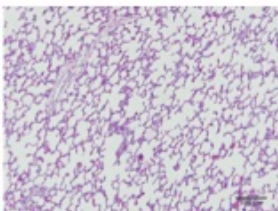


E4

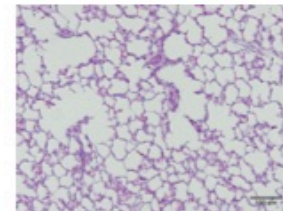
Grupo B: LTO



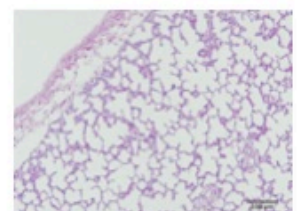
B1



B2

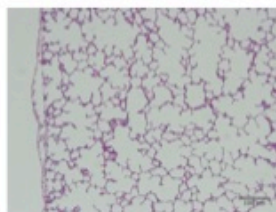


B3

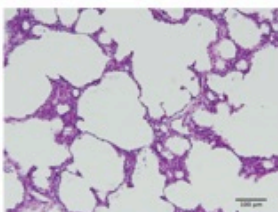


B4

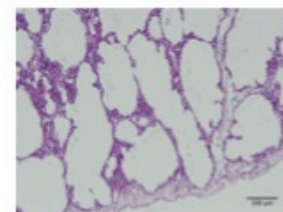
Grupo C: ETO



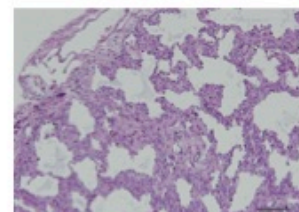
F1



F2

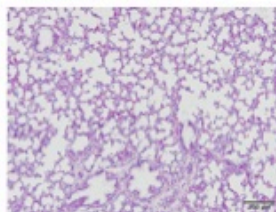


F4

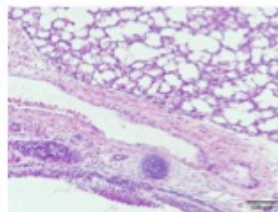


F5

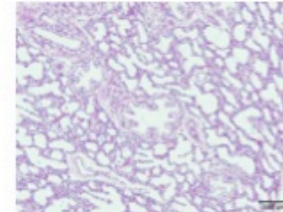
Grupo D: CDH



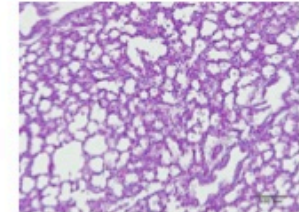
A1



A2

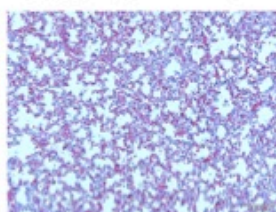


A4

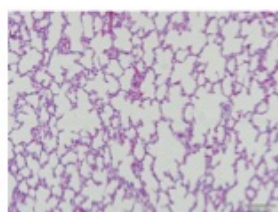


A5

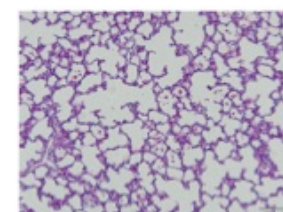
Grupo E: CDH + LTO



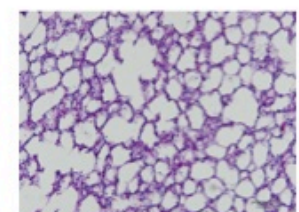
C1



C2

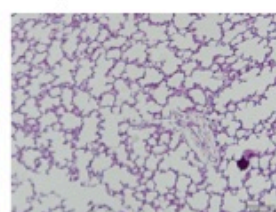


C3

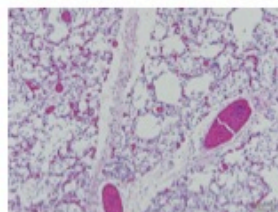


C4

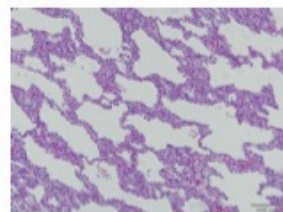
Grupo F: CDH + ETO



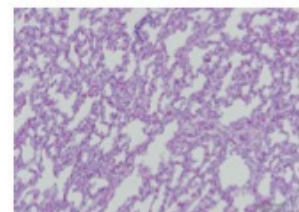
D1



D3



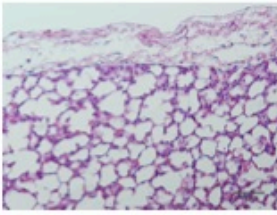
D4



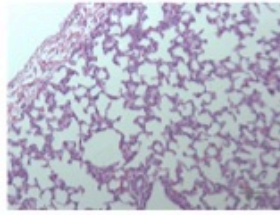
D5

Hematoxilina Eosina x20

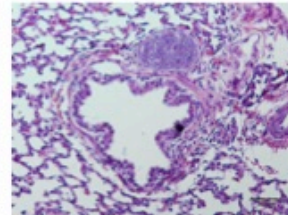
Grupo A: Control



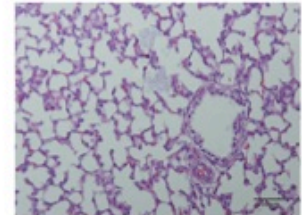
E1



E2

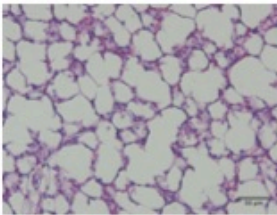


E3

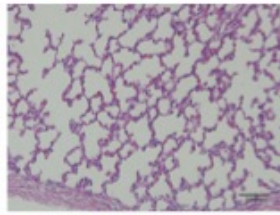


E4

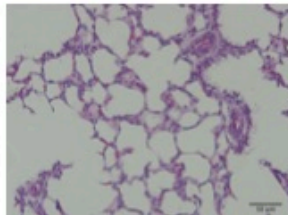
Grupo B: LTO



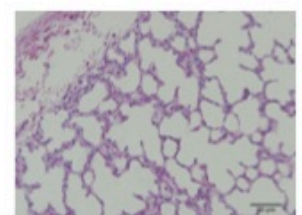
B1



B2

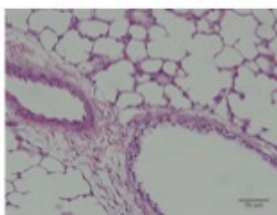


B3

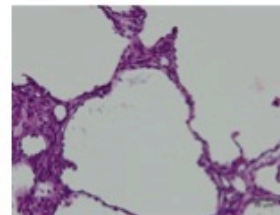


B4

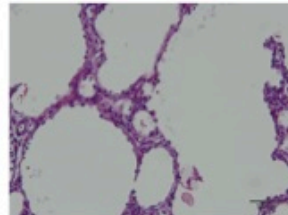
Grupo C: ETO



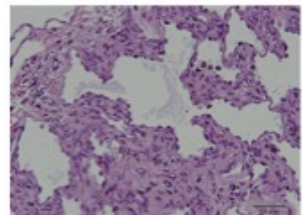
F1



F2

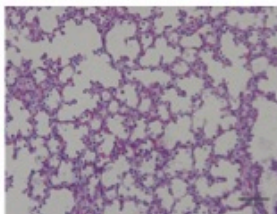


F4

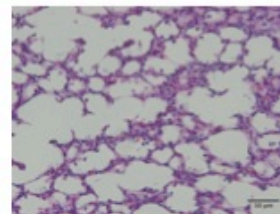


F5

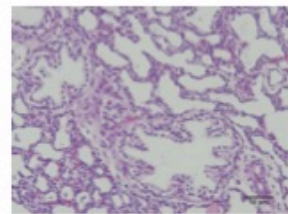
Grupo D: CDH



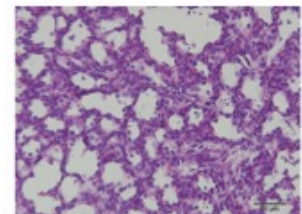
A1



A2

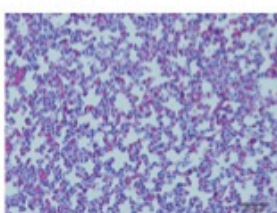


A4

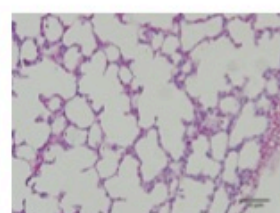


A5

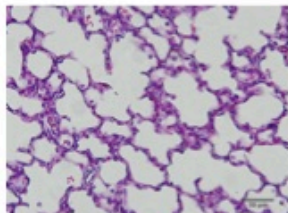
Grupo E: CDH + LTO



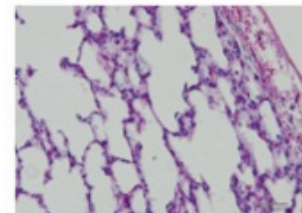
C1



C2

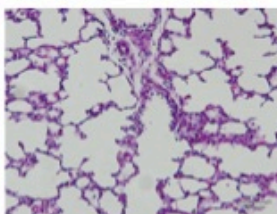


C3

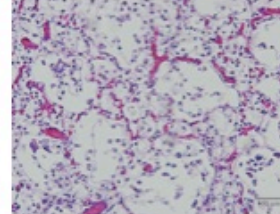


C4

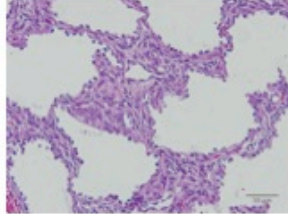
Grupo F: CDH + ETO



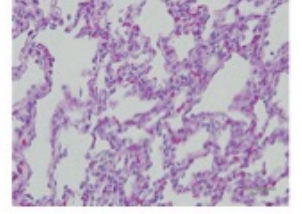
D1



D3



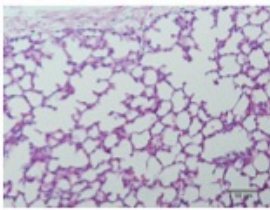
D4



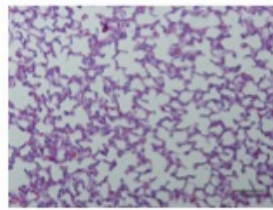
D5

Hematoxilina Eosina x20

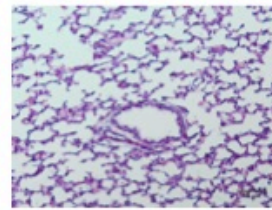
Grupo A: Control



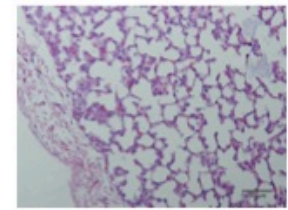
E1



E2

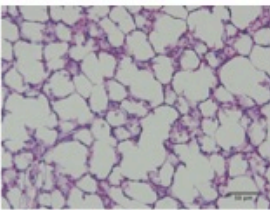


E3

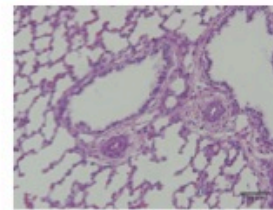


E4

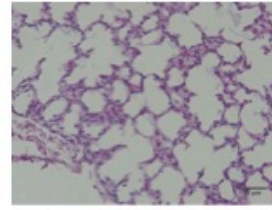
Grupo B: LTO



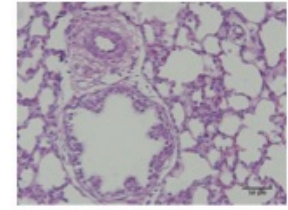
B1



B2

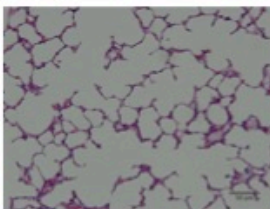


B3

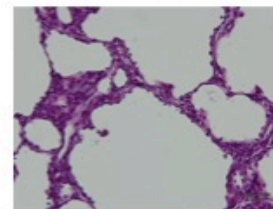


B4

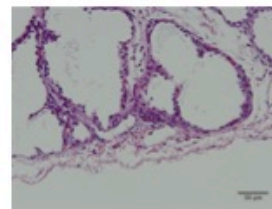
Grupo C: ETO



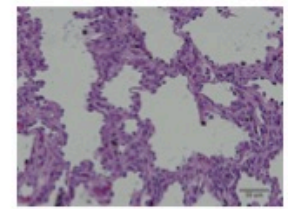
F1



F2

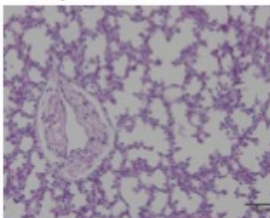


F4

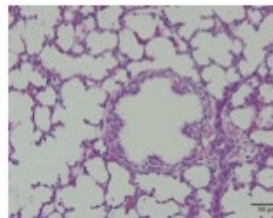


F5

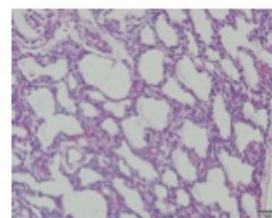
Grupo D: CDH



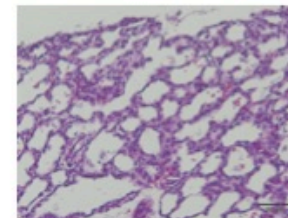
A1



A2

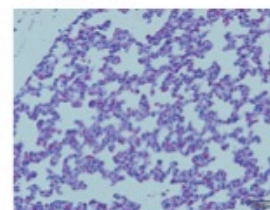


A4

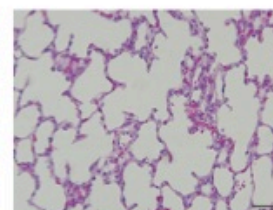


A5

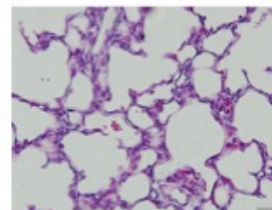
Grupo E: CDH + LTO



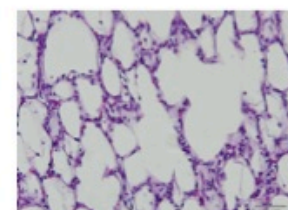
C1



C2

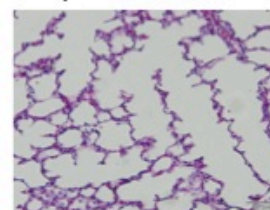


C3

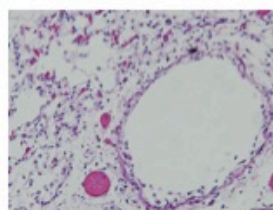


C4

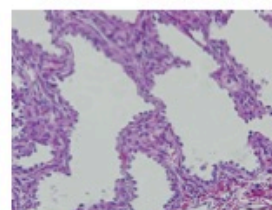
Grupo F: CDH + ETO



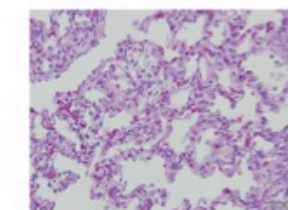
D1



D3



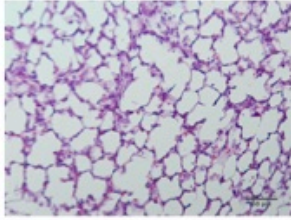
D4



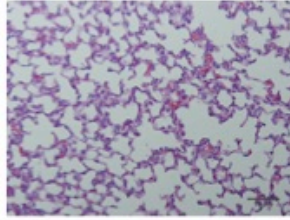
D5

Hematoxilina Eosina x20

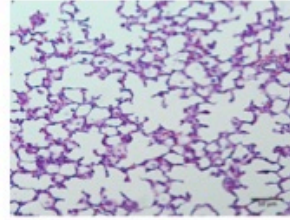
Grupo A: Control



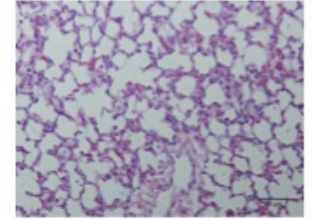
E1



E2

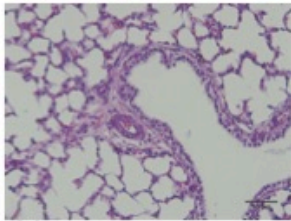


E3

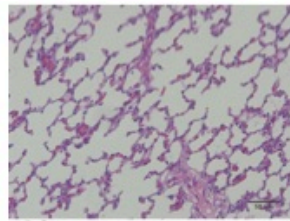


E4

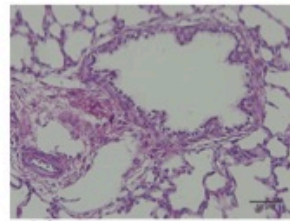
Grupo B: LTO



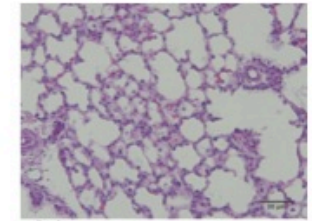
B1



B2

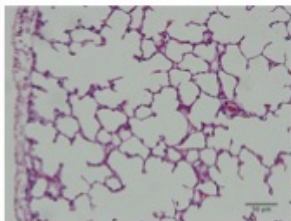


B3

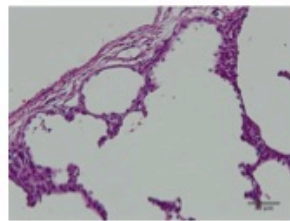


B4

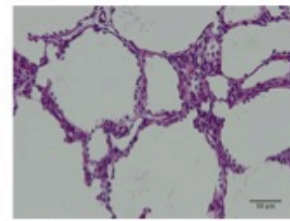
Grupo C: ETO



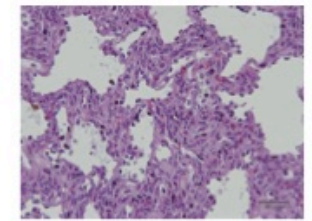
F1



F2

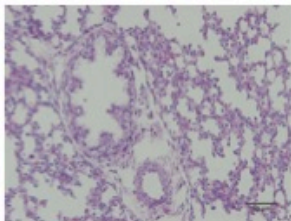


F4

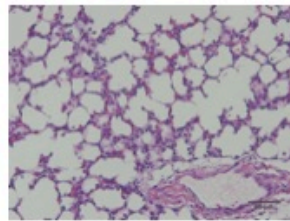


F5

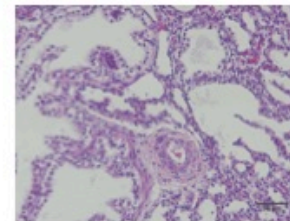
Grupo D: CDH



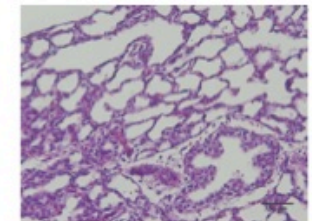
A1



A2

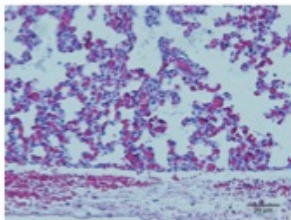


A4

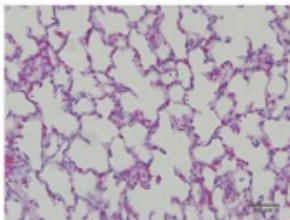


A5

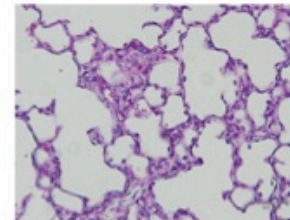
Grupo E: CDH + LTO



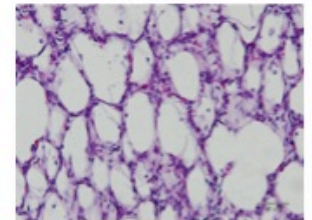
C1



C2

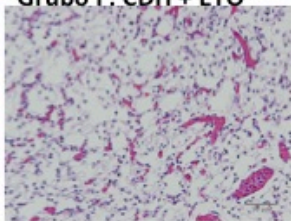


C3

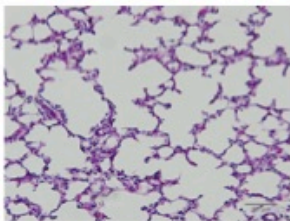


C4

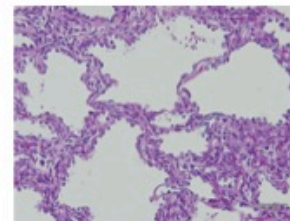
Grupo F: CDH + ETO



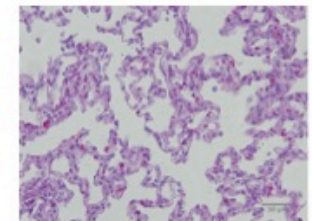
D1



D3



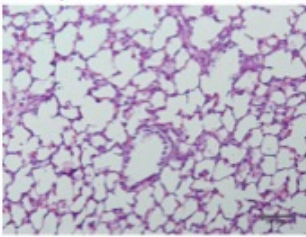
D4



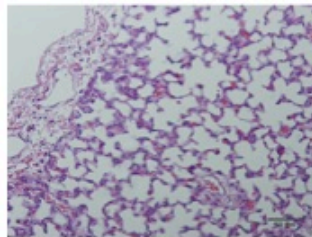
D5

Hematoxilina Eosina x20

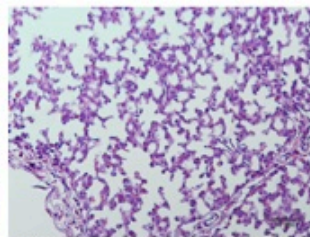
Grupo A: Control



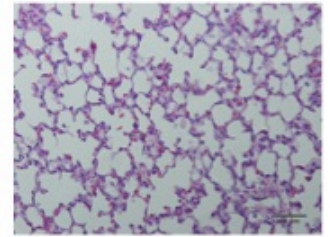
E1



E2

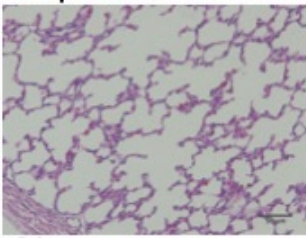


E3

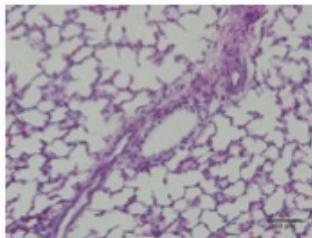


E4

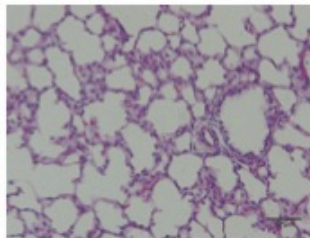
Grupo B: LTO



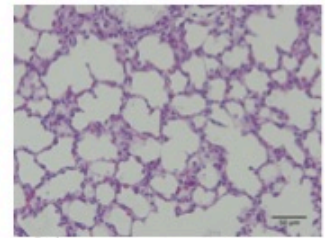
B1



B2

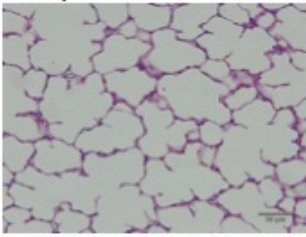


B3

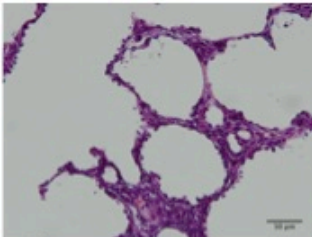


B4

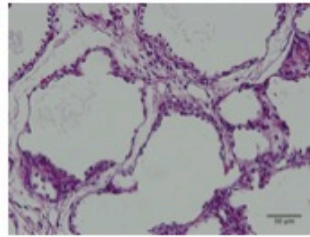
Grupo C: ETO



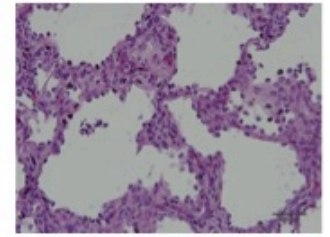
F1



F2

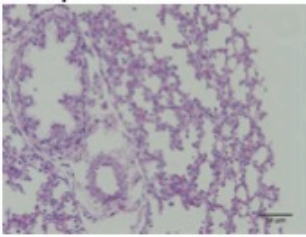


F4

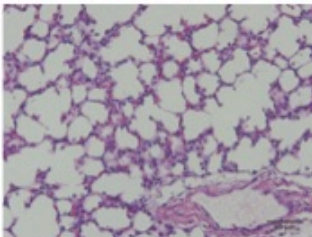


F5

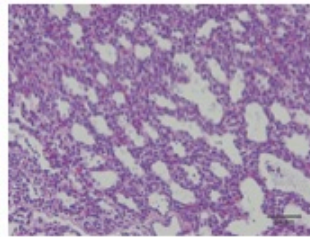
Grupo D: CDH



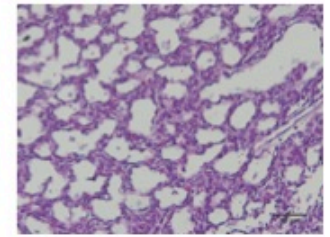
A1



A2

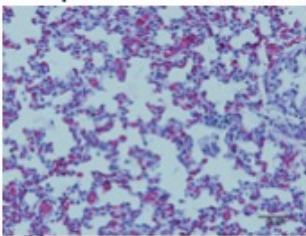


A4

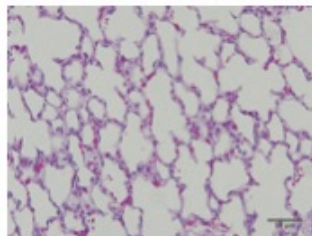


A5

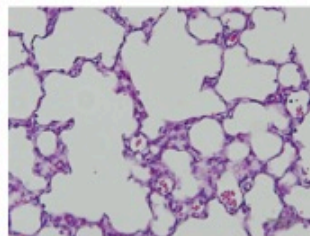
Grupo E: CDH + LTO



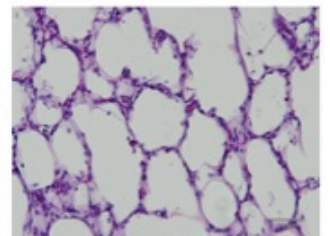
C1



C2

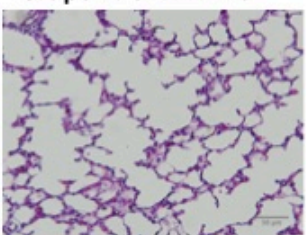


C3

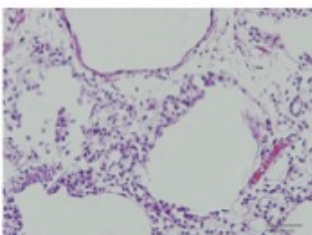


C4

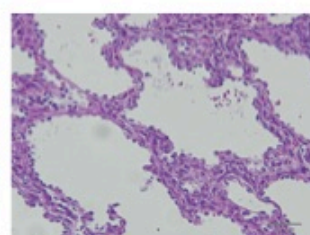
Grupo F: CDH + ETO



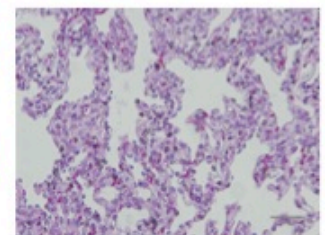
D1



D3



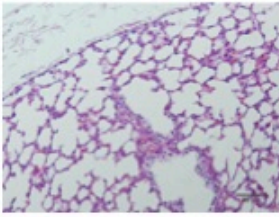
D4



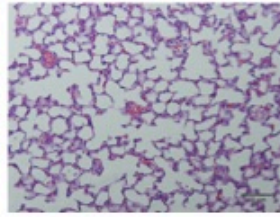
D5

Hematoxilina Eosina x20

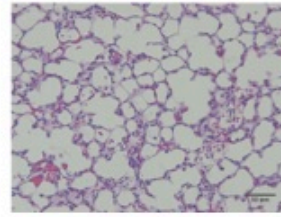
Grupo A: Control



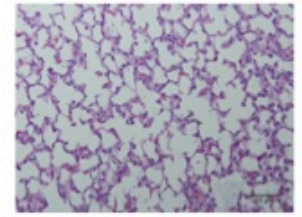
E1



E2

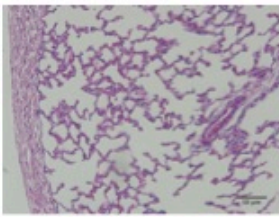


E3

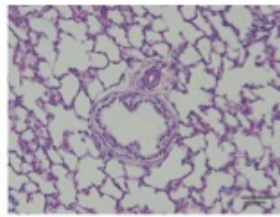


E4

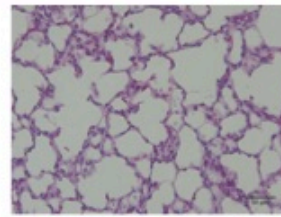
Grupo B: LTO



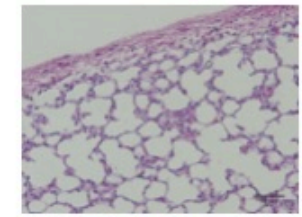
B1



B2

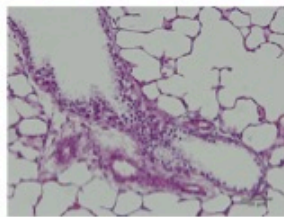


B3

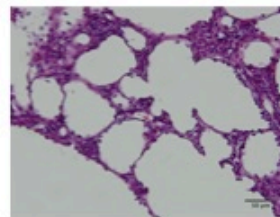


B4

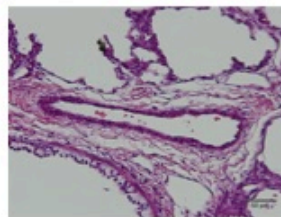
Grupo C: ETO



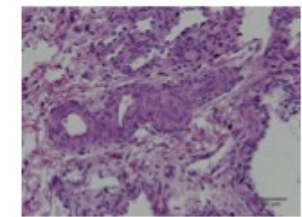
F1



F2

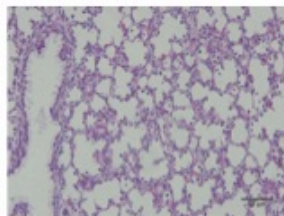


F4

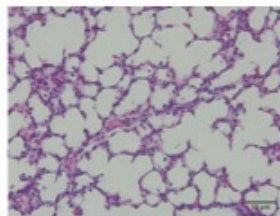


F5

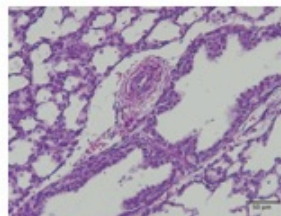
Grupo D: CDH



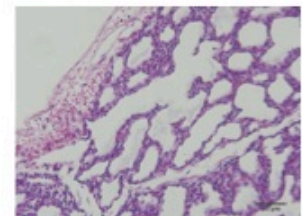
A1



A2

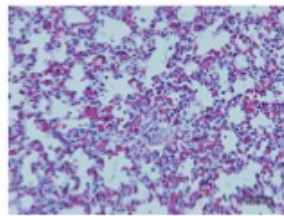


A4

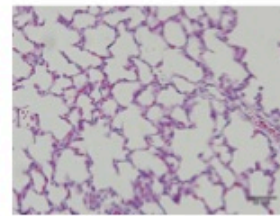


A5

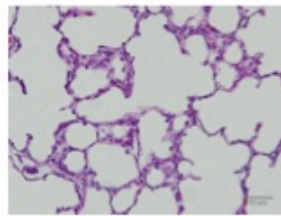
Grupo E: CDH + LTO



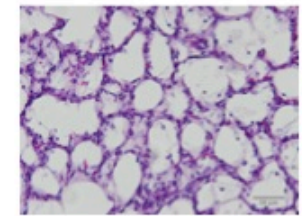
C1



C2

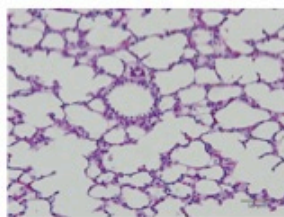


C3

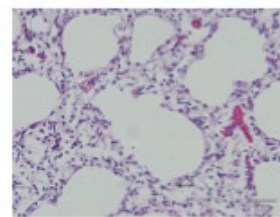


C4

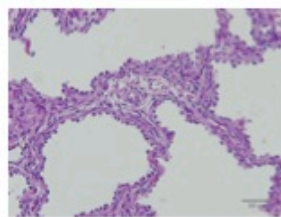
Grupo F: CDH + ETO



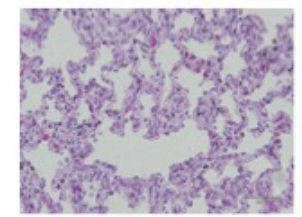
D1



D3



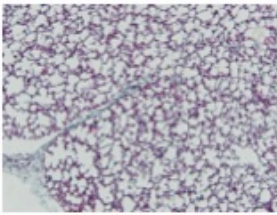
D4



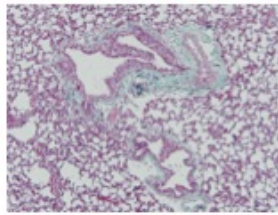
D5

Tricrómico de Masson x10

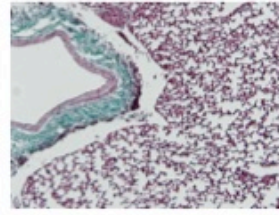
Grupo A: Control



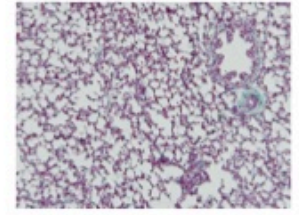
E1



E2

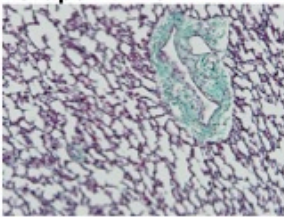


E3

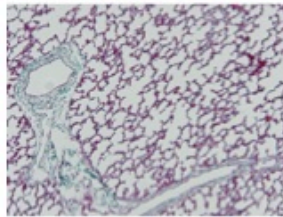


E4

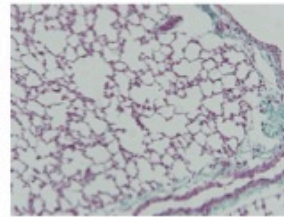
Grupo B: LTO



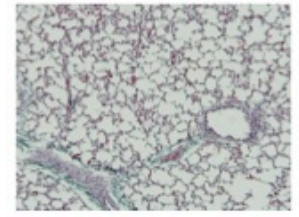
B1



B2

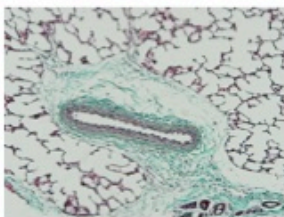


B3

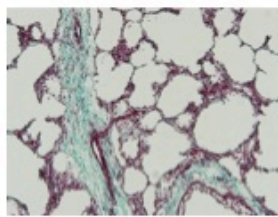


B4

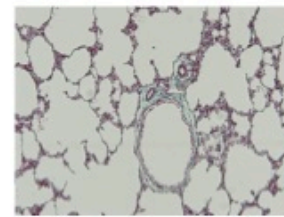
Grupo C: ETO



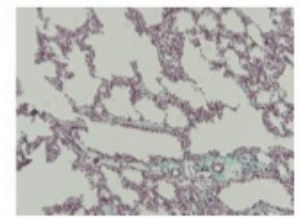
F1



F2

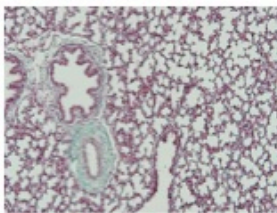


F4

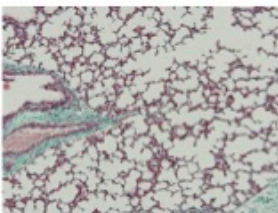


F5

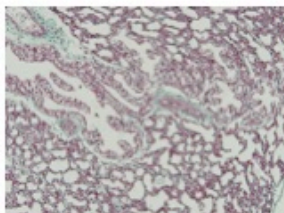
Grupo D: CDH



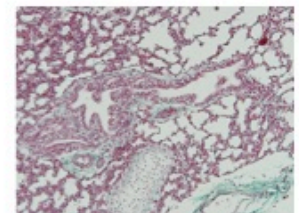
A1



A2

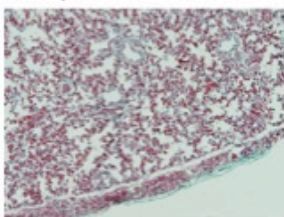


A4

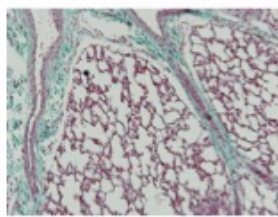


A5

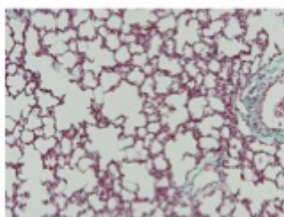
Grupo E: CDH + LTO



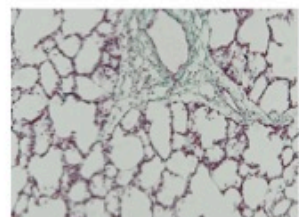
C1



C2

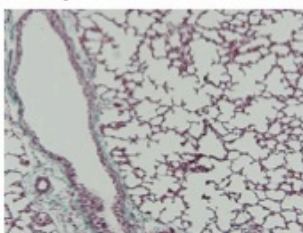


C3

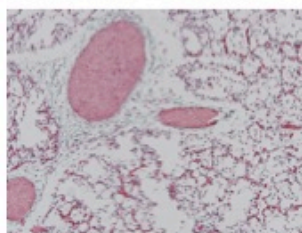


C4

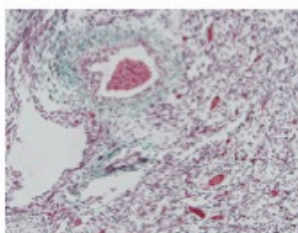
Grupo F: CDH + ETO



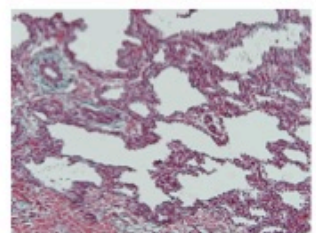
D1



D3



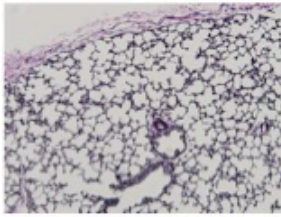
D4



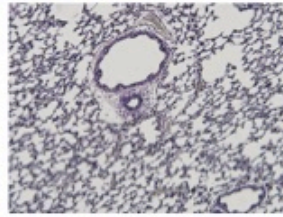
D5

Fibras Elásticas x10

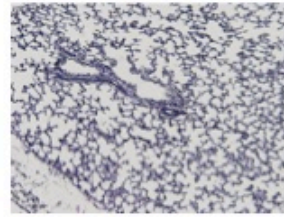
Grupo A: Control



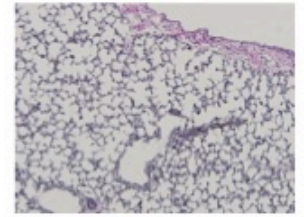
E1



E2

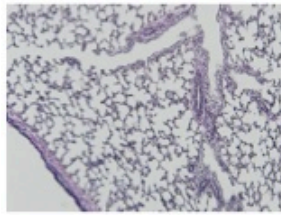


E3

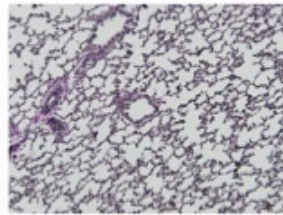


E4

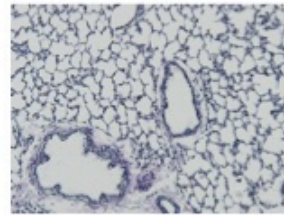
Grupo B: LTO



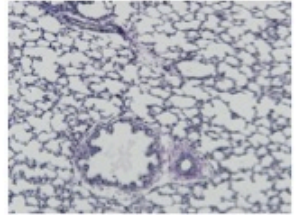
B1



B2

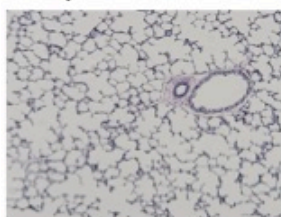


B3

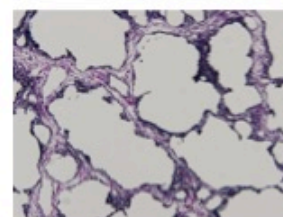


B4

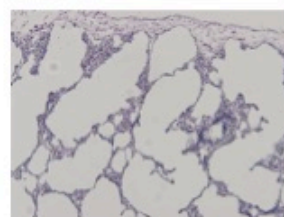
Grupo C: ETO



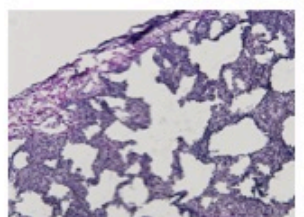
F1



F2



F4

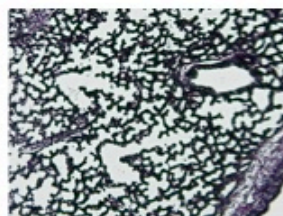


F5

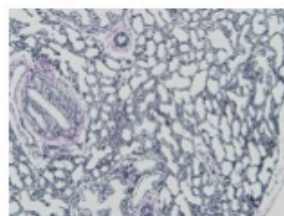
Grupo D: CDH



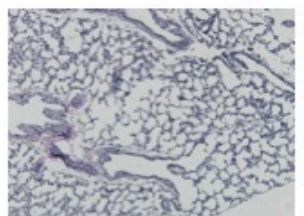
A1



A2

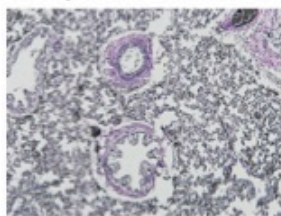


A4

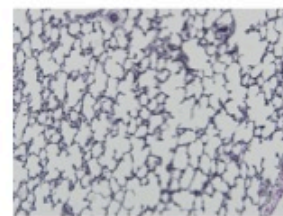


A5

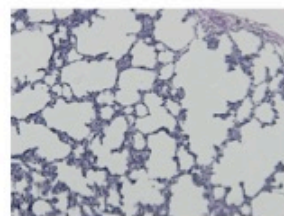
Grupo E: CDH + LTO



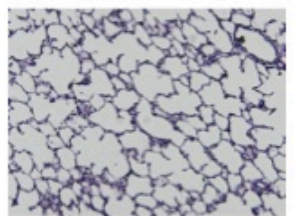
C1



C2

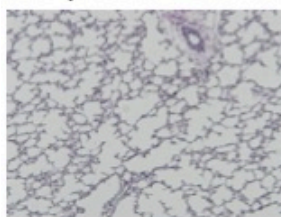


C3

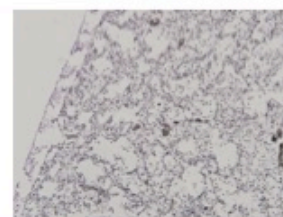


C4

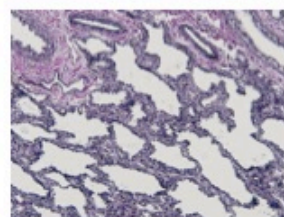
Grupo F: CDH + ETO



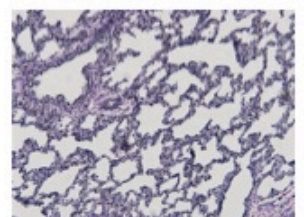
D1



D3



D4



D5

12.2. Anexo 2: Análisis estadístico completo

A continuación se adjunta el análisis estadístico completo para cada una de las variables de estudio (incluidas las no comentadas en los resultados por no ser útiles en la interpretación de los mismos o por ser sólo un puente para la obtención de datos representativos).

El análisis ha sido realizado bajo petición del doctorando por la Unidad de Estadística y Bioinformática del **Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)**.

C1217.-Análisis datos tesis doctoral de variables

Carles Giné

Santi Pérez Hoyos y Alex Sánchez
Unitat d'Estadística i Bioinformàtica
Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)

Analisis de la morfología.....	221
Comparación grupos Pulmón Normal.....	221
Edad Gestacional a la cesárea.....	221
Peso de la oveja.....	221
Peso del feto al nacer.....	221
Peso feto sin líquido intrapulmonar.....	222
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon.....	222
Peso del pulmón con LIP.....	223
Peso corazón.....	223
peso hígado.....	224
Líquido intrapulmonar en cc.....	224
PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total.....	225
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto.....	225
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int.....	226
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto.....	226
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi.....	227
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto.....	227
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto.....	228
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón.....	228
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón.....	229
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto.....	229
Comparación grupos HDC.....	230
Edad Gestacional a la cesárea.....	230
Peso de la oveja.....	230
Peso del feto al nacer.....	230
Peso feto sin líquido intrapulmonar.....	231
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon.....	231
Peso del pulmón con LIP.....	232
Peso corazón.....	232
peso hígado.....	232
Líquido intrapulmonar en cc.....	233
PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total.....	233
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto.....	234
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int.....	234
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto.....	235
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi.....	235
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto.....	235
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto.....	236
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón.....	236
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón.....	237
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto.....	237
Comparación grupos Control.....	238
Edad Gestacional a la cesárea.....	238
Peso de la oveja.....	238
Peso del feto al nacer.....	238
Peso feto sin líquido intrapulmonar.....	239
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon.....	239
Peso del pulmón con LIP.....	239
Peso corazón.....	240
peso hígado.....	240
Líquido intrapulmonar en cc.....	240
PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total.....	241
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto.....	241
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int.....	241
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto.....	242
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi.....	242
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto.....	242
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto.....	243
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón.....	243
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón.....	243
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto.....	244
Comparación grupos TO 105EG.....	244
Edad Gestacional a la cesárea.....	244
Peso de la oveja.....	244
Peso del feto al nacer.....	245
Peso feto sin líquido intrapulmonar.....	245
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon.....	245
Peso del pulmón con LIP.....	246
Peso corazón.....	246
peso hígado.....	246
Líquido intrapulmonar en cc.....	247
PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total.....	247
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto.....	247
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int.....	248
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto.....	248

ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi	248
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto	249
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto	249
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón	249
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón	250
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto	250
Comparación grupos eTO 85EG	250
Edad Gestacional a la cesárea	250
Peso de la oveja	251
Peso del feto al nacer	251
Peso feto sin líquido intrapulmonar	251
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon	252
Peso del pulmón con LIP	252
Peso corazón	252
peso hígado	253
Líquido intrapulmonar en cc	253
PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total	253
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto	254
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int	254
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto	254
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi	255
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto	255
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto	255
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón	256
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón	256
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto	256
Analisis de la HH	258
Comparación grupos Pulmón Normal	258
superf_alv:area en μm^2	258
%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)	258
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e	258
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)	259
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)	259
alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X	259
ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto	260
ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto	260
Comparación grupos HDC	261
superf_alv:area en μm^2	261
%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)	261
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e	261
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)	262
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)	262
alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X	263
ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto	263
ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto	263
Comparación grupos Control	264
superf_alv:area en μm^2	264
%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)	264
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e	265
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)	265
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)	265
alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X	266
ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto	266
ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto	266
Comparación grupos TO 105EG	267
superf_alv:area en μm^2	267
%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)	267
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e	268
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)	268
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)	268
alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X	269
ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto	269
ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto	270
Comparación grupos eTO 85EG	270
superf_alv:area en μm^2	270
%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)	270
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e	271
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)	271
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)	272
alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X	272
ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto	272
ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto	273

Analisis de la morfología

Versión 11 May 2017

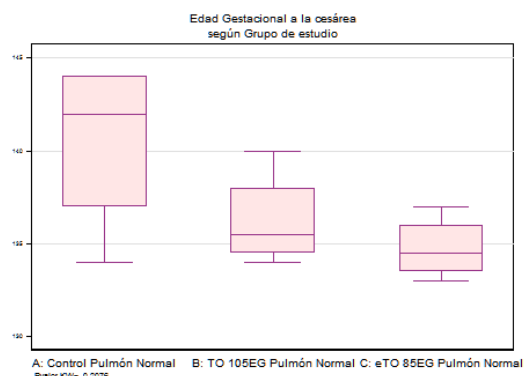
En este apartado se analiza las diferencias morfológicas en función de los grupos analizados. Para cada una de las variables se calcula la media(desviación típica), mediana (intervalo intercuartílico), mínimo y máximo. Para comparar en cada grupo se utiliza la prueba de Kruskal-Wallis debido al tamaño de la muestra y a que algunas de las variables analizadas no sigan una distribución normal. Para cada variable se dibuja un diagrama de cajas separado por grupo. En color se marca en color las situaciones en las que se encuentran diferencias significativas y se ha ajustado . Si son significativas la prueba de Dunn indica que dos grupos són diferentes entre si (p valor inferior a 0.05. En el caso de dos grupos el test utilizado es el test de la U de Mann-Whitney

Comparación grupos Pulmón Normal

Edad Gestacional a la cesárea

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Edad Gestacional a la cesárea ¹	4 140.50 (4.73) 142.00 (137.00;144.00)	4 136.25 (2.63) 135.50 (134.50;138.00)	4 134.75 (1.71) 134.50 (133.50;136.00)	12 137.17 (3.90) 135.50 (134.00;140.00)	0.1996 ²

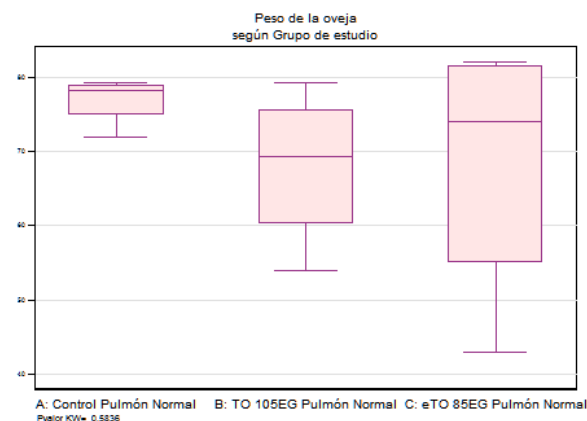
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Peso de la oveja

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Peso de la oveja ¹	4 76.92 (3.32) 78.25 (75.00;78.85)	4 67.92 (10.64) 69.25 (60.25;75.60)	4 68.25 (18.17) 74.00 (55.00;81.50)	12 71.03 (11.95) 75.00 (66.75;79.20)	0.5814 ²

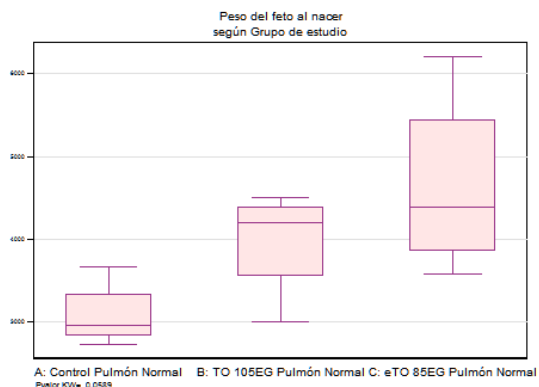
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Peso del feto al nacer

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Peso del feto al nacer ¹	4 3082.50 (408.03) 2965.00 (2830.00;3335.00)	4 3975.00 (669.25) 4200.00 (3555.00;4395.00)	4 4642.50 (1129.67) 4395.00 (3850.00;5435.00)	12 3900.00 (980.38) 3890.00 (3000.00;4395.00)	0.0583 ²

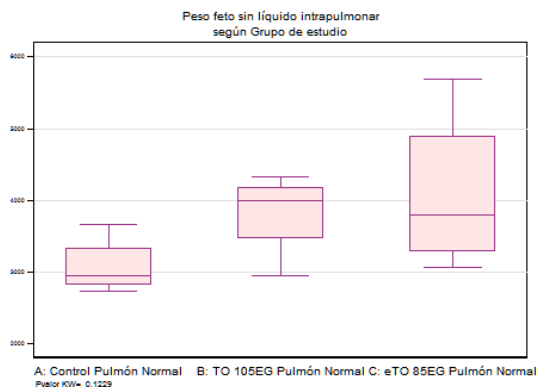
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Peso feto sin líquido intrapulmonar

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Peso feto sin líquido intrapulmonar ¹	4 3068.13 (409.40) 2943.75 (2812.50;3323.75)	4 3818.75 (602.97) 4000.00 (3467.50;4170.00)	4 4084.00 (1147.09) 3790.00 (3280.00;4888.00)	12 3656.96 (840.03) 3575.00 (2966.25;4050.00)	0.1229 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon

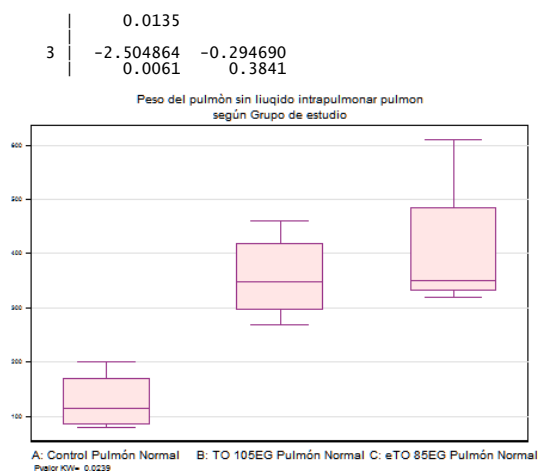
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon ¹	4 127.50 (55.00) 115.00 (85.00;170.00)	4 356.75 (81.54) 348.50 (295.00;418.50)	4 407.25 (135.49) 350.00 (330.00;484.50)	12 297.17 (154.31) 320.00 (170.00;368.50)	0.0235 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of pesopulmon by grupo
(No adjustment)

Col	Mean	1	2
Row	Mean		
1			
2		-2.210174	



Peso del pulmón con LIP

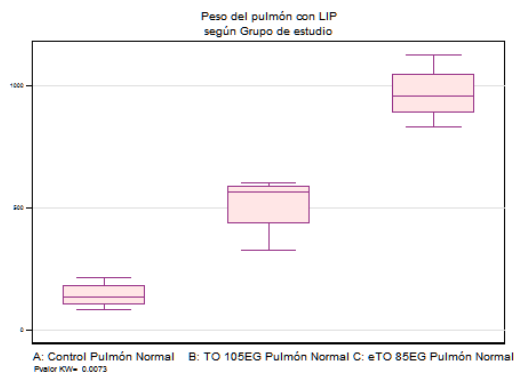
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Peso del pulmón con LIP ¹	4 141.88 (54.06) 135.00 (102.50;181.25)	4 513.00 (127.22) 563.50 (436.00;590.00)	4 965.75 (120.88) 955.00 (885.00;1046.50)	12 540.21 (364.71) 563.50 (181.25;885.00)	0.0073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nlabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of pesopultotal by grupo
(No adjustment)

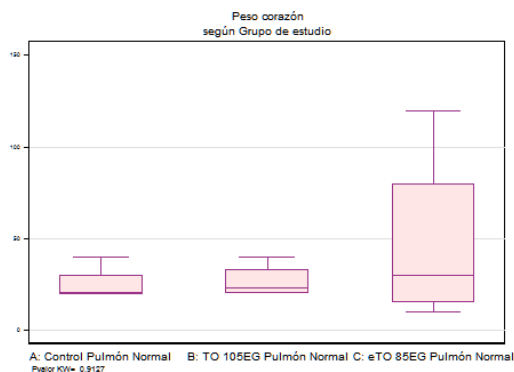
Col	Mean-Row Mean	1	2
2	-1.568929 0.0583		
3	-3.137858 0.0009	-1.568929 0.0583	



Peso corazón

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Peso corazón ¹	4 25.00 (10.00) 20.00 (20.00;30.00)	4 26.50 (9.43) 23.00 (20.00;33.00)	4 47.50 (49.92) 30.00 (15.00;80.00)	12 33.00 (29.09) 20.00 (20.00;40.00)	0.8996 ²

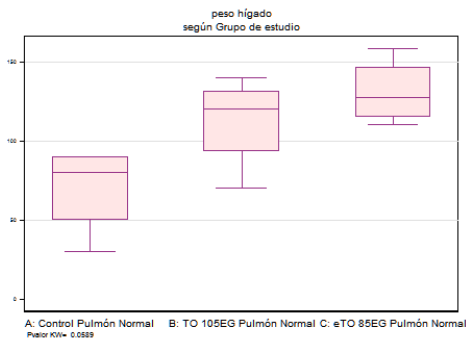
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



peso hígado

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
peso hígado ¹	4 70.00 (28.28) 80.00 (50.00;90.00)	4 112.50 (29.96) 120.00 (93.50;131.50)	4 130.75 (20.87) 127.50 (115.00;146.50)	12 104.42 (35.89) 113.50 (80.00;129.00)	0,0577 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Líquido intrapulmonar en cc

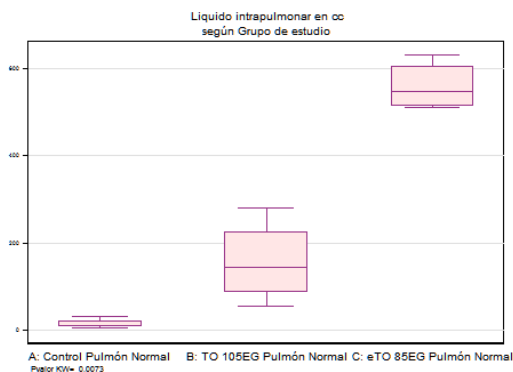
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
Líquido intrapulmonar en cc ¹	4 14.38 (10.87) 11.25 (7.50;21.25)	4 156.25 (94.99) 145.00 (87.50;225.00)	4 558.50 (57.47) 547.00 (512.00;605.00)	12 243.04 (247.66) 145.00 (21.25;512.00)	0,0073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of lip by grupo
(No adjustment)

Co1	Mean-		
Row	Mean	1	2
2		-1.568929 0.0583	
3		-3.137858 0.0009	-1.568929 0.0583



PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total

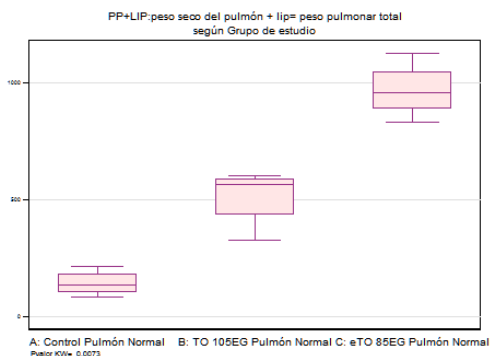
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total ¹	4 141.88 (54.06) 135.00 (102.50;181.25)	4 513.00 (127.22) 563.50 (436.00;590.00)	4 965.75 (120.88) 955.00 (885.00;1046.50)	12 540.21 (364.71) 563.50 (181.25;885.00)	0.0073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of pplip by grupo
(No adjustment)

Co1	Mean-Row	Mean	1	2
2	-1.568929	0.0583		
3	-3.137858	-1.568929	0.0009	0.0583



ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto

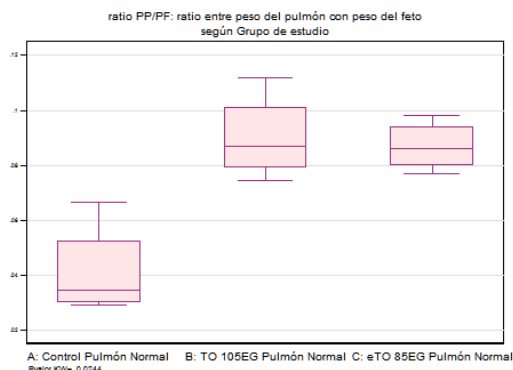
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.05)	4 0.09 (0.02) 0.09 (0.08; 0.10)	4 0.09 (0.01) 0.09 (0.08; 0.09)	12 0.07 (0.03) 0.08 (0.05; 0.09)	0.0244 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiopppf by grupo
(No adjustment)

Co1	Mean-Row	Mean	1	2
2	-2.451452	0.0071		
3	-2.255336	0.196116	0.0121	0.4223



ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int

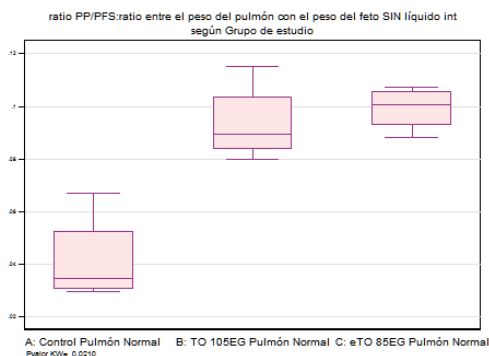
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PP/PFS:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.05)	4 0.09 (0.02) 0.09 (0.08; 0.10)	4 0.10 (0.01) 0.10 (0.09; 0.11)	12 0.08 (0.03) 0.09 (0.05; 0.10)	0.0210 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioppffs by grupo (No adjustment)

Co1 Row	Mean	Mean
	1	2
2	-2.059219 0.0197	
3	-2.647568 0.0041	-0.588348 0.2781



ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto

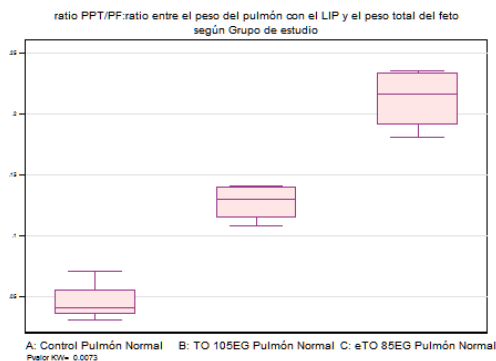
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.04; 0.06)	4 0.13 (0.02) 0.13 (0.11; 0.14)	4 0.21 (0.03) 0.22 (0.19; 0.23)	12 0.13 (0.07) 0.13 (0.06; 0.19)	0.0073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioppptf by grupo (No adjustment)

Co1 Row	Mean	Mean
	1	2
2	-1.568929 0.0583	
3	-3.137858 0.0009	-1.568929 0.0583



ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi

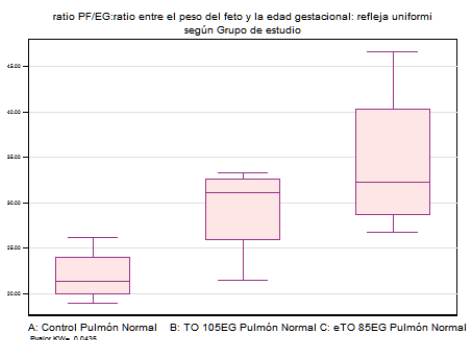
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 21.97 (3.08) 21.35 (19.90;24.04)	4 29.25 (5.37) 31.12 (25.82;32.67)	4 34.48 (8.63) 32.30 (28.62;40.35)	12 28.57 (7.71) 28.47 (21.65;32.67)	0.0435 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiopfef by grupo
(No adjustment)

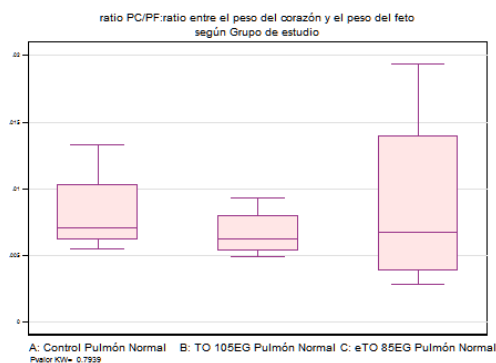
Col	Mean	1	2
Row	Mean		
2	-1.666987 0.0478		
3	-2.451452 0.0071	-0.784465 0.2164	



ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.01) 0.01 (0.00; 0.01)	12 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.7939 ²

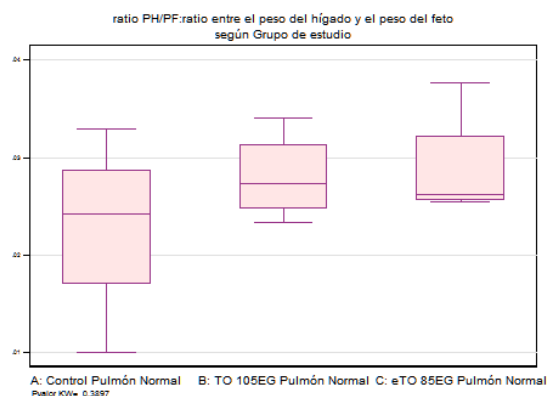
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.02 (0.01) 0.02 (0.02; 0.03)	4 0.03 (0.00) 0.03 (0.02; 0.03)	4 0.03 (0.01) 0.03 (0.03; 0.03)	12 0.03 (0.01) 0.03 (0.02; 0.03)	0.3897 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón

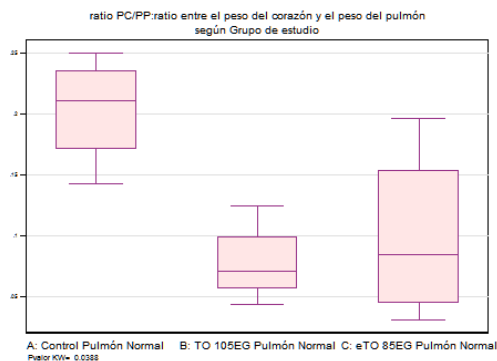
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón ¹	4 0.20 (0.05) 0.21 (0.17; 0.24)	4 0.08 (0.03) 0.07 (0.06; 0.10)	4 0.10 (0.07) 0.08 (0.05; 0.15)	12 0.13 (0.08) 0.12 (0.06; 0.20)	0.0388 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiopcpc by grupo
(No adjustment)

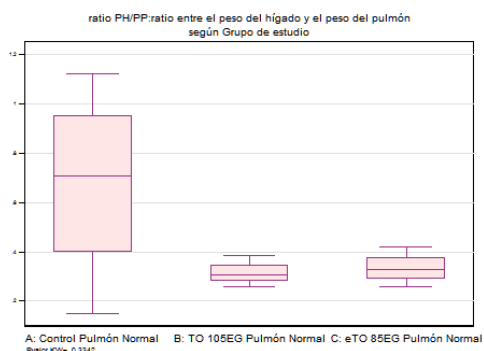
Co1	Mean-		
Row	Mean	1	2
2	2.255336		
	0.0121		
3	2.157277	-0.098058	
	0.0155	0.4609	



ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón ¹	4 0.67 (0.40) 0.71 (0.40; 0.95)	4 0.31 (0.05) 0.31 (0.28; 0.35)	4 0.33 (0.07) 0.33 (0.29; 0.38)	12 0.44 (0.28) 0.33 (0.28; 0.53)	0.3342 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto

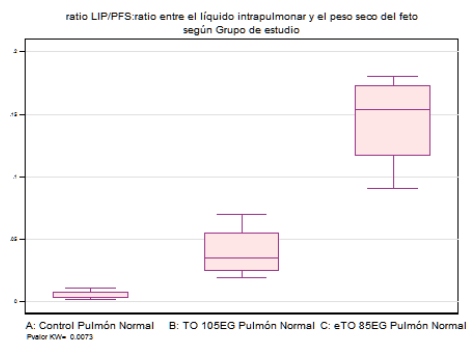
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	B: TO 105EG Pulmón Normal	C: eTO 85EG Pulmón Normal		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.01)	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	4 0.14 (0.04) 0.15 (0.12; 0.17)	12 0.06 (0.07) 0.03 (0.01; 0.12)	0.0073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiolippfs by grupo (No adjustment)

Co\l	Mean-	1	2
Row	Mean		
2		-1.568929 0.0583	
3		-3.137858 0.0009	-1.568929 0.0583

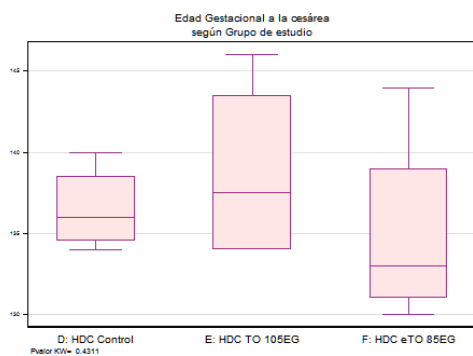


Comparación grupos HDC

Edad Gestacional a la cesárea

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Edad Gestacional a la cesárea ¹	4 136.50 (2.65) 136.00 (134.50;138.50)	4 138.75 (5.85) 137.50 (134.00;143.50)	4 135.00 (6.22) 133.00 (131.00;139.00)	12 136.75 (4.94) 134.50 (134.00;140.50)	0.4182 ²

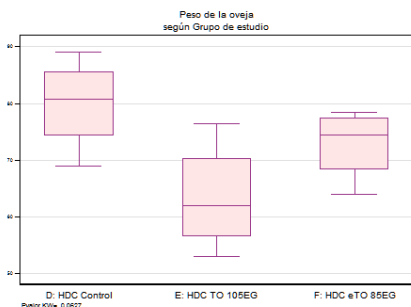
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Peso de la oveja

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Peso de la oveja ¹	4 79.88 (8.29) 80.75 (74.25;85.50)	4 63.38 (9.86) 62.00 (56.50;70.25)	4 72.88 (6.42) 74.50 (68.25;77.50)	12 72.04 (10.31) 74.50 (64.00;79.00)	0.0615 ²

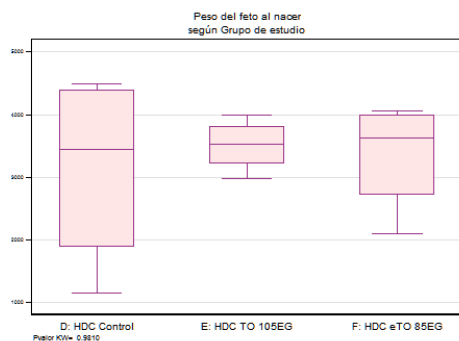
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Peso del feto al nacer

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Peso del feto al nacer ¹	4 3132.50 (1570.63) 3440.00 (1875.00;4390.00)	4 3507.50 (422.64) 3525.00 (3210.00;3805.00)	4 3355.00 (892.84) 3630.00 (2720.00;3990.00)	12 3331.67 (982.23) 3525.00 (2790.00;4030.00)	0.9810 ²

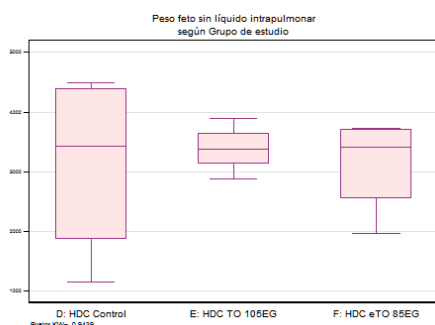
1: N
 Media Aritmética(DE)
 Mediana (P25;P75)
 2: / Kruskal-Wallis test



Peso feto sin líquido intrapulmonar

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Peso feto sin líquido intrapulmonar ¹	4 3128.25 (1569.61) 3432.50 (1871.50;4385.00)	4 3382.50 (418.62) 3377.50 (3120.00;3645.00)	4 3126.75 (819.60) 3408.50 (2545.00;3708.50)	12 3212.50 (958.47) 3377.50 (2735.00;3810.00)	0,9439 ²

1: N
 Media Aritmética(DE)
 Mediana (P25;P75)
 2: / Kruskal-Wallis test



Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmón

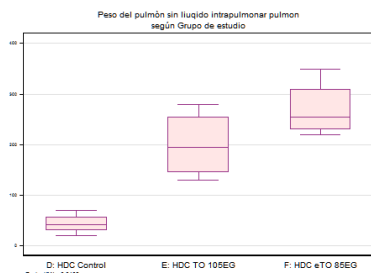
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmón ¹	4 43.00 (20.56) 41.00 (30.00;56.00)	4 200.00 (67.82) 195.00 (145.00;255.00)	4 270.00 (57.15) 255.00 (230.00;310.00)	12 171.00 (109.95) 190.00 (56.00;255.00)	0,0183 ²

1: N
 Media Aritmética(DE)
 Mediana (P25;P75)
 2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of peso pulmón by grupo
 (No adjustment)

Col	Mean	4	5
Row	Mean		
5		-1.961161 0.0249	
6		-2.745626 0.0030	-0.784465 0.2164



Peso del pulmón con LIP

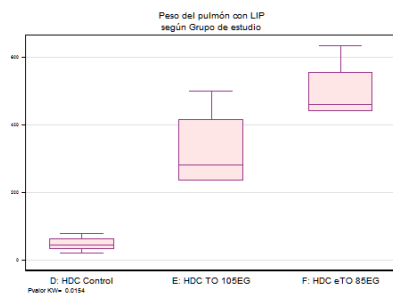
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Peso del pulmón con LIP ¹	4 47.25 (24.24) 43.50 (31.00;63.50)	4 325.00 (124.97) 282.50 (235.00;415.00)	4 498.25 (91.79) 460.00 (440.00;556.50)	12 290.17 (210.62) 282.50 (63.50;460.00)	0.0150 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of pesoPuTotal by grupo
(No adjustment)

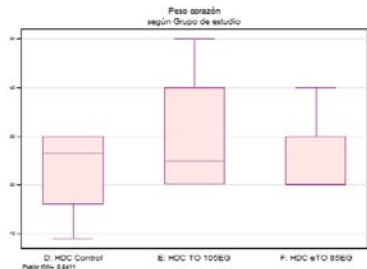
Co1	Mean-Row Mean	4	5
5	-1.869652 0.0308		
6	-2.853679 0.0022	-0.984027 0.1626	



Peso corazón

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Peso corazón ¹	4 23.00 (9.90) 26.50 (16.00;30.00)	4 30.00 (14.14) 25.00 (20.00;40.00)	4 25.00 (10.00) 20.00 (20.00;30.00)	12 26.00 (10.86) 21.50 (20.00;30.00)	0.8278 ²

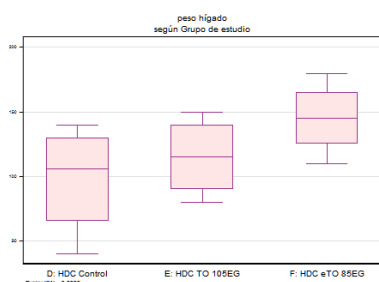
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



peso hígado

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
peso hígado ¹	4 97.75 (43.44) 105.50 (65.50;130.00)	4 115.00 (31.09) 115.00 (90.00;140.00)	4 145.00 (28.87) 145.00 (125.00;165.00)	12 119.25 (37.70) 125.00 (95.50;145.00)	0.2073 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



Líquido intrapulmonar en cc

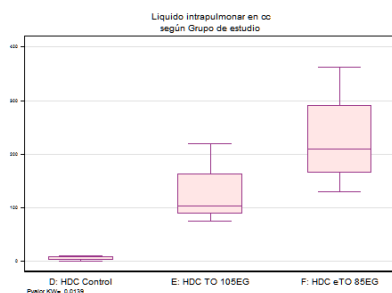
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
Líquido intrapulmonar en cc ¹	4 4.25 (4.35) 3.50 (1.00; 7.50)	4 125.00 (64.68) 102.50 (87.50;162.50)	4 228.25 (97.77) 210.00 (165.00;291.50)	12 119.17 (113.55) 102.50 (7.50;210.00)	0.0137 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of lip by grupo
(No adjustment)

Col	Mean	Row	Mean	
		4	5	
5	-1.817254			0.0346
6	-2.897783		-1.080529	0.0019 0.1400



PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total

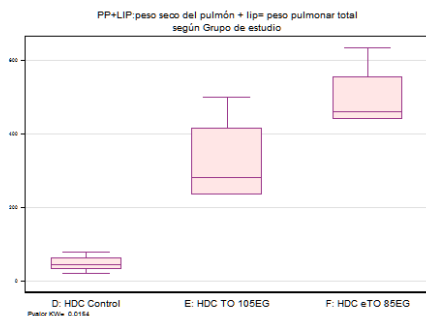
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
PP+LIP:peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total ¹	4 47.25 (24.24) 43.50 (31.00;63.50)	4 325.00 (124.97) 282.50 (235.00;415.00)	4 498.25 (91.79) 460.00 (440.00;556.50)	12 290.17 (210.62) 282.50 (63.50;460.00)	0.0150 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of pplip by grupo
(No adjustment)

Col	Mean	Row	Mean	
		4	5	
5	-1.869652			0.0308
6	-2.853679		-0.984027	0.0022 0.1626



ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto

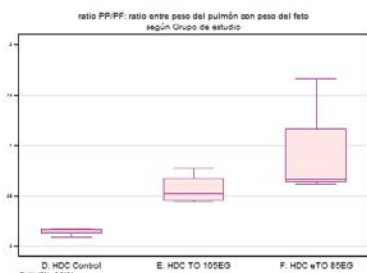
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto ¹	4 0.01 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	4 0.06 (0.02) 0.05 (0.05; 0.07)	4 0.09 (0.05) 0.07 (0.06; 0.12)	12 0.05 (0.04) 0.05 (0.02; 0.07)	0.0154 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioppff by grupo
(No adjustment)

Co1	Mean-		
Row	Mean	4	5
5	-1.863103 0.0312		
6	-2.843684 0.0022	-0.980581 0.1634	



ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int

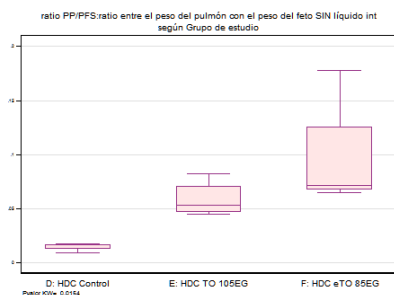
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.01 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	4 0.06 (0.02) 0.05 (0.05; 0.07)	4 0.10 (0.05) 0.07 (0.07; 0.13)	12 0.06 (0.05) 0.05 (0.02; 0.07)	0.0154 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratioppffs by grupo
(No adjustment)

Co1	Mean-		
Row	Mean	4	5
5	-1.863103 0.0312		
6	-2.843684 0.0022	-0.980581 0.1634	



ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto

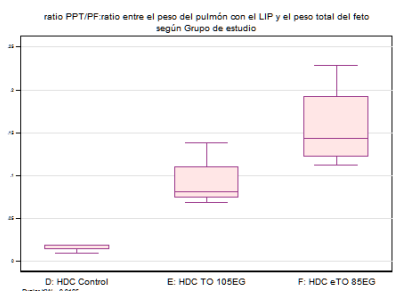
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.02 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	4 0.09 (0.03) 0.08 (0.07; 0.11)	4 0.16 (0.05) 0.14 (0.12; 0.19)	12 0.09 (0.07) 0.08 (0.02; 0.14)	0.0125 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiopptpf by grupo (No adjustment)

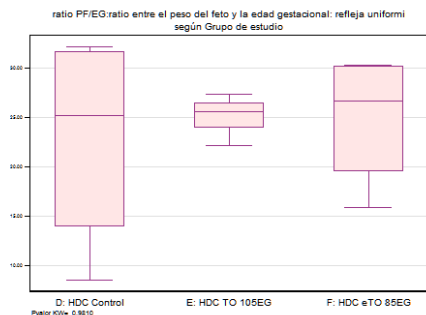
Col	Mean-Row	Mean	4	5
5	-1.765045 0.0388			
6	-2.941742 0.0016	-1.176697 0.1197		



ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 22.81 (11.15) 25.25 (13.92;31.69)	4 25.23 (2.16) 25.64 (23.92;26.53)	4 24.89 (6.84) 26.67 (19.55;30.23)	12 24.31 (7.02) 25.64 (20.75;30.23)	0.9810 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

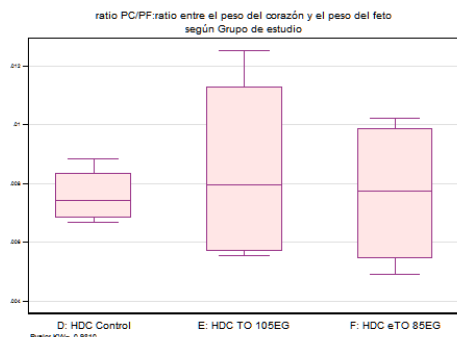


ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		

ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4	4	4	12	0,9810 ²
	0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	

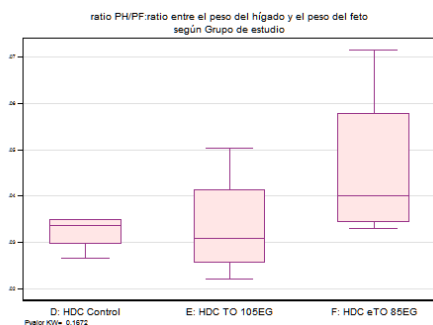
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.03 (0.00) 0.03 (0.03; 0.03)	4 0.03 (0.01) 0.03 (0.03; 0.04)	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.03; 0.06)	12 0.04 (0.01) 0.03 (0.03; 0.04)	0.1672 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test



ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón

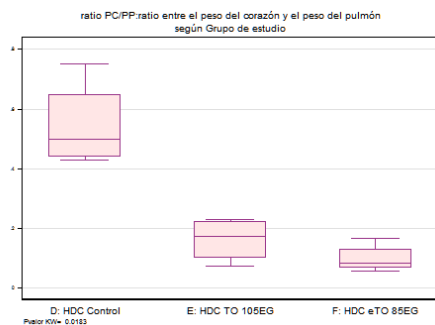
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón ¹	4 0.54 (0.15) 0.50 (0.44; 0.65)	4 0.16 (0.08) 0.17 (0.10; 0.22)	4 0.10 (0.05) 0.08 (0.07; 0.13)	12 0.27 (0.22) 0.19 (0.08; 0.44)	0.0183 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiopcpp by grupo
(No adjustment)

Col	Mean	Row	Mean	
		4	5	
5	1.961161			
	0.0249			
6	2.745626	0.784465		
	0.0030	0.2164		



ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón según Grupo de estudio

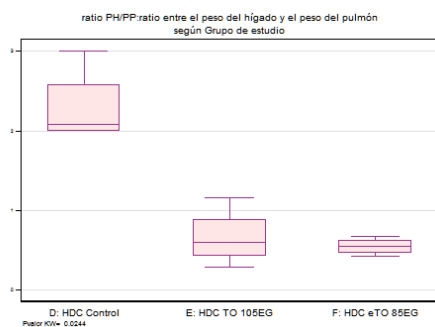
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón ¹	4 2.29 (0.48) 2.08 (2.00; 2.58)	4 0.66 (0.36) 0.60 (0.43; 0.89)	4 0.54 (0.10) 0.54 (0.46; 0.63)	12 1.16 (0.89) 0.65 (0.53; 2.00)	0.0241 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiophpp by grupo
(No adjustment)

Col	Mean	4	5
Row	Mean		
5		2.259289 0.0119	
6		2.455749 0.0070	0.196460 0.4221



ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto

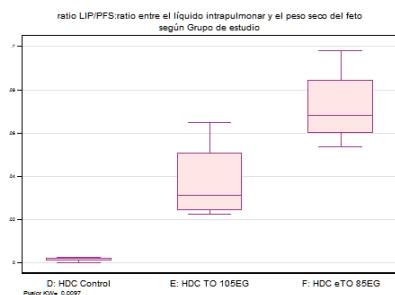
Variable	Grupo de estudio			Total	p-value
	D: HDC Control	E: HDC TO 105EG	F: HDC eTO 85EG		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.00)	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	4 0.07 (0.02) 0.07 (0.06; 0.08)	12 0.04 (0.03) 0.03 (0.00; 0.07)	0.0097 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / Kruskal-Wallis test

warning: by() values are incompletely labeled, option nolabel implicit

Dunn's Pairwise Comparison of ratiolippfs by grupo
(No adjustment)

Col	Mean	4	5
Row	Mean		
5		-1.666987 0.0478	
6		-3.039800 0.0012	-1.372813 0.0849

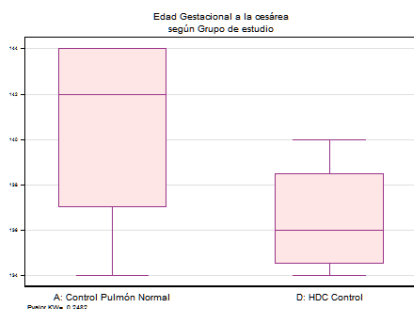


Comparación grupos Control

Edad Gestacional a la cesárea

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Edad Gestacional a la cesárea ¹	4 140.50 (4.73) 142.00 (137.00;144.00)	4 136.50 (2.65) 136.00 (134.50;138.50)	8 138.50 (4.14) 138.50 (134.50;142.00)	0.2396 ²

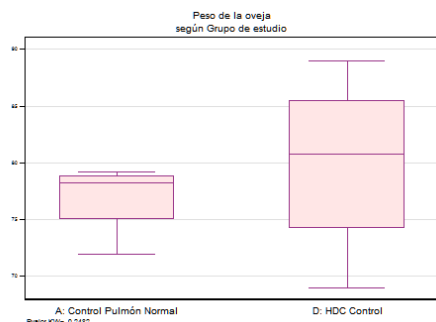
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso de la oveja

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Peso de la oveja ¹	4 76.92 (3.32) 78.25 (75.00;78.85)	4 79.88 (8.29) 80.75 (74.25;85.50)	8 78.40 (6.06) 78.85 (75.00;80.75)	0.2482 ²

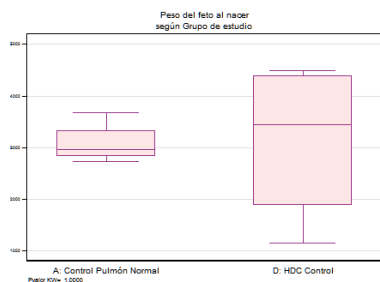
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del feto al nacer

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Peso del feto al nacer ¹	4 3082.50 (408.03) 2965.00 (2830.00;3335.00)	4 3132.50 (1570.63) 3440.00 (1875.00;4390.00)	8 3107.50 (1062.69) 2965.00 (2665.00;3975.00)	1.0000 ²

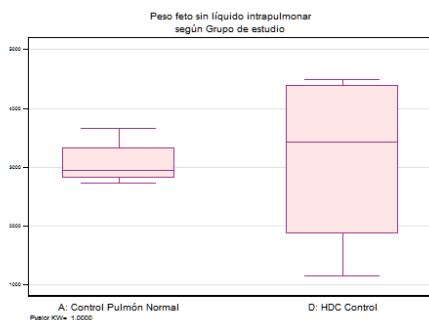
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso feto sin líquido intrapulmonar

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Peso feto sin líquido intrapulmonar ¹	4 3068.13 (409.40) 2943.75 (2812.50;3323.75)	4 3128.25 (1569.61) 3432.50 (1871.50;4385.00)	8 3098.19 (1062.42) 2943.75 (2660.00;3965.00)	1.0000 ²

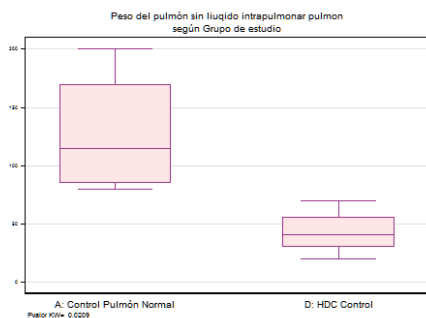
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon ¹	4 127.50 (55.00) 115.00 (85.00;170.00)	4 43.00 (20.56) 41.00 (30.00;56.00)	8 85.25 (59.31) 75.00 (41.00;115.00)	0.0209 ²

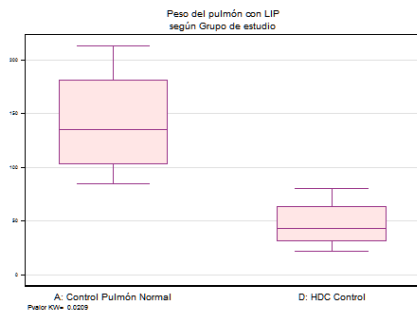
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del pulmón con LIP

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Peso del pulmón con LIP ¹	4 141.88 (54.06) 135.00 (102.50;181.25)	4 47.25 (24.24) 43.50 (31.00;63.50)	8 94.56 (63.74) 82.50 (43.50;135.00)	0.0209 ²

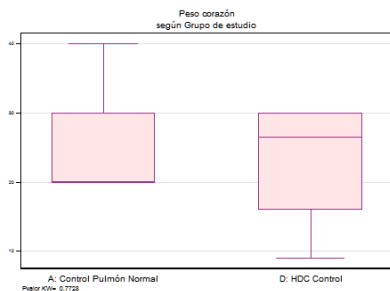
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso corazón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Peso corazón ¹	4 25.00 (10.00) 20.00 (20.00;30.00)	4 23.00 (9.90) 26.50 (16.00;30.00)	8 24.00 (9.27) 21.50 (20.00;30.00)	0.7660 ²

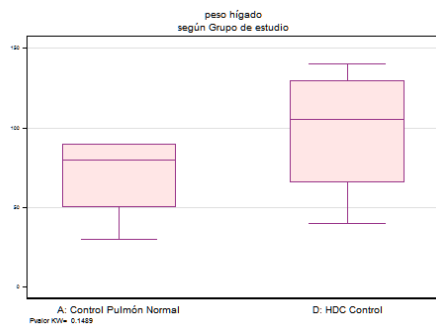
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



peso hígado

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
peso hígado ¹	4 70.00 (28.28) 80.00 (50.00;90.00)	4 97.75 (43.44) 105.50 (65.50;130.00)	8 83.88 (37.03) 90.00 (55.00;105.50)	0.1465 ²

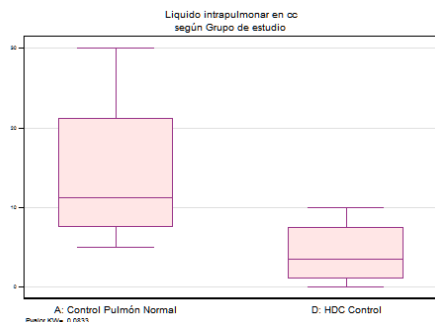
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Líquido intrapulmonar en cc

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
Líquido intrapulmonar en cc ¹	4 14.38 (10.87) 11.25 (7.50;21.25)	4 4.25 (4.35) 3.50 (1.00; 7.50)	8 9.31 (9.38) 7.50 (3.50;11.25)	0.0796 ²

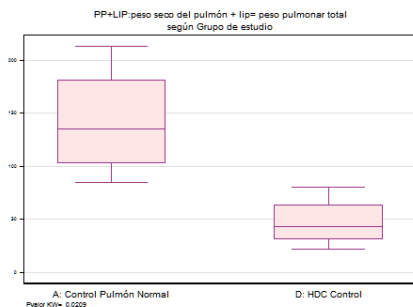
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total ¹	4 141.88 (54.06) 135.00 (102.50;181.25)	4 47.25 (24.24) 43.50 (31.00;63.50)	8 94.56 (63.74) 82.50 (43.50;135.00)	0.0209 ²

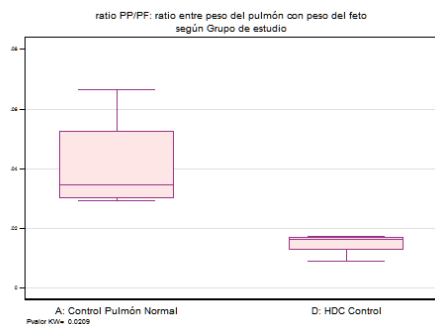
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.05)	4 0.01 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	8 0.03 (0.02) 0.02 (0.02; 0.03)	0.0209 ²

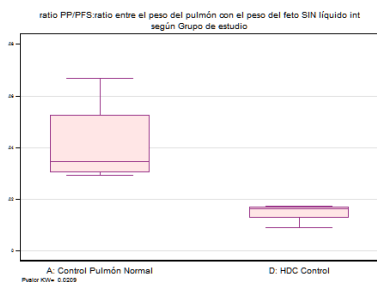
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.05)	4 0.01 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	8 0.03 (0.02) 0.02 (0.02; 0.03)	0.0209 ²

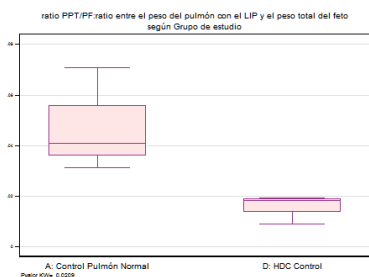
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int según Grupo de estudio

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.04; 0.06)	4 0.02 (0.00) 0.02 (0.01; 0.02)	8 0.03 (0.02) 0.03 (0.02; 0.04)	0.0209 ²

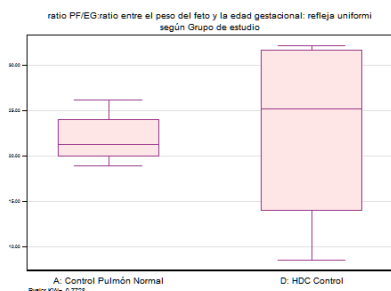
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PPT/PF:ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto según Grupo de estudio

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 21.97 (3.08) 21.35 (19.90;24.04)	4 22.81 (11.15) 25.25 (13.92;31.69)	8 22.39 (7.59) 21.35 (19.11;28.73)	0.7728 ²

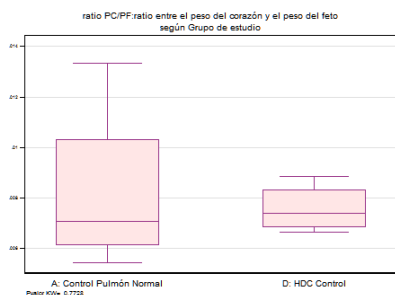
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi según Grupo de estudio

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	8 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.7728 ²

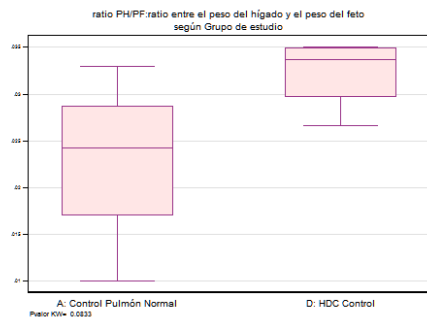
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.02 (0.01) 0.02 (0.02; 0.03)	4 0.03 (0.00) 0.03 (0.03; 0.03)	8 0.03 (0.01) 0.03 (0.02; 0.03)	0.0833 ²

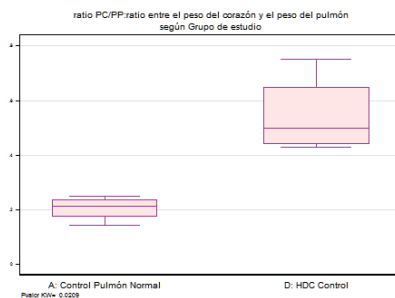
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón ¹	4 0.20 (0.05) 0.21 (0.17; 0.24)	4 0.54 (0.15) 0.50 (0.44; 0.65)	8 0.37 (0.21) 0.34 (0.21; 0.50)	0.0209 ²

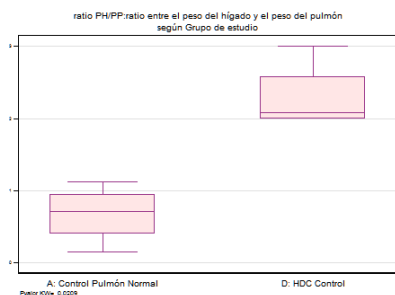
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón ¹	4 0.67 (0.40) 0.71 (0.40; 0.95)	4 2.29 (0.48) 2.08 (2.00; 2.58)	8 1.48 (0.96) 1.56 (0.71; 2.08)	0.0202 ²

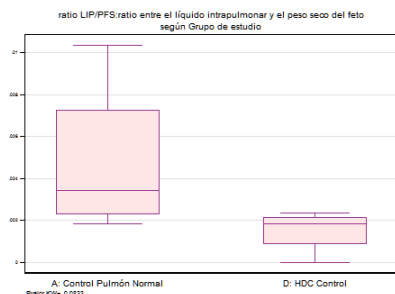
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	A: Control Pulmón Normal	D: HDC Control		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.01)	4 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.00)	8 0.00 (0.00) 0.00 (0.00; 0.00)	0.0833 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

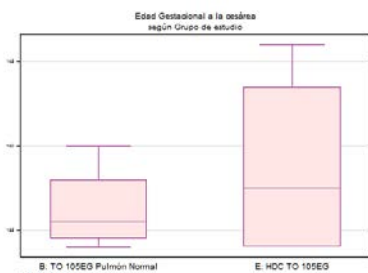


Comparación grupos TO 105EG

Edad Gestacional a la cesárea

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Edad Gestacional a la cesárea ¹	4 136.25 (2.63) 135.50 (134.50;138.00)	4 138.75 (5.85) 137.50 (134.00;143.50)	8 137.50 (4.41) 135.50 (134.00;140.50)	0.7674 ²

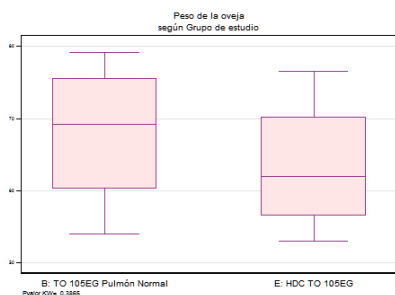
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso de la oveja

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Peso de la oveja ¹	4 67.92 (10.64) 69.25 (60.25;75.60)	4 63.38 (9.86) 62.00 (56.50;70.25)	8 65.65 (9.80) 65.25 (57.00;74.25)	0.3865 ²

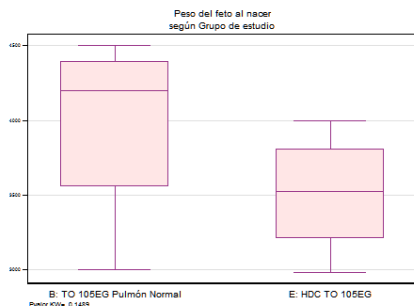
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del feto al nacer

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Peso del feto al nacer ¹	4 3975.00 (669.25) 4200.00 (3555.00;4395.00)	4 3507.50 (422.64) 3525.00 (3210.00;3805.00)	8 3741.25 (575.29) 3805.00 (3220.00;4200.00)	0.1489 ²

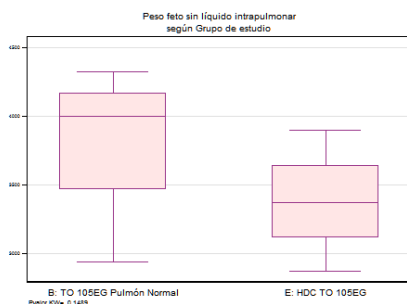
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso feto sin líquido intrapulmonar

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Peso feto sin líquido intrapulmonar ¹	4 3818.75 (602.97) 4000.00 (3467.50;4170.00)	4 3382.50 (418.62) 3377.50 (3120.00;3645.00)	8 3600.63 (534.13) 3645.00 (3155.00;4000.00)	0.1489 ²

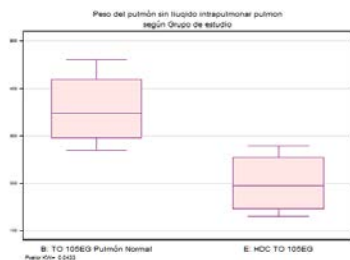
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon ¹	4 356.75 (81.54) 348.50 (295.00;418.50)	4 200.00 (67.82) 195.00 (145.00;255.00)	8 278.38 (108.82) 275.00 (195.00;348.50)	0.0433 ²

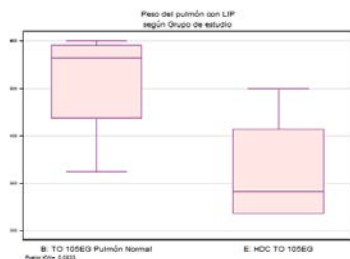
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del pulmón con LIP

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Peso del pulmón con LIP ¹	4 513.00 (127.22) 563.50 (436.00;590.00)	4 325.00 (124.97) 282.50 (235.00;415.00)	8 419.00 (154.04) 415.00 (280.00;563.50)	0.0814 ²

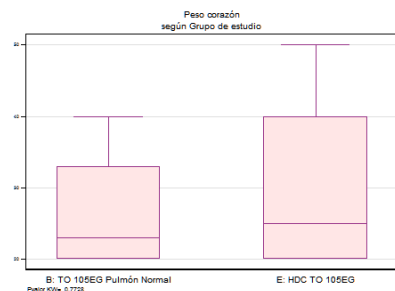
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso corazón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Peso corazón ¹	4 26,50 (9,43) 23,00 (20,00;33,00)	4 30,00 (14,14) 25,00 (20,00;40,00)	8 28,25 (11,29) 23,00 (20,00;35,00)	0,7584 ²

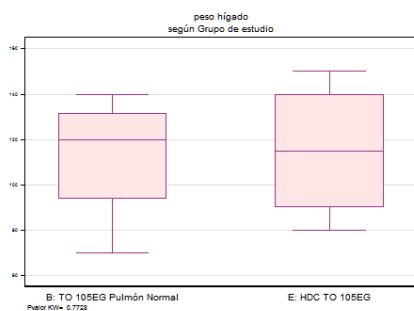
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



peso hígado

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
peso hígado ¹	4 112,50 (29,96) 120,00 (93,50;131,50)	4 115,00 (31,09) 115,00 (90,00;140,00)	8 113,75 (28,30) 120,00 (90,00;135,00)	0,7728 ²

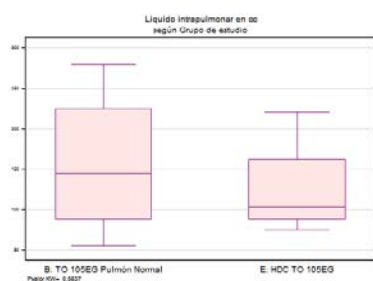
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Líquido intrapulmonar en cc

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
Líquido intrapulmonar en cc ¹	4 156.25 (94.99) 145.00 (87.50;225.00)	4 125.00 (64.68) 102.50 (87.50;162.50)	8 140.63 (77.06) 112.50 (87.50;195.00)	0.5637 ²

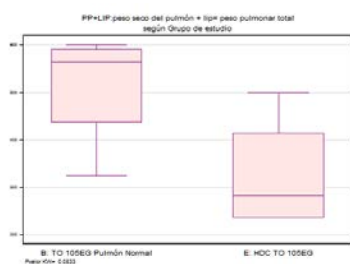
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total ¹	4 513.00 (127.22) 563.50 (436.00;590.00)	4 325.00 (124.97) 282.50 (235.00;415.00)	8 419.00 (154.04) 415.00 (280.00;563.50)	0.0814 ²

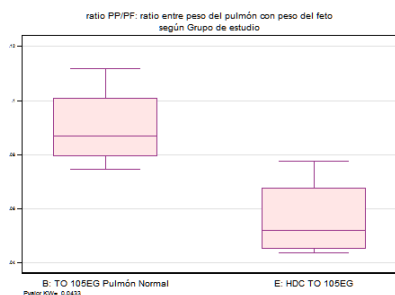
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto ¹	4 0.09 (0.02) 0.09 (0.08; 0.10)	4 0.06 (0.02) 0.05 (0.05; 0.07)	8 0.07 (0.02) 0.08 (0.05; 0.09)	0.0433 ²

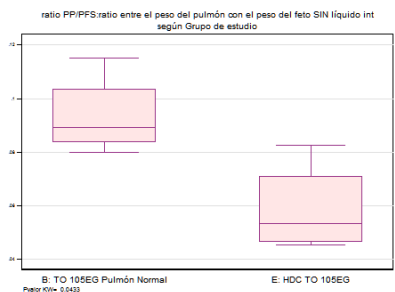
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.09 (0.02) 0.09 (0.08; 0.10)	4 0.06 (0.02) 0.05 (0.05; 0.07)	8 0.08 (0.02) 0.08 (0.05; 0.09)	0.0433 ²

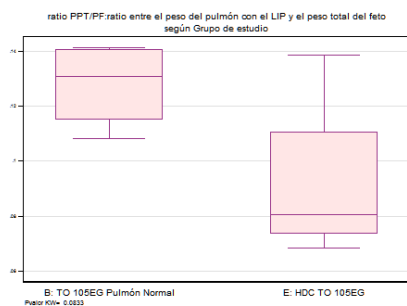
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PPT/PF: ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PPT/PF: ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.13 (0.02) 0.13 (0.11; 0.14)	4 0.09 (0.03) 0.08 (0.07; 0.11)	8 0.11 (0.03) 0.11 (0.08; 0.14)	0.0833 ²

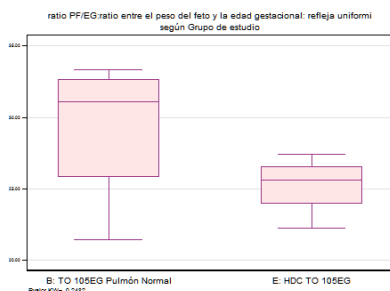
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PF/EG: ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PF/EG: ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 29.25 (5.37) 31.12 (25.82; 32.67)	4 25.23 (2.16) 25.64 (23.92; 26.53)	8 27.24 (4.35) 26.53 (23.92; 31.12)	0.2482 ²

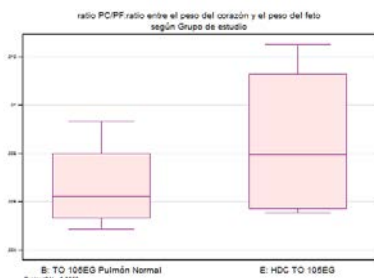
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	8 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	0.3865 ²

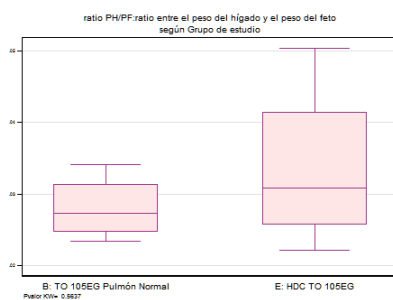
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.03 (0.00) 0.03 (0.02; 0.03)	4 0.03 (0.01) 0.03 (0.03; 0.04)	8 0.03 (0.01) 0.03 (0.02; 0.03)	0.5637 ²

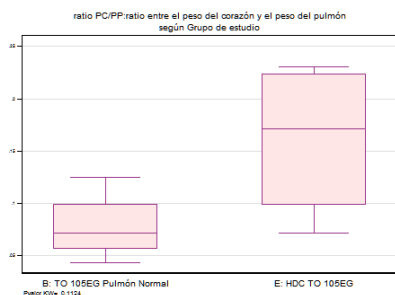
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón ¹	4 0.08 (0.03) 0.07 (0.06; 0.10)	4 0.16 (0.08) 0.17 (0.10; 0.22)	8 0.12 (0.07) 0.10 (0.07; 0.17)	0.1102 ²

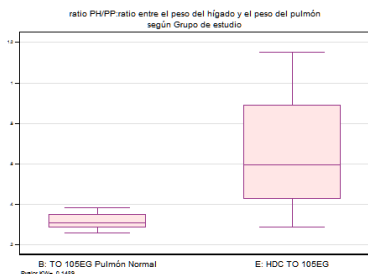
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón ¹	4 0.31 (0.05) 0.31 (0.28; 0.35)	4 0.66 (0.36) 0.60 (0.43; 0.89)	8 0.49 (0.30) 0.35 (0.30; 0.60)	0.1489 ²

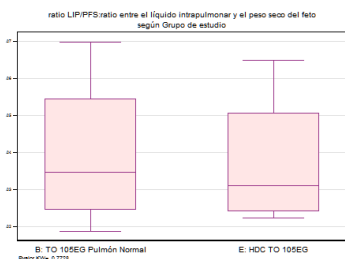
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	B: TO 105EG Pulmón Normal	E: HDC TO 105EG		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	4 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	8 0.04 (0.02) 0.03 (0.02; 0.05)	0.7728 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test

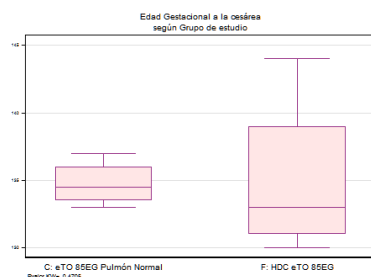


Comparación grupos eTO 85EG

Edad Gestacional a la cesárea

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Edad Gestacional a la cesárea ¹	4 134.75 (1.71) 134.50 (133.50;136.00)	4 135.00 (6.22) 133.00 (131.00;139.00)	8 134.88 (4.22) 134.00 (132.50;136.00)	0.4678 ²

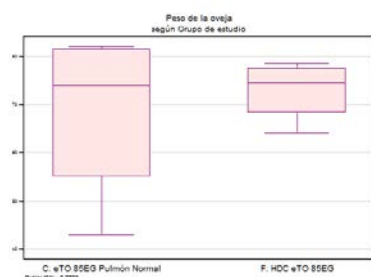
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso de la oveja

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Peso de la oveja ¹	4 68.25 (18.17) 74.00 (55.00;81.50)	4 72.88 (6.42) 74.50 (68.25;77.50)	8 70.56 (12.86) 74.50 (65.50;79.75)	0.7728 ²

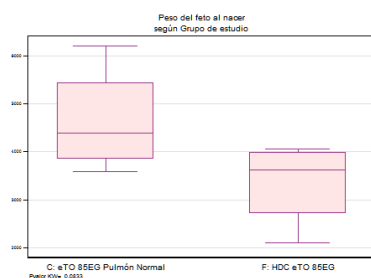
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del feto al nacer

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Peso del feto al nacer ¹	4 4642.50 (1129.67) 4395.00 (3850.00;5435.00)	4 3355.00 (892.84) 3630.00 (2720.00;3990.00)	8 3998.75 (1167.13) 3990.00 (3460.00;4395.00)	0.0833 ²

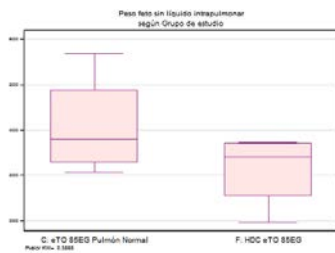
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso feto sin líquido intrapulmonar

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Peso feto sin líquido intrapulmonar ¹	4 4084.00 (1147.09) 3790.00 (3280.00;4888.00)	4 3126.75 (819.60) 3408.50 (2545.00;3708.50)	8 3605.38 (1055.28) 3593.50 (3095.00;3905.00)	0.3865 ²

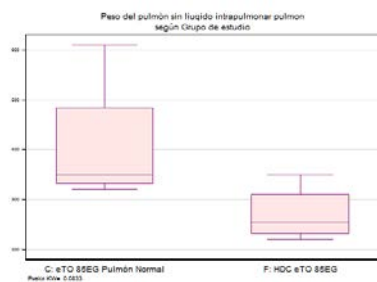
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Peso del pulmón sin líquido intrapulmonar pulmon ¹	4 407.25 (135.49) 350.00 (330.00;484.50)	4 270.00 (57.15) 255.00 (230.00;310.00)	8 338.63 (121.03) 330.00 (255.00;355.00)	0.0833 ²

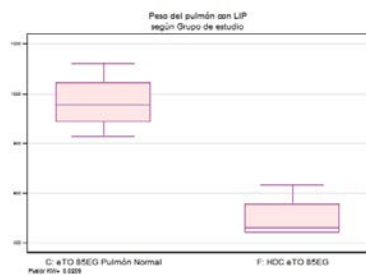
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso del pulmón con LIP

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Peso del pulmón con LIP ¹	4 965.75 (120.88) 955.00 (885.00;1046.50)	4 498.25 (91.79) 460.00 (440.00;556.50)	8 732.00 (268.92) 731.50 (460.00;955.00)	0.0202 ²

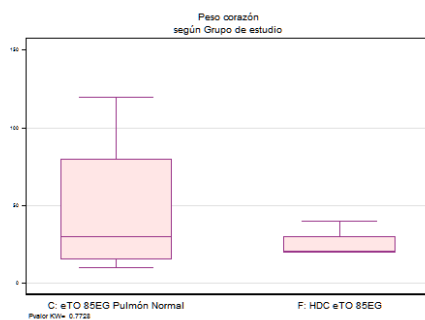
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Peso corazón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Peso corazón ¹	4 47.50 (49.92) 30.00 (15.00;80.00)	4 25.00 (10.00) 20.00 (20.00;30.00)	8 36.25 (35.43) 20.00 (20.00;40.00)	0.7568 ²

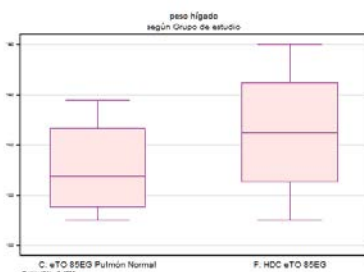
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



peso hígado

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
peso hígado ¹	4 130.75 (20.87) 127.50 (115.00;146.50)	4 145.00 (28.87) 145.00 (125.00;165.00)	8 137.88 (24.53) 137.50 (115.00;154.00)	0.4678 ²

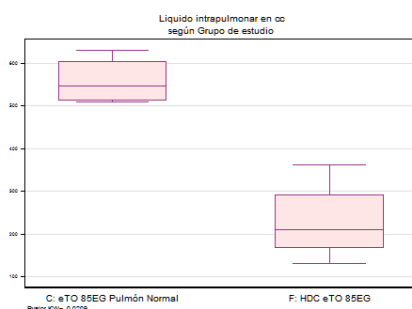
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Líquido intrapulmonar en cc

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
Líquido intrapulmonar en cc ¹	4 558.50 (57.47) 547.00 (512.00;605.00)	4 228.25 (97.77) 210.00 (165.00;291.50)	8 393.38 (191.50) 436.50 (210.00;547.00)	0.0209 ²

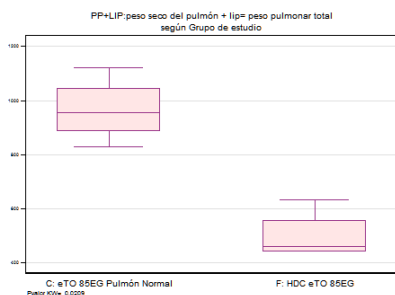
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
PP+LIP: peso seco del pulmón + lip= peso pulmonar total ¹	4 965.75 (120.88) 955.00 (885.00;1046.50)	4 498.25 (91.79) 460.00 (440.00;556.50)	8 732.00 (268.92) 731.50 (460.00;955.00)	0.0202 ²

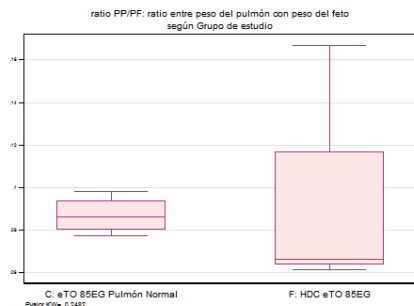
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PP/PF: ratio entre peso del pulmón con peso del feto ¹	4 0.09 (0.01) 0.09 (0.08; 0.09)	4 0.09 (0.05) 0.07 (0.06; 0.12)	8 0.09 (0.03) 0.08 (0.07; 0.09)	0.2482 ²

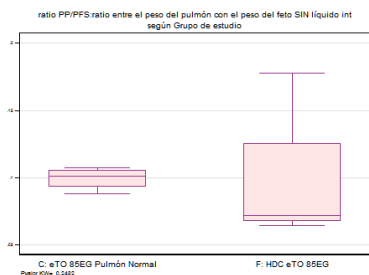
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PP/PFS: ratio entre el peso del pulmón con el peso del feto SIN líquido int ¹	4 0.10 (0.01) 0.10 (0.09; 0.11)	4 0.10 (0.05) 0.07 (0.07; 0.13)	8 0.10 (0.04) 0.09 (0.07; 0.11)	0.2482 ²

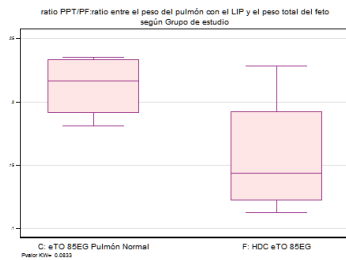
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PPT/PF: ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PPT/PF: ratio entre el peso del pulmón con el LIP y el peso total del feto ¹	4 0.21 (0.03) 0.22 (0.19; 0.23)	4 0.16 (0.05) 0.14 (0.12; 0.19)	8 0.18 (0.05) 0.19 (0.14; 0.23)	0.0833 ²

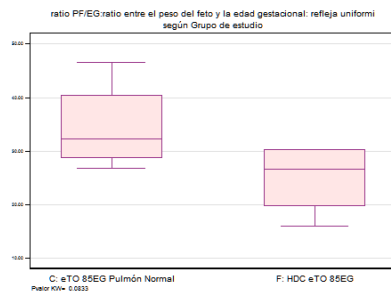
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PF/EG:ratio entre el peso del feto y la edad gestacional: refleja uniformi ¹	4 34.48 (8.63) 32.30 (28.62;40.35)	4 24.89 (6.84) 26.67 (19.55;30.23)	8 29.69 (8.85) 30.23 (24.96;32.30)	0.0833 ²

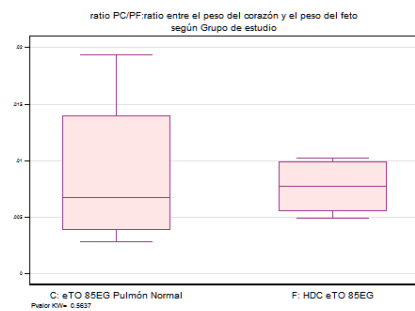
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PC/PF:ratio entre el peso del corazón y el peso del feto ¹	4 0.01 (0.01) 0.01 (0.00; 0.01)	4 0.01 (0.00) 0.01 (0.01; 0.01)	8 0.01 (0.01) 0.01 (0.00; 0.01)	0.5637 ²

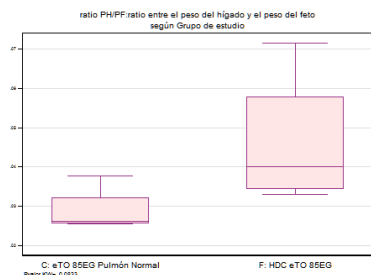
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PH/PF:ratio entre el peso del hígado y el peso del feto ¹	4 0.03 (0.01) 0.03 (0.03; 0.03)	4 0.05 (0.02) 0.04 (0.03; 0.06)	8 0.04 (0.02) 0.03 (0.03; 0.04)	0.0833 ²

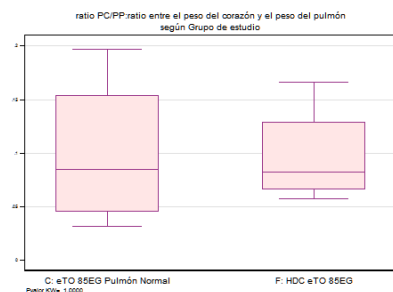
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PC/PP:ratio entre el peso del corazón y el peso del pulmón ¹	4 0.10 (0.07) 0.08 (0.05; 0.15)	4 0.10 (0.05) 0.08 (0.07; 0.13)	8 0.10 (0.06) 0.08 (0.06; 0.14)	1.0000 ²

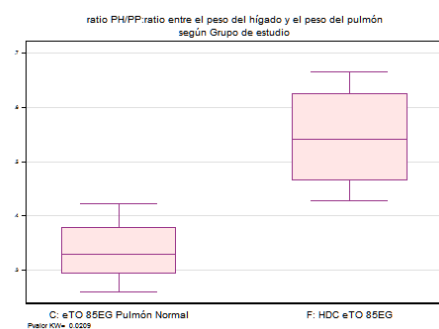
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio PH/PP:ratio entre el peso del hígado y el peso del pulmón ¹	4 0.33 (0.07) 0.33 (0.29; 0.38)	4 0.54 (0.10) 0.54 (0.46; 0.63)	8 0.44 (0.14) 0.43 (0.33; 0.54)	0.0209 ²

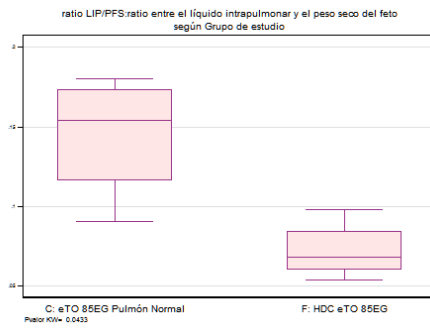
1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto

Variable	Grupo de estudio		Total	p-value
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	F: HDC eTO 85EG		
ratio LIP/PFS:ratio entre el líquido intrapulmonar y el peso seco del feto ¹	4 0.14 (0.04) 0.15 (0.12; 0.17)	4 0.07 (0.02) 0.07 (0.06; 0.08)	8 0.11 (0.05) 0.09 (0.07; 0.15)	0.0433 ²

1: N
Media Aritmética(DE)
Mediana (P25;P75)
2: / U Mann-Whitney test



Analisis de la HH

Versión 11 May 2017

En este apartado se efectúa las mismas comparaciones pero teniendo en cuenta que en un mismo sujeto hay varias medidas. Para ello ajustamos un modelo de regresión lineal en el que agrupamos las medidas de la misma oveja y comparamos las diferencias que se asocian con el grupo. Se toma como referencia el primer grupo del pulmón normal y se indica la diferencia de cada parámetro con ese grupo (coeficiente) Si el intervalo de confianza no incluye al 0 indica que las diferencias son significativas en ese grupo. En el modelo se han incluido los aumentos por si dependen de el.

Comparación grupos Pulmón Normal

superf_alv:area en μm^2

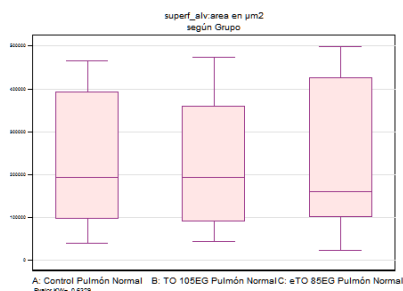
Regressio Multivariant regress per a superf_alv:area en μm^2

Number of obs = 120

	VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.9418
	B: TO 105EG Pulmón Normal	-5.4e+03	(-7.6e+04; 6.5e+04)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	6943.105	(-6.3e+04; 7.7e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1606.90 ; AIC model= 3219.81 ; BIC model= 3228.17



%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

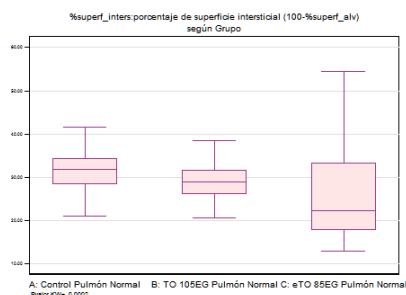
Regressio Multivariant regress per a %superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

Number of obs = 120

	VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0536
	B: TO 105EG Pulmón Normal	-2.304	(-5.878; 1.270)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	-4.466	(-8.041;-0.892)	

1: Normal approximation

LL model= -420.60 ; AIC model= 847.19 ; BIC model= 855.56



ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e

Regressio Multivariant regress per a ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e

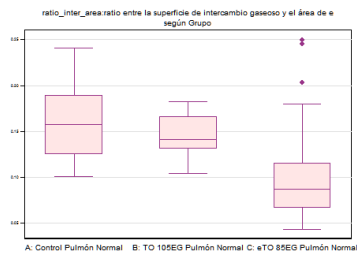
Number of obs = 120

	VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
--	----------	--------------	----------------------	---------

Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	-0.015	(-0.032; 0.002)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	-0.060	(-0.077;-0.043)	

1: Normal approximation

LL model= 222.75 ; AIC model= -439.50 ; BIC model= -431.13



esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)

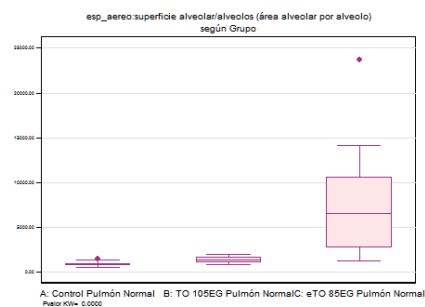
Regressio Multivariant regress per a esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)

Number of obs = 120

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	453.428	(-753.926;1660.782)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	6486.619	(5279.265;7693.973)	

1: Normal approximation

LL model= -1119.29 ; AIC model= 2244.58 ; BIC model= 2252.94



perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)

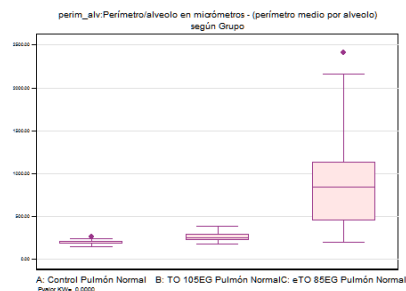
Regressio Multivariant regress per a perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)

Number of obs = 120

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	70.581	(-68.241;209.404)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	713.119	(574.296;851.942)	

1: Normal approximation

LL model= -859.73 ; AIC model= 1725.46 ; BIC model= 1733.82



alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

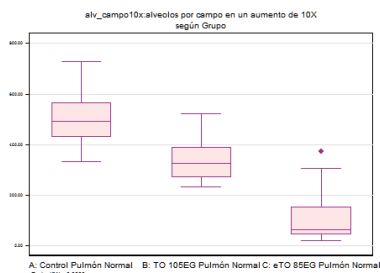
Regressio Multivariant regress per a alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

Number of obs = 120

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	-156.116	(-194.091;-118.141)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	-399.712	(-437.687;-361.737)	

1: Normal approximation

LL model= -704.18 ; AIC model= 1414.36 ; BIC model= 1422.72



ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

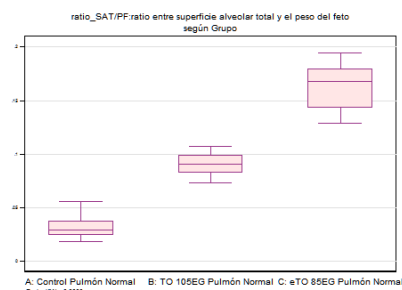
Regressio Multivariant regress per a ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

Number of obs = 120

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	0.059	(0.053; 0.065)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0.132	(0.126; 0.138)	

1: Normal approximation

LL model= 346.42 ; AIC model= -686.83 ; BIC model= -678.47



ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

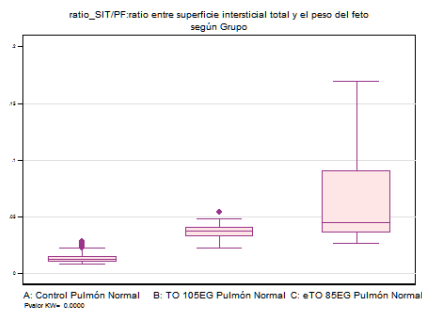
Regressio Multivariant regress per a ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

Number of obs = 120

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	B: TO 105EG Pulmón Normal	0.023	(0.010; 0.035)	
	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0.053	(0.041; 0.065)	

1: Normal approximation

LL model= 260.12 ; AIC model= -514.23 ; BIC model= -505.87



Comparación grupos HDC

superf_alv:area en μm^2

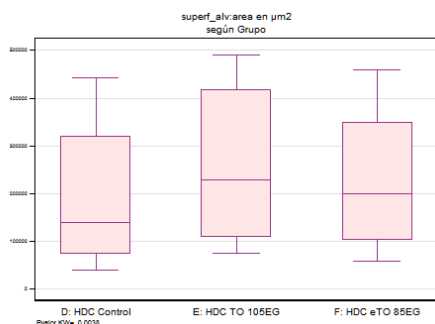
Regressio Multivariant regress per a superf_alv:area en μm^2

Number of obs = 120

VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo D: HDC Control	0		0.1407
E: HDC TO 105EG	6.4e+04	(1191.725; 1.3e+05)	
F: HDC eTO 85EG	3.2e+04	(-3.1e+04; 9.5e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1593.26 ; AIC model= 3192.53 ; BIC model= 3200.89



%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

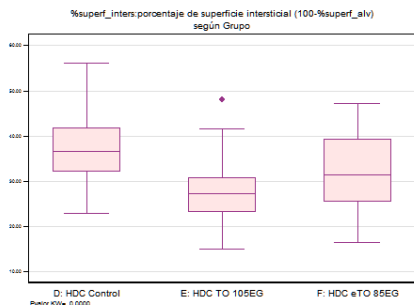
Regressio Multivariant regress per a %superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

Number of obs = 120

VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo D: HDC Control	0		0.0000
E: HDC TO 105EG	-10.020	(-13.356;-6.683)	
F: HDC eTO 85EG	-5.504	(-8.840;-2.168)	

1: Normal approximation

LL model= -412.33 ; AIC model= 830.65 ; BIC model= 839.01



ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e

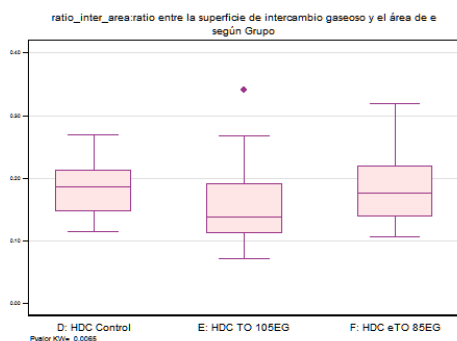
Regressio Multivariant regress per a ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0170
	E: HDC TO 105EG	-0.029	(-0.052;-0.005)	
	F: HDC eTO 85EG	0.002	(-0.021; 0.026)	

1: Normal approximation

LL model= 183.51 ; AIC model= -361.01 ; BIC model= -352.65



esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)

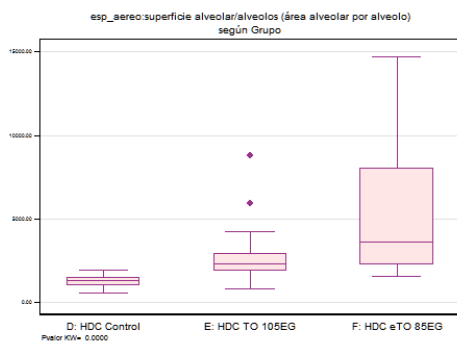
Regressio Multivariant regress per a esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	1361.045	(305.804;2416.285)	
	F: HDC eTO 85EG	4067.171	(3011.931;5122.412)	

1: Normal approximation

LL model= -1103.13 ; AIC model= 2212.26 ; BIC model= 2220.62



perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)

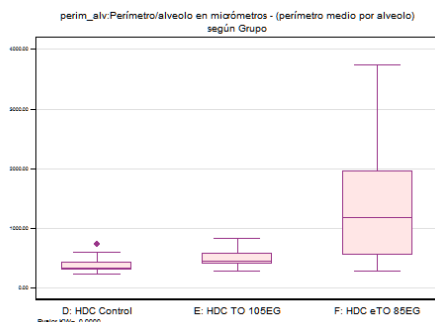
Regressio Multivariant regress per a perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)

Number of obs = 120

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	130.018	(-134.241;394.276)	
	F: HDC eTO 85EG	1097.913	(833.655;1362.171)	

1: Normal approximation

LL model= -936.98 ; AIC model= 1879.96 ; BIC model= 1888.32



alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

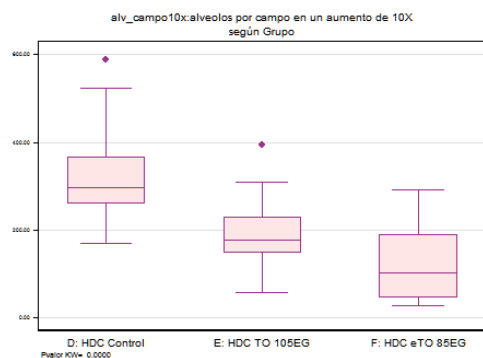
Regressio Multivariant regress per a alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

Number of obs = 120

VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0	0.0000
	E: HDC TO 105EG	-122.433 (-157.568;-87.298)	
	F: HDC eTO 85EG	-191.507 (-226.642;-156.372)	

1: Normal approximation

LL model= -694.85 ; AIC model= 1395.70 ; BIC model= 1404.06



ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

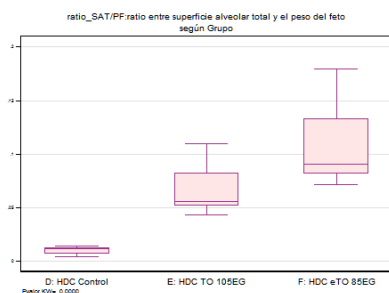
Regressio Multivariant regress per a ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

Number of obs = 120

VARIABLE	Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0	0.0000
	E: HDC TO 105EG	0.056 (0.045; 0.068)	
	F: HDC eTO 85EG	0.097 (0.086; 0.109)	

1: Normal approximation

LL model= 268.41 ; AIC model= -530.83 ; BIC model= -522.46



ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

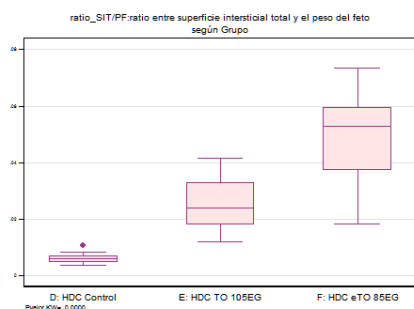
Regressio Multivariant regress per a ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

Number of obs = 120

VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	D: HDC Control	0	0.0000
	E: HDC TO 105EG	0.019 (0.015; 0.024)	
	F: HDC eTO 85EG	0.044 (0.040; 0.048)	

1: Normal approximation

LL model= 389.89 ; AIC model= -773.78 ; BIC model= -765.42



Comparación grupos Control

superf_alv:area en μm^2

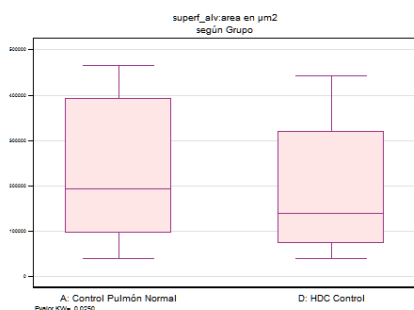
Regressio Multivariant regress per a superf_alv:area en μm^2

Number of obs = 80

VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0	0.1753
	D: HDC Control	-4.5e+04 (-1.1e+05; 1.9e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1063.68 ; AIC model= 2131.37 ; BIC model= 2136.13



%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

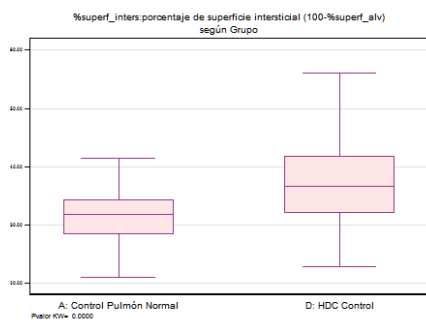
Regressio Multivariant regress per a %superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

Number of obs = 80

VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0	0.0000
	D: HDC Control	6.557 (3.792; 9.323)	

1: Normal approximation

LL model= -259.87 ; AIC model= 523.73 ; BIC model= 528.50



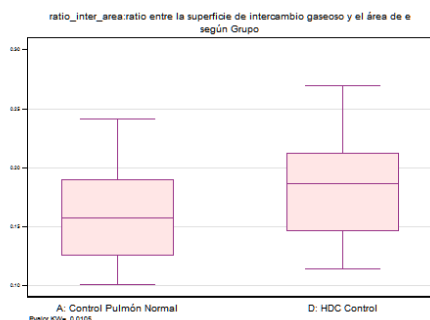
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e
Regressio Multivariant regress per a ratio_inter_area:ratio entre la superficie de
intercambio gaseoso y el área de e

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0123
	D: HDC Control	0.023	(0.005; 0.041)	

1: Normal approximation

LL model= 143.45 ; AIC model= -282.90 ; BIC model= -278.13



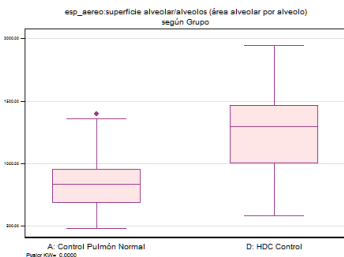
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)
Regressio Multivariant regress per a esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar
por alveolo)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	403.124	(278.501;527.747)	

1: Normal approximation

LL model= -564.52 ; AIC model= 1133.04 ; BIC model= 1137.81



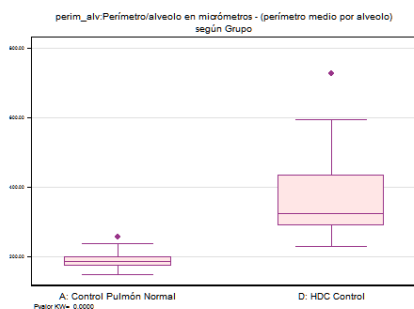
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)
Regressio Multivariant regress per a perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros -
(perímetro medio por alveolo)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	173.100	(138.952;207.249)	

1: Normal approximation

LL model= -460.95 ; AIC model= 925.91 ; BIC model= 930.67



alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

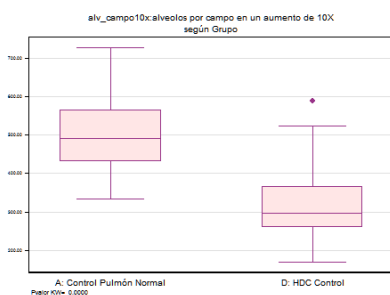
Regressio Multivariant regress per a alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	-183.706	(-223.806;-143.606)	

1: Normal approximation

LL model= -473.81 ; AIC model= 951.62 ; BIC model= 956.38



ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

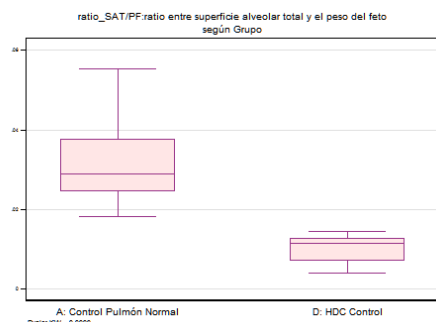
Regressio Multivariant regress per a ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	-0.021	(-0.024;-0.018)	

1: Normal approximation

LL model= 279.22 ; AIC model= -554.44 ; BIC model= -549.68



ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

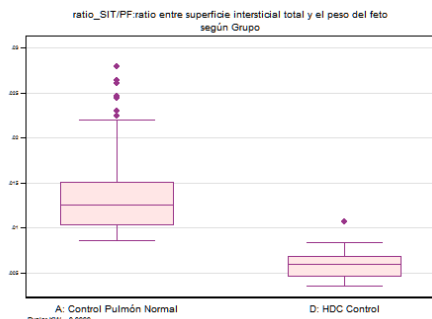
Regressio Multivariant regress per a ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	A: Control Pulmón Normal	0		0.0000
	D: HDC Control	-0.009	(-0.010;-0.007)	

1: Normal approximation

LL model= 323.54 ; AIC model= -643.09 ; BIC model= -638.32



Comparación grupos TO 10SEG

superf_alv:area en μm^2

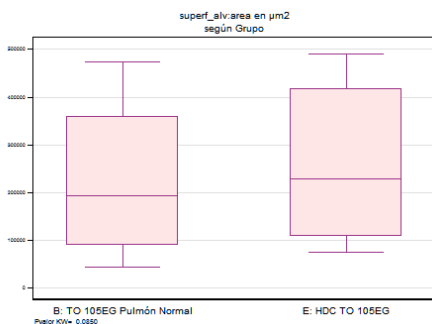
Regressio Multivariant regress per a superf_alv:area en μm^2

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 10SEG Pulmón Normal	0		0.4824
	E: HDC TO 10SEG	2.5e+04	(-4.4e+04; 9.3e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1069.48 ; AIC model= 2142.97 ; BIC model= 2147.73



%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

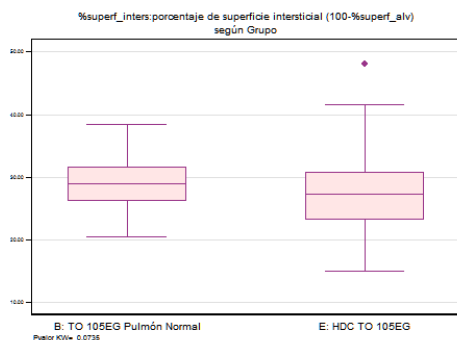
Regressio Multivariant regress per a %superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 10SEG Pulmón Normal	0		0.3490
	E: HDC TO 10SEG	-1.158	(-3.567; 1.251)	

1: Normal approximation

LL model= -248.84 ; AIC model= 501.67 ; BIC model= 506.44



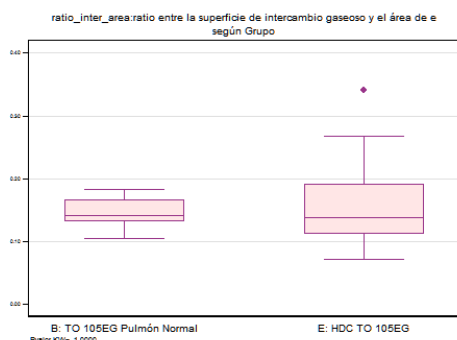
ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e
Regressio Multivariant regress per a ratio_inter_area:ratio entre la superficie de
intercambio gaseoso y el área de e

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.3204
	E: HDC TO 105EG	0.010	(-0.009; 0.029)	

1: Normal approximation

LL model= 137.17 ; AIC model= -270.35 ; BIC model= -265.58



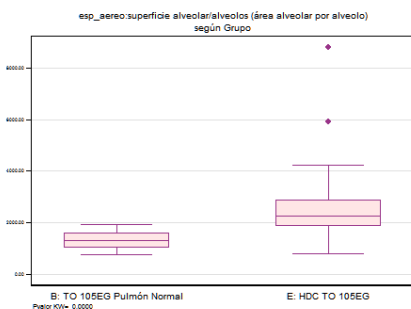
esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)
Regressio Multivariant regress per a esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar
por alveolo)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	1310.741	(872.944;1748.538)	

1: Normal approximation

LL model= -665.04 ; AIC model= 1334.08 ; BIC model= 1338.84



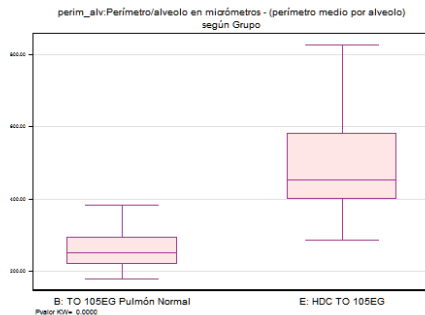
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)
Regressio Multivariant regress per a perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros -
(perímetro medio por alveolo)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	232.537	(188.658;276.415)	

1: Normal approximation

LL model= -481.01 ; AIC model= 966.02 ; BIC model= 970.79



alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

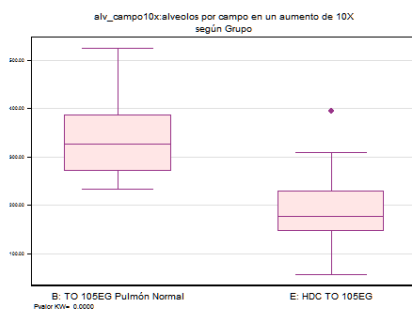
Regressio Multivariant regress per a alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-150.023	(-183.008;-117.038)	

1: Normal approximation

LL model= -458.18 ; AIC model= 920.36 ; BIC model= 925.13



ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

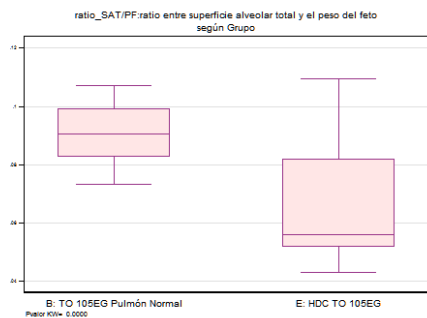
Regressio Multivariant regress per a ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
	E: HDC TO 105EG	-0.024	(-0.031;-0.016)	

1: Normal approximation

LL model= 212.61 ; AIC model= -421.22 ; BIC model= -416.46



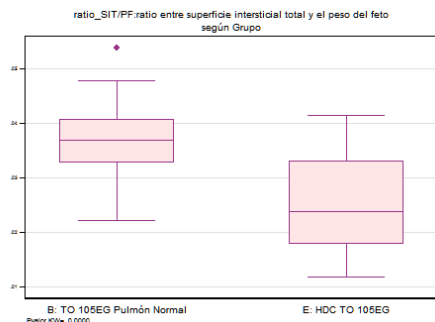
ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto
Regressio Multivariant regress per a ratio_SIT/PF:ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

Number of obs = 80

VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo B: TO 105EG Pulmón Normal	0		0.0000
E: HDC TO 105EG	-0.012	(-0.015;-0.008)	

1: Normal approximation

LL model= 277.26 ; AIC model= -550.52 ; BIC model= -545.76



Comparación grupos eTO 85EG

superf_alv:area en µm2

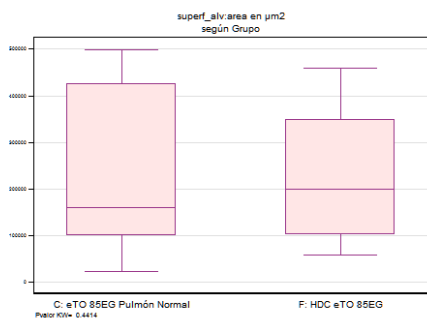
Regressio Multivariant regress per a superf_alv:area en µm2

Number of obs = 80

VARIABLE	Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.5729
F: HDC eTO 85EG	-1.9e+04	(-8.6e+04; 4.8e+04)	

1: Normal approximation

LL model= -1067.56 ; AIC model= 2139.11 ; BIC model= 2143.88



%superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

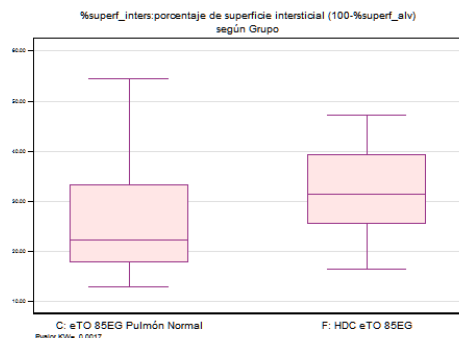
Regressio Multivariant regress per a %superf_inters:porcentaje de superficie intersticial (100-%superf_alv)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0250
	F: HDC eTO 85EG	5.520	(0.786;10.254)	

1: Normal approximation

LL model= -302.87 ; AIC model= 609.75 ; BIC model= 614.51



ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e

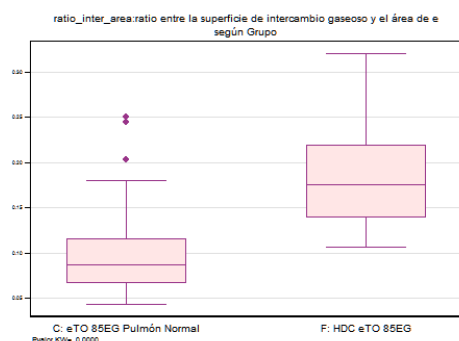
Regressio Multivariant regress per a ratio_inter_area:ratio entre la superficie de intercambio gaseoso y el área de e

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0000
	F: HDC eTO 85EG	0.086	(0.062; 0.109)	

1: Normal approximation

LL model= 122.34 ; AIC model= -240.68 ; BIC model= -235.92



esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)

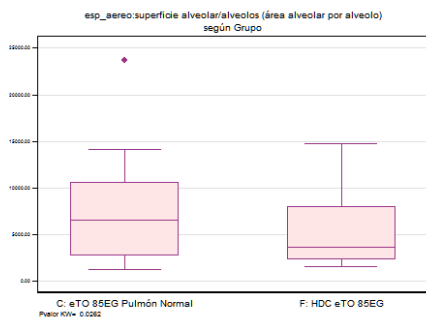
Regressio Multivariant regress per a esp_aereo:superficie alveolar/alveolos (área alveolar por alveolo)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0419
	F: HDC eTO 85EG	-2.0e+03	(-3.9e+03;-105.915)	

1: Normal approximation

LL model= -782.90 ; AIC model= 1569.81 ; BIC model= 1574.57



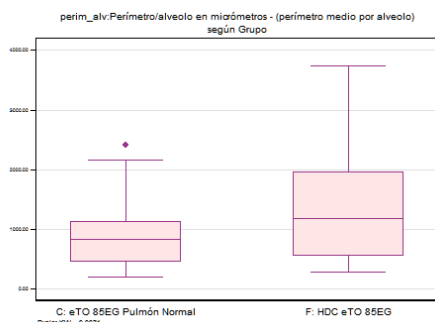
perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)
Regressio Multivariant regress per a perim_alv:Perímetro/alveolo en micrómetros - (perímetro medio por alveolo)

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) †	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0034
	F: HDC eTO 85EG	557.894	(196.557;919.232)	

1: Normal approximation

LL model= -649.68 ; AIC model= 1303.37 ; BIC model= 1308.13



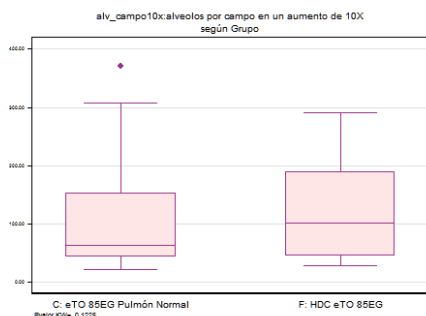
alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X
Regressio Multivariant regress per a alv_campo10x:alveolos por campo en un aumento de 10X

Number of obs = 80

VARIABLE		Coefficiente	(95%CI) †	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.1900
	F: HDC eTO 85EG	24.499	(-11.817;60.815)	

1: Normal approximation

LL model= -465.88 ; AIC model= 935.76 ; BIC model= 940.52



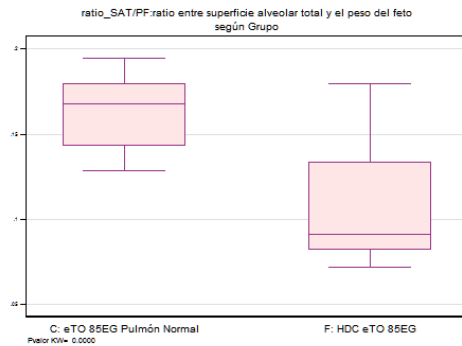
ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto
Regressio Multivariant regress per a ratio_SAT/PF:ratio entre superficie alveolar total y el peso del feto

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0000
	F: HDC eTO 85EG	-0.056	(-0.070;-0.043)	

1: Normal approximation

LL model= 165.59 ; AIC model= -327.18 ; BIC model= -322.41



ratio_SIT/PF: ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

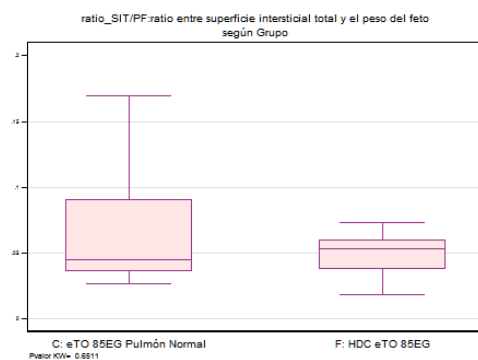
Regressio Multivariant regress per a ratio_SIT/PF: ratio entre superficie intersticial total y el peso del feto

Number of obs = 80

VARIABLE		Coeficiente	(95%CI) ¹	p-value
Grupo	C: eTO 85EG Pulmón Normal	0		0.0270
	F: HDC eTO 85EG	-0.018	(-0.033;-0.002)	

1: Normal approximation

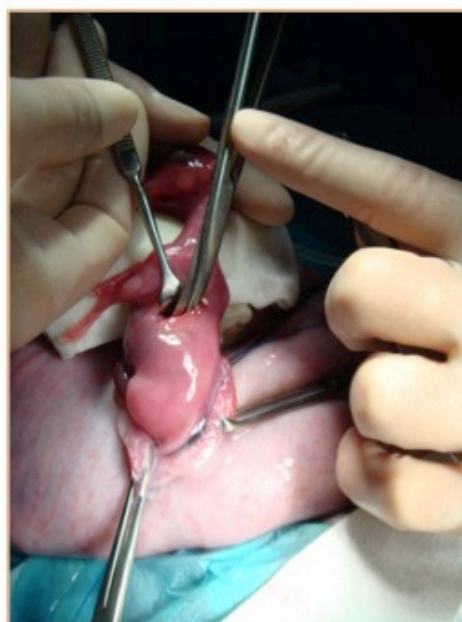
LL model= 155.25 ; AIC model= -306.51 ; BIC model= -301.74



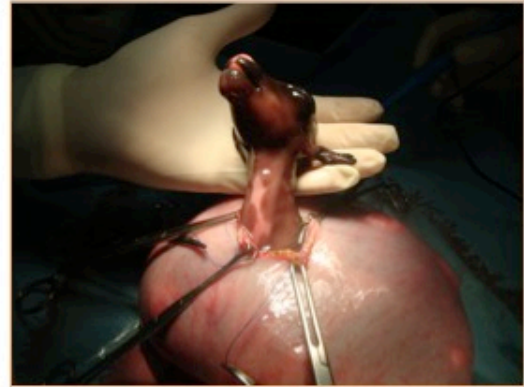
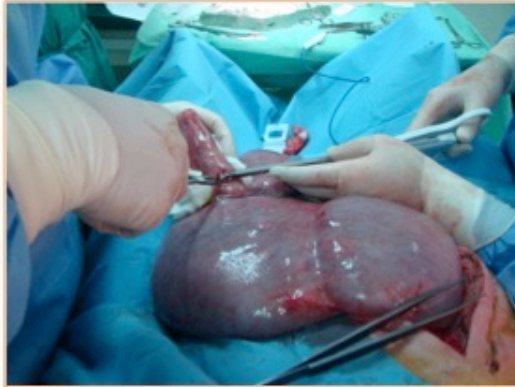
12.3. Anexo 3: Imágenes quirúrgicas

A continuación se muestra parte del archivo fotográfico quirúrgico del proyecto de tesis.

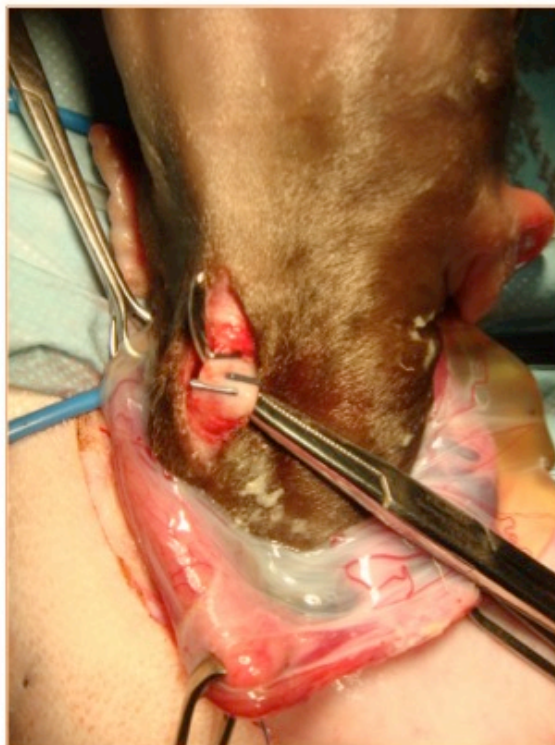
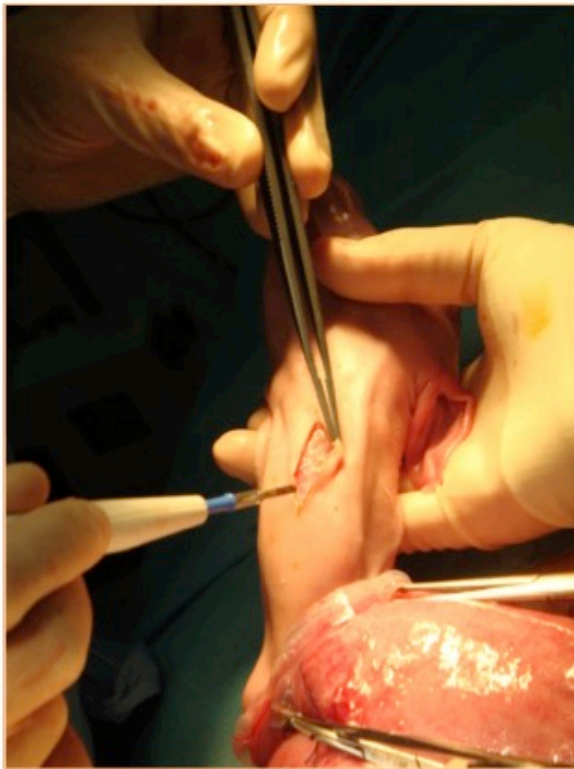
Creación de CDH a los 65 días



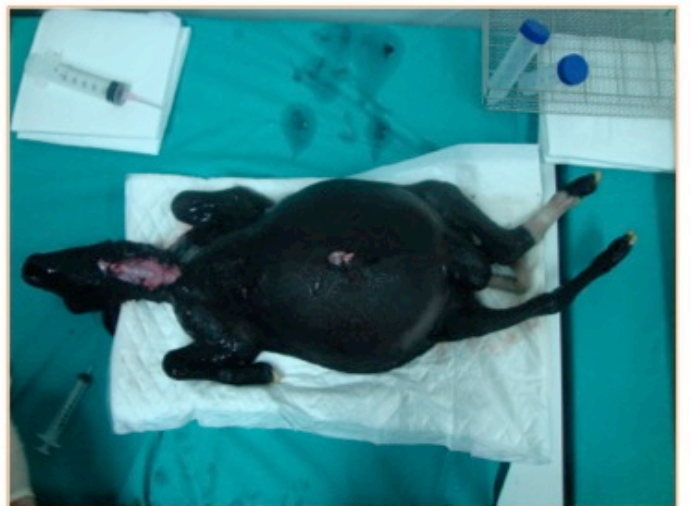
Oclusión traqueal precoz a los 85 días



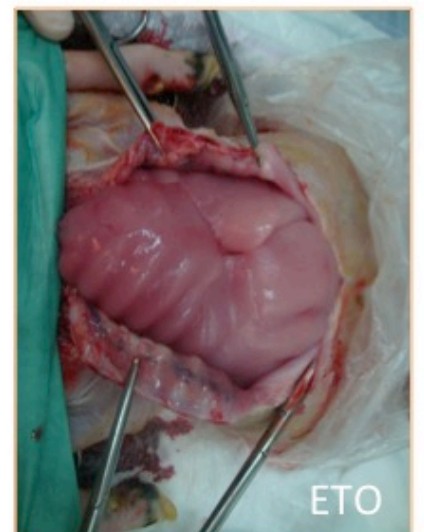
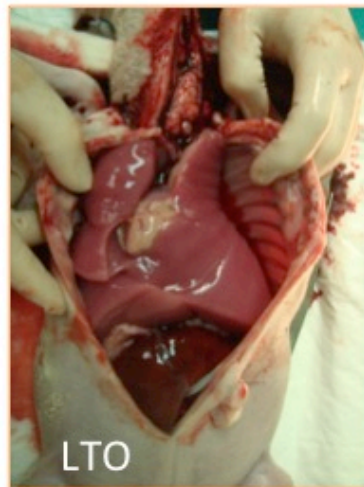
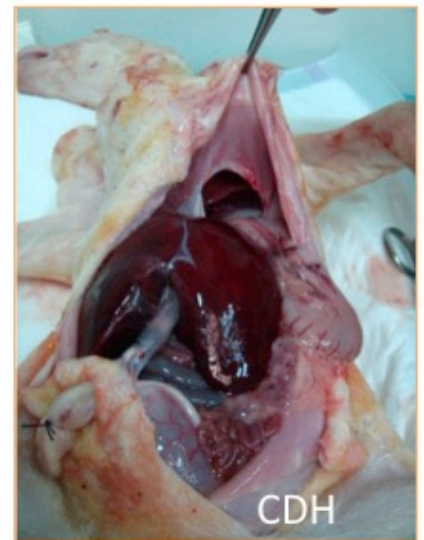
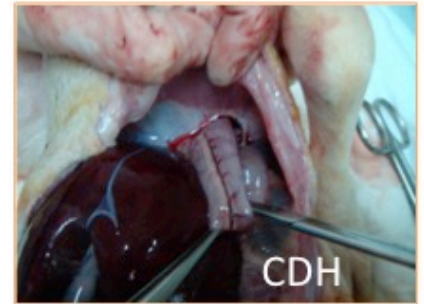
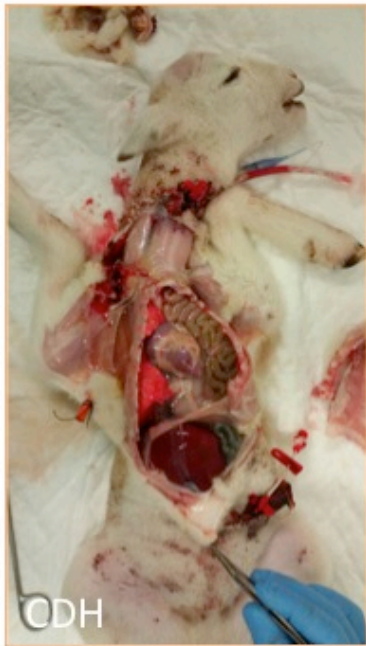
Oclusión traqueal tardía a los 105 días



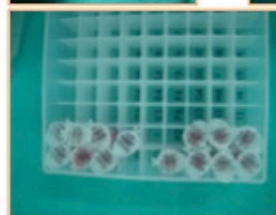
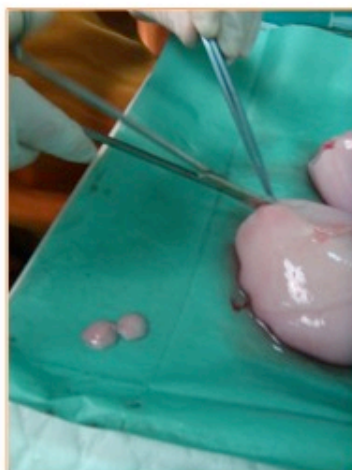
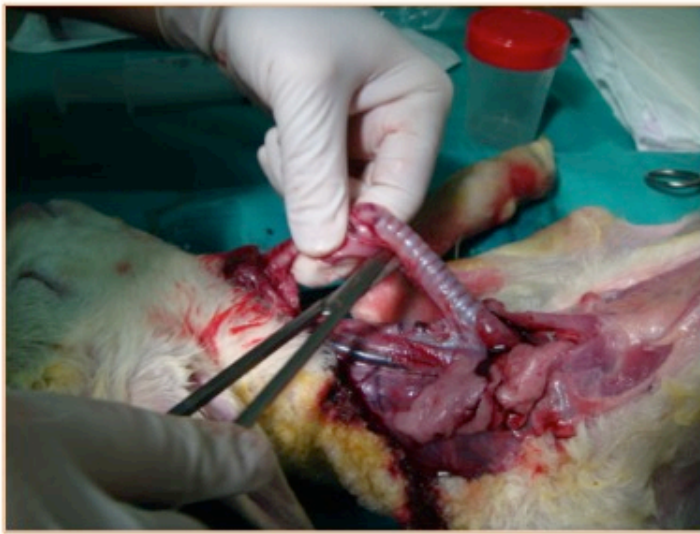
Cesáreas



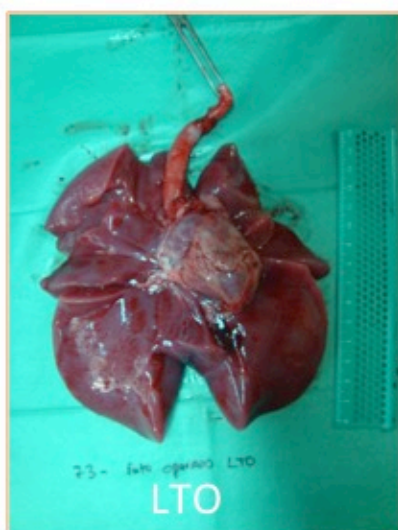
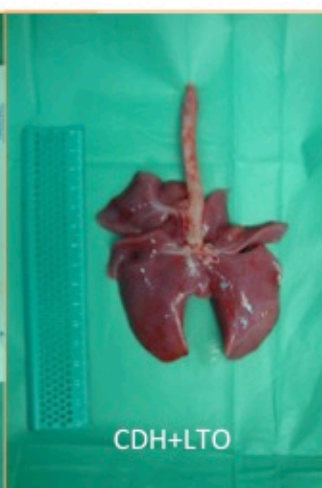
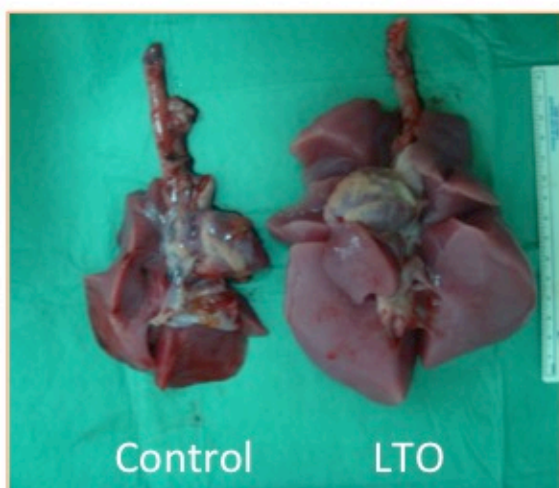
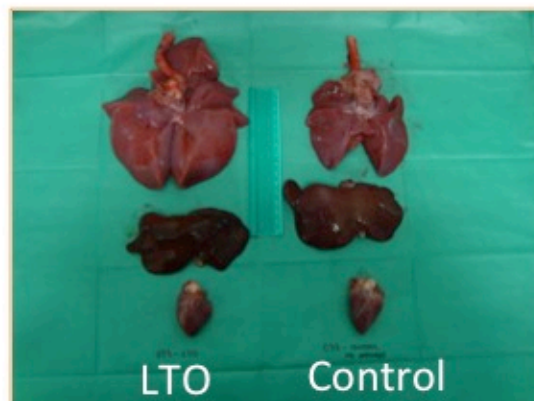
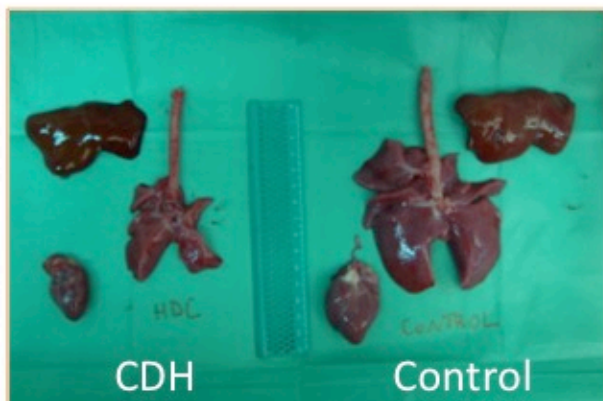
Cesáreas



Extracción de Muestras



Muestras





Certificados de aceptación de los Directores de Tesis y Tutor Académico

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Escola de Doctorat

Model d'informe del director sobre la tesi doctoral

Modelo de informe sobre la tesis doctoral

Standard form for doctoral thesis report

Nom del director de la tesi / Nombre del director de la tesis / Name of the thesis director
Eloy Espín Basany
Universitat o organisme del director / Universidad u organismo / University or institution
Universitat Autònoma de Barcelona

Nom del tutor de la tesi (si cal) / Nombre del tutor de la tesis (si es necesario) / Name of the thesis tutor (if necessary)

Departament o Institut de la inscripció de la tesi Departamento o Instituto de la inscripción de la tesis Department or Research Institute where the thesis is inscribed	Estudi o programa de doctorat Estudio o programa de Doctorado Doctoral Study or Programme
Cirurgia	Cirurgia i Ciències Morfològiques

Títol de la tesi presentada / Título de la tesis presentada / Title of the thesis
Efectos en el desarrollo pulmonar de la oclusión traqueal precoz como terapia fetal de la hipoplasia pulmonar en la hernia diafragmática congénita del feto ovino.

Nom i cognoms del doctorand / Nombre y apellidos del doctorando / Name of the candidate
Carles Giné Prades

1. ÉS APTA LA TESI PRESENTADA PER AL TRÀMIT DE LECTURA I DEFENSA PÚBLICA? / ¿ES APTA LA TESIS PRESENTADA PARA EL TRAMITE DE LECTURA Y DEFENSA PUBLICA? / IS THE THESIS SUITABLE TO BE READ AND DEFENDED PUBLICLY?

SI

2. INFORME RAONAT (es poden afegir els fulls necessaris adjuntant aquesta fitxa) / INFORME RAZONADO (se pueden añadir las hojas necesarias adjuntando esta ficha) / REASONED REPORT (You can use all the pages you might need including this form)

Se trata de una tesis experimental en el que se valora el impacto de la oclusión traqueal precoz en el contexto de la hipoplasia pulmonar secundario a la hernia diafragmática congénita.

Se han intervenido 24 fetos ovinos en 6 grupos diferentes: 3 grupos sin hernia diafragmática congénita y 3 con hernia. En estos se hacía: un grupo sin acción quirúrgica, uno con oclusión traqueal estándar (105 días) y uno con oclusión traqueal precoz (85 días)

La metodología es adecuada.

Las conclusiones son que dicho tratamiento es beneficioso en los casos de hipoplasia secundaria a hernia diafragmática congénita, induciendo un mayor crecimiento del tejido pulmonar, del espacio aéreo y del líquido intrapulmonar.


Es perfectamente publicable en revistas de impacto.

Abre unas líneas de investigación futuras muy interesantes: estudios de función pulmonar en hipoplasia, el uso de factores de crecimiento y de células pluripotenciales en el momento de la oclusión traqueal, identificación de la expresión proteica del líquido intrapulmonar mediante proteómica, creación de tejido diafragmático, desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas, etc.

Creo que es un Trabajo de alta calidad y que puede presentarse para defender en un tribunal de Tesis.

DATA / FECHA / DATE: 22 de mayo de 2017

SIGNATURA / FIRMA / SIGNATURE: Eloy Espín Bassany

 UAB Universitat Autònoma de Barcelona Escola de Doctorat		Model d'informe del director sobre la tesi doctoral Módulo de informe sobre la tesis doctoral Standard form for doctoral thesis report
Nom del director de la tesi / Nombre del director de la tesis / Name of the thesis director Mario Marotta Baleriola		
Universitat o organisme del director / Universidad u organismo / University or institution Vall d'Hebron Institut de Recerca		
Nom del tutor de la tesi (si cal) / Nombre del tutor de la tesis (si es necesario) / Name of the thesis tutor (if necessary)		
Departament o Institut de la inscripció de la tesi Departamento o Instituto de la inscripción de la tesis Department or Research Institute where the thesis is inscribed Cirurgia Pediàtrica - CIRURGIÀ	Estudi o programa de doctorat Estudio o programa de Doctorado Doctoral Study or Programme Cirurgia i Ciències Morfològiques	
Títol de la tesi presentada / Título de la tesis presentada / Title of the thesis Efectos en el desarrollo pulmonar de la oclusión traqueal precoz como terapia fetal de la hipoplasia pulmonar en la hernia diafragmática congénita del feto ovino.		
Nom i cognoms del doctorand / Nombre y apellidos del doctorando / Name of the candidate Carles Giné Prades		
1. ÉS APTA LA TESI PRESENTADA PER AL TRÀMIT DE LECTURA I DEFENSA PÚBLICA? / ¿ES APTA LA TESIS PRESENTADA PARA EL TRAMITE DE LECTURA Y DEFENSA PUBLICA? / IS THE THESIS SUITABLE TO BE READ AND DEFENDED PUBLICLY? <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> SI/YES		
2. INFORME RAONAT (es poden afegir els fulls necessaris adjuntant aquesta fitxa) / INFORME RAZONADO (se pueden añadir las hojas necesarias adjuntando esta ficha) / REASONED REPORT (You can use all the pages you might need including this form)		

TES59

INFORME RAONAT: El doctor Mario Marotta Baleriola como director de la Tesis Doctoral presentada por Carles Giné Prades, hace constar que el doctorando ha participado activamente en el trabajo presentado en esta memoria. La memoria de tesis está perfectamente presentada y refleja el excelente trabajo realizado por el doctorando el cual ha tenido un papel fundamental en el diseño y ejecución experimental y el tratamiento de los datos. Este trabajo de tesis hace una excelente aportación al estudio de la malformación de la hernia diafragmática congénita en humanos, utilizando un modelo animal en feto de oveja que imita fielmente la patología humana, generando valiosa información que puede ser publicada en breve en revistas internacionales especializadas y presentada en congresos médicos y científicos. La presente tesis doctoral abre nuevas líneas de trabajo futuras para profundizar en el conocimiento de las causas y la generación de nuevas aproximaciones terapéuticas para el tratamiento de la hernia diafragmática congénita y, por supuesto, cabe destacar la importante traslacionalidad del presente estudio hacia la clínica humana, donde ya se han utilizado técnicas quirúrgicas por cirugía fetal para la reparación del defecto congénito de la hernia diafragmática en base a trabajos previos realizados en el modelo experimental de feto de oveja, lo que apunta a la excepcionalidad de este trabajo de tesis por su potencial aportación hacia el desarrollo de nuevos tratamientos como la oclusión traqueal precoz como terapia fetal de la hipoplasia pulmonar generada por la hernia diafragmática congénita, con el fin de mejorar la morbi-mortalidad y la calidad de vida de los pacientes afectados por esta malformación congénita.

DATA / FECHA / DATE: 21 de mayo de 2017

SIGNATURA / FIRMA / SIGNATURE: Mario Marotta Baleriola



TES59



Universitat Autònoma de Barcelona
Escola de Doctorat

Model d'informe del director sobre la tesi doctoral
Modelo de informe sobre la tesis doctoral
Standard form for doctoral thesis report

Nom del director de la tesi / Nombre del director de la tesis / Name of the thesis director
José Luis Peiró Ibáñez
Universitat o organisme del director / Universidad u organismo / University or institution
Universitat Autònoma de Barcelona

Nom del tutor de la tesi (si cal) / Nombre del tutor de la tesis (si es necesario) / Name of the thesis tutor (if necessary)

Departament o Institut de la inscripció de la tesi Departamento o Instituto de la inscripción de la tesis Department or Research Institute where the thesis is inscribed	Estudi o programa de doctorat Estudio o programa de Doctorado Doctoral Study or Programme
Cirurgia	Cirurgia i Ciències Morfològiques

Títol de la tesi presentada / Título de la tesis presentada / Title of the thesis
Efectos en el desarrollo pulmonar de la oclusión traqueal precoz como terapia fetal de la hipoplasia pulmonar en la hernia diafragmática congénita del feto ovino.

TES59

Nom i cognoms del doctorand / Nombre y apellidos del doctorando / Name of the candidate
Carles Giné Prades

1. ÉS APTA LA TESI PRESENTADA PER AL TRÀMIT DE LECTURA I DEFENSA PÚBLICA? / ¿ES APTA LA TESIS PRESENTADA PARA EL TRÁMITE DE LECTURA Y DEFENSA PÚBLICA? / IS THE THESIS SUITABLE TO BE READ AND DEFENDED PUBLICLY?

NO

* SI / YES

2. INFORME RACIONAT (es poden afegir els fulls necessaris adjuntant aquesta fitxa) / INFORME RAZONADO (se pueden añadir las hojas necesarias adjuntando esta ficha) / REASONED REPORT (You can use all the pages you might need including this form)

Benvolguts,

Considero aquesta Tesi Doctoral del Carles Giné apte per a la seva defensa.

El tema que s'ha treballat en aquesta tesi representa un suport experimental valuósíssim, que necessitàvem per a dur a terme un canvi en la estratègia terapèutica d'aquests pacients amb Hèrnia Diafragmàtica Congènita amb una hipoplàsia pulmonar extrema, en molts casos incompatible amb la vida a pesar del seu tractament estàndard prenatal. De fet, confirma una hipòtesi que venim elaborant des de ja fa molt de temps i és que la oclusió en període canalicular del desenvolupament embrionari té molta més potencialitat de fer créixer els pulmons d'aquests pacients.

Els resultats d'aquest projecte ens han permès obrir la investigació de la funció respiratòria d'aquests pulmons, una línia en la que el Carles Giné també s'ha involucrat i que es troba en fase experimental en ovelles. Ara mateix, amb la oclusió i desclusió dels pulmons dels animals, en els quals es practiquen, a més, teràpies amb cèl·lules pluripotencials i amb factors de creixement, duem a terme la resuscitació dels fetus a terme i l'estudi dels paràmetres ventilatoris, hemodinàmics i gasomètrics. La translació a clínica humana pot ser quasi immediata tenint en compte el pronòstic tant desfavorable d'aquests pacients.

La quantitat de treballs que es poden derivar d'aquesta tesi és significativa. Podem tipificar millor la composició iònica i molecular del líquid amniòtic i del líquid intrapulmonar, podem fer estudis sobre les vies aèries superiors i els efectes de la oclusió traqueal, estudis cardiològics, tant funcionals com histològics, i estudis de funció i histologia hepàtica. Tenim també una gran quantitat de mostra apta per a ulteriors tincions immunohistoquímiques i encara podem filar més prim amb la tipificació dels neumòcits tipus II i la qualitat de les arterioles pulmonars, factors clau en la funció respiratòria postnatal.

La metodologia que ha seguit en Carles Giné pel que fa a l'estudi morfomètric és un punt fort de la tesi ja que s'ha actualitzat, amb suport informàtic, unes tècniques prèvies amb molt marge de biaix per un factor humà. La metodologia aplicada en aquesta tesi fa reproduïbles i comparables els resultats en ulteriors treballs similars dotant d'objectivitat i capacitat estadística a l'estudi.

Sens dubte, els resultats de la investigació són publicables i així ho exigirem, atès el debat intens internacional en matèria d'oclusió traqueal. A més, la primera experiència clínica en humans publicada, en la que vam participar, ens dona les claus de la efectivitat del tractament i la creació d'un estudi prospectiu multicèntric que inclogui la oclusió precoç en casos extrems podria resultar definitiu en l'acceptació internacional d'aquest canvi d'estratègia.

Estic molt satisfet del treball realitzat pel Carles Giné en aquesta tesi doctoral i espero que la seva defensa sigui de l'agrat del tribunal. Sincerament crec que el seu esforç s'ho mereix.

TES59

DATA / FECHA / DATE: 21 de Maig de 2017

SIGNATURA / FIRMA / SIGNATURE:



Carles Giné Prades
Tesis Doctoral
Universitat Autònoma de Barcelona
2017