Özgün Araştırma / *Original Article*

DOI: 10.4274/haseki.2966
Med Bull Haseki 2016;54:62-6

Nitrofen Kullanılarak Oluşturulmuş Konjenital Diyafragma Hernisi Modelinde Trakeal Oklüzyonun Akciğerlerin Gelişimine Etkisinin İncelenmesi

To Analyse Effect of Tracheal Occlusion in the Development of Lung in Nitrofen Induced Congential Diaphragmatic Hernia Model

Emrah Aydın, Emre Yener*, Nil Üstündağ*

Bahçelievler Devlet Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

**İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Öz

Amaç: Doğumsal diyafragma hernisi yüksek morbidite ve mortaliteye sahip doğumsal anomalidir. Çalışmamızda nitrofen modeli ile oluşturulmuş doğumsal diyafragma hernili olgularda trakeal oklüzyonun akciğerlerin gelişimindeki etkisini incelemek amaçlanmaktadır.

Yöntemler: Aynı yaş grubunda Wistar albino türü sıçanlar çiftleştirildi. Vajinal smearda sperm gösterilen sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Smearda spermin gösterildiği gün sıfırıncı gebelik günü kabul edildi. Gebeliğin dokuzuncu gününde anne sıçana 100 mg nitrofen gavaj verildi ve 18. günde laparotomi ve histerotomi yapıldı. Her iki fetüsten birine servikal yaklaşımla trakeal oklüzyon uygulanırken diğerine trakeal oklüzyon yapılmadı. Gebe sıçanlara 22. gebelik gününde yeniden laparotomi ve histerotomi yapılarak fetüslerin akciğerleri çıkarıldı. Akciğerlerinin gelişimi histopatolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Nitrofen modeli ile 17 fetüsün 10'unda (%59) doğumsal diyafragma hernisi gelişti. Deneklerin beşi kontrol grubunda, beşi trakeal oklüzyon grubunda idi. Beş denekte sağ diyafragma hernisi, üç denekte sol diyafragma hernisi gerçekleşirken iki denekte herni bilateraldi. Akciğer gelişimi kontrol grubunda iki denekte psödoglandüler evrede, iki denekte psödoglandüler evre ve erken kanaliküler evrede, bir denekte ise erken kanaliküler evrede duraklamışken; trakeal oklüzyon grubunda iki denekte geç kanaliküler-erken sakküler evrede, bir denekte sakküler ve iki denekte erken kanaliküler evrede akciğer gelişiminin durakladığı görüldü.

Sonuç: Nitrofen modeli doğumsal diyafragma hernisi modeli oluşturmada etkin bir yöntemdir ancak Bochdalek hernisini simüle etmede yetersiz kalmaktadır. Trakeal oklüzyon deneklerin akciğerlerinin gelişimlerini arttırmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Doğumsal diyafragmatik herni, 2,4 diklorofenil-p -nitrofenil eter, trakeal oklüzyon

Abstract

Aim: Congenital daphragmatic hernia is a congenital abnormality with high morbidity and mortality. In our study, we aimed to analyse the effect of tracheal occlusion in lung development in nitrofen-induced congenital daphragmatic hernia.

Method: Wistar albino rats of the same age were mated. The rats, in whom the presence of sperm in vaginal smear was observed, were included in the study. It was zero day of pregnancy. At the ninth day of pregnancy, 100 mg nitrofen was introduced to pregnant rats by gavage and at the 18th day of pregnancy, laparotomy and hysterotomy were performed. Tracheal occlusion was performed in one of two fetuses. At the 22nd day of pregnancy, the lungs of the fetuses were excised. Lung development was analysed histopathologically.

Results: Ten (59%) of 17 fetuses had congenital daphragmatic hernia. Five of them were in control group. The defect was right-sided in five of the subjects, left-sided in three, and bilateral in two. Lung development was observed to be stopped in pseudoglandular subjects in two of the fetuses, in pseudoglandular-early canalicular stage in two, and early canalicular in one of the fetuses in control group while late canalicular-early saccular in two, saccular in one and early canalicular in two of the subjects in surgical group.

Conclusion: Nitrofen-induced congenital daphragmatic hernia is an efficient model, but it cannot simulate Bochdalek's hernia. Tracheal occlusion increases lung development.

Keywords: Congenital diaphragmatic hernia, 2,4-dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether, tracheal occlusion

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Emrah Aydın
Bahçelievler Devlet Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye
Tel.: +90 212 496 70 00 E-posta: dremrahaydin@yahoo.com
Geliş Tarihi/Received: 07 Aralık 2015 **Kabul Tarihi/Accepted:** 10 Ocak 2016
Bu çalışma 17-20 Eylül 2014 tarihleri arasında 32. Ulusal Çocuk Cerrahi Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuştur.

Haseki Tıp Bülteni,
Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
The Medical Bulletin of Haseki Training and Research Hospital, published by Galenos Publishing.

Giriş

Doğumsal diyafragma hernisi her 2,500-5,000 canlı doğumda bir görülen doğumsal bir hastalıktır (1,2). Yenidoğan ünitelerindeki ciddi ilerlemelere rağmen doğumsal diyafragma hernisi ile doğan yenidoğanların halen %40-50'lere ulaşan mortalitesi bulunmaktadır (3). Konjenital diyafragma hernisine (KDH) bağlı ölümler sıklıkla pulmoner hipoplazi ve pulmoner hipertansiyon nedeni ile meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalarda alveolar epitelyal hücreler ve bağ dokusunda meydana gelen kalınlaşmaların gaz değişimini güçleştirdiği ortaya konulmuştur. Bu durumun patofizyolojisini açıklamaya çalışan bir çok teori olmasına rağmen etiyolojiyi ortaya koyan bir çalışma henüz mevcut değildir.

Akciğer hipoplazisi, pulmoner hipertansiyon ve tip iki hücre disfonksiyonu doğumsal diyafragma hernili olgularda ana problemlerdir (4). Doğumsal diyafragma hernili olguların akciğerlerinde mikroskobik olarak hava yollarında dallanmada azalma, azalmış komplians ve pulmoner arteriollerin kas tabakalarında kalınlaşma görülmektedir. Ayrıca surfaktan yetersizliği ve hiyelen membran oluşumu, olgular term döneme ulaşsalar bile durumu daha da kötüleştirmektedir. Diyafragmada var olan defektten bağımsız olarak her iki akciğerin de gelişimsel süreçte genetik veya çevresel faktörlerin etkisi ile zarar gördüğü günümüzdeki en popüler hipotezdir. Diyafragmadaki defektten karın içi organların toraks boşluğuna fıtıklaşması sürecin ikinci basamağıdır. Kas tabakadaki bu defekt onarılsa bile doğumsal diyafragma hernili çocuklar akciğer problemleri nedeni ile kaybedilmektedirler. Gelişimini sürdüren fetüste akciğerlerin gelişmesini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Amnion sıvısı bunlardan biridir. Oligohidroamnios ile sonuçlanan üriner sistem patolojilerinde akciğer gelişimi etkilenmiştir. Akciğer hipoplazisini geri çevirmeyi hedefleyen trakeal oklüzyon fikri buradan ortaya çıkmıştır. Literatürde hayvan modellerinde intrauterin dönemde gerçekleştirilen trakeal oklüzyonun akciğer hipoplazisini morfolojik olarak geri çevirdiğini ve postnatal dönemde akciğer fonksiyonlarını ve akciğer kompliansını arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (5-10). Çalışmamızda trakeal oklüzyona ek olarak büyüme faktörleri, steroid ve surfaktan gibi akciğer gelişiminde rol oynayan etkenleri bir araya getirmeyi amaçladık. Bu yazıyı da trakeal oklüzyonun akciğerlerin gelişimi üzerindeki etkisini gösteren ön çalışma olarak hazırladık.

Yöntemler

Çalışmamız için İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 26.07.2012 tarih ve 2012/108 numaralı etik kurul onayı alınmıştır. Aynı yaş grubundaki (350 gr) Wistar albino türü 20 adet dişi sıçan ile erkek sıçanların çiftleşmeleri sağlandı. Vajinal smearda sperm gösterilen 12 adet dişi sıçan çalışmaya dahil edildi. Vajinal smearda spermin görüldüğü gün sıfırıncı gebelik günü olarak kabul edildi. Anne sıçanlara gebeliğin dokuzuncu gününde 6 Fr beslenme sondası yardımı ile 100 mg nitrofen (2,4-dikloro-fenil-p nitrofenil eter) 1 mL zeytinyağı içinde çözünmüş olarak verildi. Vajinal smearda sperm gösterilen altı dişi sıçan takiplerinde gebe olmadığı görülerek çalışma dışı bırakıldı. Gebeliğine sağlıklı bir şekilde devam eden altı dişi sıçana 18. gebelik gününde genel anestezi altında (Ketamin HCl 25 mg/kg ve Xsilazin HCl 5 mg/kg) orta hat vertikal insizyon ile laparatomi yapıldı. Her bir sıçana dört histerotomi yapıldı ve sıçan başına iki fetüs kontrol grubu, iki fetüs de çalışma grubu olarak belirlendi. Cerrahi işlem 2,5x binoculer loop ile gerçekleştirildi. Trakeal oklüzyon işlemi servikal yaklaşımla yapıldı. Trakea diseke edildikten sonra trakeaya titanyum mikroklip yerleştirildi. İşlem sonrası plasenta içine 3 cc serum fizyolojik ilave edilerek 6/0 vicryl ile devamlı olarak kapatıldı. Kontrol grubu olarak belirlenen fetüslerede histerotomi ve servikal insizyon yapıldı ancak trakeal oklüzyon yapılmadı. Gebeliği sağlıklı bir şekilde devam eden altı dişi sıçanda toplam 24 fetüse histerotomi ile müdahale edildi. Cerrahi müdahalede bulunulan tüm dişi sıçanlara antibiyotik (cefadroxil 10 mg/kg) uygulandı. Gebeliğin 22. gününde dişi sıçanlara laparatomi yapıldı. Cerrahi müdahalede bulunulan fetüslerden kontrol grubundan dört, trakeal oklüzyon uygulanan gruptan ise üç fetüsün öldüğü görüldü. Yaşayan 17 fetüse genel anestezi verilerek torakotomi ve laparatomi yapıldı. Doğumsal diyafragma hernisi saptanan 10 fetüsün akciğerleri incelenmek üzere eksize edildi. Akciğerlerin histolopatolojik özellikleri iki patalog tarafından çift kör kontrollü şekilde değerlendirildi.

İstatiksel incelemeler için SPSS 21 for Windows (IBM) programı kullanıldı. Kategorik değişkenlerin değerlendirilmesinde ki-kare testi, gruplar arası ortalamaların kıyaslanmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Bu testin anlamlı olduğu durumlarda alt grup analizlerinde Dunn testi kullanılmıştır. İstatiksel incelemede p değerinin 0,05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı kabul edildi.

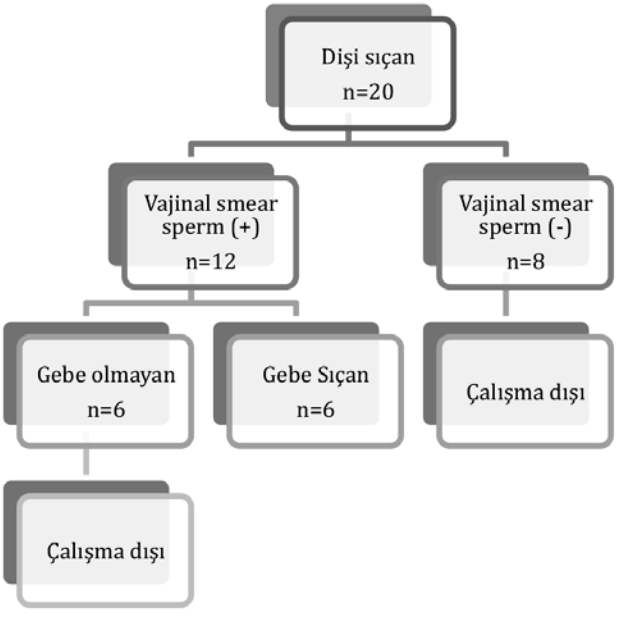
Bulgular

Çiftleştirilmek için bir arada bırakılan 20'şer dişi ve erkek sıçandan 12 (%60) dişi sıçan vajinal smear incelemesinde sperm görülmesi üzerine çalışmaya dahil edildi (Şekil). Çalışmaya dahil edilen dişi sıçanlardan altısının takibinde gebe olmadıkları görülerek çalışmadan çıkarıldılar. Sağlıklı bir şekilde gebeliklerini tamamlayan altı (%30) dişi sıçanda 24 fetüse müdahalede bulunuldu. Cerrahi müdahaleler esnasında hiçbir anne sıçan ölmedi.

İlk laparatomide fetüslerden 12 tanesine trakeal oklüzyon işlemi yapıldı. İkinci laparatomi esnasında

fetüslere yapılan torakotomi ve laparatomide trakeal oklüzyon yapılan fetüslerin beşinde (%42) doğumsal diyafragma hernisi saptanırken dört (%33) fetüste diyafragmanın sağlam olduğu görüldü. Üç (%25) fetüsün ise ilk laparatomi sonrasında öldüğü görüldü. Trakeal oklüzyon yapılmayan grupta ise beş (%42) fetüste doğumsal diyafragma hernisi saptanırken üç (%25) fetüste diyafragmanın sağlam olduğu görüldü. Dört (%3) fetüsün ise ilk operasyon sonrasında öldüğü görüldü. Toplamda fetüslerden yedisinin (%29) ikinci laparatomi esnasında ölü oldukları görüldü. Bu sıçanların üçü (%43) ilk laparatomide trakeal oklüzyon yapılan grupta iken dördü (%57) trakeal oklüzyon yapılmayan grupta idi. Gruplar arasında trakeal oklüzyon yapılan fetüsler ile trakeal oklüzyon yapılmayan fetüslerin ölümlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05). Gebeliğin 18. gününe kadar yaşayan 17 fetüsten 10 tanesinde (%59) anne sıçana nitrofen verilmesine bağlı olarak doğumsal diyafragma hernisi saptandı. Doğumsal diyafragma hernisi saptanan deneklerin beşi trakeal oklüzyon yapılan grupta iken beşi de trakeal oklüzyon yapılmayan grupta idi. Yedi (%41) sıçanda ise diyafragmanın sağlam olduğu görüldü. Bu sıçanların dördü trakeal oklüzyon yapılan grupta iken üçü trakeal oklüzyon yapılmayan grupta idi.

Gebelik esnasında anne sıçana gavaj ile nitrofen verilmesinin ardından 10 fetüste (%59) doğumsal diyafragma hernisi saptandı. Fetüslerin beşinde (%29) sağ diyafragma hernisi, üçünde (%18) sol diyafragma hernisi ve ikisinde de (%12) bilateral diyafragma hernisi görüldü. Yedi denekte ise yapılan laparatomide diyafragma sağlam olarak bulundu. Sağ diyafragma hernisi saptanan beş fetüsün tamamında toraksa karaciğer ve barsakların fıtıklaşmış olduğu görüldü. Sol diyafragma hernisi saptanan iki fetüste karaciğer ve barsaklar toraksa fıtıklaşırken, bir fetüste dalağın da karaciğer ve barsaklar ile birlikte toraksa fıtıklaştığı saptandı. Bilateral diyafragma hernisi saptanan iki olguda da karaciğer, mide, dalak ve barsakların toraksa fıtıklaştığı görüldü. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada diafragmadaki defektin tarafı ile toraksa fıtıklaşan organlar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (p>0,05).



Şekil. Çalışmaya dahil edilen anne sıçanların dağılımı

Her iki gruptaki fetüslerin akciğerleri histolojik özellikleri ve gelişim evreleri açısından değerlendirildi. Trakeal oklüzyon yapılmayan grubun histolojik incelemesinde iki fetüsün akciğerlerinin gelişiminin psödoglandüler evrede durakladığı görüldü. Aynı grupta iki fetüsün akciğerlerinin gelişiminin psödoglandüler ile erken kanaliküler evre arasında durakladığı görüldü. Bir fetüs akciğerinin gelişiminin ise kanaliküler evrede durakladığı saptandı (Resim A, B, C). Trakeal oklüzyon yapılan grupta ise iki fetüsün akciğer gelişiminin erken kanaliküler evrede kaldığı, iki fetüs akciğerinin gelişiminin geç kanaliküler ve erken sakküler evreye ilerlediği ve bir fetüsün akciğerinin gelişimin ise sakküler evreye ulaştığı görüldü (Resim D, E, F). Trakeal oklüzyon uygulanan fetüslerin akciğerlerinin gelişim evreleri ile trakeal oklüzyon yapılmayan fetüslerin akciğerlerinin gelişim evreleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05).

Tartışma

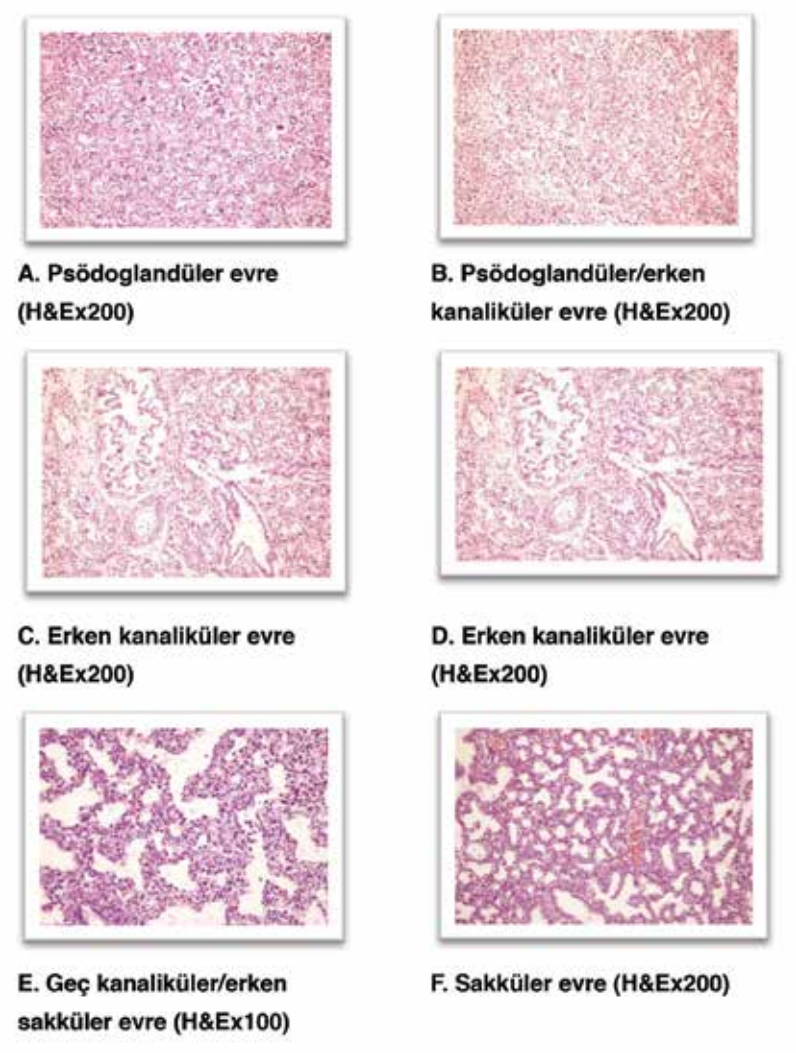
Kluth ve ark.'nın (11) sıçanlarda KDH modeli oluşturmak için yaptıkları çalışmalar diyafragma hernisinin patogenezinin ve patofizyolojisinin açıklanmasına yönelik diğer çalışmalara ilham vermiştir. Çalışmamızda sıçanların çiftleştirilmesinden sonra 20 sıçandan sadece altı tanesinin gebe olduğu görülmüştür. Sıçanlarda gebelik tanısı vajinal smearda sperm gösterilmesi ile konulsa da yanlış pozitiflik oranı yüksektir (%50). Bakan kişinin deneyiminden de etkilenen bu durum ancak zaman geçtikten sonra kesinleştiğinden zaman, kaynak ve denek kaybına yol açmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda gebe sıçanlara nitrofen verilmesinin ardından doğumsal diyafragma hernisi gelişme oranı yaklaşık %52'dir (11). Ancak Baglaj ve Czernik. (12) yaptıkları çalışmada bu oranı %82 bulmuşlardır. Çalışmamızda ise nitrofen verilmesi sonucunda literatür ile uyumlu olarak 17 fetüsün 10'unda (%59) doğumsal diyafragma hernisi gerçekleşti.

İntrauterin dönemde yapılan cerrahi müdahalelerin en önemli komplikasyonlarından biri fetüsün kaybıdır. Literatürde bu konuda farklı oranlar verilmekle birlikte artan tecrübe ve gelişen teknoloji ile tek basamaklı sayılara inmiştir (12). Çalışmamızda intrauterin müdahalede bulunulan 24 fetüsten yedisi (%29) ikinci laporatomi

esnasında ölü bulunmuştur. Bu sıçanların üçü trakeal oklüzyon yapılan grupta iken dördü trakeal oklüzyon yapılmayan grupta idi. Ölen fetüslerin her biri ayrı gebe sıçanlarda olduğundan enfeksiyon ya da anne sıçana bağlı bir sebep düşünülmedi. Gruplar arasında trakeal oklüzyon yapılan fetüsler ile trakeal oklüzyon yapılmayan fetüslerin ölümlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05). Literatüre göre daha yüksek oranda fetüs kaybının aynı gebe sıçanda birden fazla fetüse müdahaleden kaynaklandığı düşünüldü.

Sıçanlarda nitrofen modeli ile oluşturulan doğumsal diyafragma hernisinin en tartışılan noktalarından biri insan fetüsünün aksine defektin çoğunlukla sağ tarafta veya bilateral görülmesidir. Defektin tarafının belirlenmesinde nitrofenin gebe sıçana verilme zamanın önemli olduğunu bildiren yayınlar olması nedeni ile bütün gebe sıçanlara nitrofen vajinal smearda sperm gösterildikten 216 saat (dokuz gün) sonra verildi. Çalışmamızda da iki (%20) denekte bilateral diyafragma hernisi mevcutken üç (%30) denekte sol, beş (%50) denekte ise sağ diyafragma hernisi mevcuttu. Bu bulgulara bakıldığında nitrofen modelinin doğumsal diyafragma hernisi oluşturmada tutarlı ancak Bochdalek hernisini simüle etmede yetersiz olduğu düşünüldü.

İnsan fetüsünde meydana gelen sol taraf doğumsal diyafragma hernisinde karaciğerin toraksta yerleşmesi görece nadir bir durumdur. Karşılaşıldığında ise kötü prognostik faktör olmaktadır. Nitrofen modeli ile oluşturulan doğumsal diyafragma hernisi modelinde ise fetüslerin tamamında karaciğerin toraksa yönlendiği görüldü. Bu durum "Liver ingrowth" olarak da adlandırılmaktadır (12). Doğumsal diyafragma hernili fetüslerde defektin boyu



Resim. Akciğerlerin histopatolojik incelemeleri

ile toraksa yönlenen organların sayısı ve miktarı arasında doğrudan bağlantı bulundu. Bilateral defekti olan iki fetüste karaciğer, dalak, barsaklar ve midenin bir bölümünün toraksa yer değiştirdiği gözlendi. Tek taraflı doğumsal diyafragma hernili fetüslerde ise defektin tarafından bağımsız olarak karaciğer ve barsakların bir kısmı toraksa yönelirken dalak, mide ve barsakların bir bölümünün batında kaldığı görüldü. Ancak gruplar arasında yapılan karşılaştırmada diafragmadaki defektin tarafı ile toraksa fıtıklaşan organlar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (p>0,05).

Fetüs akciğerlerinin yapılan histolojik incelemesinde grupların kendi içinde akciğer gelişim evrelerinin birbirine yakın olduğu görüldü. Her iki grupta yer alan fetüsler birbiri ile karşılaştırıldığında ise trakeal oklüzyon yapılmayan grubun akciğer gelişiminin trakeal oklüzyon yapılan gruba göre daha geri kaldığı görüldü. Ancak trakeal oklüzyon uygulanan fetüslerin akciğerlerinin gelişim evreleri ile trakeal oklüzyon yapılmayan fetüslerin akciğerlerinin gelişim evreleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05). Çalışmaya dahil edilen sıçan sayısının sınırlı olmasının bunda etkili olduğu düşünüldü.

Sonuç

Nitrofen modeli doğumsal diyafragma hernisi modeli oluşturmada etkin bir yöntemdir. Ancak Bochdalek hernisini simüle etmede yetersiz kalmaktadır. Nitrofen modeli ile oluşturulan doğumsal diyafragma hernisinde trakeal oklüzyon deneklerin akciğerlerinin gelişimlerini arttırmaktadır.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışmamız için İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 26.07.2012 tarih ve 2012/108 numaralı etik kurul onayı alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışındaki kişilerce değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: Emrah Aydın, Emre Yener. Konsept: Emrah Aydın. Dizayn: Emrah Aydın. Veri Toplama veya İşleme: Emrah Aydın. Analiz veya Yorumlama: Emrah Aydın, Emre Yener, Nil Üstündağ. Literatür Arama: Emrah Aydın. Yazan: Emrah Aydın.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

1. Areechon W, Reid L. Hypoplasia of lung with congenital diaphragmatic hernia. Br Med J 1963;1:230-3.
2. Reid LR. Diaphragmatic hernia of the liver with review of the literature. Miss Doct 1951;28:351-7.
3. Puri P. Congenital diaphragmatic hernia. Curr Prob Surg 1994;31:785-856.
4. McCabe AJ, Carlino U, Holm BA, Glick PL. Upregulation of keratinocyte growth factor in the tracheal ligation lamb model of congenital diaphragmatic hernia. J Pediatric Surg 1994;36:128-32.
5. Bratu I, Flageole H, Laberge JM, et al. Growth and structural development after reversible fetal tracheal occlusion in diaphragmatic hernia. Surg Forum 1999;50:569-70.
6. Bratu I, Flageole H, Laberge JM, Chen MF, Piedboeuf B. Pulmonary structural maturation and pulmonary artery remodeling after reversible fetal ovine tracheal occlusion in diaphragmatic hernia. J Pediatr Surg 2001;36:739-44.
7. Bratu I, Flageole H, Laberge JM, et al. Surfactant levels after reversible tracheal occlusion and prenatal steroids in experimental diaphragmatic hernia. J Pediatr Surg 2001;36:122-7.
8. Hashim E, Laberge JM, Chen MF, Quillen EW Jr. Reversible tracheal obstruction in the fetal sheep: effects on tracheal fluid pressure and lung growth. J Pediatr Surg 1995;30:1172-7.
9. Roubliova X, Verbeken E, Wu J, et al. Pulmonary vascular morphology in a fetal rabbit model for congenital diaphragmatic hernia. J Pediatr Surg 2004;39:1066-72.
10. 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;37:11-7.
11. Kluth D, Tander B, Ekesparre M et al. Congenital diaphragmatic hernia: the impact of embryological studies. Ped Surg Int 1995;10:16-22
12. Baglaj SM, Czernik J. Nitrofen induced congenital diaphragmatic hernia in rat embryo: What model? Journal Pediatr Surg 2004;39:24-30.