

P R A C E K A Z U I S T Y C Z N E  
położnictwo

# Rodzinne występowanie wrodzonej przepukliny przeponowej z wadą dystroficzną i beczaszkiem

Familial congenital diaphragmatic hernia with anencephaly  
– exencephaly and spina bifida

Maria Hussey<sup>1</sup>, Paweł Własienko<sup>2</sup>, Tomasz Adamczyk<sup>3</sup>, Joanna Dangel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Studenckie Koło Naukowe Kardiologii Perinatalnej i Wad Wrodzonych, II Klinika Położnictwa i Ginekologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

<sup>2</sup> Referencyjny Ośrodek Kardiologii Prenatalnej, II Klinika Położnictwa i Ginekologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny oraz Poradnia USG Agatowa, Fundacja Warszawskie Hospicjum dla Dzieci, Polska

<sup>3</sup> Powiatowy Szpital Specjalistyczny w Stalowej Woli, Polska

## Streszczenie

Wrodzona przepuklina przeponowa (Congenital Diaphragmatic Hernia, CDH) występuje u około 1 na 2500 żywo urodzonych noworodków. Pomimo, iż etiologia CDH ciągle pozostaje nieznaną, coraz częściej poszukuje się podłoża genetycznego. Z najnowszych doniesień oraz własnych doświadczeń wynika, iż w ok. 50-60% CDH jest wadą izolowaną. Pozostała część to CDH powikłane wadami towarzyszącymi bądź CDH wchodząca w skład zespołów genetycznych spowodowanych mutacją jednego genu bądź całego chromosomu.

Przedstawiamy opis przypadku 32 letniej wieloródki w ciąży trzeciej do porodu trzeciego, która z powodu rozpoznania beczaszki z bezmózgowiem, rozszczepu kręgosłupa oraz podejrzenia CDH w 30 tygodniu ciąży została skierowana do Referencyjnego Ośrodka Kardiologii Prenatalnej. Pacjentka, pomimo zgonu pierwszego dziecka z powodu CDH, ani przed ani w trakcie ciąży, nie przyjmowała kwasu foliowego. Nie zdecydowała się również na poszerzenie diagnostyki o badania cytogenetyczne, ani specjalistyczną konsultację genetyczną. Noworodek zmarł po porodzie w ośrodku rejonowym.

Przypadek ten pokazuje, że nadal brakuje w diagnostyce CDH molekularnej analizy genetycznej, szczególnie w przypadkach wady powtarzającej się w rodzinie. Warto jest o tym pamiętać i starać się zawsze o jak najpełniejsze badania molekularne, gdyż poznanie patogenez oraz genów warunkujących powstanie tej ciężkiej wady rozwojowej w przyszłości może wpłynąć na rozwój i udoskonalenie stosowanych metod terapeutycznych a także – być może – prewencyjnych.

Słowa kluczowe: wrodzona przepuklina przeponowa / rodzinne występowanie /  
/ beczaszki / diagnostyka prenatalna /

## Adres do korespondencji:

Joanna Dangel  
II Klinika Położnictwa i Ginekologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Szpital Kliniczny im. Ks. Anny Mazowieckiej  
Karowa 2, 00-315 Warszawa  
tel. 22 596 6167; fax: 22 596 6487  
e-mail: jdangel@wum.edu.pl

Otrzymano: 19.02.2014  
Zaakceptowano do druku: 02.05.2014

María Hussey et al. Rodzinne występowanie wrodzonej przepukliny przeponowej z wadą dystroficzną i beczaszkiem.

## Abstract

*Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH) occurs with an estimated incidence of 1 to 2500 live births. Even though the exact etiology is still unknown, more and more often current research points out genetic factors as the possible cause of the defect. According to the latest data and the own experience 50-60% of CDH cases are isolated. The rest forms a group of CDH complicated by an additional anatomic defect or a genetic syndrome caused by a mutation of a single gene or the whole chromosome.*

*We have presented a case study of a 32 years-old multigravida para 3, who has been referred to the Reference Centre of Prenatal Cardiology in 30 weeks of gestation due to the diagnosis of acrania with exencephaly, spina bifida and suspicion for CDH in a fetus. Although the patient's first child died due to CDH, the patient neither before nor during the pregnancy was getting a folic acid supplementation. Moreover, she has not agreed on a further cytogenetic testing or an advanced consultation with a clinical geneticist. The child died after delivery in a local hospital.*

*The case was described to indicate the problem that the CDH diagnostic procedure is still missing a molecular genetic analysis especially in the cases of recurrent CDH. By saying that in the cases of CDH we should always strive to complete the molecular testing having in mind that by discovering pathogenesis and genes responsible for the formation of CDH we not only might improve the therapeutic methods but also find a way to prevent its development.*

Key words: **Congenital diaphragmatic hernia (CDH) / acrania / prenatal diagnosis / familial incidence of CDH /**

## Wstęp

Wrodzona przepuklina przeponowa (*Congenital Diaphragmatic Hernia* – CDH) jest strukturalną wadą wrodzoną charakteryzującą się przesunięciem trzewi z jamy brzusznej do klatki piersiowej z powodu ubytku w przeponie. Występowanie szacuje się na około 1 na 2500 żywo urodzonych noworodków [1]. Pomimo, iż etiologia CDH ciągle pozostaje nieznana, coraz częściej poszukuje się podłoża genetycznego. Z najnowszych doniesień oraz własnych doświadczeń wynika, iż w ok. 50-60% CDH jest wadą izolowaną. Pozostała część to CDH powikłane wadami towarzyszącymi bądź CDH wchodząca w skład zespołów genetycznych spowodowanych mutacją jednego genu bądź całego chromosomu. [2-4].

CDH w zależności od zespołu wad towarzyszących może dziedziczyć się w sposób autosomalny dominujący, autosomalny recesywny, sprzężony z chromosomem X bądź w mechanizmie niepełnej penetracji. Zgodnie z matematycznym modelem wliczania ryzyka wieloczynnikowego, ryzyko wystąpienia CDH u kolejnego dziecka w przypadku izolowanej CDH i negatywnego wywiadu rodzinnego wynosi poniżej 2% [5-7]. W sytuacji gdy wywiad rodzinny jest pozytywny, CDH wchodzi w skład konkretnego zespołu genetycznego bądź aberracji chromosomowej ryzyko ponownego urodzenia dziecka z CDH lub inną wadą wrodzoną może sięgać nawet 50% [8].

Wysoki odsetek nieizolowanych CDH spowodowany jest aberracjami chromosomowymi. Najczęstszymi zespołami, którym może towarzyszyć CDH jest trisomia chromosomu 13 i trisomia chromosomu 18. Wady strukturalne chromosomów takie jak delecje, duplikacje, inwersje i translokacje również opisywane są stosunkowo często [4].

CDH jest wadą przeważnie możliwą do zdiagnozowania w badaniu prenatalnym [9]. W sytuacjach wątpliwych pomocnym okazać się może badanie rezonansu magnetycznego [10].

Zarówno w CDH izolowanych, jak i nieizolowanych porada genetyczna, dokładna analiza wywiadu rodzinnego oraz oznaczenie kariotypu powinny być nieodłączną częścią procesu diagnostycznego. W diagnostyce prenatalnej rutynową techniką diagnostyczną pozostaje badanie kariotypu.

W przypadku rozpoznania CDH u płodu wykonanie tego badania pozwala na ustalenie pełnego rozpoznania w około 1/3 przypadków. Dodatkowo, uzupełnienie diagnostyki o badanie genetyczne jest głęboko uzasadnione, ze względu na dane epidemiologiczne wskazujące, że najczęstszą aberracją chromosomową stwierdzaną u płodów z CDH jest trisomia chromosomu 18 (Zespół Edwardsa), która jest wadą letalną. Informacja o kariotypie płodu jest kluczowa dla odpowiedniego zaplanowania postępowania okołoporodowego oraz udzielenia pełnej konsultacji rodzicom.

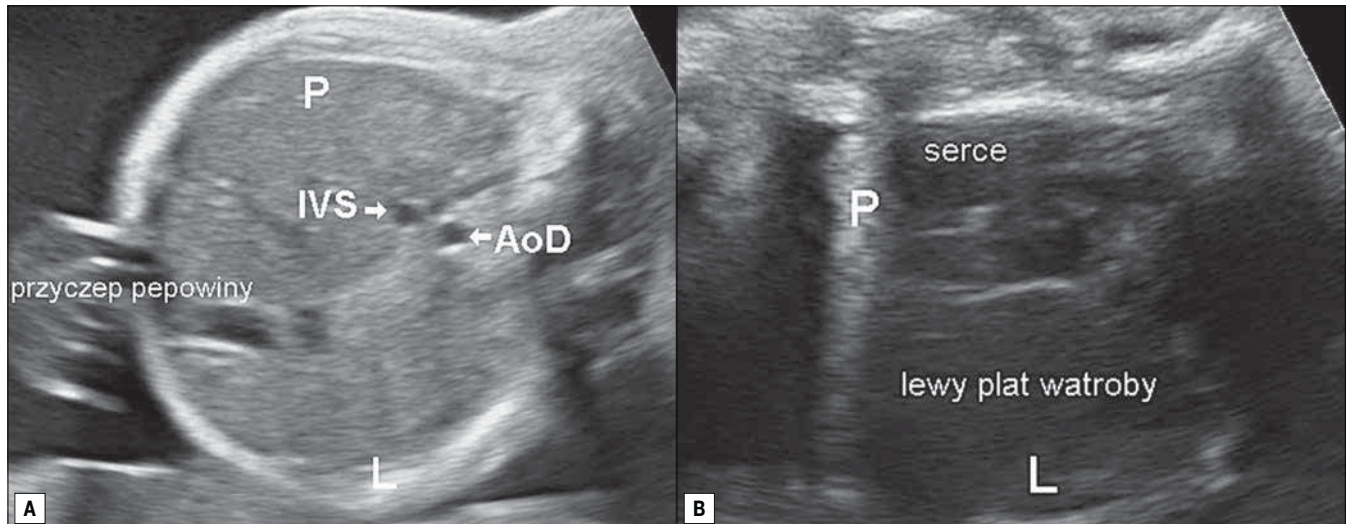
W ostatnich latach klasyczne badanie kariotypu (z zastosowaniem techniki prążków G) zaczyna być zastępowane nowoczesnymi metodami cytogenetyki molekularnej. Do najczęściej wykorzystywanych technik zaliczamy badanie aCGH (*Comparative Genomic Hybridization* – Porównawcza Hybrydyzacja Genomowa, tzw. mikromacierz kliniczna), pozwalająca uzyskać wielokrotnie większą rozdzielczość i ustalić również rozpoznania obejmujące duplikacje i delecje niedostrzegalne przy użyciu klasycznych metod cytogenetycznych (tzw. mikroaberracje) [11-13]. Dzięki zastosowaniu tych nowoczesnych technik diagnostycznych udaje się lokalizować regiony na różnych chromosomach (m.in. delecja 15q26.2 lub duplikacja 11q23.3-qter), w których rozpoczęto poszukiwanie genów kandydatów odpowiadających za patogenezę CDH.

Aktualne dane z piśmiennictwa wskazują, że CDH występuje także w ponad 70 zespołach genetycznych związanych z mutacją pojedynczego genu – niemożliwych do zdiagnozowania podczas badania cytogenetycznego [14-16]. W niektórych z nich, takich jak Zespół Fryns czy Zespół Donnai-Barrow CDH jest jednym z głównych objawów, który występuje w większości przypadków. W innych takich jak Zespół Beckwith-Wiedemann czy Zespół Simpson-Golabi-Behmel nie jest objawem wiodącym, ale bywa również diagnozowana.

## Opis przypadku

32 letnia wieloródka w ciąży trzeciej skierowana została na badanie echokardiograficzne płodu w 30 tygodniu ciąży z powodu podejrzenia wady płodu oraz obciążonego wywiadu

Maria Hussey et al. Rodzinne występowanie wrodzonej przepukliny przeponowej z wadą dystroficzną i beczaszkiem.

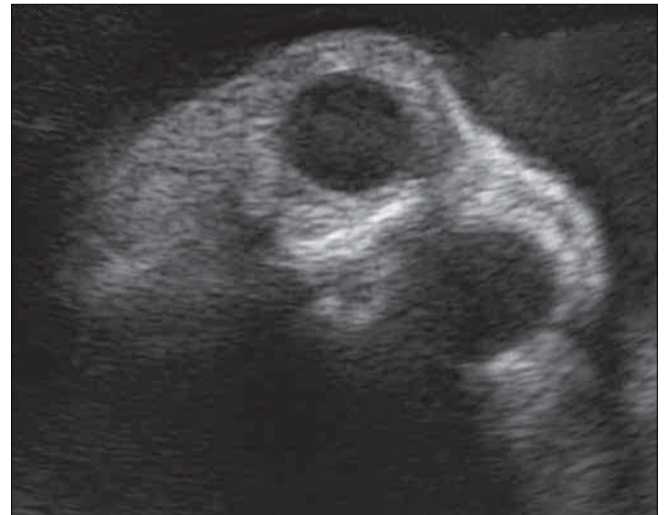


**Rycina 1 A.** Obraz jamy brzusznej, niewidoczny żołądek. **B.** Obraz klatki piersiowej. Serce przesunięte na stronę prawą, zmniejszone. Mniejsze wymiary lewej komory i lewego przedsionka. Po stronie prawej widoczny lewy płat wątroby. L – lewa strona, P – prawa strona, AoD – aorta zstępująca, IVC – żyła główna dolna.

rodzinnego. Ciąża I przed sześcioma laty powikłana wrodzoną przepukliną przeponową u płodu. Syn żywy donoszony, zmarł w okresie noworodkowym z powodu CDH. Trzy lata później ciąża druga zakończona porodem zdrowego donoszonego syna. Pomimo wady u pierwszego dziecka pacjentka nie przyjmowała kwasu foliowego. Negowała środowiskowe narażenie na teratogeny. W ciąży i w okresie przedkoncepcyjnym nie przyjmowała leków, które mogłyby mieć działanie teratogenne. W obecnej ciąży, zgodnie z dokumentacją przedstawioną przez pacjentkę, w badaniu USG w 10 tygodniu ciąży po raz pierwszy wysunięto podejrzenie wielowodzia. W 11 tygodniu ciąży stwierdzono poszerzoną przezierność karku (NT=5,4mm) oraz bezmózgowie z prawdopodobnym rozszczepem kręgosłupa. Testu PAPPa nie wykonywano. Pacjentka postanowiła kontynuować ciążę. W 22 tygodniu ciąży, w badaniu USG wykonanym w ośrodku rejonowym, podtrzymano wcześniejsze rozpoznanie oraz po raz pierwszy opisano podejrzenie wrodzonej przepukliny przeponowej. Z tego powodu pacjentkę skierowano do Referencyjnego Ośrodka Kardiologii Prenatalnej gdzie zgłosiła się dopiero w 30 tygodniu ciąży.

W badaniu USG wykonanym aparatem GE Voluson Expert sondą przezbrzuszną wolumetryczną RAB4-8 oraz convex AB2-7 w 30 tygodniu ciąży stwierdzono hipotrofię około 4 tygodnie (biometria płodu na około 25,6 t.c.) i wielowodzie (AFI 35). W celu dokładnej analizy anatomii wykorzystano technologię obrazowania 2D, 3D oraz STIC (czasoprzestrzenna rekonstrukcja obrazu). Uwidoczniono dektopozycję serca spowodowaną lewostronną przepukliną przeponową. (Rycina 1A i 1B).

Serce było zmniejszone (Ha/Ca=0,23) o prawidłowej anatomii, z wtórnie hipoplastyczną lewą stroną. Żołądek, jelita oraz lewy płat wątroby wypełniały małą klatkę piersiową. Płuco lewe było niewidoczne, prawe hipoplastyczne. Z powodu braku kości czaszki nie było możliwe wykonanie pomiaru LHR. Potwierdzono beczaszki objawiające się brakiem sklepienia czaszki (kości czołowe, ciemieniowe i skroniowe) i kresomózgowia. W badaniu USG z powodu braku kości czołowych zamykających od góry oczodoły uwidoczniono w przekroju poprzecznym charakterystyczny dla beczaszki z bezmózgowiem objaw



**Rycina 2.** Objaw „żabich oczu” u płodu z beczaszkiem.

„żabich oczu” (Rycina 2). Kręgosłup był skrócony z dużym rozszczepem (ciągłość zachowana jedynie w odcinku krzyżowym – Rycina 3 i 4). Przepływy obwodowe były prawidłowe. Nie stwierdzono wskazań do poszerzenia diagnostyki o badanie rezonansu magnetycznego.

Rodzicom wyjaśniono letalny charakter stwierdzanych anomalii, przeprowadzono konieczną w tym przypadku konsultację psychologiczną. Ze względu na powtórzenie się przepukliny przeponowej zaproponowano wykonanie rozszerzonych badań cytogenetycznych, na które rodzice początkowo wyrazili zgodę. Jednak po krótkiej hospitalizacji pacjentka zrezygnowała z poszerzenia diagnostyki i wypisała się ze szpitala na własne żądanie. Noworodek urodził się w szpitalu rejonowym, zmarł tuż po urodzeniu. Rodzice wyrazili wdzięczność lekarzowi prowadzącemu za opiekę i możliwość urodzenia i pożegnania się z nieuleczalnie chorym dzieckiem.



## Dyskusja

Wrodzona przepuklina przeponowa współistniejąca z inną wadą rozwojową przeważnie wiąże się z niekorzystnym rokowaniem. Zmieniona anatomia płodu znacznie utrudnia nadzór położniczy i ocenę dobrostanu płodu. W przedstawionym przypadku, około 4 tygodniowa hipotrofia opisywana w 30 tygodniu ciąży nie miała wartości diagnostycznej z powodu towarzyszącego wielowrodzienia. Nieprawidłowa anatomia spowodowana beczaszkiem oraz wrodzoną przepukliną przeponową spowodowała, iż pomiary główki i brzucha nie mogły być traktowane jako miarodajne. Długość kości udowej natomiast korelowała z wiekiem ciąży wyliczonym z daty ostatniej miesiączki.

W aktualnej literaturze pojawia się coraz więcej doniesień wskazujących na silny związek CDH będącej jednym z elementów wielowrodzienia z podłożem genetycznym. CDH, poza znanymi zespołami takimi jak trisomia 18 możliwymi do wykrycia za pomocą dostępnych technik diagnostycznych, może występować w zespołach, których podłoże genetyczne jest niedostępne badaniem cytogenetycznym. W takich sytuacjach kluczowym staje się dokładnie zebrany wywiad, analiza rodowodu oraz konsultacja genetyczna. Kompletna porada genetyczna może dostarczyć rodzicom wielu cennych informacji dotyczących nie tylko możliwości diagnostycznych i rokowania, ale przede wszystkim ryzyka ponownego wystąpienia wady w kolejnych ciążach. Niezaprzeczalną korzyścią z wykonania badania cytogenetycznego jest także możliwość precyzyjnego określenia ryzyka powtórzenia się tego typu patologii w przypadku nieprawidłowego wyniku. Potwierdzenie aberracji chromosomowej u płodu pozwala w większości przypadków określić ryzyko powtórzenia się wady u kolejnego dziecka jako niskie, ponieważ najczęściej aberracje chromosomowe powstają jako nowe mutacje (*de novo*), a tylko nieliczne związane są z występowaniem zrównoważonej aberracji u jednego z rodziców.

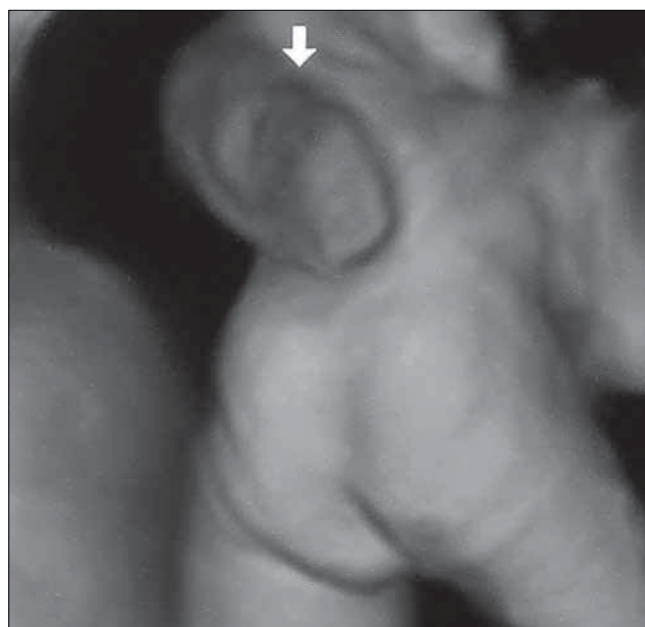
Należy również zwrócić uwagę na wartość jaką w szeroko pojętą opiekę nad pacjentką wnosi wynik kariotypu. CDH powikłkana aberracją chromosomową, bądź innym znanym zespołem genetycznym, charakteryzuje się znacznie gorszym rokowaniem niż CDH z prawidłowym kariotypem nawet współistniejąc z inną wadą. Znajomość kariotypu dziecka może diametralnie zmienić plan postępowania okołoporodowego zarówno od strony położniczej, jak i neonatologicznej [17]. Z tego powodu, przy rozpoznaniu CDH, kariotyp płodu powinien być oznaczony niezależnie od wieku ciąży.

Dokładna analiza dostępnego piśmiennictwa wskazuje, iż CDH występująca wraz z wadą cewy nerwowej przeważnie współistnieje z prawidłowym kariotypem [18]. Opinia ta znajduje pokrycie w analizie jeszcze nieopublikowanego materiału własnego. W literaturze opisano jedynie trzy przypadki współwystępowania rozszczepu kręgosłupa z CDH oraz trisomią chromosomu 9 [19-21].

Ponadto każdej pacjentce, u której została rozpoznana ciężka wada płodu powinna zostać zaproponowana konsultacja psychologiczna, a w sytuacji gdy decyduje się ona na kontynuację ciąży – całościowa opieka w ciąży, okresie okołoporodowym oraz wsparcie w żałobie po śmierci dziecka. Grupy wsparcia działają przy większości zespołów opieki paliatywnej nad dziećmi w Polsce. Zagrożenie życia nienarodzonego dziecka jest dla matki ogromnym stresem, który zgodnie z dobrą praktyką lekarską również powinien być leczony. W przedstawianym przypadku



Rycina 3. Projekcja podłużna, duża przepuklina oponowo-rdzeniowa oraz brak kości czaszki.



Rycina 4. Rekonstrukcja trójwymiarowa dużej przepukliny oponowo-rdzeniowej.

pacjentka otrzymała wsparcie psychologiczne podczas konsultacji w referencyjnym ośrodku kardiologii prenatalnej, a przez całą ciążę – swojego lekarza prowadzącego w rejonowym ośrodku.

Dodatkowo, warto zwrócić uwagę, iż pomimo udowodnionego działania kwasu foliowego w prewencji wad rozwojowych, pacjentka z obciążonym wywiadem rodzinnym nie otrzymywała suplementacji ani przed ani w trakcie ciąży [22, 23].

Istnieją oczywiście patologie, które nie są zależne od poziomu folianów w organizmie, jednak postępowaniem standardowym u każdej kobiety w wieku prokreacyjnym, a tym bardziej przed zajściem w ciążę, szczególnie po porodzie dziecka z wadą rozwojową, powinno być zalecenie przyjmowania kwasu foliowego. U opisywanej pacjentki istnieją empiryczne wskazania do suplementacji kwasem foliowym. W celu precyzyjniejszej oceny ryzyka powtórzenia się wady rozszczepowej w kolejnej ciąży jest

Maria Hussey et al. Rodzinne występowanie wrodzonej przepukliny przeponowej z wadą dystroficzną i beczaszkiem.

dziś także możliwe uzupełnienie diagnostyki o analizę mutacji w genie MTHFR. W opublikowanej analizie wykazano statystycznie wyższe ryzyko wystąpienia beczaszki u kobiet będących nosicielkami polimorfizmu 677C > T w genie MTHFR [24]. Podczas udzielania porady pamiętać trzeba, że etiologia wad dystroficzych jest złożona, a mutacje genu MTHFR nie są jedynym czynnikiem ryzyka.

## Podsumowanie

Z analizy piśmiennictwa międzynarodowego wynika, że jest to pierwszy przypadek współistnienia beczaszki, rozszczepu kręgosłupa i rodzinnego występowania przepukliny przeponowej. Pomimo zgonu pierwszego syna pacjentka nie została poinformowana o konieczności suplementacji kwasem foliowym. Rodzice nie zdecydowali się na pełną konsultację genetyczną i przeprowadzenie badań molekularnych toteż przyczyna wad w tej rodzinie nie została wyjaśniona.

Przypadek ten pokazuje, że nadal brakuje w diagnostyce CDH molekularnej analizy genetycznej, szczególnie w przypadkach wady powtarzającej się w rodzinie. Warto jest o tym pamiętać i starać się zawsze o jak najpełniejsze badania molekularne, gdyż poznanie patogenez oraz genów warunkujących powstanie tej ciężkiej wady rozwojowej w przyszłości może wpłynąć na rozwój i udoskonalenie stosowanych metod terapeutycznych a także – być może – prewencyjnych.

## Oświadczenie autorów:

1. Maria Hussey – autor koncepcji i założeń pracy, zebranie materiału, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa – autor odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Paweł Własienko – współautor tekstu pracy i protokołu, korekta i aktualizacja literatury.
3. Tomasz Adamczyk – zebranie materiału.
4. Joanna Dangel – autor założeń i koncepcji pracy, analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta, ostateczna weryfikacja i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu.

## Źródło finansowania:

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego grantu.

## Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów i nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

## Piśmiennictwo

1. Torfs CP, Curry CJ, Bateson TF, Honore LH. A population-based study of congenital diaphragmatic hernia. *Teratology*. 1992, 46, 555-565.
2. Stege G, Fenton A, Jaffry B. Nihilism in the 1990s: the true mortality of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatrics*. 2003, 112, 532-535.
3. Bollmann R, Kalache K, Mau H, [et al.]. Malformations and chromosomal defects in congenital diaphragmatic hernia. *Fetal Diagn Ther*. 1995, 10, 52-59.
4. Tibboel D, Gaag AV. Etiologic and genetic factors in congenital diaphragmatic hernia. *Clin Perinatol*. 1996, 23, 689-699.
5. Wolff G. Familial congenital diaphragmatic defect: review and conclusions. *Hum Genet*. 1980, 54, 1-5.
6. Norio R, Kaariainen H, Rapola J, [et al.]. Familial congenital diaphragmatic defects: aspects of etiology, prenatal diagnosis, and treatment. *Am J Med Genet*. 1984, 17, 471-483.
7. Edwards JH. The simulation of mendelism. *Acta Genet Stat Med*. 1960, 10, 63-70.
8. Scott DA. Genetics of congenital diaphragmatic hernia. *Semin Pediatr Surg*. 2007, 16, 88-93.
9. Gallot B, Boda C, Ughetto S, [et al.]. Prenatal detection and outcome of congenital diaphragmatic hernia: a French registry-based study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007, 29, 276-283.
10. Cannie M, Jani J, De Keyser F, [et al.]. Magnetic resonance imaging of the fetal lung: a pictorial essay. *Eur Radiol*. 2008, 18, 1364-1374.
11. Slavotinek A, Lee SS, Davis R, [et al.]. Fryns syndrome phenotype caused by chromosome microdeletions at 15q26.2 and 8p23.1. *J Med Genet*. 2005, 42, 730-736.
12. Kantarci S, Casavant D, Prada C, [et al.]. Findings from aCGH in patients with congenital diaphragmatic hernia (CDH): a possible locus for Fryns syndrome. *Am J Med Genet A*. 2006, 140A, 17-23.
13. Pinkel D, Albertson DG. Array comparative genomic hybridization and its applications in cancer. *Nat Genet*. 2005, 37, 11-17.
14. Winter R, Baraitser M. The Winter-Baraitser Dysmorphology Database, version 1.0.8. *London Medical Databases*, 2006.
15. McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD). Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM™. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
16. Jones KL. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. (Ed 5). Philadelphia PA: Saunders, 1997.
17. Kociszewska-Najman B, Rawicz M, [et al.]. Successful complex management of a congenital diaphragmatic hernia - a case report. *Ginekol Pol*. 2011, 82 (10), 788-791.
18. Tonni G, Azzoni D, Pizzi C, [et al.]. Anencephaly-exencephaly sequence and congenital diaphragmatic hernia in a fetus with 46, XX karyotype: Early prenatal diagnosis, necropsy, and maternal folate pathway genetic analysis. *Fetal Pediatr Pathol*. 2010, 29, 69-80.
19. Frohlich GS. Delineation of trisomy 9. *J Med Genet*. 1982, 19, 316-317.
20. Zech H, Vanderzwalmen P, Prapas Y, [et al.]. Congenital malformations after intracytoplasmic injection of spermatozoa. *Hum Reprod*. 2000, 15, 969-971.
21. Chen CP, Chern SR, Cheng SJ, [et al.]. Second-trimester diagnosis of complete trisomy 9 associated with abnormal maternal serum screen results, open sacral spina bifida and congenital diaphragmatic hernia, and review of the literature. *Prenat Diagn*. 2004, 24, 455-462.
22. Materna-Kiryuk A, Wiśniewska K, Badura-Stronka M, [et al.]. Parental age as a risk factor for isolated congenital malformations in a Polish population. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2009, 23 (1), 29-40.
23. Jamsheer A, Materna-Kiryuk A, Badura-Stronka M, [et al.]. Comparative study of clinical characteristics of amniotic rupture sequence with and without body wall defect: further evidence for separation. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2009, 85 (3), 211-215.
24. Muñoz JB, Lacasaña M, Cavazos RG, [et al.]. Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and the risk of anencephaly in Mexico. *Mol Hum Reprod*. 2007, 13 (6), 419-424.