
Trabajo Fin de Grado
Grado en Medicina

Espina bífida: tratamientos quirúrgicos actuales para su abordaje

Egilea /Autora:
Janire Tranche Torres
Zuzendaria / Directora:
Leire Reguero Acebal

© 2018, Janire Tranche Torres

AGRADECIMIENTOS

En un momento tan importante de mi vida, en el que después de grandes esfuerzos estoy a punto de cerrar este ciclo, quiero agradecer especialmente los ánimos y ayudas prestadas a mi compañero y padres.

También deseo hacer constancia de mi enorme gratitud a la Directora de este TFG Leire Reguero Acebal, sin cuyas correcciones y sugerencias no hubiera sido posible.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ETIOPATOGENIA	1
1.2. FISIOPATOLOGÍA	2
1.3. CLÍNICA	3
1.4. EPIDEMIOLOGÍA	4
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	5
2. OBJETIVOS	7
3. METODOLOGÍA	8
4. RESULTADOS	11
4.1. CIRUGÍA POSTNATAL	11
4.2. CIRUGÍA PRENATAL ABIERTA	11
4.2.1. Cirugía prenatal abierta y cierre mediante sutura (estudio MOMS) ..	12
4.2.2. Cirugía prenatal abierta y cierre mediante parche y sellador	15
4.3. CIRUGÍA PRENATAL FETOSCÓPICA	17
4.3.1. Cirugía fetoscópica mínimamente invasiva (3 trócares)	18
4.3.2. Cirugía fetoscópica con exteriorización uterina (2 trócares)	22
4.3.3. Cirugía fetoscópica de acceso único (SAFE, 1 trócar)	25
4.4. TERAPIAS BASADAS EN CÉLULAS	28
4.4.1. Reparación del mielomeningocele fetal mediante andamiaje	28
4.4.2. Cobertura del defecto con piel autóloga mediante iPSCs	30
4.5. OTRAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	34
5. DISCUSIÓN	35
6. CONCLUSIONES	39
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUCCIÓN

Los primeros hallazgos de espina bífida se encontraron en el noroeste de Marruecos y se calcula que tienen unos 12.000 años. Pero fue en 1652 cuando el médico holandés Nicolás Tulp describió por primera vez unos abultamientos en niños con afección neurológica, denominada espina bífida (1).

La espina bífida es un término general para denominar los defectos del tubo neural y constituye la anomalía congénita más común del sistema nervioso central compatible con la vida, siendo el mielomeningocele (MMC) su forma más frecuente y grave. Consiste en un defecto del tubo neural en el que los huesos de la columna vertebral no se forman completamente y, como resultado, partes de la médula espinal y los nervios salen a través de la zona abierta de la columna vertebral. Los pacientes afectados presentan diversos grados de disminución de la función neurológica, dependiendo de la zona de la médula espinal donde ocurra la lesión y de la gravedad de la misma.

1.1. ETIOPATOGENIA

La causa exacta de esta malformación es desconocida. Sin embargo, los estudios realizados hasta ahora sugieren un origen multifactorial, involucrando componentes genéticos y ambientales. Los principales factores relacionados con la aparición de espina bífida son los siguientes:

- Déficit de folatos (forma aniónica del ácido fólico o vitamina B₉).
- Predisposición genética de tipo poligénico: mutaciones en vías que responden o dependen de folatos.
- Raza (más frecuente en blancos e hispanos) y sexo (más frecuente en niñas).
- Antecedentes familiares de anomalía congénita del tubo neural.
- Aumento de la temperatura corporal de la gestante (3-4°C).
- Algunos fármacos (especialmente anticonvulsivos).

- Otros factores: diabetes mal controlada, obesidad, desnutrición y/o malnutrición, drogas y alcohol.

Entre estos factores cabe destacar el déficit de folatos ya que el ácido fólico juega un papel muy importante en la prevención de los defectos del tubo neural. De hecho, diversos estudios muestran que la ingesta de ácido fólico (400 µg/día) al menos 3 meses antes de la concepción y durante todo el embarazo es una medida de gran impacto en la salud pública, ya que contribuye a prevenir los defectos del tubo neural, reduciendo hasta en un 50-70% el riesgo de espina bífida. En el caso de mujeres con antecedentes familiares o gestaciones previas de fetos con defectos del tubo neural, la probabilidad de tener un bebé con este problema aumenta significativamente, por lo que se recomienda tomar 400 µg de ácido fólico diariamente y aumentar la dosis a 4 mg/día durante al menos 1 mes antes de la concepción y los 3 primeros meses de embarazo.

Cualquiera que sea el causante, el resultado es un fallo en el proceso de neurulación, es decir, en la formación del tubo neural, que ocurre al final de la tercera semana de gestación. En resumen, los bordes laterales de la placa neural se elevan para formar los pliegues neurales, que se acercan gradualmente y acaban fusionándose entre sí, formándose el tubo neural. Esta fusión empieza por la región cervical y avanza craneal y caudalmente. Así, los extremos cefálico y caudal del tubo neural se comunican con la cavidad amniótica a través de los neuroporos anterior (craneal) y posterior (caudal), que se cierran aproximadamente hacia el día 25 y 28 respectivamente, momento en el que se da por completada la neurulación.

Así, el fallo en el cierre del neuroporo posterior es el responsable de producir las malformaciones de espina bífida.

1.2. FISIOPATOLOGÍA

Para explicar la fisiopatología de la espina bífida se ha propuesto la hipótesis de los “dos golpes” (2), que ha sido confirmada experimentalmente en MMC creados quirúrgicamente en roedores (3) y modelos ovinos (4, 5).

El “primer golpe” estaría dado por el fallo principal en el cierre del tubo neural (fallo en la neurulación).

El “segundo golpe”, que es el que se cree que produce el mayor daño, estaría dado por la lesión de los elementos neurales debido a la exposición prolongada de los mismos a la acción química irritante del líquido amniótico y el trauma directo por el roce mecánico contra la pared uterina. De esta forma, el tejido neural fetal no protegido experimenta un daño progresivo a medida que avanza la gestación.

Además, este “segundo golpe” es, el responsable de la malformación de Arnold-Chiari tipo II e hidrocefalia que puede aparecer junto con el MMC. Como consecuencia de los cambios de presión por la pérdida continua de líquido cefalorraquídeo (LCR) a través del defecto y de que la médula espinal se adhiere a la columna vertebral, se produce la herniación de parte del cerebelo dentro del agujero magno (malformación de Arnold-Chiari tipo II), cortando de esta forma el flujo de LCR y provocando la hidrocefalia.

1.3. CLÍNICA

Se distinguen 3 tipos principales de espina bífida, que de menor a mayor grado son: espina bífida oculta, meningocele y mielomeningocele.

La espina bífida oculta es un defecto en los arcos vertebrales que está cubierto por piel y que no suele afectar el tejido neural subyacente. Habitualmente el defecto ocurre en la región sacra (S1-S2) y, a veces, se encuentra señalado por una zona con pelo que cubre la región afectada. Este tipo de espina bífida suele afectar al 10% de la población aproximadamente y no suele presentar ningún tipo de afectación o sintomatología.

El meningocele y el mielomeningocele son tipos más graves de espina bífida en los que, las meninges, el tejido neural o ambos protruyen a través de un defecto de los arcos vertebrales y la piel para formar un saco de tipo quístico. Cuando protruyen únicamente las meninges se denomina meningocele y, si además de esto se incluye el tejido neural se denomina mielomeningocele.

Aunque el mielomeningocele es compatible con la supervivencia, esta condición se clasifica como uno de los defectos de nacimiento más severos, ya que suele implicar el desarrollo de hidrocefalia y manifestaciones neurológicas como pérdida del

control de la vejiga o intestino y pérdida de sensibilidad y la motilidad de las extremidades inferiores, pudiendo llegar incluso a producir parálisis de las mismas.

1.4. EPIDEMIOLOGÍA

Según los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (6), en base a los datos recogidos entre 1997-2007, en EEUU la prevalencia de la espina bífida es de 3,5 por cada 10.000 nacimientos.

Por su parte, en Europa según EUROCAT (European surveillance of congenital anomalies) (7) y con los datos recogidos entre 2011-2015 la prevalencia general de esta patología es de 1,62 por cada 10.000 nacimientos. De forma más concreta, la prevalencia de la espina bífida en el periodo 1990-2015 para diferentes países se recoge en la **Figura 1** y en la **Tabla 1**.

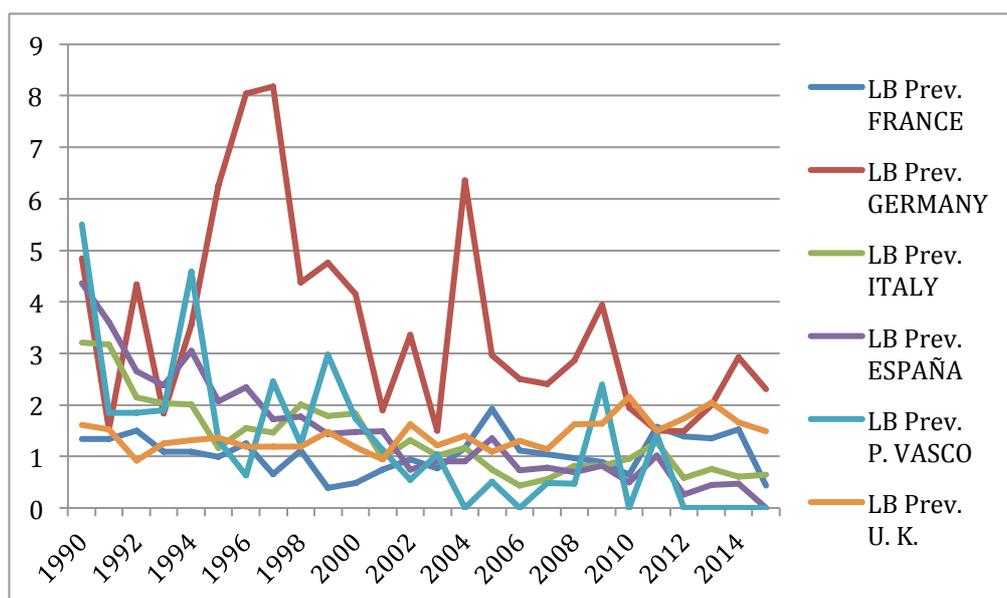


Figura 1. Prevalencia de espina bífida por 10.000 nacimientos. Periodo 1990-2015.

Tabla 1. Prevalencia de espina bífida por 10.000 nacimientos. Periodo 1990-2015. Datos obtenidos promediando las prevalencias declaradas por cada país en esos años.

País	Alemania	España	Reino Unido	Italia	País Vasco	Francia
Prevalencia	3,58	1,52	1,41	1,38	1,36	1,09

Finalmente, en España, según los datos recogidos por el ECEM (Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas) (8) entre 1980-2011 (**Tabla 2**), existe una tendencia linealmente decreciente y estadísticamente significativa en la prevalencia de espina bífida. Esta tendencia también se constata en el País Vasco y en otras 8 comunidades autónomas.

Tabla 2. Prevalencia de espina bífida en el País Vasco, otras comunidades autónomas y el total de España. Periodo 1980-2011.

Autonomía	Espina bífida			
	1980-1985	1986-2010	2011	
País Vasco	4,27	2,47	0	*
Andalucía	3,78	2,28	1,94	
Aragón	—	1,94	0	
P. Asturias	1,94	0,9	2,88	
Islas Baleares (a)	13,42	1,24	0	*
Canarias (b)	3,21	2,03	0	
Cantabria	—	1,72	0	
C. la Mancha	4,14	2,36	2,53	*
Castilla y León	4,76	2,27	0	*
Cataluña	5,89	1,72	0	*
C. Valenciana	2,53	1,45	0,77	
Extremadura	2,84	1,17	4,21	
Galicia	5,99	2,71	0	*
La Rioja	5,49	1,26	0	*
C. Madrid	3,21	2,08	0	
Murcia	8,85	3,3	0	*
Navarra	7,07	1,53	—	*
Total España	4,73	2,14	1,04	*
Chi ² (k-1)	18,58	38,86	13,7	
p < 0,05	—	+	—	

* Existe tendencia lineal decreciente estadísticamente significativa. (a) En 2011, los datos de Baleares se refieren exclusivamente a Manacor y Palma de Mallorca. (b) En 2011, los datos de Canarias se refieren exclusivamente a Tenerife.

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

Aunque la espina bífida presenta una tendencia lineal decreciente y es compatible con la supervivencia, el MMC es uno de los defectos de nacimiento más severos y suele presentar secuelas que afectan al sistema nervioso central y periférico. Estas secuelas son habitualmente permanentes y altamente incapacitantes, por lo que las

personas que las sufren y su entorno familiar resulta considerablemente afectado. Además, el riesgo de muerte a lo largo de la vida es 10 veces mayor en personas con espina bífida, en comparación a la población general.

A día de hoy no existe cura definitiva ni completa para los defectos del tubo neural, por lo que la prevención mediante la ingesta de ácido fólico resulta fundamental. Hasta hace poco la única opción de tratamiento se reducía a practicar cirugía postnatal para la reparación del mielomeningocele. Sin embargo, con la aparición y posterior desarrollo de la cirugía fetal, hacia 1980 se abre otra posibilidad terapéutica que supone abordar el tratamiento de la malformación cuando el afectado es aún un feto y, por lo tanto, con altas probabilidades de disminuir la morbilidad asociada a esta patología.

Además, continuamente surgen nuevos conocimientos, tecnologías y líneas de investigación para el tratamiento de esta malformación, incluso alguna apunta a que, en un futuro no muy lejano, esta enfermedad pueda ser superada (9). Hasta entonces, la prevención y el abordaje del MMC supone un reto de enorme envergadura para los profesionales de la salud, por lo que resulta imprescindible conocer y comprender las implicaciones, riesgos y posibles consecuencias, tanto para el feto como para la madre, de las diferentes opciones de tratamiento.

2. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Profundizar en los principales tratamientos quirúrgicos disponibles actualmente para el abordaje de la espina bífida.

Objetivos específicos:

- Estudiar las principales características de la cirugía prenatal abierta en el abordaje de mielomeningocele.
- Analizar las principales características de la cirugía prenatal fetoscópica en el tratamiento de mielomeningocele.
- Describir las principales características de las terapias basadas en células para la reparación del mielomeningocele.
- Valorar las fortalezas y debilidades de cada una de las técnicas quirúrgicas.

3. METODOLOGÍA

Esta revisión se realizó, fundamentalmente, mediante la búsqueda en diversas fuentes, sobre todo informáticas. Las principales fuentes consultadas fueron la base de datos MEDLINE, el buscador Google académico y páginas web de asociaciones relacionadas con este tema, como las de los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) y el NINDS (National Institute of Neurological Disorders and Stroke), que es parte de los NIH (National Institutes of Health), ambas de EEUU.

El proceso de documentación se realizó en tres fases:

- a) Búsqueda inicial, para realizar una aproximación al volumen de información publicado sobre el tema de análisis y las bases de datos más apropiadas.
- b) Búsqueda sistemática en las bases de datos y buscadores seleccionados, utilizando las palabras clave y descriptores de mayor interés.
- c) Búsquedas específicas de referencias bibliográficas de interés incluidas en artículos previamente seleccionados, con el fin de localizar estudios e información relevantes para el tema.

MEDLINE comprende más de 28 millones de citas de literatura biomédica de calidad y a través de su motor de búsqueda PubMed se seleccionaron los artículos de interés.

En Pubmed se han utilizado los siguientes algoritmos de búsqueda: "spinal dysraphism"[MeSH Terms] OR ("spinal"[All Fields] AND "dysraphism"[All Fields]) OR "spinal dysraphism"[All Fields] OR ("meningomyelocele"[MeSH Terms] OR "myelomeningocele"[All Fields]) AND (prenatal[All Fields] AND ("surgery"[Subheading] OR "surgery"[All Fields] OR "surgical procedures, operative"[MeSH Terms] OR "repair"[All Fields]) AND ("loattrfull text"[sb] AND ("2011/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT]) AND ("animals"[MeSH Terms:noexp] OR "humans"[MeSH Terms]) AND (Spanish[lang] OR English[lang])).

En cuanto a los criterios de inclusión, los principales han sido la adecuación a los objetivos de este trabajo, el año de publicación (preferentemente del 2011 en

adelante), la disponibilidad del texto completo, referencia a estudios en animales o humanos y el idioma (inglés o español).

Como se muestra en la **Figura 2**, introduciendo las palabras clave “spina bífida OR myelomeningocele” y sin ningún filtro de exclusión se obtuvieron 14.752 unidades de información. Al añadir “prenatal surgery” los resultados se redujeron a 670 unidades. Tras limitar la búsqueda a los últimos 7 años, con texto completo, realizado en humanos y animales y disponible en inglés o en español disminuyeron a 159. Con el objetivo de profundizar aún más en la búsqueda se añadieron los términos “repair”, “coverage”, “access”, “fetoscopy”, “percutaneous” e “histerotomy”. Con todo ello, se empezó a trabajar con unas 120 unidades de información.

Tras la lectura de los resúmenes, se seleccionaron los que más se adecuaban a los objetivos planteados, reduciendo así la cantidad de artículos de interés aproximadamente a la mitad. Además, la lectura de estos artículos ha llevado, en ocasiones, a trabajar con otros que no habían sido previamente seleccionados.

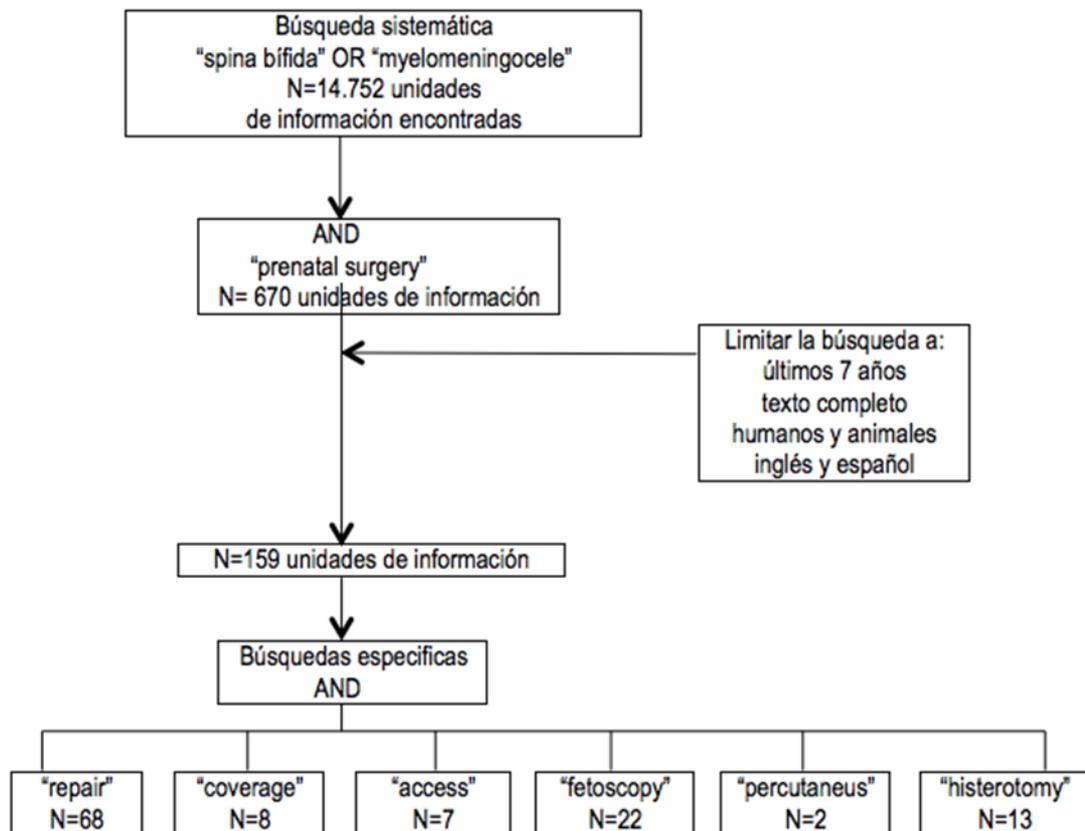


Figura 2. Esquema del proceso de búsqueda bibliográfica.

4. RESULTADOS

4.1. CIRUGÍA POSTNATAL

El tratamiento quirúrgico del MMC comenzó en 1960. Desde entonces y hasta la década de los 80 el único tratamiento disponible incluía los siguientes procedimientos:

- Reparación del cierre en las primeras 48 horas de vida, con el objetivo de disminuir el riesgo de infección.
- Restauración de la correcta circulación de LCR, mediante la colocación de una válvula de derivación ventricular con la que resolver la hidrocefalia (presente en el 90% de los casos) y sus continuos recambios.
- Corrección de las deformidades de la columna vertebral y de las extremidades inferiores.

Sin embargo, ya existían evidencias de que la condición fetal se deterioraba progresivamente y de que el retraso en la puesta en marcha de terapia implicaba mayor morbilidad y secuelas más severas. Por ello, en la década de los 80 se consideró que esta anomalía era tributaria de terapia fetal (10).

A partir de entonces, en diversos hospitales y universidades, se desarrollaron modelos con animales en los que probar distintas técnicas de reparación o cobertura prenatal y sentar las bases para avanzar a los estudios piloto en humanos.

4.2. CIRUGÍA PRENATAL ABIERTA

En California, un grupo de cirujanos, liderados por Michael Harrison, comenzó a estudiar la posibilidad de tratar prenatalmente algunas malformaciones congénitas y uno de sus focos fue el MMC. La razón principal que argumentaban era la disminución de movimiento en las extremidades inferiores, vista por ecografía, a medida que la gestación avanzaba (11).

Como consecuencia de ello, en 1982 Harrison et al. (12) determinaron los criterios (**Tabla 3**), actualmente vigentes, que se deben cumplir para realizar una cirugía fetal.

Tabla 3. Criterios para la realización de la cirugía fetal.

Criterios para la realización de la cirugía fetal
1. Diagnóstico preciso con exclusión de anomalías asociadas.
2. La historia natural de la enfermedad está bien documentada y el pronóstico establecido.
3. Ausencia de terapia postnatal efectiva actual.
4. El procedimiento "in utero" se ha realizado en modelos animales, demostrándose la reversión de los efectos deletéreos de la malformación.
5. El procedimiento debe ser realizado en centros de terapia fetal multidisciplinarios con protocolos estrictos y consentimiento informado de los padres.

4.2.1. Cirugía prenatal abierta y cierre mediante sutura (estudio MOMS)

En el año 2003 y con ayuda de los NIH, instituciones del gobierno de los EEUU cuyo objetivo se centra en la investigación médica, se puso en marcha el MOMS (Management of Myelomeningocele Study) (13) con la finalidad de comparar la evolución postnatal de fetos afectados de MMC sometidos a corrección quirúrgica prenatal o postnatal.

Se trataba de un estudio prospectivo y aleatorizado, limitado a 3 centros (Filadelfia, San Francisco y Vanderbilt) que estaban realizando cirugía fetal abierta, donde se incluyeron inicialmente 100 pacientes en el tratamiento prenatal y 100 en el postnatal.

El tratamiento prenatal (**Figura 3**) se realizaba entre las semanas 19 y 25 de gestación y consistía en una laparotomía materna, una histéresis con grapas, disección de la placoda neural de los tejidos circundantes, cierre de la duramadre y aproximación de los bordes de la piel mediante sutura. Posteriormente se programaba una cesárea en la semana 37 de gestación, con el fin de evitar el daño neurológico provocado por el estiramiento o trauma directo del tejido neural en el parto vaginal.

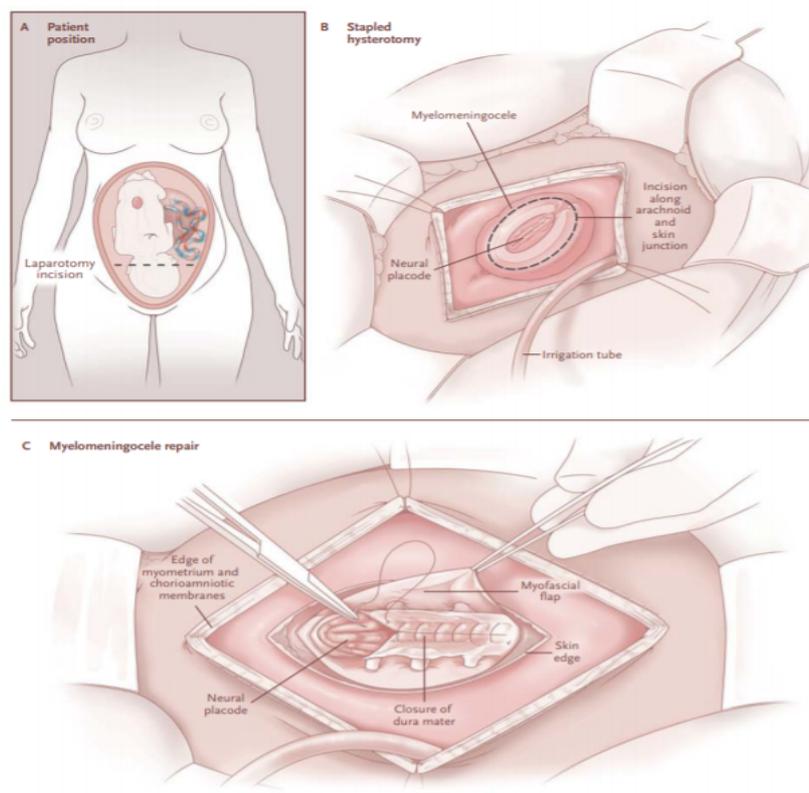


Figura 3. Cirugía prenatal abierta y cierre mediante sutura (13).

En diciembre del 2010, el estudio se detuvo antes de llegar al número 200, al haberse alcanzado resultados significativamente superiores en el grupo en el que se realizaba la cirugía prenatal. De esta forma, los resultados finales del MOMS fueron descritos y publicados en febrero de 2011, y supusieron un hito en el manejo quirúrgico de la espina bífida. A partir de entonces, la cirugía prenatal abierta se convirtió en el procedimiento más común para la reparación fetal del MMC.

Mediante esta técnica se consiguió disminuir de manera significativa la necesidad de colocar una válvula ventrículo-peritoneal (40% en el grupo tratado prenatalmente frente al 82% en el grupo control) y la aparición de casos de malformación de Arnold-Chiari tipo II (ausencia de herniación del cerebelo posterior en el 36% en el grupo tratado prenatalmente frente al 4% en el grupo control). Además, se logró mejorar de forma importante la función neuromotora (con un 42% de independencia para caminar en el grupo tratado prenatalmente frente al 21% en el grupo control) y se constataron mejoras en el desarrollo cognitivo.

Por otro lado, en comparación con las mujeres sin intervención prenatal, las que se sometieron a esta cirugía tuvieron tasas más altas de oligohidramnios, separación de membrana corioamniótica, desprendimiento de placenta, rotura espontánea de membranas, dehiscencia de la pared uterina y parto prematuro. Así, los fetos tratados prenatalmente nacieron a una edad promedio de 34,1 semanas y el 13% lo hizo antes de las 30 semanas, mientras que los del grupo de cirugía postnatal nacieron con una media de 37,3 semanas de gestación y ninguno antes de las 30 semanas.

En general, este estudio demostró un mejor pronóstico y menor grado de discapacidad en los niños sometidos a cirugía prenatal frente a cirugía postnatal. Sin embargo, suponía mayor morbilidad materna, por requerir laparotomía e hysterotomía. La cicatriz de la hysterotomía es un punto débil, propenso a la dehiscencia de la pared uterina o ruptura en posteriores cirugías o embarazos. Como consecuencia de ello, los futuros embarazos iban a requerir cesárea.

Tras los resultados de este ensayo clínico, incluir a más mujeres con fetos afectados de mielomeningocele en el grupo de la cirugía postnatal dejaba de ser éticamente aceptable y, a partir de ese momento, los padres debían decidir sobre el tratamiento, con sus beneficios y riesgos, basándose en los datos disponibles. Por lo general, la mayoría aceptaban el trauma materno resultante del abordaje quirúrgico en beneficio de su futuro hijo.

En cuanto a la duración estimada de esta intervención, estudios de Moldenhauer et al. (14) y Belfort et al. (15) sitúan el tiempo quirúrgico necesario para la reparación fetal abierta de MMC en una horquilla de entre 54-130 min.

Tabla 4. Fortalezas y debilidades de la cirugía prenatal abierta y cierra mediante sutura.

Fortalezas	Debilidades
<ul style="list-style-type: none"> - Menor grado de discapacidad de los niños (menor necesidad de derivación, mayor independencia motora, mayor ausencia de herniación en el cerebelo posterior). - Mayor puntaje global para desarrollo mental. - Menor riesgo de muerte fetal, neonatal o infantil. 	<ul style="list-style-type: none"> - Morbilidad materna (parto prematuro, ruptura de membranas, desprendimiento de placenta, dehiscencia uterina). - Necesidad de cesárea en posteriores embarazos. - Sutura de tejido fetal extremadamente frágil.

4.2.2. Cirugía prenatal abierta y cierre mediante parche y sellador

En 2009 un grupo internacional de médicos (Fontecha et al.) (16) desarrollaron en ovejas la técnica “Patch & Sealant” (parche y sellador) con el objetivo de obtener un cierre libre de tensión, mediante un método simple de cobertura sin manipulación del tejido fetal ni sutura.

El estudio se llevó a cabo sobre 15 fetos de ovejas a los que, en el día 75 de gestación, se les creó quirúrgicamente el citado defecto lumbar (**Figura 4A**). 10 de ellos fueron sometidos, mediante cirugía abierta en el día 95 de gestación, a cobertura sin sutura ni colgajos cutáneos o musculares (**Figura 4B**) y los 5 restantes no fueron tratados.

Dicha cobertura se realizó con láminas inertes y con adhesivo de tejido quirúrgico sin sutura, para proporcionar un cierre hermético. A 5 de los sujetos tratados se les colocó parche Silastic (elastómeros de silicona flexibles e inertes) y a los otros parche Silastic y malla Marlex, usando en ambos grupos el bioadhesivo CosSeal. Se utilizó malla Marlex por su elevada resistencia a la tracción y porque se esperaba que estimulase el crecimiento epitelial y asegurase el cierre del defecto debido a su elevada resistencia a la tracción. El tiempo medio de cirugía para la cobertura fetal (colocación del parche y sellador quirúrgico) fue muy rápido (aproximadamente 7,1 minutos) y mínimamente invasivo para el feto.

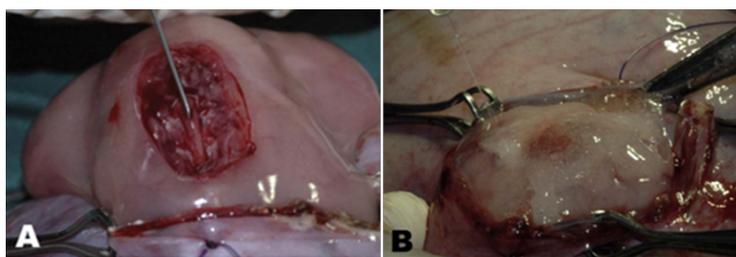


Figura 4. Creación y cobertura de mielomeningocele (16). A. Creación de un defecto lumbar. Después de exponer el área lumbar se realiza una laminectomía de 3 niveles y abertura amplia de la duramadre. B. Cobertura del defecto con lámina Silastic, malla Marlex y sellador CoSeal.

Los resultados de este estudio mostraron que todos los animales no tratados presentaban imposibilidad de caminar, incontinencia de esfínteres, el defecto lumbar abierto (**Figura 5A**), daño histológico de la médula espinal (**Figura 6A**) y una gran

malformación de Arnold-Chiari tipo II (**Figura 7A**). Sin embargo, todos los animales tratados fueron capaces de caminar, tenían continencia de esfínteres y presentaban cierre casi completo del defecto (**Figura 5B**) con regeneración de varias capas de tejidos en la zona lumbar (**Figura 6B**) y una mínima malformación de Arnold-Chiari tipo II (**Figura 7B**).

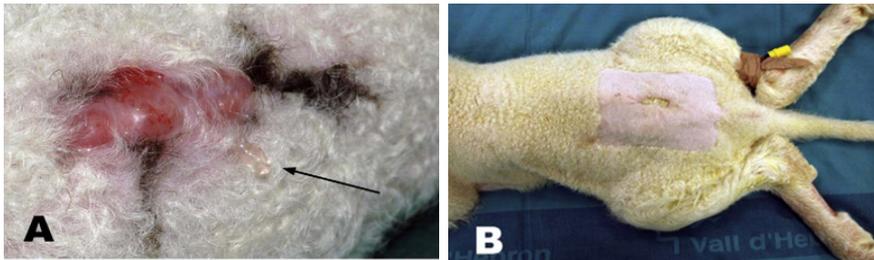


Figura 5. Área del defecto al nacer (16). A. Se muestra la médula espinal de un animal no tratado donde la flecha apunta la fuga de líquido cefalorraquídeo. B. Se puede apreciar el cierre completo del defecto y la cicatriz cutánea en el animal tratado.

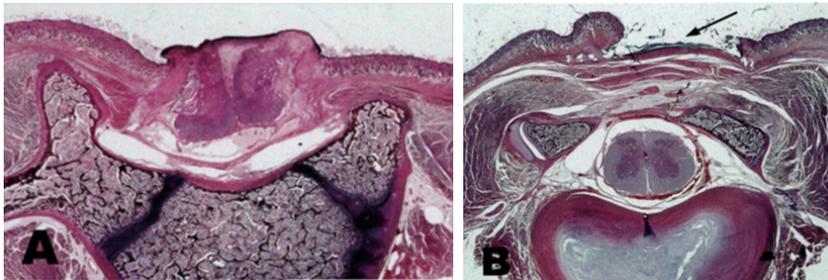


Figura 6. Imágenes histológicas del área anómala al nacer (16). A. En el animal no tratado se aprecia ausencia de cobertura, despojos en el espacio epidural y una considerable lesión de la médula espinal con queratinización irregular. B. El animal tratado con Silastic, Marlex y sellador muestra una arquitectura de médula espinal normal, algunos restos en el espacio peridural y capas dérmicas, meníngeas, fibroconectivas y musculares.

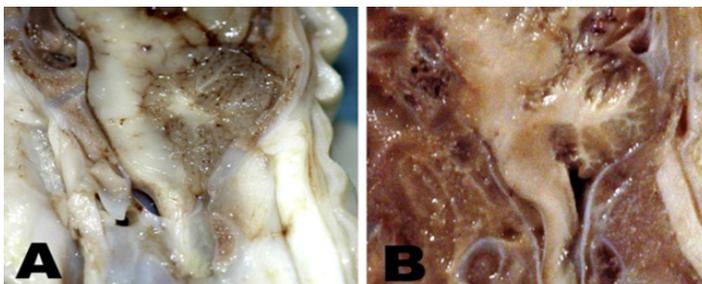


Figura 7. Fosa posterior al nacer (16). A. Malformación de Arnold-Chiari tipo II en un animal no tratado. B. Ausencia de la malformación en un animal tratado.

Por otro lado, no hubo diferencias estadísticamente significativas para todos los parámetros clínicos cuando se compararon los grupos tratados sólo con Silastic y los tratados con Silastic y Marlex, aunque la cantidad de crecimiento dérmico fue algo mayor en el grupo tratado también con malla Marlex. El resultado del estudio evidenció que la estructura de la malla facilita el crecimiento de la capa dérmica. Aun así, el crecimiento de tejido, utilizando únicamente Silastic, se consideró suficiente para el cierre del defecto.

Hasta entonces otros estudios (17, 18) habían evaluado la viabilidad de diferentes tipos de parches suturados a la piel de alrededor del mielomeningocele. Sin embargo, en éste se describió el uso de sellador como método principal para cerrar los mielomeningoceles creados quirúrgicamente en estos animales.

Una vez constatada la viabilidad de la técnica en animales, se aplicó posteriormente en humanos ya que era mucho menos agresiva al no precisarse tanta manipulación del tejido fetal. Así, desde 2010 existe en el Hospital Vall d'Hebron de Barcelona el programa multidisciplinar de diagnóstico y tratamiento prenatal del MMC y, hasta 2012, 6 pacientes han optado por cirugía correctora prenatal en la que se utilizó esta técnica (19).

Tabla 5. Fortalezas y debilidades de la cirugía abierta y cierre mediante parche y sellador.

Fortalezas	Debilidades
<ul style="list-style-type: none"> - Rápida y mínimamente invasiva para el feto. - Evita la manipulación del tejido fetal extremadamente frágil. - Proporciona cierre hermético del defecto. 	<ul style="list-style-type: none"> - No evita abrir la pared abdominal materna y el útero. - El defecto no queda totalmente cubierto por la piel.

4.3. CIRUGÍA PRENATAL FETOSCÓPICA

En oposición a la cirugía prenatal abierta, la cirugía prenatal fetoscópica es una técnica mediante la que se pueden realizar determinadas intervenciones directamente sobre el feto, frenando, corrigiendo e incluso acabando con ciertos problemas que

pueden poner en serio peligro su vida, produciendo, además, menor trauma materno y menor exposición ambiental externa.

Si bien es cierto que la reparación prenatal redujo la morbilidad de MMC, también se asoció con mayores tasas de complicaciones obstétricas, en comparación con la reparación postnatal. Por ello, los expertos consideraron que la reparación fetoscópica podía disminuir la tasa de complicaciones obstétricas y el número de nacimientos prematuros, a la vez que mejorar los resultados a largo plazo. Además, esta nueva técnica permitiría obviar la necesidad de parto por cesárea en embarazos posteriores.

4.3.1. Cirugía fetoscópica mínimamente invasiva (3 trócares)

En 1990, Brunner et al. introdujeron por primera vez la reparación fetoscópica del mielomeningocele utilizando una técnica de tres puertos, pero este enfoque fue posteriormente abandonado debido a las dificultades técnicas y falta de beneficios que entonces se constataron (20, 21). En esa misma época se realizaron algunos otros intentos de fetoscopia en la Universidad de California, San Francisco (UCSF), que también fueron abandonados por razones similares (22). Además, para estandarizar la técnica de cirugía prenatal abierta, durante el ensayo MOMS la reparación fetoscópica mínimamente invasiva de MMC se detuvo temporalmente en los EEUU, aunque no en países como Alemania o Brasil.

Sin embargo, con el paso de los años, y gracias al avance de las técnicas, del material instrumental y de la definición de las imágenes ultrasónicas, un equipo alemán (Kohl et al.) llevó a cabo tres de las series más grandes de reparación fetoscópica mínimamente invasiva (23, 24, 25).

En 2008, realizaron un estudio piloto con 2 fetos humanos utilizando cirugía fetoscópica de 3 trócares (5 mm) y cierre mediante parche suturado a piel. Posteriormente, alentados por el buen resultado obtenido, decidieron realizar el procedimiento a mayor escala. Así, entre julio de 2010 y junio de 2013, desarrollaron otro estudio sobre la viabilidad de lo que denominaron cirugía fetal mediante terapia de acceso mínimo (3 trócares), en 51 fetos humanos entre las semanas 21 y 29 de gestación (media 23,7 semanas).

Los principales pasos de esta cirugía (**Figura 8**) son los siguientes:

- 1- Creación del acceso percutáneo, transabdominal, transuterino, paraplacentario e intraamniótico para la inserción de los trócares mediante guía (1,2 mm).
- 2- Introducción de 3 trócares a través de la guía.
- 3- Eliminación de parte del líquido amniótico e insuflación de dióxido de carbono (técnica PACI) (**Figura 8a**) para mantener la visibilidad intraútero.
- 4- Realización de maniobras posturales para colocar al feto en una posición en la que la malformación sea quirúrgicamente accesible utilizando instrumentos fetoscópicos.
- 5- Disección de la lesión con un bisturí eléctrico (**Figura 8b**) y liberación cuidadosa del tejido neural de los tejidos circundantes (**Figuras 8c y 8d**).
- 6- Cubrimiento con uno o más parches de colágeno y teflón, dependiendo de la anatomía de la lesión (**Figura 8e**). Se utiliza un único parche de colágeno cuando el LCR se puede reaccumular entre éste y la médula espinal. En caso contrario, o cuando no se pueden eliminar pequeños restos de piel durante la fetoscopia, se utilizan dos parches: uno de teflón sobre la médula espinal y otro de colágeno sobre todo el defecto.
- 7- Comprobación de que el defecto esté herméticamente cubierto al final del proceso, observando el abombamiento del parche y la ausencia de fuga de líquido cefalorraquídeo al comprimir su superficie con un instrumento (**Figura 8f**).
- 8- Una vez cerrada la lesión, eliminación del dióxido de carbono insuflado recargándolo, de forma simultánea, con suero caliente Ringer^R.
- 9- Cierre mediante sutura de los sitios de inserción de los trócares.

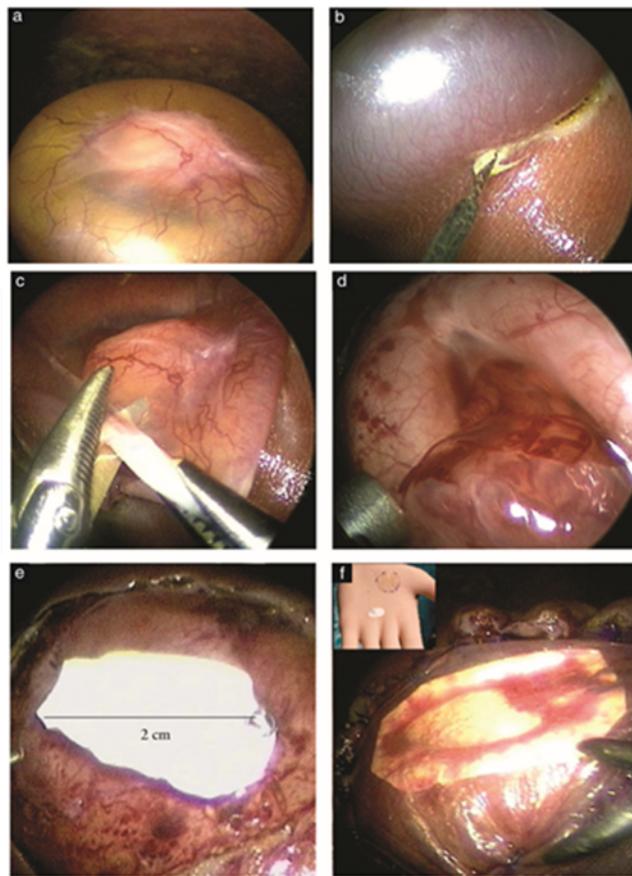


Figura 8. Cirugía fetoscópica mínimamente invasiva (3 trócares) (24). A. Eliminación de parte del líquido amniótico e insuflación de dióxido de carbono. B. Disección de la lesión con bisturí eléctrico. C y D. Liberación del tejido neural de los tejidos circundantes. E. Cubrimiento del cordón neural con parche. F. Comprobación de cierre del defecto.

El estudio demostró que esta técnica tenía una alta tasa de éxito y que su realización era posible independientemente de la posición de la placenta, ya que la inserción del trócar, guiado por ultrasonido, permitía mantener un margen de seguridad que evitara lesionarla. La edad gestacional promedio al momento del parto fue de 33 semanas y, aunque en la mayoría de los fetos aún no se había completado el cubrimiento del parche por la piel en el momento del parto, este hecho se produjo después del nacimiento (24).

Según sus autores, los 2 puntos destacados de este estudio (24, 25) son:

- La monitorización multimodal preoperatoria e intraoperatoria por ultrasonido, ya que proporciona información crítica para la seguridad y el éxito de la intervención.

- La insuflación de dióxido de carbono en el útero (técnica PACI), previa retirada de cierta cantidad de líquido amniótico, para lograr un control de las complicaciones de sangrado y mejor visualización del campo quirúrgico.

Además, este método de acceso intraamniótico se convirtió en el distintivo de esta cirugía porque las incisiones eran mucho más pequeñas que las que se requerían en una cirugía fetal abierta y cirugías fetoscópicas que utilizaban mayor número de trócares.

En este estudio, todos los puntos de inserción abdominal y uterina del trocar curaron bien. Además, el dolor y la incomodidad materna fueron mínimos más allá del segundo día tras la cirugía y la media de hospitalización fue de 7,2 días. En comparación con la cirugía fetal abierta, el abordaje fetoscópico percutáneo de acceso mínimo reducía considerablemente el riesgo de lesión materna asociado a la laparotomía e histerotomía (dehiscencia uterina, sangrados, dolor materno, etc.).

Así, en ninguna de las 51 mujeres sometidas a la cirugía fetoscópica de acceso mínimo se produjo fallecimiento, parto espontáneo, desprendimiento de placenta o necesidad de transfusión de sangre en el periodo perioperatorio.

En cuanto a la duración de la intervención, los estudios de Pedreira et al. (26) y Degenhardt et al. (25) refieren que el tiempo requerido para el abordaje fetoscópico percutáneo de MMC, oscila entre 98-480 min.

Por otro lado, Kohl et al. opinaban que el parto prematuro utilizando técnicas fetoscópicas estaba relacionado con la persistencia de fugas membranosas por la inserción de 3 trócares, ya que esta cantidad de inserciones favorecían la separación corioamniótica, la inflamación uterina inducida por fluido amniótico y la ruptura prematura de membranas.

Además, la eficacia de las técnicas de cierre intrauterino fetoscópico mínimamente invasivo (habitualmente 1 o 2 capas) como alternativa a la cirugía fetal abierta (habitualmente 3 capas) fue cuestionada por los que creen que la reparación debe cumplir con los estándares de la cirugía postnatal (habitualmente 3 capas) (27).

En 2017, Kabagambe et al. (28) publicaron los resultados de un metaanálisis en el que se analizaron 11 estudios (entre los que se encontraban los del equipo de Kohl) y

se comparaban los resultados de la reparación del MMC mediante cirugía prenatal abierta y fetoscópica.

Los resultados de ese metaanálisis mostraron que después de la reparación fetoscópica de MMC se daban mayores tasas de ruptura prematura de membranas, partos prematuros (incluso anteriores a las 30 semanas de gestación) y fugas en el cierre. Además, después del abordaje fetoscópico se requerían con mayor frecuencia revisiones quirúrgicas postnatales de la reparación.

Tabla 6. Fortalezas y debilidades de la reparación fetoscópica mínimamente invasiva (3 trócares).

Fortalezas	Debilidades
<ul style="list-style-type: none"> - Menor dolor, incomodidad y trauma materno al evitar laparotomía e histerotomía. - Menor exposición ambiental del feto. - Mayor seguridad y precisión en la cirugía con la utilización de la monitorización multimodal por ultrasonido. - Clara visualización del entorno uterino mediante la insuflación de PACI. - Reducción de las complicaciones infecciosas maternas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor frecuencia de fuga de líquido amniótico, ruptura de membranas y parto prematuro. - Cierre del parche no cubierto totalmente por la piel antes del parto. - Utilización para el cierre de menos capas que la cirugía fetal abierta. - Mayor tiempo de intervención. - Mayor frecuencia de reintervenciones quirúrgicas postnatales.

4.3.2. Cirugía fetoscópica con exteriorización uterina (2 trócares)

Habiéndose cuestionado que el abordaje fetoscópico pudiera reducir la tasa de complicaciones obstétricas (principalmente ruptura prematura de membranas y parto prematuro) y la capacidad para obtener un cierre hermético de la lesión, con la posterior necesidad de reparación postnatal, Belfort et al. (15) desarrollaron un abordaje fetoscópico que mitiga las complicaciones tanto de la reparación abierta como de la fetoscópica percutánea.

El estudio fue realizado en EEUU (2014-2016) con 28 pacientes, utilizando una nueva técnica cuyos principales pasos (**Figura 9**) son los siguientes:

Los principales pasos de esta cirugía (**Figura 9**) son los siguientes:

- 1- Laparotomía materna para acceder al útero y exteriorizarlo (**Figura 9A**).
- 2- Asegurar las membranas suturándolas a la pared uterina (**Figura 9B**).
- 3- Colocación de los 2 trócares guiados por ultrasonido (**Figura 9C**).
- 4- Extracción de parte del líquido amniótico e insuflación de la cavidad con PACI.
- 5- Realización de maniobras posturales para colocar al feto de forma que la malformación fuera quirúrgicamente accesible (**Figura 9D**).
- 6- Disección de la placoda neural, cierre del defecto suturando la duramadre y la piel en una sola capa, sin utilizar parches ni pegamentos (**Figura 9E**).
- 7- Una vez cerrada la lesión, eliminación del dióxido de carbono insuflado recargándolo, de forma simultánea, con suero caliente Ringer^R.
- 8- Cierre de las zonas de punción del trócar con suturas absorbibles.
- 9- Introducción del útero en el abdomen y cierre mediante sutura.

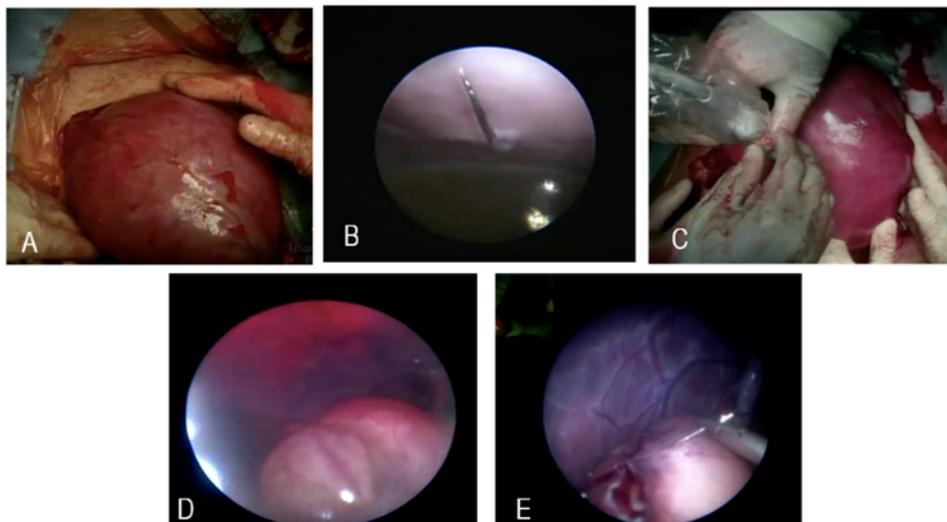


Figura 9. Cirugía fetoscópica con exteriorización uterina (15). A. Laparotomía y exteriorización del útero. B. Suturación de las membranas a la pared uterina. C. Colocación de los trócares guiados por ultrasonido. D. Maniobras posturales para poder acceder a la malformación. E. Disección y cierre de la lesión.

Esta técnica permite una reparación eficaz, sin parches o extensas disecciones de tejidos. Además, posibilita completar el periodo de gestación y tener parto vaginal.

La edad gestacional promedio fue de 38,5 semanas y únicamente un 36% tuvo una gestación menor a 37 semanas. En los pacientes que tuvieron parto por cesárea (50%) se observó que los lugares de punción de los trócares estaban bien curados. En el 50% restante el parto fue posible por vía vaginal, con lo que se demostró por primera vez la posibilidad de parto vaginal después de la reparación fetoscópica del MMC.

En cuanto a la duración de la intervención, los estudios de Pedreira et al. (26) y de Degenhardt et al. (25) indican que el tiempo necesario para realizar la reparación fetoscópica a través de laparotomía materna oscila entre 145 y 450 min.

Además, parte de este estudio consistió en comparar sus resultados con los de otros grupos (Adzick et al. 2011, Kohl 2014, Degenhardt et al. 2014, Pedreira et al. 2016), que habían llevado a cabo la reparación de MMC (abierta o fetoscópica) y se obtuvieron las siguientes conclusiones a su favor: menor tasa de ruptura prematura de membranas, menor número de partos prematuros y mejores resultados neonatales a corto plazo. Aun así, en el 36% de los casos se requirió la reparación del MMC tras el nacimiento por pérdidas de LCR.

En este sentido, Kabagambe et al. (28) apuntan que las técnicas actuales en cirugía fetoscópica deben optimizarse para lograr un cierre hermético del defecto de MMC comparable a la cirugía abierta y que la duración del total de la operación es un factor potencial que contribuye a la ruptura prematura de membranas, lo que puede explicar la mayor tasa de estas rupturas después de la reparación fetoscópica.

Tabla 7. Fortalezas y debilidades de la cirugía fetoscópica con exteriorización uterina (2 trócares).

Fortalezas	Debilidades
<ul style="list-style-type: none"> - Mitiga las complicaciones de la reparación abierta y de la fetoscópica percutánea: menor ruptura prematura de membranas y parto prematuro. - Posibilita la gestación a término y el parto vaginal. - Menor número de puertos y de menor tamaño. 	<ul style="list-style-type: none"> - Persistencia de las pérdidas de LCR. - Necesidad de reparación quirúrgica postnatal. - Requiere mayor tiempo de intervención.

4.3.3. Cirugía fetoscópica de acceso único (SAFE, 1 trócar Single-Access Fetal Endoscopy)

De 2011 en adelante Peiró et al. (29) demostraron que era factible el abordaje fetoscópico del MMC en animales mediante 2 puertos utilizando la técnica Patch & Sealant.

A partir de entonces (2013), alentados por los resultados obtenidos decidieron ir más allá y se plantearon evaluar la viabilidad de la endoscopia fetal de acceso único y reparación mediante parche de colágeno y sellador quirúrgico, en un modelo ovino (30).

En este estudio se utilizaron 12 fetos de cordero que tenían un defecto creado quirúrgicamente en el día 75 de gestación. 4 fetos permanecieron sin tratamiento (grupo control) y a 8 se les reparó utilizando dióxido de carbono para distender la cavidad amniótica. Para reparar la lesión, se colocó un parche de colágeno sobre el defecto y se aseguró con un sellador quirúrgico. Con 4 de ellos se utilizó un procedimiento fetoscópico de dos puertos y con los otros 4 se utilizó SAFE (1 puerto de 2,7 mm).

Los principales pasos del procedimiento de puerto único (**Figura 10**) son los siguientes (30):

- 1- Exposición del útero a través de laparotomía materna.
- 2- Colocación de un único puerto en el útero guiado por ecografía.
- 3- Extracción de parte del líquido amniótico e insuflación de la cavidad con PACI.
- 4- Realización de maniobras posturales para colocar al feto con la malformación accesible.
- 5- Incorporación de fetoscopio y fórceps para la colocación del parche sobre el defecto.
- 6- Introducción de un catéter para inyectar el sellador sobre el parche y la piel adyacente.
- 7- Retirada del dióxido de carbono insuflado y recarga de suero caliente Ringer^R.

8- Cierre de los puntos de inserción del trócar, introducción del útero en el abdomen y cierre mediante sutura.

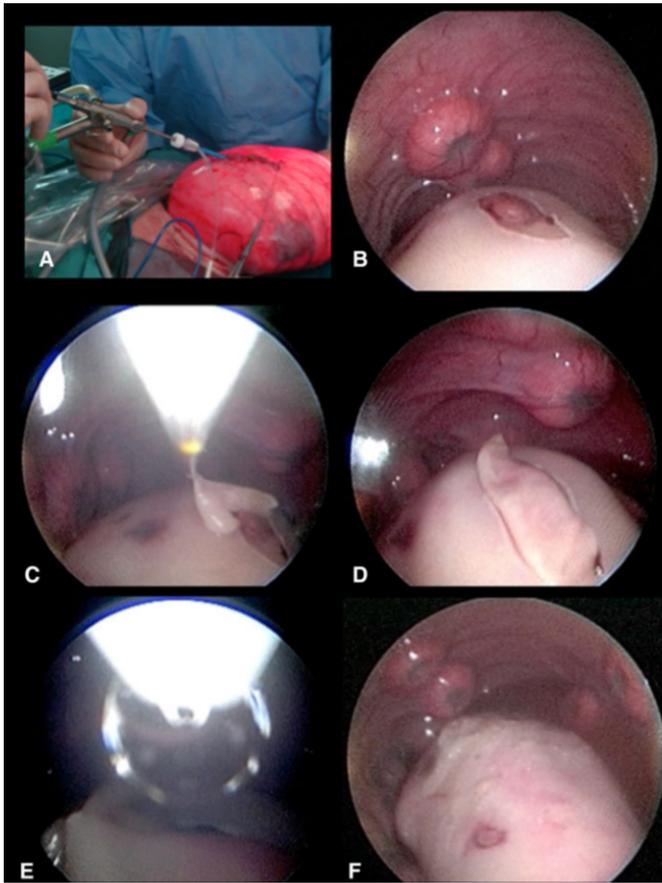


Figura 10. Endoscopia de acceso único (SAFE) (29). A. Colocación de un único puerto. B. Vista fetoscópica del defecto espinal. C. Cobertura del defecto espinal usando un fórceps intrauterino de 1 mm. D. Defecto espinal completamente cubierto por el parche. E. Colocación del sellador sobre el parche. F. Aspecto final del defecto cubierto por el parche y el sellador.

En este estudio los dos abordajes quirúrgicos (puerto único y dos puertos) se evaluaron con respecto a los siguientes parámetros: pérdida fetal después de cada cirugía, duración del procedimiento, grado de dificultad de la intervención fetal, presión máxima de dióxido de carbono, éxito con respecto a la cobertura de defectos y complicaciones perioperatorias feto-maternales.

Los resultados obtenidos indicaron que no había diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros analizados entre los dos grupos. Tampoco hubo diferencias en términos de cobertura postoperatoria de la piel o prevención de problemas neurológicos posteriores secundarios al defecto espinal.

Una vez que los fetos fueron extraídos mediante cesárea planificada, se comprobó que todos los sujetos no tratados presentaban espina bífida abierta con pérdida de líquido cefalorraquídeo, malformación de Arnold-Chiari tipo II y paraplejia; características que no se daban en ninguno de los animales tratados y en los que todos tenían casi completa epitelización y cierre del defecto al nacer.

Por otra parte, los estudios histológicos confirmaron un daño severo de la médula espinal en el grupo no tratado, mientras que ambos grupos de animales tratados mostraban una médula espinal de aspecto normal, cubierta con duramadre recién formada, así como fibras musculares desordenadas y tejido y piel subcutáneos.

Según Peiró et al. (30), este estudio fue el primero en constatar la viabilidad de realizar una cobertura fetoscópica de un defecto espinal, utilizando la técnica de parche y sellador, en un entorno de dióxido de carbono de la cavidad amniótica, mediante el acceso de un solo puerto.

La ventaja de esta técnica se relaciona con la reducción potencial del riesgo de ruptura prematura de membranas y la prematuridad, riesgo que puede estar asociado con el número de puertos y la duración del procedimiento. Además, al no requerir la sutura de tejidos fetales, de consistencia gelatinosa, permite intervenir en edades gestacionales más tempranas.

Según los propios autores, teniendo en cuenta el resultado exitoso del ensayo en animales, estaría éticamente justificado un estudio de la técnica de parche y sellador de puerto único (SAFE) en humanos.

Tabla 8. Fortalezas y debilidades de la cirugía fetoscópica de acceso único (SAFE, 1 trócar).

Fortalezas	Debilidades
<ul style="list-style-type: none"> - Rápida y mínimamente invasiva para el feto. - Evita la manipulación del tejido fetal. - Proporciona cierre hermético del defecto. - Permite intervenir en una edad gestacional más temprana. - Evita histerotomía. - 1 único punto de posible fuga de LCR y de tamaño mínimo. 	<ul style="list-style-type: none"> - No evita laparotomía materna. - El defecto no queda totalmente cubierto por la piel. - No se ha experimentado en humanos.

4.4. TERAPIAS BASADAS EN CÉLULAS

El papel de la terapia basada en células para la reparación fetal de MMC se encuentra actualmente bajo investigación usando modelos de roedores y ovinos y ofrece una perspectiva alternativa, realista y atractiva.

Pretende la creación de un tejido biocompatible, impermeable a los fluidos y que se pueda aplicar de forma mínimamente invasiva sobre la superficie del defecto fetal, para aislar por completo la placa medular y evitar el daño producido por el líquido amniótico. Además, la cobertura debería, también, acompañar el crecimiento fetal y permitir la correcta circulación del LCR.

Con ese objetivo, algunas líneas de investigación proponen utilizar un andamiaje para proteger los elementos neurales y que pueda servir de sustrato para que células sembradas y nutridas adecuadamente, se ordenen formando un tejido biocompatible, que luego pueda ser incorporado y vascularizado por los tejidos vecinos.

Otras investigaciones pretenden servirse de células madre, obtenidas mediante tecnología iPSC (induced Pluripotent Stem Cells), para generar injertos de piel y cubrir el defecto. La tecnología iPSC implica la reprogramación genética de las células de los pacientes a un estado de células madre embrionarias y luego la conversión de estas células inmaduras en distintos tipos de células especializadas que se encuentran en diferentes partes del cuerpo.

4.4.1. Reparación del mielomeningocele fetal mediante andamiaje

Con el objetivo de evitar el daño producido por la exposición de los elementos neurales al ambiente uterino y mejorar aún más el resultado neurológico fetal, la ingeniería de tejidos se plantea cubrir el defecto con una capa de tejido impermeable a los fluidos, e idealmente, realizarlo entre las semanas 15-18 de gestación, es decir, cuando el defecto es aún muy pequeño (se habla de milímetros).

Los componentes principales de la ingeniería de tejidos son las células, las estructuras o andamios y los nutrientes.

Para el tratamiento prenatal del MMC frecuentemente se usan células derivadas del líquido amniótico que pueden obtenerse mediante amniocentesis y expandirse rápidamente para ser utilizadas como células madre autólogas y multipotentes (31).

Respecto a los nutrientes, pueden ser proporcionados por el entorno endógeno o se puede complementar añadiendo citosinas o factores de crecimiento para aumentar la proliferación u optimizar la diferenciación de las células implantadas (32).

El componente de andamio proporciona un marco o microambiente en el cual las células implantadas o los tejidos del huésped pueden adherirse y proliferar. Se pueden distinguir tres tipos:

- Materiales de origen natural: gelatina, ácido hialurónico o colágeno.
- Materiales sintéticos: ácido poliláctico o poliglicólico.
- Andamios celulares: creados a partir de tejidos humanos o animales, tratados convenientemente para eliminar las células y los antígenos, pero conservando su arquitectura original.

Los principales pasos de este procedimiento, desarrollado en un modelo ovino, (**Figura 11**) son los siguientes (9):

- 1- Creación del defecto de mielomeningocele a los 72 días de gestación. Se resecan los arcos vertebrales para dejar un canal vertebral abierto con una médula espinal completamente expuesta que se extiende a lo largo de 5 vertebras.
- 2- Acceso al defecto a los 100 días de gestación mediante cirugía prenatal abierta.
- 3- Reparación del defecto de MMC con un andamio de esponja superpuesto y tratado con solución de factor de crecimiento. La esponja es recortada para ajustarse al tamaño del defecto. También se puede reparar con un andamio de esponja y una lámina flexible, que se asegura a la piel fetal con adhesivo.

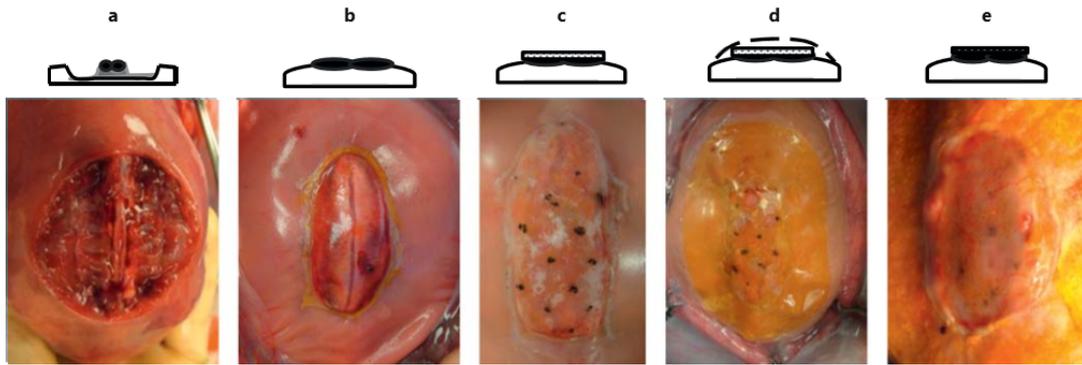


Figura 11. Reparación del mielomeningocele fetal mediante andamiaje (9). **A.** Creación del defecto de mielomeningocele a los 72 días de gestación. **B.** Visualización del defecto a los 100 días de gestación, antes de la reparación. **C.** Reparación con andamio de esponja. **D.** Reparación con andamio de esponja y lámina flexible. **E.** Aunque la lámina se ha desprendido antes del nacimiento, parece que el andamio de esponja se ha incorporado al defecto y aparecen vasos sanguíneos en el área de la esponja. Los diagramas esquemáticos de la línea superior representan el tejido neural expuesto (negro), el canal vertebral abierto (gris), el andamio esponjoso (patrón de puntos) y la lámina basada en gelatina (línea punteada).

Los resultados de este estudio son esperanzadores ya que se logró una cobertura tisular recién formada sobre el defecto en el momento del parto. Sin embargo, la preservación de la médula espinal aún era incompleta.

En otros estudios (33, 34) se han observado resultados prometedores en la cobertura del defecto utilizando andamios. La mayoría de ellos emplearon, también, el modelo de MMC de oveja fetal y aseguraron los andamios sobre los defectos (con sutura o adhesivos) mediante cirugía fetal abierta.

4.4.2. Cobertura del defecto con piel autóloga mediante iPSCs

Las iPSCs son un tipo de células madre con características pluripotenciales (capaces de generar la mayoría de los tejidos) derivadas artificialmente de una célula que inicialmente no era pluripotencial.

El descubrimiento de estas células ha tenido un profundo impacto en el campo de la investigación con células madre y la medicina regenerativa. Se espera que las iPSCs proporcionen una fuente autóloga de células para desarrollar una terapia específicamente personalizada al paciente.

Las iPSCs se obtienen a través de una célula adulta diferenciada procedente de un tejido, a la que se le induce la expresión de varios genes exógenos, tales como Oct4, Sox2, C-myc y Klf4, capaces de desdiferenciarla. A este proceso se le denomina reprogramación. Dichas células son capaces de diferenciarse en células de tejidos pertenecientes a las tres capas germinales de un embrión natural (endodermo, mesodermo y ectodermo) y se ha demostrado que son idénticas en muchos aspectos, y similares en otros, a las células madre embrionarias. Ahora bien, preservan en su genoma “cierta memoria” de su origen adulto y esa “marca” persiste en cualquier órgano o tejido que hagamos procrear de ellas, por lo que hay que tenerlo en cuenta y resolverlo antes de usarlas.

El obstáculo más importante para su aplicación, al igual que las células madre embrionarias, es su tendencia a la formación de teratomas, incluso podrían ser más tumorogénicas que las células embrionarias (35). Esto podría ser debido a que algunos de los genes, como el c-myc son oncogénicos.

En este sentido, se ha planteado la eliminación de este gen y similares, de alto potencial teratogénico, del proceso de reprogramación. Sin embargo, se ha observado que la omisión de los myc provoca una disminución de unas 100 veces la eficacia de la reprogramación (36).

La piel generada a partir de iPSCs permitiría que el defecto quedara completamente cubierto antes de terminar la gestación ya que el trasplante autólogo de piel cultivada mejora la cicatrización de heridas, como ocurre en el trasplante autólogo de piel en quemaduras severas (37). Además, la piel 3D (piel artificial generada a partir de queratinocitos, dermis y colágeno) puede crecer en armonía con el crecimiento fetal durante todos los periodos de gestación. No obstante, es difícil proporcionar injertos de piel autólogos disponibles para un feto con MMC.

En mayo de 2017, unos investigadores japoneses (Umezawa et al.) plantearon la hipótesis de que las iPSCs pudieran utilizarse como material para el trasplante autólogo de piel en casos de mielomeningocele (38). Para ello, generaron iPSCs humanas a partir de células de líquido amniótico (AFC, Amniotic Fetal Cell), solventando así las dificultades éticas que implica la utilización de células madre embrionarias.

Para asegurar que las iPSCs pudieran generarse a partir de fetos con enfermedad fetal grave, eligieron dos enfermedades fetales como el síndrome de transfusión gemelo a gemelo (TTTS) y la trisomía 21 (T21). Las células de líquido amniótico las extrajeron mediante amniocentesis seriadas que, además, servía como terapia de amnioreducción del polihidramnios que presentaban.

Posteriormente, elaboraron un protocolo para la diferenciación de iPSCs en queratinocitos. Finalmente, una vez obtenidos los queratinocitos crearon piel tridimensional y mediante abordaje quirúrgico cubrieron el defecto en modelos de fetos de rata con mielomeningocele (**Figuras 12 y 13**).

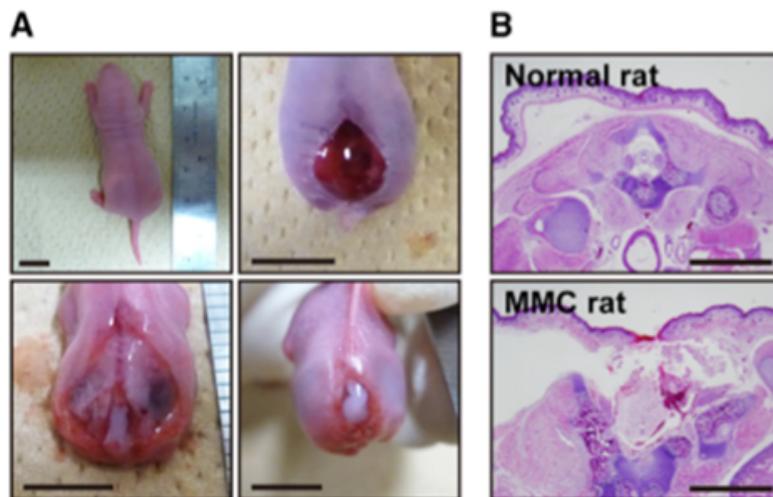


Figura 12. Aplicación de piel artificial en un modelo de mielomeningocele (38). A. Patología macroscópica del sitio de la lesión MMC al nacer en una rata normal (imagen superior izquierda) y una rata con MMC (imágenes superior derecha e inferiores). La rata MMC muestra defectos en la piel (imagen superior derecha) y en la columna vertebral (imagen inferior izquierda) y la exposición de la médula espinal (imagen inferior derecha). Barras de escala: 1 cm. B. Imágenes transversales de la médula espinal a niveles lumbares de una rata normal y rata con MMC. Barras de escala: 2 mm.

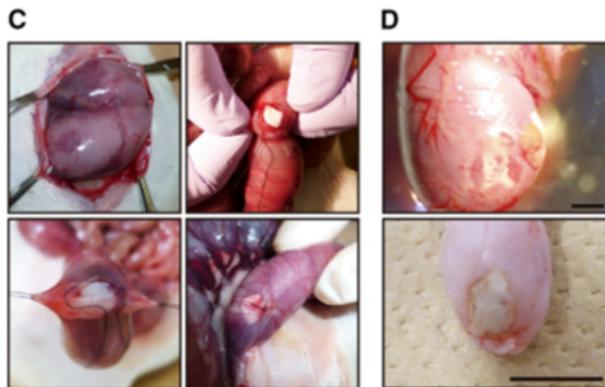


Figura 13. Aplicación de piel artificial en un modelo de mielomeningocele (38). C. Visión general del trasplante intrauterino de piel artificial. Imágenes representativas de los principales pasos del proceso de reparación de MMC en el modelo fetal: identificación del mielomeningocele a través del útero (imagen superior izquierda), incisión en el útero encima del defecto y trasplante de piel artificial (imagen superior derecha) y cierre de la pared uterina (imágenes inferiores). D. Visión general de la rata neonatal con MMC al nacer. Fotografía representativa del cierre incompleto (imagen superior) y terminación completa (imagen inferior) después de la aplicación de la piel artificial en el día 20. Barras de escala: 2 mm (imagen superior) y 1 cm (imagen inferior).

Los resultados logrados sugieren que las iPSCs obtenidas de células del líquido amniótico de fetos con enfermedades fetales graves (TTTS y T21) se pueden diferenciar en queratinocitos completamente funcionales para la piel 3D artificial. Además, la piel 3D injertada se regeneró con el crecimiento del feto y aceleró la cobertura de la piel durante todo el periodo de gestación.

Los queratinocitos derivados de iPSCs no formaron ningún tumor, ni teratomas, ni lesiones malignas, por lo que se espera que el empleo de éstos sea seguro desde el punto de vista de la tumorigenicidad. Sin embargo, el tratamiento redujo significativamente el peso al nacer y la longitud corporal, que fueron menores en el grupo de terapia fetal que en las ratas normales y las ratas con MMC no tratadas.

Una limitación importante en estos modelos es su corto periodo de gestación (de 19 a 22 días), pues no permite analizar los efectos a más largo plazo. Por lo tanto, se requieren otros estudios que analicen este efecto, incluyendo la regeneración de la piel, el potencial tumorigeno y el pronóstico neurológico.

Finalmente, y teniendo en cuenta que la terapia fetal actual no puede resolver en su totalidad la lesión neurológica producida antes de la reparación, algunos

investigadores han trabajado sobre la posibilidad de que el trasplante de células madre neuronales mejore el resultado neurológico en modelos animales con lesión nerviosa (39, 40, 41, 42).

4.5. OTRAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Si bien la cirugía fetal ha demostrado ser muy valiosa en el tratamiento de la espina bífida, no está exenta de importantes riesgos maternos y fetales. En este sentido, se están desarrollando métodos que proporcionen cobertura al defecto de MMC de forma no quirúrgica.

Entre ellas, la terapia transamniótica con células madre (TRASCET) ha surgido experimentalmente como una alternativa potencial o adyuvante en el manejo prenatal de la espina bífida. Se basa en aumentar el papel biológico de las células madre mesenquimales (MSC) (células multipotentes primitivas con capacidad de diferenciarse en diversos tipos) mediante la inyección intraamniótica de una concentración de dichas células.

Aunque se desconoce cómo las MSC desencadenan la formación de la piel, se ha demostrado que mejoran la curación normal de las heridas fetales (43). También, se ha demostrado que las MSC derivadas de líquido amniótico (afMSCs) inyectadas en grandes cantidades en la cavidad amniótica inducen la formación de una piel rudimentaria que cubre el defecto de la espina bífida y que minimizan la malformación de Arnold-Chiari tipo II (44).

Además del líquido amniótico existen otras fuentes de células madre mesenquimales que podrían ser opciones potenciales para TRASCET, aunque aún no se ha determinado el tipo de célula óptima. Por ejemplo, las MSCs derivadas de placenta (pMSCs) son una alternativa claramente factible, ya que pueden obtenerse de manera relativamente fácil durante el embarazo, a través de la toma de muestras de vellosidades coriónicas.

Finalmente, un estudio que compara los efectos de las pMSCs y afMSCs utilizadas como agentes de TRASCET en un modelo de rata de espina bífida (45), no encontró diferencias significativas entre ellas, lo que hace que ambas fuentes celulares sean igual de eficaces para la TRASCET.

5. DISCUSIÓN

Muchos estudios evidencian la relación entre el déficit de ácido fólico y la malformación de espina bífida, a la vez que inciden en la conveniencia de que las mujeres tomen alimentos ricos o fortificados con esta vitamina a partir de los 3 meses anteriores a la concepción y durante todo el embarazo.

Hasta 1980, el único tratamiento quirúrgico de la espina bífida consistía en cerrar el defecto, colocar una válvula de derivación ventricular y corregir las deformidades de la columna vertebral y de las extremidades inferiores, dentro de las primeras 48 horas tras el nacimiento. Sin embargo, los expertos del tema coincidían en que, para entonces, ya era tarde, porque la propia evolución de la malformación había dado lugar a graves e irreversibles lesiones.

En 2003, Adzik et al. realizaron la corrección del MMC mediante cirugía prenatal abierta y cierre por sutura antes de la semana 26 de gestación. La cirugía prenatal abierta, en comparación con la postnatal significó importantes avances ya que los pacientes tratados con esta cirugía tenían menor necesidad de derivación, menor grado de discapacidad, mayor puntaje global para el desarrollo mental y menor riesgo de muerte fetal, neonatal o infantil.

Sin embargo, las necesarias aperturas y suturas de los tejidos maternos que implicaba la cirugía abierta, se asociaron con riesgo de parto prematuro, ruptura de membranas, desprendimiento de placenta y dehiscencia uterina. Además, obligaba a la realización de cesárea en partos posteriores.

Además, esta técnica requiere la manipulación de tejidos fetales que por su contenido de agua y naturaleza gelatinosa son extremadamente frágiles. Por ello, Fontecha et al., entre 2009 y 2012, desarrollaron la técnica “Patch & Sealant” en la que se utilizaba un sellador para fijar el parche sobre la malformación y evitar su manipulación y sutura.

Por otro lado, con el fin de disminuir la tasa de complicaciones obstétricas asociadas a la cirugía prenatal abierta, se estudió la viabilidad del cierre del defecto mediante fetoscopia. En este sentido, a partir de 2008, Kohl et al. llevaron a cabo tres de las series más grandes en relación a la corrección del MMC mediante cirugía

mínimamente invasiva. El procedimiento lo realizaron utilizando 3 trócares de 5 mm de diámetro e incorporando 2 técnicas (la monitorización multimodal por ultrasonido y PACI) que proporcionaban mayor seguridad y visibilidad a esta cirugía.

Aunque demostraron que el cierre del defecto mediante esta técnica era posible y que disminuía los riesgos asociados a laparotomía e histerotomía (dehiscencia uterina, sangrados, dolor materno etc.), los resultados no fueron alentadores en cuanto a: ruptura prematura de membranas, parto prematuro y cierre completo de la lesión; ya que se le atribuyeron mayores tasas que a la cirugía prenatal abierta. La persistencia de fugas por la inserción de los 3 trócares favorecía la separación de las membranas, con resultado final de ruptura y parto prematuro. Además, a la mayoría de los fetos tuvieron que reintervenirlos tras el nacimiento por no haberse solucionado por completo el cierre del defecto intraútero.

Cuando parecía que los resultados obtenidos no aportaban suficientes beneficios frente a los riesgos, a favor de la reparación mediante técnicas fetoscópicas, Belfort et al. (2017) desarrollaron un abordaje fetoscópico que mitiga las complicaciones tanto de la reparación abierta como de la fetoscópica percutánea.

A diferencia de Kohl et al. o Pedreira et al., que accedían al útero de forma percutánea y transabdominal, Belfort et al. realizan laparotomía y exteriorizan el útero. Además, suturan las membranas fetales a la pared uterina mediante hilos absorbibles y disminuyen el número de trócares a 2 de menor tamaño (4 mm). Probablemente estos cambios proporcionan mayor resistencia de las membranas a las fuerzas de cizallamiento producidas durante la inserción de los puertos y mayor capacidad para soportar la presión por acumulación de líquido amniótico, que tras filtrarse por las incisiones de los puntos de acceso, se acumula entre las membranas fetales y la pared uterina.

En relación con las cirugías anteriores (abierta y fetoscópica de 3 puertos) esta técnica presenta menor morbilidad materna y fetal, menor riesgo de ruptura prematura de membranas y de parto prematuro. Además, ha demostrado que es posible conseguir una gestación a término (38 semanas) con parto vaginal. Aun así,

un porcentaje importante de los fetos (36%) continúa requiriendo una reparación posterior al nacimiento por persistencia de fugas de LCR por el defecto.

Por ello, con el objetivo de maximizar el cierre hermético de la lesión con el menor trauma posible para los delicados tejidos fetales y disminuir el trauma materno, Peiró et al. desarrollaron la cirugía fetoscópica de acceso único (SAFE) en la que se utiliza un único trocar de 2,7 mm para, mediante la técnica "Patch & Sealant" cerrar y sellar un defecto de MMC creado quirúrgicamente en un modelo ovino.

En comparación con la cirugía abierta, esta técnica evita suturar tejidos fetales y permite que el cierre del defecto se realice cuando la consistencia gelatinosa de los tejidos fetales impediría aplicar sutura. En comparación con las otras técnicas fetoscópicas, SAFE logra mayores tasas de cierre del defecto.

Sin embargo, uno de los principales problemas de la reparación mediante cirugía fetoscópica con exteriorización uterina es la pérdida de LCR a través del defecto una vez suturado. Esta técnica no utiliza ni parches ni pegamentos. Por lo tanto, y habiéndose constatado que la técnica "Patch & Sealant" se puede llevar a cabo mediante fetoscopia a través de 2 o 1 trocar, incluir este método de cierre hermético podría ayudar a poner fin a las fugas de LCR.

Por otro lado, una de las críticas a los MMC creados quirúrgicamente es que la pérdida de LCR comienza a la mitad de la gestación, en contraste a los humanos afectados, en los que la pérdida ocurre desde el principio. Esta circunstancia, unida a que el defecto se crea en un animal sano y con capacidad de regeneración, hace que sea posible que los resultados neurológicos obtenidos sean mejores que los que obtuvieran al aplicarlo en humanos.

Además, considerando que el tiempo quirúrgico puede estar relacionado con la ruptura prematura de membranas convendría profundizar en investigar formas que disminuyan el tiempo empleado en la cirugía mediante fetoscopia, para, como mínimo, asemejarse a los menores tiempos de la cirugía abierta. El número de trocares empleado también está relacionado con la ruptura prematura de membranas,

por lo que en este sentido, podría estar justificado comenzar a utilizar la técnica SAFE (1 trocar con parche y sellador) en humanos.

Las investigaciones sobre distintos tipos de andamiaje (mediante células de diferente origen, factores de crecimiento y nutrientes) también pretenden dar solución a las pérdidas de LCR y, a su vez, promover la epitelización completa del defecto antes del parto.

En los estudios encaminados a la reparación del MMC fetal mediante andamiaje se han observado resultados prometedores. Mientras que unos reconocen que aún no se ha logrado la preservación completa de la médula espinal, sobre otros existen dudas, ya que presentan limitaciones significativas en su diseño y ejecución. Todo ello apunta a la necesidad de más estudios con documentación precisa del proceso y resultados.

Con el objetivo de proporcionar una terapia personalizada y teniendo en cuenta la dificultad de disponer de una cantidad suficiente de tejido epitelial fetal, se está investigando, de forma experimental en animales, la viabilidad de las iPSCs para cubrir el defecto. Sin embargo, esta técnica prometedora se encuentra aún con grandes obstáculos al haberse constatado un menor peso y longitud corporal de los individuos tratados.

Los resultados que se están obteniendo en el campo de la corrección del MMC son esperanzadores. Los avances que actualmente se están desarrollando en la cirugía prenatal prometen mejores resultados tanto para el feto como para la madre, a corto – medio plazo, mientras que otras líneas de investigación como la TRASCET necesitarán de más tiempo hasta realizarse en humanos.

En resumen, son muchos los avances realizados y más los logros por venir. Habrá que desarrollar cuantos instrumentos y líneas de investigación se consideren de interés para, en definitiva, disminuir los riesgos materno-fetales y lograr que esta malformación congénita pase a los anales de la historia médica, a ser posible, en un más corto que largo espacio de tiempo.

Recursos materiales, personales y equipos interdisciplinares deberán ser los “mimbres” con los que “tejer” todas y cuantas soluciones viables y creativas se estimen oportunas para superar esta malformación.

6. CONCLUSIONES

- La cirugía prenatal presenta beneficios en cuanto al pronóstico fetal, en comparación con la cirugía postnatal.
- La cirugía prenatal abierta es la técnica quirúrgica que menor tiempo de ejecución requiere para su aplicación en humanos pero supone ciertos riesgos como la ruptura prematura de membranas, parto prematuro o la obligación de realizar cesárea en embarazos posteriores.
- La cirugía prenatal fetoscópica percutánea (3 trócares) permite evitar una cesárea en embarazos posteriores pero presenta mayor riesgo de ruptura prematura de membranas y parto prematuro en comparación con la cirugía prenatal abierta.
- La cirugía fetoscópica con exteriorización uterina (2 trócares) presenta menor riesgo de parto prematuro, disminuye los riesgos maternos y permite el parto vaginal, aunque aún podría mejorarse en cuanto al cierre del defecto.
- Si la técnica SAFE (1 trocar y parche y sellador) consiguiera los mismos resultados en humanos que los logrados con animales, se podría reducir aún más el riesgo de ruptura prematura de membranas, parto prematuro y fugas de LCR .
- La técnica de parche y sellador consigue el cierre hermético del defecto, evita la manipulación del tejido fetal y permite el abordaje del defecto en edades gestacionales más tempranas, pudiendo utilizarse mediante fetoscopia de 1 o 2 trócares.
- La combinación de cirugía fetoscópica con exteriorización uterina y reparación del defecto mediante parche y sellador parece ser la mejor opción entre las técnicas quirúrgicas actuales.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez JA, Suárez C. Educación física para la integración de alumnos con espina bífida. Editorial Club Universitario; 2004.
2. Vuletín F. Nuevos desafíos en cirugía fetal. *Rev Chil Pediatr.* 2013;84(3):254-261.
3. Heffez DS, Aryanpur J, Hutchins GM, Freeman JM. The paralysis associated with myelomeningocele: clinical and experimental data implicating a preventable spinal cord injury. *Neurosurg.* 1990;26(6):987-992.
4. Paek BW, Farmer DL, Wilkinson CC, Albanese CT, Peacock W, Harrison MR, Jennings RW. Hindbrain herniation develops in surgically created myelomeningocele but is absent after repair in fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(5):1119-1123.
5. von Koch CS, Compagnone N, Hirose S, Yoder S, Harrison MR, Farmer DL. Myelomeningocele: characterization of a surgically induced sheep model and its central nervous system similarities and differences to the human disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(4):1456-1462.
6. CDC Centers for Disease Control and Prevention. Centros para el control y prevención de enfermedades de los EEUU. Acceso: <https://www.cdc.gov/ncbddd/spinabifida/data.html>
7. EUROCAT Red europea de registros de población para la vigilancia epidemiológica de las anomalías congénitas. Acceso: <http://www.eurocat-network.eu/accessprevalencedata/prevalencetables>.
8. Bermejo-Sánchez E, Cuevas L, Martínez-Frías ML. Informe de Vigilancia Epidemiológica de anomalías congénitas en España sobre los datos registrados por el ECEMC en el período 1980-2011. *Boletín del ECEMC, revista de dismorfología y epidemiología: Estudio colaborativo español de malformaciones congénitas.* 2012; 6(2):73-110.
9. Watanabe M, Kim AG, Flake AW. Tissue engineering strategies for fetal mielomeningocele repair in animal models. *Fetal Diagn Ther.* 2015;37:197-205.

10. Otayza MF. Cirugía fetal del mielomeningocele. *Rev Med Clin Las Condes*. 2015;26(4):442-451.
11. Peiró JL, Encinas JL. Cirugía fetal del mielomeningocele: de los resultados experimentales a la evidencia clínica. *Cir Pediatr*. 2012;25:1-3.
12. Harrison MR, Filly RA, Golbus MS, Berkowitz RL, Callen PW, Canty TG, et al. Fetal treatment 1982. Landmark consensus statement by fetal surgeons at the Kroc Foundation Symposium providing the first patient selection guidelines for fetal hydrocephalus and other congenital anomalies. *N Eng J Med*. 1982;307:1651-1652.
13. Adzick NS, Thom EA, Spong CY, Brock III JW, Burrows PK, Johnson MP, et al. Fetal treatment 1982. Landmark consensus statement by fetal surgeons at the Kroc Foundation Symposium providing the first patient selection guidelines for fetal hydrocephalus and other congenital anomalies. (MOMS). *N Eng J Med*. 2011. March 17;364, nº11.
14. Moldenhauer JS, Soni S, Rintoult NE, Spinner SS, Khalek N, Martinier-Poyer J, et al. Fetal myelomeningocele repair: the post MOMNS experience at the Children' Hospital of Philadelphia. *Fetal Diagn Ther*. 2015;37(3):235-240.
15. Belfort MA, Whitehead WE, Shamsirsaz AA, Bateni ZH, Oluyote OO, Oluyote OA et al. Fetoscopic open neural tube defect repair. Development and refinement of a two-port, carbon dioxide insufflation technique. *Obstet Gynecol*. 2017;129(4):734-743.
16. Fontecha CG, Peiró 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;146:174-179.
17. Sanchez e Oliveira RC, Valente PR, Abou-Jamra MC, Araujo A, Saldiva PH, Araujo D. Biosynthetic cellulose induces the formation of a neoduramater following pre-natal correction of meningomyelocele in fetal sheep. *Acta Cir Bras*. 2007;22:174-181.
18. Eggink AJ, Rolofs LA, Feitz WF, et al. Delayed intrauterine repair of an experimental spina bífida with a collagen biomatrix. *Pediatr Neurosurg*. 2008;44(1)29-35.

19. Carreras E, Maroto A, Arévalo S, Rodó C, Fontecha CG, Ruiz C, et al. Tratamiento prenatal del mielomeningocele. *Diagn Prenat*. 2012;23(4):148-153.
20. Bruner JP, Richards WO, Tulipan NB, Arney TL. Endoscopic coverage of fetal myelomeningocele in utero. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(1):153–158
21. Bruner JP, Tulipan NB, Richards WO, Walsh WF, Boehm FH, Vrabcak EK. In utero repair of myelomeningocele: a comparison of endoscopy and hysterotomy. *Fetal Diagn Ther*. 2000;15:83–88.
22. Farmer DL, von Kock CS, Warwich JP, Danielpour M, Gupta N, Lee H, et al. In utero repair of mielomeningocele. Experimental pathophysiology, initial clinical experience, and outcomes. *Arch Surg*. 2003;138:872-878.
23. Kohl T, Tchatcheva K, Merz W, Wartenberg HC, Heep A, Müller A, et al. Percutaneous fetoscopic patch closure of human spina bifida aperta: advances in fetal surgical techniques may obviate the need for early postnatal neurosurgical intervention. *Surg Endoscop*. 2009;23:890-895.
24. Kohl T. Percutaneous minimally invasive fetoscopic surgery for spina bifida aperta. Part I: surgical technique and perioperative outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(5):515-524.
25. Degenhardt J, Schürg R, Winarno A, Oehmke F, Khaleeva A, Kawecki A, et al. Percutaneous minimal-access fetoscopic surgery for spina bifida aperta. Part II: maternal management and outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(5):525-531.
26. Lapa Pedreira DA, Zanon N, Nishikuni K, Sá RAM, Acacio GL, Kontopoulos EV, et al. Endoscopic surgery for the antenatal treatment of myelomeningocele: the CECAM trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214:11.e1-11.e11.
27. Meuli M, Moehrlen U. Fetal surgery of myelomeningocele: a critical appraisal. *Eur J Pediatr Surg*. 2013;23:(2)103-109.
28. Kabagambe SK, Jensen GW, Chen YJ, Vanover MA. Fetal Surgery for Myelomeningocele: A systematic review and meta-analysis of outcomes in fetoscopic versus open repair. *Fet Diagn Ther*. 2017; Sep 15.

29. Fontecha CG, Peiró JL, Sevilla JJ, Agirre 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;156(2):171-176.
30. Peiró 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;27(10):3835-3840.
31. De Coppi P, Bartsch GJ, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol.* 2007;25(1):100-106.
32. Tabata Y. Regenerative inductive therapy based on DDS technology of protein and gene. *J Drug Target.* 2006;14(7):483-495.
33. Saadai P, Wang A, Nout YS, Downing TL, Lofberg K, Beattie MS, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived neural crest stem cells integrate into the injured spinal cord in the fetal lamb model of myelomeningocele. *J Pediatr Surg.* 2013;48(1):158-163.
34. Brown EG, Saadai P, Pivetti CD, Beattie MS, Bresnahan JC, Wang A, et al. In utero repair of myelomeningocele with autologous amniotic membrane in the fetal lamb model. *J Pediatr Surg.* 2014;49(1):133-137.
35. Gutiérrez-Aranda I, Ramos-Mejía V, Bueno C, Muñoz-López M, Real PJ, Macía A, et al. Human induced pluripotent stem cells develop teratoma more efficiently and faster than human embryonic stem cells regardless the site of injection. *Stem Cells.* 2010;28(9):1568-1570.
36. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol.* 2008;26(1):101-106.
37. Pham C, Greenwood J, Cleland H, Woodruff P, Maddern G. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review. *Burns.* 2007;33(8):946-957.
38. Umezawa A, Kajiwara A, Tanemoto T, Wada S, Karibe J, Ihara N, et al. Fetal therapy model of myelomeningocele with three-dimensional skin using amniotic

fluid cell-derived induced pluripotent stem cells. *ISSCR. Stem Cell Reports.* 2017;8(6):1701-1713.

39. Biernaskie J, Sparling JS, Liu J, Shannon CP, Plemel JR, Xie, Y, et al. Skin-derived precursors generate myelinating Schwann cells that promote remyelination and functional recovery after contusion spinal cord injury. *J Neurosci.* 2007;27(36)9545–9559.

40. Hu YF, Gourab K, Wells C, Clewes O, Schmit BD, Sieber-Blum M. Epidermal neural crest stem cell (EPI-NCSC) mediated recovery of sensory function in a mouse model of spinal cord injury. *Stem Cell Rev.* 2010;6(2):186–198.

41. Sieber-Blum M. Epidermal neural crest stem cells and their use in mouse models of spinal cord injury. *Brain Res Bull.* 2010;83(5):189–193.

42. Wang A, Tang Z, Park IH, Zhu Y, Patel S, Daley GQ, et al. Induced pluripotent stem cells for neural tissue engineering. *Biomaterials.* 2011;32(22):5023–5032.

43. Klein JD, Turner CG, Steigman SA. Amniotic mesenchymal stem cells enhance normal fetal wound healing. *Stem Cells Dev.* 2011;20(6):969-976

44. Dionigi B, Ahmed A, Brazzo III J, Connors JP, Zurakowski D, Fauza DO. Partial or complete coverage of experimental spina bifida by simple intra-amniotic injection of concentrated amniotic mesenchymal stem cells. *Med School. J Pediatr Surg.* 2015;50(1)69-73.

45. Friszer S, Dhombres F, Morel B, Zerah M, Jouannic JM, Garel C. Limited dorsal myelochisis: a diagnostic pitfall in the prenatal ultrasound of fetal dysraphism. *Fetal Diagn Ther.* 2017;41(2):136-144.