

Cirugía prenatal de la espina bífida

J.L. Peiró Ibáñez

Director del Cincinnati Fetal Center. Pediatric General and Thoracic Surgery Division.
Cincinnati Children's Hospital Medical Center (CCHMC). Cincinnati, Ohio, USA.

INTRODUCCIÓN

La espina bífida es una malformación congénita en la cual la columna vertebral queda separada (bífida) como resultado del cierre fallido del tubo neural embrionario, durante la cuarta semana postfecundación. En su forma más común y grave aparece la *spina bífida aperta* (SBA), donde la médula espinal está expuesta dorsalmente, como un libro abierto, formando la placoda neural que descansa con frecuencia en un saco meníngeo, la llamada espina bífida quística o mielomeningocele (MMC)⁽¹⁾. Por el contrario, también puede mostrarse expuesta al exterior, ubicada en su canal medular sin formación quística, siendo la llamada mielosquisis, raquisquisis o mielocelo. En estas dos formas la duramadre está abierta y las vértebras en el nivel de la lesión carecen de arcos óseos posteriores, por lo que están incompletas dorsalmente. A su vez no existe cobertura de musculo fascia o piel.

Dentro del espectro de espina bífida⁽²⁾ también se encuentran los defectos del tubo neural (DTN) cubiertos, cuando existe cobertura cutánea, ya sea como *spina bífida occulta*, o como una protrusión meníngea en el meningocele. Estas formas de DTN cubierto no conllevan importantes efectos nocivos en su evolución y suelen tener un excelente pronóstico.

La SBA conduce en muchos casos a discapacidades devastadoras de por vida⁽³⁾. Los individuos con MMC suelen exhibir al nacimiento un déficit neurológico motor y sensorial por debajo del nivel metamérico de la lesión. Esto puede resultar en debilidad de las extremidades inferiores o parálisis que dificulta o impide caminar, y falta de sensibilidad que aumenta el riesgo de úlceras por presión. La incontinencia

urinaria y fecal, así como la disfunción sexual se producen con frecuencia. Se observan también anomalías ortopédicas, como talipes (pies equinovaros o zambos), contracturas, dislocación de cadera, escoliosis y cifosis. Existe una fuerte correlación entre el nivel axial de la lesión y el grado de supervivencia y de discapacidad que experimentan los individuos con MMC. Por fortuna, pocos casos afectan a niveles torácicos, y la mayoría se centran en la región lumbosacra.

La presencia de malformación de Arnold-Chiari, con una fosa posterior colapsada y el cerebelo herniado por el *foramen magnum* occipital, es casi una constante a mitad de gestación en fetos con SBA. En estos momentos, en la mitad de los casos, ya se vislumbra una discreta, moderada o significativa ventriculomegalia en los ventrículos laterales que suele progresar hasta dilataciones importantes que conforman la hidrocefalia fetal. En la mayoría de los casos, esta hidrocefalia va a requerir postnatalmente una derivación ventrículo-peritoneal (VP), con todos los problemas de reintervenciones por infección u obstrucción que estos dispositivos ocasionan. Estas anomalías neurológicas asociadas son responsables de la mayor parte de la morbilidad y mortalidad neurológicas principales. Si hay disfunción del tronco encefálico, estos pacientes pueden tener dificultades para tragar, y la parálisis de las cuerdas vocales puede provocar apnea y estridor⁽⁴⁾. Es causa de muerte neonatal en el 35% de los casos sintomáticos.

El tratamiento postnatal a las pocas horas del nacimiento pretende preservar el tejido espinal de mayor daño y evitar la infección al eludir el contacto con el exterior, aunque las secuelas ya estarán establecidas en ese momento y habrá que asumirlas y tratarlas por las diferentes especialidades pediátricas. La vejiga neurógena precisará de cateterismos intermitentes y control por el urólogo pediátrico, mientras que las deformidades ortopédicas de manejo por el rehabilitador y el cirujano ortopédico pediátrico.

Casi el 75% de los pacientes con espina bífida sobreviven hasta la edad adulta temprana. Un enfoque de forma multidisciplinar, en equipo, centrado en el paciente para proporcionar servicios médicos, educativos, sociales y de desarrollo, puede mejorar la calidad de vida de estos pacientes. El gasto para las

Correspondencia: Dr. José Luis Peiró Ibáñez. Profesor de Cirugía de la Universidad de Cincinnati. Director de Cirugía Fetal Endoscópica del Cincinnati Fetal Center. División de Cirugía Pediátrica. Cincinnati Children's Hospital Medical Center (CCHMC). 3333 Burnet Avenue. Cincinnati, 45299 Ohio, USA.

E-mail: jose.peiro@cchmc.org

Aceptado: Abril 2019

familias y el sistema de salud que supone un niño nacido con MMC es muy elevado⁽⁵⁾ y se estima en más de 500.000 € por paciente. La prevalencia estimada de nacimientos de espina bífida es de 3,5 por 10.000 nacidos vivos, con variaciones en la población y la geografía, por lo que los casos anuales son abundantes y con una relevancia enorme⁽⁶⁾.

ETIOLOGÍA

La mayoría de los defectos del tubo neural abierto ocurren esporádicamente, sin embargo, se cree que tienen una etiología multifactorial⁽⁷⁾. Los factores genéticos y ambientales se están discutiendo como posibles causas de esta malformación. En la mayoría de los casos, la SBA se manifiesta como un trastorno solitario, pero en algunos se asocia con anomalías cromosómicas o ciertos síndromes genéticos. La trisomía 18 es la aneuploidía más comúnmente asociada con SBA. Otros trastornos genéticos asociados incluyen el síndrome de Meckel-Gruber, Roberts, Jarcho-Levin, trisomía 13 y defectos del tubo neural ligado al X, entre otros⁽⁸⁾.

Las diferencias en la incidencia según la ubicación geográfica, el nivel socioeconómico o la estación del año, sugieren que los factores ambientales también desempeñan un papel importante. Se sabe que algunos fármacos como ciertos anti-epilépticos son teratogénicos y potencialmente pueden inducir un DTN. La relación entre la deficiencia de ácido fólico y la incidencia de DTN está bien establecida. La deficiencia de folato y las mutaciones en la vía metabólica del folato inducen la DTN, por lo que la suplementación de folato periconcepcional tiene el potencial de reducir la incidencia de estas malformaciones.

FISIOPATOLOGÍA

La hipótesis de dos eventos (*two-hit*) se desarrolló a la luz de las evidencias obtenidas de los estudios experimentales que se llevaron a cabo para comprender el progreso natural prenatal de la SBA⁽⁹⁾. En consecuencia, mientras que el primer evento es un defecto de neurulación, el segundo efecto es la destrucción secundaria de la médula espinal por el contacto con el medio ambiente intrauterino, principalmente de líquido amniótico. En los estudios morfológicos realizados en fetos humanos se demostró que, aunque todos los fetos con SBA en las primeras semanas de la gestación tenían un defecto de neurulación, las vías sensoriomotoras estaban histológicamente intactas y se desarrollaba el daño en el tejido neural de forma progresiva en las semanas siguientes.

Estos hallazgos se complementan con los estudios intrauterinos en distintos modelos animales a los que se les produce una lesión quirúrgica de laminectomía y exposición de la médula espinal, en los que se observa una pérdida progresiva de tejido espinal y de función motora a medida que avanza la gestación⁽¹⁰⁾.

La neuroinflamación se inicia pronto, pero los efectos nocivos del contacto con el líquido amniótico suceden al final de la gestación, durante el tercer trimestre cuando la concentración de meconio aumenta. Podremos asistir a como la médula espinal pierde tejido hasta casi una completa destrucción de esta, según hemos visto en modelos animales⁽¹¹⁾. La médula espinal expuesta inicia un proceso neuroinflamatorio con pérdida neuronal progresiva que altera el balance del sistema inhibidor endógeno (CD200-CD200R), que promueve la activación de la microglia quiescente y se segregan citoquinas proinflamatorias que van a generar una proliferación de astrocitos, como hemos demostrado en la lesión de fetos de rata con espina bífida inducida por ácido retinoico⁽¹²⁾.

Se produce una astrogliosis que, a su vez, dispara la vía de la apoptosis extrínseca en las células neurales de la lesión de forma progresiva en la gestación.

La fuga de líquido cefalorraquídeo (LCR) por el defecto espinal junto con la médula anclada, inherente a la malformación, condicionan el colapso de la fosa posterior y la herniación del cerebelo al canal cervical⁽¹³⁾, configurando la malformación de Arnold-Chiari tipo II, que colapsa el cuarto ventrículo y obstruye el flujo normal de LCR. Esta obstrucción acabará por generar dilatación de los ventrículos laterales cerebrales e hidrocefalia. Este hecho se constata en modelos de SBA inducidos quirúrgicamente en animales que tras permitir el escape de LCR por la lesión se genera una herniación cerebelosa fetal⁽¹⁴⁾.

CRIBAJE Y DIAGNÓSTICO PRENATAL

La SBA o el MMC puede diagnosticarse prenatalmente en más del 80% de los casos mediante la fetoproteína sérica materna y la ecografía obstétrica de alta resolución. Estas pruebas pueden ir seguidas de amniocentesis para el análisis de acetilcolinesterasa, fetoproteína y estudio cromosómico. La resonancia magnética fetal (RM) podrá ayudar a diferenciar un defecto abierto de uno cerrado⁽¹⁵⁾.

Desde el punto de vista ecográfico, la espina bífida se puede detectar antes de la duodécima semana postmenstrual al observar irregularidades de la columna ósea o una protuberancia dentro del contorno posterior de la espalda fetal. Los signos indirectos como la indentación frontal del cráneo de forma característica (signo de limón) y un cerebelo displásico herniado (signo de la banana) están presentes en la mayoría de los casos de SBA antes de la semana 24 de gestación⁽¹⁶⁾. Otros hallazgos ecográficos comunes son la ventriculomegalia, malformación de Chiari, obliteración de la cisterna magna, parálisis de las extremidades inferiores o deformidad del pie zambo.

La ecografía seriada puede usarse para identificar progresión de la enfermedad. También es muy útil para determinar el nivel de la lesión atendiendo a la abertura espinal ósea. El nivel vertebral se puede evaluar en un plano sagital; la última costilla corresponde a T12, la parte superior del ala ilíaca a L5/S1 como referencias. Sin embargo, la evaluación ecográfica del SNC fetal o neurosonografía es limitada debido

a factores técnicos y la osificación progresiva del cráneo, lo que complica la visualización de las estructuras intracraneales. Por lo tanto, la RM fetal con secuencias ultrarrápidas ponderadas en T2, se usa de forma complementaria para una mejor evaluación del SNC fetal^(17,18). La detección de esta malformación en un periodo precoz o medio de la gestación permitirá la posibilidad de informar a los padres y de ofrecer una potencial reparación prenatal del defecto.

El diagnóstico prenatal temprano permite predicaciones sobre los déficits neurológicos y el estado ambulatorio estimado del bebé. El parámetro más significativo utilizado para el deterioro neurológico es el nivel anatómico de la lesión, pero la variabilidad es importante en la afectación postnatal, por lo que han surgido nuevas evaluaciones ecográficas focalizadas en hacer una estimación del nivel motor funcional mediante el análisis de los movimientos de flexo-extensión de las extremidades inferiores del feto de forma activa y espontánea⁽¹⁹⁾.

Una estimación temprana del pronóstico de un niño podría ayudar en el asesoramiento prenatal, dando a los futuros padres tiempo para aprender sobre la condición de su hijo. La estimación neurológica motora fetal nos dictará el objetivo a preservar en una potencial cirugía prenatal y servirá como monitorización de la preservación de dicha función durante el resto de la gestación.

Después de la confirmación diagnóstica, deberemos analizar al paciente fetal en profundidad para considerar si cumple criterios y es candidato a una reparación prenatal.

Los criterios de inclusión y exclusión establecidos en el ensayo MOMS⁽²⁰⁾ todavía se emplean en la mayoría de los centros de terapia fetal. La RM fetal se utiliza principalmente para evaluar el grado de hernia del cerebelo y para evaluar la anatomía fetal del cerebro y la médula espinal. En general, los hallazgos como las heterotopias ventriculares y el adelgazamiento del cuerpo caloso, no se consideran contraindicaciones para la cirugía fetal⁽²¹⁾. La presencia de una siringomielia debe considerarse de forma individual, ya que con cirugía fetal podría mejorar.

La ecografía fetal se utiliza para evaluar otras anomalías asociadas en el feto, evaluar el movimiento de la pierna y el pie, definir el nivel óseo y el nivel de la piel de la lesión MMC, y definir la presencia o ausencia de un saco quístico en la lesión cuando es un MMC. Es esencial excluir las lesiones cubiertas por piel, como el meningocele, ya que no precisan intervención fetal. La ausencia de malformación de Chiari e hidrocefalia, un saco de pared gruesa y valores normales de α -fetoproteína y acetilcolinesterasa de líquido amniótico sugieren un disrafismo cubierto de piel⁽¹⁵⁾. Un nivel sacro por debajo de S2 o una cifosis significativa excluyen por ahora al paciente de la cirugía fetal.

TRATAMIENTO PRENATAL

El fundamento de la cirugía fetal es que el daño en la médula espinal expuesta es progresivo durante la gestación y, por lo tanto, la reparación prenatal temprana de la lesión

puede prevenir el daño continuado y mejorar el resultado clínico⁽²²⁾. Además, la reparación de la espina bífida, si es estanca, detiene la fuga de LCR de la lesión, lo que permite la reversión o la resolución de la hernia del cerebelo. La cirugía fetal se ha vuelto cada vez más común en el tratamiento del mielomeningocele. La justificación para realizar una cirugía fetal proviene de estudios en animales en los que se ha demostrado que, mediante la reparación intrauterina de la lesión de mielomeningocele, se puede prevenir el daño intrauterino progresivo del tejido neural debido a la exposición al líquido amniótico.

Se hicieron esfuerzos significativos en la última década del pasado siglo para corregir la SBA en el periodo prenatal. Michedja realizó laminectomías para emular espina bífida en fetos de primates. Después del nacimiento, un grupo sin reparación desarrolló paraplejía e incontinencia, mientras que el otro grupo con reparación prenatal mostró un desarrollo neurológico normal. Meuli et al. crearon MMC en fetos de ovejas⁽²³⁾, todas sometidas a una laminectomía que exponía la médula espinal a los 75 días de gestación. A los 100 días de gestación, un grupo se sometió a una nueva operación de reparación con un colgajo dorsal ancho invertido y en otro grupo no se hizo nada hasta el nacimiento. Después del nacimiento, las ovejas con reparación intrauterina mostraron una función motora casi normal, continencia normal y sensación intacta. El grupo control mostró paraplejía e incontinencia.

Estos estudios experimentales demostraron la importancia de proteger la médula espinal del líquido amniótico y alentaron la cirugía fetal humana para la corrección del mielomeningocele.

Inicialmente, solo se consideraba indicada la cirugía prenatal en los fetos afectados por una patología letal o de muy mal pronóstico, pero la morbilidad y secuelas importantes, junto a los prometedores resultados de la citada cirugía experimental en modelos animales condujeron a considerar la cirugía fetal como una posible aplicación en la reparación del MMC. Se introdujo la reparación prenatal del MMC como un intento de limitar el daño intrauterino adicional a la médula espinal.

Bruner et al. publicaron el primer reporte de reparación intrauterina del MMC⁽²⁴⁾ donde 4 fetos con MMC se sometieron a una cobertura endoscópica de la lesión espinal entre las 22 semanas y las 24 semanas de gestación. La cirugía fetoscópica implicó colocar un injerto de piel materna sobre el defecto de la columna vertebral. Un feto nació una semana después de la operación y murió en la sala de parto por prematuridad extrema. Otro feto murió intraoperatoriamente por un desprendimiento de la placenta. En los otros dos pacientes, fue necesario el cierre definitivo neonatal de la lesión espinal, ya que los injertos de piel no eran adecuados y en ambos casos hubo que colocar derivaciones ventrículo-peritoneales. Estos resultados poco alentadores motivaron que se abandonara el abordaje fetoscópico en la reparación prenatal del MMC y se ahondara en las técnicas con útero abierto.

Cirugía fetal abierta para la reparación de la espina bífida

En 1997, la reparación del MMC humano se realizó mediante apertura uterina o cirugía fetal abierta en la Universidad de Vanderbilt⁽²⁵⁾ y también en el *Children's Hospital* de Filadelfia (CHOP)⁽²⁶⁾. Abrir el útero para la cirugía fetal fue un gran desafío, e inicialmente solo estaba indicado en fetos con un alto riesgo de muerte prenatal. La experiencia inicial en estos grupos sugirió que los pacientes operados intraútero tenían una menor incidencia de herniación cerebelosa que los niños tratados postnatalmente y que esta reversión de la malformación de Chiari se podía demostrar a las pocas semanas de la reparación mediante resonancia magnética fetal.

Finalmente, se decidió diseñar y desarrollar un ensayo randomizado⁽²⁰⁾ en 2003 para responder con mayor evidencia a estas cuestiones. El estudio controlado aleatorizado MOMS fue realizado en 3 centros de EE.UU. y publicado en febrero de 2011. Demostró definitivamente que la cirugía prenatal puede significativamente reducir a la mitad la necesidad de derivación VP en el primer año de vida y de incrementar la probabilidad de deambulación independiente a los 30 meses de vida postnatal. Obviamente, estos beneficios se asociaron a un mayor riesgo materno-fetal, principalmente de prematuridad, y mayor morbilidad materna como dehiscencia de la cicatriz uterina y necesidad de partos por cesárea en la gestación actual y sucesivas.

Un subestudio de esta cohorte de pacientes demostró posteriormente que los fetos con SBA tratados prenatalmente cuando tenían una ventriculomegalia superior a 15 mm no tenían las mismas posibilidades de evitar la necesidad de derivación VP, siendo su índice de requerimientos solo ligeramente inferior a los reparados postnatalmente⁽²⁷⁾. Aun así, la mayoría se beneficiaron de la implantación de la derivación a una edad más tardía y con posibilidades de ser sometidos a una ventriculostomía endoscópica del tercer ventrículo.

Estos resultados, fruto de un estudio aleatorizado de calidad como el MOMS trial, han motivado que se considere la cirugía fetal abierta para la reparación de la SBA como *gold standard* del tratamiento prenatal.

Una vez expuesto el útero por laparotomía materna, la histerotomía se realiza con un dispositivo de grapado uterino reabsorbible (Fig. 1). Algunos autores que no disponen de este recurso simplemente van abriendo la incisión uterina a medida que suturan de forma hemostática las membranas amnióticas al espesor del útero con puntos globales hasta obtener la apertura necesaria para acceder al defecto. El feto se ubica para exponer el defecto de MMC a través de la incisión uterina, y se sujeta al feto para estabilizarlo sin una presión excesiva. Un dispositivo de infusión intrauterino de suero caliente se usa para mantener el feto estable y flotante.

Se inyecta en el feto por vía intramuscular una mezcla de narcóticos y relajantes musculares para proporcionar anestesia suplementaria. El cierre de MMC se realiza de una manera similar a la utilizada para un cierre postnatal clásico. Toda la piel se libera de la placoda, cortando el aracnoides que la



Figura 1. Cirugía fetal abierta del mielomeningocele. Histerotomía con grapas reabsorbibles.

rodea y liberando la conexión al saco circunferencialmente. Después de liberar la placoda neural esta cae libre en el canal medular. El tejido epitelial residual puede aumentar el riesgo de formación de quistes de inclusión dermoide, por lo que se debe reseca.

Se intenta un cierre de varias capas. Si está presente, la duramadre se moviliza y se sutura en la línea media utilizando 4-0 (PDS). Algunos cirujanos optan por aumentar el cierre con un parche de sustituto dural. En algunos casos puede tener que incorporarse con la capa miofascial. La piel se libera amplia y lateralmente para permitir su movilización y el cierre en la línea media. Si se aplica demasiada tensión a lo largo de la línea de sutura de cierre de la piel, la delicada piel fetal puede rasgarse, lo que requiere suturas adicionales. Los defectos grandes de la piel, especialmente cuando no hay saco, no se pueden cerrar primariamente. Un injerto de piel cadavérica descelularizado funciona bien como sustituto cutáneo en estos casos. Se sutura al borde del defecto de la piel con una sutura continua de 4-0 PDS. Algunos cirujanos utilizan los colgajos de rotación y las incisiones relajantes para movilizar los colgajos de piel en lugar del parche. Se cierran después de la histerotomía y la laparotomía materna.

El cierre fetal de un MMC es técnicamente más complejo que el cierre postnatal estándar. El acceso es más pequeño, ya que el cirujano debe trabajar a través de una pequeña ventana uterina y las estructuras son más pequeñas y más delicadas. La placoda neural debe manejarse con más cuidado, ya que es potencialmente funcional. Se debe evitar la pérdida de sangre para evitar la necesidad una transfusión fetal, y la cirugía debe realizarse con celeridad para limitar la exposición del feto al ambiente extrauterino.

Tras los resultados del MOMS, numerosos centros de terapia fetal en Estados Unidos y también a nivel internacional, básicamente en Brasil, Argentina, Suiza y Polonia, entre otros, han adoptado la técnica y los criterios de inclusión para implementar la cirugía fetal abierta de la espina bífida con resultados similares a los presentados en el trial. La cirugía

de MMC fetal debe limitarse a centros de cirugía fetal con un equipo multidisciplinario de expertos comprometido y con alto volumen de pacientes para la mayor seguridad del paciente y unos resultados óptimos. La red de centros de terapia fetal de Norteamérica (NAFTNet) ha establecido un registro para recopilar los resultados de los pacientes que se someten a una reparación de MMC fetal.

A pesar de los buenos resultados obtenidos, la prematuridad sigue siendo el talón de Aquiles de este abordaje, por lo que seguimos buscando técnicas mínimamente invasivas que puedan disminuir este problema.

Cirugía fetoscópica para la reparación de la espina bífida

Debido al riesgo inherente de la cirugía fetal abierta mediante una histerotomía, se han intentado técnicas menos invasivas como la fetoscopia⁽²⁸⁾ con el objetivo final de mejorar la edad de gestación al nacimiento, es decir de prevenir la prematuridad en lo posible. Además, la reducción de la morbilidad materna es definitiva en la fetoscopia al evitar amplias incisiones en el útero que hacen viable un parto vaginal sin temor a una dehiscencia o rotura uterina para la gestación actual y las sucesivas.

Al inicio del desarrollo de la cirugía fetal para MMC en los años 90, se emplearon técnicas endoscópicas para el cierre en modelos animales⁽²⁹⁾. Como ya comentamos, el primer intento de cerrar un MMC fetal humano se reportó en 1997 utilizando una técnica endoscópica para colocar un injerto de piel materna sobre el defecto de la MMC⁽²⁴⁾, pero dos de los cuatro fetos murieron y no se demostró ningún beneficio para los fetos restantes, por lo que cesaron en el intento e iniciaron la cirugía fetal abierta. Los decepcionantes resultados motivaron que no se realizaran más investigaciones sobre los enfoques fetoscópicos durante casi 2 décadas en los EE.UU. Sin embargo, en Europa, Thomas Kohl desarrolló una técnica fetoscópica, utilizando de tres a cinco puertos, completamente percutánea para efectuar una extensa disección del defecto y reparación con parches⁽³⁰⁾. Este grupo de Kohl en Alemania y después el de Pedreira-Lapa en Brasil adoptaron un abordaje fetoscópico totalmente percutáneo, sin laparotomía materna.

Tres de las series más grandes de reparación endoscópica de MMC reportadas en la literatura incluyeron pacientes que se sometieron a reparación prenatal fetoscópica en el Centro Alemán de Cirugía Fetal y Terapia Mínimamente Invasiva^(31,32). La técnica quirúrgica utilizada en Alemania fue iniciada por Thomas Kohl⁽³⁰⁾ en 2006 e implica la inserción transabdominal materna ecoguiada de tres trocares intrauterinos percutáneos de 5 mm, evacuación parcial de líquido amniótico e insuflación de dióxido de carbono. Después, la disección de la placoda neural y la cobertura de la médula espinal con, al menos, un parche de colágeno o teflón. La demostración de la impermeabilidad de la cobertura la hace observando el abultamiento del parche. Después procede a la eliminación del dióxido de carbono y el llenado de la cavidad amniótica con solución isotónica. El cierre de la inserción de

los trocares a nivel uterino no se puede realizar por ser una técnica puramente percutánea y solo se cierran a nivel de piel abdominal⁽³¹⁾.

Hay que remarcar que un cierre hermético del defecto espinal es importante para proporcionar un beneficio clínico al feto, y se pensaba que era difícil lograr este objetivo utilizando las técnicas endoscópicas iniciales. Además, las técnicas endoscópicas que utilizan múltiples puertos fetoscópicos se asocian con una mayor incidencia de ruptura prematura de membranas y un parto prematuro. La serie inicial de Alemania describió 19 pacientes con cierre endoscópico de MMC fetal en el que se produjeron 3 muertes fetales, se suspendieron 3 cirugías debido a hemorragia y se completaron 13 cirugías. El beneficio neurológico fue difícil de demostrar, ya que algunos defectos no estaban completamente cerrados al nacer. Aparecieron inquietudes⁽³³⁾ relacionadas con el tiempo operatorio prolongado, la alta tasa de fuga de líquido amniótico y la separación de las membranas, la alta tasa de parto prematuro y la incapacidad para lograr consistentemente un cierre hermético del defecto de MMC.

Otra serie, el llamado ensayo de cirugía endoscópica para la corrección antenatal del MMC en humanos (CECAM), informó de los resultados obtenidos mediante la reparación fetoscópica en São Paulo, Brasil. En su serie⁽³⁴⁾, Pedreira et al. informan de una técnica modificada que consiste en colocar un parche de biocelulosa sobre la médula espinal y el cierre de la piel fetal sobre el parche. Al igual que Kohl, utiliza una cámara de dióxido de carbono para amniodistensión y también dejan abiertos los orificios de los trocares uterinos en las membranas al ser una técnica totalmente percutánea.

Nuestro grupo inicio, de manera experimental en ovejas, un intento de simplificar la técnica de reparación del MMC fetal, que facilitara la adaptación al abordaje fetoscópico y redujera significativamente el tiempo quirúrgico. El uso de parches inertes⁽³⁵⁾, inicialmente, y después biocompatibles (colágeno y pericardio bovino), combinado con la aplicación de sellantes quirúrgicos⁽³²⁾, demostró ser efectivo para la reparación y el cierre estanco de los defectos en los fetos ovinos. Adicionalmente, esta técnica de *patch and glue* era totalmente adaptable a la fetoscopia⁽³⁶⁾ e incluso permitió su aplicación mediante un único puerto de acceso uterino⁽³⁷⁾ en este modelo animal.

Ante estos resultados experimentales alentadores, nos decidimos a aplicarlo en clínica humana⁽³⁸⁾, inicialmente en 9 casos por cirugía fetal abierta, y posteriormente en otro estudio piloto consecutivo en 12 casos de SBA fetal mediante fetoscopia con el uso de dos puertos de 10 Fr (3 mm) y exposición del útero a través de mini-laparotomía materna para mejor posicionamiento del feto, limitar la presión de dióxido de carbono requerida en la amniodistensión, y poder suturar los orificios de las membranas una vez retirados las cánulas intrauterinas.

Los casos por cirugía abierta⁽³⁹⁾, utilizando un parche de colágeno cubierto por una capa de sellante quirúrgico CoSeal® (Baxter), al igual que nuestros resultados en las ovejas, funcionaron muy bien, obteniendo un cierre hermético



Figura 2. Reparación fetoscópica de la espina bífida mediante técnica de *patch ans glue*.

de la lesión al nacimiento con mejora y reversión del Chiari en la mayoría de los casos. Algunos casos precisaron de un tiempo postnatal con apósitos para acabar de epitelizar toda la piel, pero no tuvieron fugas de LCR. La función motora se preservó al nivel estimado prequirúrgico y mejoró entre 1 y 4 niveles el nivel anatómico. Al ser una cirugía fetal abierta la edad gestacional al nacimiento rondaba las 33 semanas de gestación como estaba previsto. Estos hechos facilitaron la transición hacia un abordaje fetoscópico con dicha técnica *patch and glue*. El uso de dos puertos uterinos permitió la reparación de los defectos en todos los casos, interponiendo un parche de pericardio bovino (Tutopatch®) tras liberar la placoda y cubriéndolo con el sellante quirúrgico (Fig. 2). Los resultados sorprendentemente no fueron consistentes, ya que el sellante se reabsorbe en 2 o 3 semanas en contacto con el líquido amniótico. En algunos casos, el cierre del defecto fue muy bueno, en otros correcto, pero en algunos insuficiente, permitiendo fuga de LCR y movilidad del parche. Esto hizo que no pudiéramos garantizar el cierre hermético de la lesión en todos los casos y decidiéramos evolucionar hacia una cobertura con colgajos cutáneos suturados en la línea media. La parte positiva de esta experiencia fue que la media de edad gestacional al parto en estos 12 casos fetoscópicos fue de 37 semanas de gestación, demostrando la influencia de una técnica mínimamente invasiva. La aplicación de otros sellantes o pegamentos con mayor duración *in utero* permitirá en un futuro reiniciar esta estrategia reparativa simple con

efectividad. Por el momento, la sutura de la capa cutánea se hace imprescindible.

En esos momentos el grupo de *Texas Children's Fetal Center* vino a visitarnos y se entusiasmó con el abordaje fetoscópico que habíamos desarrollado. Se inició una colaboración con la que fuimos elaborando ideas y practicando en simuladores y modelos animales el perfeccionamiento de la técnica. Implementamos el uso de suturas barbeadas para cerrar la piel fetal sin necesidad de anudar y que permitía también fijar el parche dural. Así, iniciamos una tercera fase utilizando microinstrumentos para insertar un parche dural y realizar un cierre cutáneo del defecto. Tanto en Barcelona como en Cincinnati iniciamos este tipo de cierre implementando un tercer mini-trocara para conseguir triangulación endoscópica y acortar tiempos quirúrgicos, sobre todo en la sutura.

Belfort et al.⁽⁴⁰⁾, en el *Texas Children's Fetal Center* han mantenido nuestro enfoque fetoscópico basado en dos trocares insertados con exposición del útero para iniciar su andadura en el tratamiento prenatal del MMC. Estos abordajes mitigan las complicaciones de la reparación percutánea fetoscópica percutánea y del MMC fetal abierto.

En nuestro grupo del *Cincinnati Fetal Center* (Fig. 3) y en Houston, al igual que Kohl, utilizamos amniodistensión con dióxido de carbono, pero calentado a 37°C y humidificado para confort fetal y de las membranas (Fig. 4). A diferencia de ellos, accedemos al útero a través de una laparotomía materna y completamos la operación utilizando dos puertos

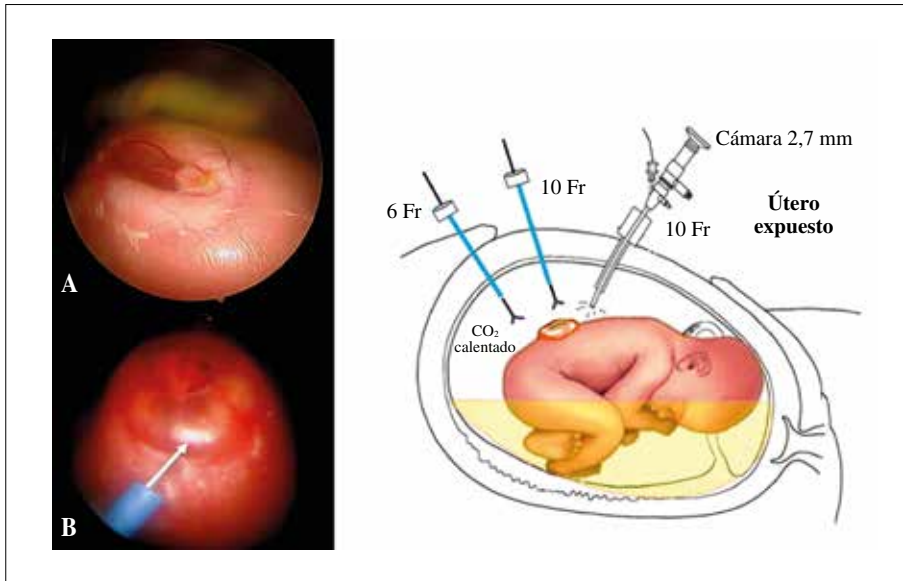


Figura 3. Esquema de la técnica de reparación fetoscópica de espina bífida de Cincinnati. A) Visión endoscópica de mielosis o mielocelo. B) Visión endoscópica de mielomeningocele.

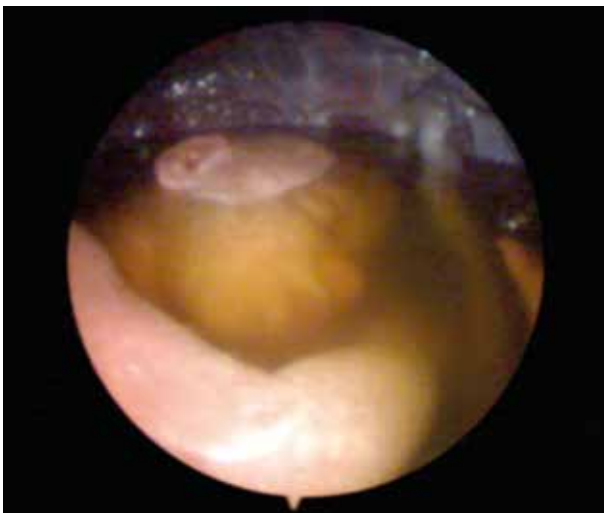


Figura 4. Visión intrauterina del feto en el líquido amniótico con cámara de dióxido de carbono caliente y humidificado para confort fetal. La claridad de la visión y la magnificación son excelentes.

uterinos de 4 mm (en el caso de Texas) y de 3 puertos de 3 y 2 mm (en el *Cincinnati Fetal Center*), después de asegurar las membranas contra la pared uterina con suturas. Esto nos permite cerrar los orificios del puerto uterino principalmente a nivel de las membranas bajo visión directa. Se disecciona la placoda neural y se cubre tanto la duramadre como la médula espinal con un parche. Inicialmente, el grupo de Houston obvió el uso de parche dural cerrando el defecto en bloque con puntos totales de dura y piel, pero después de casos con cierre incompleto decidieron volver al uso de parches protectores. Para la piel, si no se puede conseguir un cierre primario, preferimos usar un parche de piel cadavérica

descelularizada. Otros grupos utilizan incisiones laterales de descarga con buenos resultados⁽³⁶⁾, aunque hay que ir con cautela pues recientemente han observado una complicación en un caso que presento una eventración renal por la incisión lateral demasiado profunda⁽⁴¹⁾.

Su enfoque con dos puertos ha dado como resultado un 100% de supervivencia fetal y neonatal y solo un 36% de nacimientos menores de 37 semanas, lo que es más bajo que en cualquier cohorte de reparación fetal informada anteriormente. En este primer reporte también demostramos la posibilidad de parto vaginal (50%) después de la reparación fetoscópica de MMC fetal. En general, se están obteniendo mejores resultados obstétricos en comparación con la reparación abierta estándar o el abordaje fetoscópico percutáneo, y con resultados fetales y neonatales comparables a la cirugía abierta.

Ya se han reparado numerosos casos en Houston, y también en Cincinnati, donde llevamos 28 casos realizados mediante fetoscopia (Fig. 5) con buena calidad del cierre del defecto, reversión del Chiari y mínima morbilidad materna.

Un aspecto preocupante del enfoque fetoscópico es la duración de la insuflación con dióxido de carbono en la cavidad amniótica y la duración total de la operación, es decir, 98-480 min para el abordaje percutáneo^(27,28) y 145-450 min para la reparación fetoscópica a través de laparotomía materna, en comparación con los 54-130 min necesarios para la reparación de MMC fetal abierta. Un reciente estudio⁽⁴²⁾ apoya el uso de gas CO₂ calentado y humidificado, en lugar de frío y seco, para la insuflación uterina durante la reparación fetoscópica de MMC. Es probable que este enfoque mitigue los efectos metabólicos perjudiciales para el feto con el uso de gas frío y seco, y origine una inflamación menor en las membranas amnióticas.

Recientemente, el grupo de Diana Farmer ha realizado una revisión sistemática para comparar las técnicas fetoscópicas y

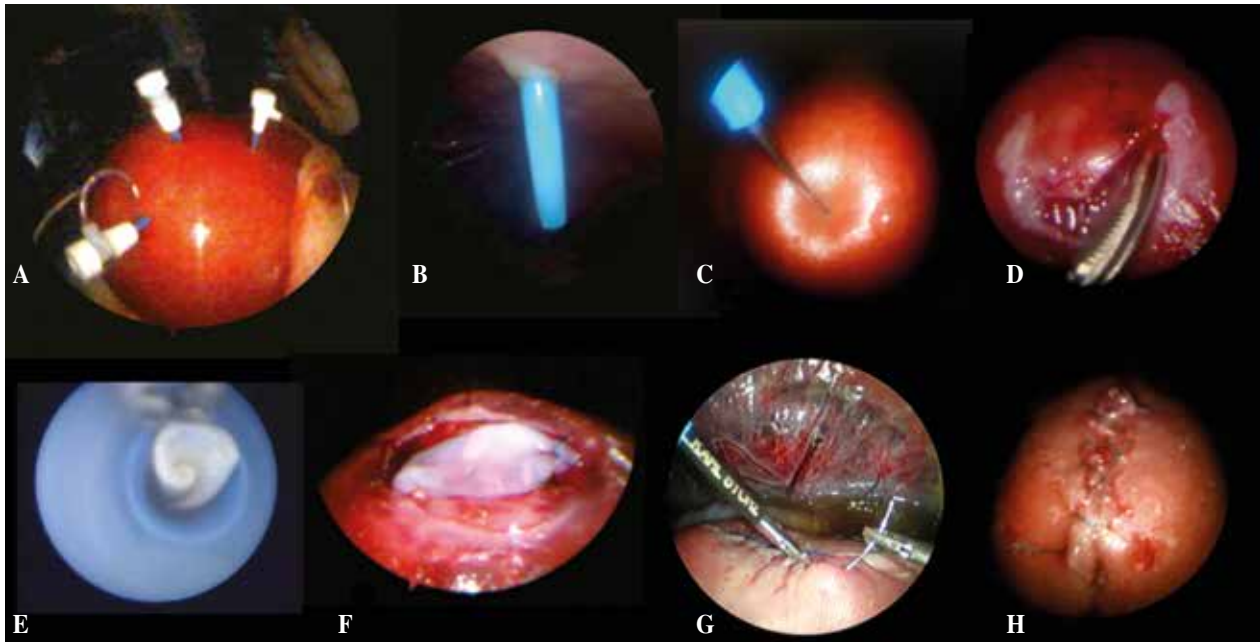


Figura 5. Secuencia de la reparación fetoscópica de la espina bífida. A) Disposición de las 3 cánulas transuterinas. B) Introducción de cánula 10 Fr bajo visión directa. C) Inyección intramuscular fetal del cóctel anestésico. D) Disección meticulosa de la placoda neural. E) Parche sustituto dural pasa enrollado por la cánula. F) Parche dural protector de la placoda fijado con un punto de sutura. G) Cierre de la piel fetal con sutura barbeada continua. H) Cierre primario de la piel lumbar fetal.

las de cirugía fetal abierta publicadas⁽⁴³⁾. Entre los 11 estudios seleccionados para el metaanálisis, 5 realizaron reparación fetoscópica y 6 reparación fetal abierta de MMC. No hubo diferencias significativas en la combinación de mortalidad fetal y postnatal entre la reparación fetoscópica (7%) y abierta (6%). No hubo diferencias significativas en la tasa de colocación de derivación VP a los 12 meses entre la reparación fetoscópica (42%) y la reparación abierta (40%). Concluyen que el abordaje fetoscópico percutáneo para la reparación de MMC precisa ser optimizado para superar el parto prematuro, la PROM y la necesidad de una revisión postnatal de la reparación. La edad gestacional al nacimiento parece que se mejora con un mejor manejo de las membranas y el cierre primario de los sitios del puerto uterino, como se ve en la reparación fetoscópica de MMC a través de laparotomía materna. Después de una cirugía fetal abierta, se requiere una cesárea para el parto y en embarazos posteriores, debido a la posibilidad de ruptura uterina. Según los resultados que hemos obtenido, la reparación fetoscópica de MMC permite el parto vaginal espontáneo.

En resumen, existen dos tendencias muy definidas actualmente para la corrección fetoscópica de la SBA. Una completamente percutánea, liderada por los grupos de Kohl en Alemania, y Lapa en Brasil, y otra tendencia basada en la exposición del útero para el cierre de los orificios de las membranas tras la fetoscopia por 2 o 3 puertos, liderada por Peiró en Cincinnati y Belfort en Houston. Multitud de centros de terapia fetal tienen voluntad de incorporar estas técnicas

mínimamente invasivas a nivel internacional, y están siguiendo una u otra tendencia dependiendo de sus preferencias y sus contactos (Fig. 6).

Con la intención de homogeneizar técnicas y avanzar en este campo, en el 2017, organicé en Cincinnati la primera reunión internacional de reparación de espina bífida fetoscópica, con una amplia asistencia y representación. Ello permitió fundar un grupo de estudio y un consorcio internacional que de forma regular se reúne dos veces al año, con la intención de generar un registro y exponer nuestras complicaciones y avances con transparencia.

INNOVACIONES

Seguimos trabajando para aún mejorar estas técnicas endoscópicas colaborando con bioingenieros para diseñar nuevos instrumentos adaptados y nuevos biomateriales ideales para su uso en estas reparaciones prenatales.

Recientemente, hemos desarrollado un parche polimérico con memoria de forma por temperatura que posee multitud de propiedades beneficiosas para su uso sobre la médula espinal y que estamos aún estudiando en modelos animales en la universidad de Cincinnati⁽⁴⁴⁾.

Algunos estudios experimentales están comenzando a evaluar el efecto de la introducción de células madre en la médula espinal abierta durante la operación. Si las células madre son capaces de diferenciarse en neuronas o glía, para reemplazar

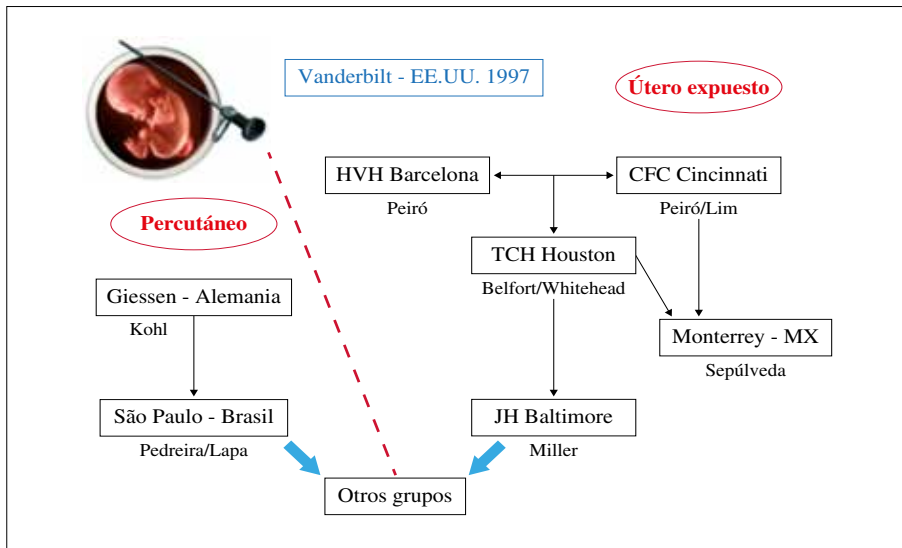


Figura 6. Grupos actuales y técnicas utilizadas actualmente en fetoscopia para reparación de espina bífida.

las células dañadas o aquellas que han muerto en la lesión (neurorregeneración), la función neurológica podría mejorarse después del nacimiento. Hasta la fecha, estos estudios han trasplantado células madre en fetos de ratas con MMC, inducidas por la administración materna de ácido retinoico, y en fetos de ovejas con MMC creados quirúrgicamente. Las células madre mesenquimales (MSC), las células madre neurales (NSCs) y las células madre pluripotentes inducidas derivadas de la piel (iPSCs) tratadas para mejorar la diferenciación de las células de la cresta neural, mostraron sobrevivir durante periodos variables después del trasplante⁽⁴⁵⁾. De forma importante, *scaffolds* de tejidos biodegradables se insertaron con éxito en la operación fetal, lo que permitió que las células se sembraran antes del trasplante. Por otro lado, el objetivo de usar células madre de líquido amniótico autólogas (es decir, del propio paciente) tiene el fin de minimizar el riesgo de rechazo del injerto.

Nuestro grupo ha descubierto que existen células progenitoras neurales libres en el líquido amniótico de pacientes con SBA, y no así en pacientes sin esta malformación, ya que se escapan del SNC por el LCR a través del canal epndimario abierto en la lesión. De forma muy interesante, hemos podido identificar, aislar, expandir y diferenciar, por primera vez en nuestro laboratorio⁽⁴⁶⁾, células progenitoras neurales (NPCs) obtenidas del LCR acumulado en el saco quístico de los pacientes humanos afectados de MMC. Estas NPCs tienen el potencial de derivar a todas las líneas celulares neurales, como astrocitos, oligodendrocitos y neuronas, y constituyen una nueva manera de intentar la neurorregeneración espinal utilizando células del propio paciente.

Al igual que con todas las nuevas terapias relacionadas con células madre, se necesitará mucho trabajo, tanto *in vitro* como en modelos animales, para desarrollar protocolos óptimos tanto para la eficacia como para la seguridad, antes de que los trasplantes de células madre puedan considerarse en fetos humanos.

BIBLIOGRAFÍA

- Adzick NS. Fetal myelomeningocele: natural history, pathophysiology, and in-utero intervention. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010; 15: 9-14.
- Kahn L, Biro EE, Smith RD, Bui CJ. Spina bifida occulta and aperta: a review of current treatment paradigms. *J Neurosurg Sci.* 2015; 59: 79-90.
- Bowman RM, McLone DG, Grant JA, Tomita T, Ito JA. Spina bifida outcome: A 25-year prospective. *Pediatric Neurosurg.* 2001; 34: 114-20.
- Nagler J, Levy JA, Bachur RG. Stridor in an infant with myelomeningocele. *Pediatr Emerg Care.* 2007; 23: 478-81.
- Yi Y, Lindemann M, Colligs A, Snowball C. Economic burden of neural tube defects and impact of prevention with folic acid: a literature review. *Eur J Pediatr.* 2011; 170: 1391-400.
- Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Adv Exp Med Biol.* 2010; 686: 349-64.
- Manning SM, Jennings R, Madsen JR. Pathophysiology, prevention, and potential treatment of neural tube defects. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2000; 6: 6-14.
- Shimoji K, Kimura T, Kondo A, Tange Y, Miyajima M, Arai H. Genetic studies of myelomeningocele. *Childs Nerv Syst.* 2013; 29: 1417-25.
- Copp AJ, Adzick NS, Chitty LS, Fletcher JM, Holmbeck GN, Shaw GM. Spina bifida. *Nat Rev Dis Primers.* 2015; 1: 15007.
- Stiefel D, Copp AJ, Meuli, M. Fetal spina bifida: Loss of neural function in utero. *J Neurosurg.* 2007; 106: 213-21.
- Al-Shanafey SN, Fontecha CG, Canyadell MA, Soldado FC, Rojo AA, Conesa XJ, et al. Reduction in neural injury with earlier delivery in a mouse model of congenital myelomeningocele: laboratory investigation. *J Neurosurg Pediatr.* 2013; 12: 390-4.
- Oria M, Figueira RL, Scorletti F, Sbragia L, Owens K, Li Z, Pathak B, et al. CD200-CD200R imbalance correlates with microglia and pro-inflammatory activation in rat spinal cords exposed to amniotic fluid in retinoic acid-induced spina bifida. *Sci Rep.* 2018; 8: 10638.
- McLone DG, Knepper PA. The cause of Chiari II malformation: a unified theory. *Pediatr Neurosci.* 1989; 15: 1-12.

14. Paek BW, Farmer DL, Wilkinson CC, Albanese CT, Peacock W, Harrison MR, et al. Hindbrain herniation develops in surgically created myelomeningocele but is absent after repair in fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 183: 1119-23.
15. Nagaraj UD, Bierbrauer KS, Peiro JL, Kline-Fath BM. Differentiating Closed Versus Open Spinal Dysraphisms on Fetal MRI. *AJR Am J Roentgenol.* 2016; 207: 1316-23.
16. Nicolaidis KH, Gabbe SG, Campbell S, Guidetti R. Ultrasound screening for spina bifida: cranial and cerebellar signs. *Lancet.* 1986; 328: 72-4.
17. Nagaraj UD, Bierbrauer KS, Stevenson CB, Peiro JL, Lim FY, Zhang B, et al. Spinal Imaging Findings of Open Spinal Dysraphisms on Fetal and Postnatal MRI. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2018; 39: 1947-52.
18. Nagaraj UD, Bierbrauer KS, Zhang B, Peiro JL, Kline-Fath BM. Hindbrain Herniation in Chiari II Malformation on Fetal and Postnatal MRI. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2017; 38: 1031-6.
19. Carreras E, Maroto A, Illescas T, Meléndez M, Arévalo S, Peiró JL, et al. Prenatal ultrasound evaluation of segmental level of neurological lesion in fetuses with myelomeningocele: development of a new technique. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; 47: 162-7.
20. Adzick NS, Thom EA, Spong CY, Brock JW 3rd, Burrows PK, Johnson MP, et al; MOMS Investigators. A randomized trial of prenatal versus postnatal repair of myelomeningocele. *N Engl J Med.* 2011; 364: 993-1004.
21. Nagaraj UD, Peiro JL, Bierbrauer KS, Kline-Fath BM. Evaluation of Subependymal Gray Matter Heterotopias on Fetal MRI. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2016; 37: 720-5.
22. Keller BA, Farmer DL. Fetal surgery for myelomeningocele: history, research, clinical trials, and future directions. *Minerva Pediatr.* 2015; 67: 341-56.
23. Meuli M, Meuli-Simmen C, Hutchins GM, Yingling CD, Hoffman KM, Harrison MR, Adzick NS. In utero surgery rescues neurological function at birth in sheep with spina bifida. *Nat Med.* 1995; 1: 342-7.
24. Bruner JP, Tulipan NE, Richards WO. Endoscopic coverage of fetal open myelomeningocele in utero. *Am J Obstet Gynecol.* 1997; 176: 256-7.
25. Tulipan N, Bruner JP. Myelomeningocele repair in utero: a report of three cases. *Pediatr Neurosurg.* 1998; 28: 177-80.
26. Adzick NS, Sutton LN, Crombleholme TM, Flake AW. Successful fetal surgery for spina bifida. *Lancet.* 1998; 352: 1675-6.
27. Tulipan N, Wellons JC 3rd, Thom EA, Gupta N, Sutton LN, Burrows PK, et al; MOMS Investigators: Prenatal surgery for myelomeningocele and the need for cerebrospinal fluid shunt placement. *J Neurosurg Pediatr.* 2015; 16: 613-20.
28. Peiró JL, Carreras E, Guillén G, Arévalo S, Sánchez-Durán MA, Higuera T, et al. Therapeutic indications of fetoscopy: a 5-year institutional experience. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2009; 19: 229-36.
29. Copeland ML, Bruner JP, Richards WO, Sundell HW, Tulipan NB. A model for in utero endoscopic treatment of myelomeningocele. *Neurosurgery* 1993; 33: 542-4, discussion 545.
30. Kohl T, Hering R, Heep A, Schaller C, Meyer B, Greive C, et al. Percutaneous fetoscopic patch coverage of spina bifida aperta in the human - early clinical experience and potential. *Fetal Diagn Ther.* 2006; 21: 185-93.
31. Kohl T. Percutaneous minimally invasive fetoscopic surgery for spina bifida aperta. Part I: surgical technique and perioperative outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014; 44: 515-24.
32. Graf K, Kohl T, Neubauer BA, Dey F, Faas D, Wanis FA, et al. Percutaneous minimally invasive fetoscopic surgery for spina bifida aperta. Part III: neurosurgical intervention in the first postnatal year. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; 47: 158-61.
33. Flake A. Percutaneous minimal-access fetoscopic surgery for myelomeningocele - not so minimal! *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014; 44: 499-500.
34. Pedreira DA, Zanon N, Nishikuni K, Moreira de Sá RA, Acacio GL, Chmait RH, et al. Endoscopic surgery for the antenatal treatment of myelomeningocele: the CECAM trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 214: 111.
35. Fontecha CG, Peiro JL, Aguirre M, Soldado F, Añor S, Fresno L, et al. Inert patch with bioadhesive for gentle fetal surgery of myelomeningocele in a sheep model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009; 146: 174-9.
36. Fontecha CG, Peiro JL, Sevilla JJ, Aguirre M, Soldado F, Fresno L, et al. Fetoscopic coverage of experimental myelomeningocele in sheep using a patch with surgical sealant. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011; 156: 171-6.
37. Peiro JL, Fontecha CG, Ruano R, Esteves M, Fonseca C, Marotta M, et al. Single-Access Fetal Endoscopy (SAFE) for myelomeningocele in sheep model I: amniotic carbon dioxide gas approach. *Surg Endosc.* 2013; 27: 3835-40.
38. Peiró JL, Encinas JL. Cirugía fetal del mielomeningocele: de los resultados experimentales a la evidencia clínica. *Cir Pediatr.* 2012; 25: 1-3.
39. Peiró JL, Pelizzo G, Fontecha CG, d'Ottavio G, Schleeff J, Martínez-Ibáñez V. New Gentle open fetal surgery for human spina bifida in Europe. Presented at the 10 th European Congress of Paediatric Surgery in Graz, May 2009.
40. Belfort MA, Whitehead WE, Shamshirsaz AA, Bateni ZH, Olutoye OO, Olutoye OA, et al. Fetoscopic Open Neural Tube Defect Repair: Development and Refinement of a Two-Port, Carbon Dioxide Insufflation Technique. *Obstet Gynecol.* 2017; 129: 734-43.
41. Ewing DC, Dempsey R, Belfort MA, Olutoye OO, Whitehead WE, Hollier LH Jr, et al. An Unreported Complication After Fetoscopic Myelomeningocele Closure. *J Craniofac Surg.* 2019 Jan 19. doi: 10.1097/SCS.000000000000196. [Epub ahead of print].
42. Amberg BJ, Hodges RJ, Kashyap AJ, Skinner SM, Rodgers KA, McGillick EV, et al. Physiological effects of partial amniotic carbon dioxide insufflation with cold, dry vs heated, humidified gas in a sheep model. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019; 53: 340-7.
43. Kabagambe SK, Jensen GW, Chen YJ, Vanover MA, Farmer DL. Fetal Surgery for Myelomeningocele: A Systematic Review and Meta-Analysis of Outcomes in Fetoscopic versus Open Repair. *Fetal Diagn Ther.* 2018; 43: 161-74.
44. Tatu R, Oria M, Pulliam S, Signey L, Rao MB, Peiro JL, et al. Using poly(L-lactic acid) and poly(ε-caprolactone) blends to fabricate self-expanding, watertight and biodegradable surgical patches for potential fetoscopic myelomeningocele repair. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2019; 107: 295-305.
45. 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: 158-63.
46. Marotta M, Fernández-Martín A, Oria M, Fontecha CG, Giné C, Martínez-Ibáñez V, et al. Isolation, characterization, and differentiation of multipotent neural progenitor cells from human cerebrospinal fluid in fetal cystic myelomeningocele. *Stem Cell Res.* 2017; 22: 33-42.