

# Influencia del tipo de cobertura prenatal sobre el desarrollo vesical en un modelo de mielomeningocele

J.L. Encinas<sup>1</sup>, M. Germani<sup>1</sup>, L. Burgos<sup>1</sup>, C. Soto<sup>1</sup>, F. Pederiva<sup>1</sup>, A. Luis<sup>1</sup>, L.F. Ávila<sup>1</sup>, M.A. García-Cabezas<sup>2</sup>, J.L. Peiró<sup>3</sup>, R. Rodríguez<sup>4</sup>, M. López-Santamaría<sup>1</sup>, J.A. Tovar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Cirugía Pediátrica. Hospital La Paz, Madrid. <sup>2</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. <sup>3</sup>Servicio de Cirugía Pediátrica. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>4</sup>Servicio de Obstetricia. Hospital La Paz, Madrid.

## RESUMEN

**Objetivo.** Describir si el modelo de mielomeningocele (MMC) en oveja presenta alteraciones en el desarrollo vesical semejantes a las del humano y si la cobertura prenatal del defecto puede prevenir las.

**Métodos.** Realizamos un MMC fetal en veinte ovejas preñadas entre los días 60 y 80 de gestación. Diez casos no fueron corregidos (grupo A), 5 fueron corregidos mediante cirugía fetal abierta (grupo B) y 5 mediante aplicación fetoscópica percutánea de un pegamento biológico (grupo C). Los corderos fueron observados y sus vejigas estudiadas mediante H&E y Masson. Tres corderos sanos sirvieron como controles.

**Resultados.** Cinco animales en el grupo A (50%), 2 en el grupo B (40%) y 3 en el C (60%) nacieron a término. Los corderos del grupo B y C eran continentes y macroscópicamente sus vejigas normales. Microscópicamente, las vejigas del grupo C presentaban un ligero adelgazamiento muscular y urotelial manteniendo su estructura histológica conservada, mientras que las del grupo B no presentaban alteración histológica alguna. En el grupo A, los animales eran incontinentes y sus vejigas finas. Microscópicamente, presentaban fibrosis submucosa y un marcado adelgazamiento muscular y urotelial. Las vejigas de los animales control eran normales.

**Conclusiones.** El modelo de MMC en oveja presenta malformaciones vesicales semejantes a las del humano, probablemente relacionadas con un déficit de vaciamiento durante la gestación; la cirugía fetal abierta puede prevenir las completamente y la fetoscópica con pegamento parcialmente.

**PALABRAS CLAVE:** Mielomeningocele; Oveja; Fetal; Vejiga neuropática.

**Correspondencia:** Jose Luis Encinas Hernández. Departamento de Cirugía Pediátrica. Hospital La Paz, Madrid. Paseo de la Castellana, 281. 28046 Madrid.

Jose Luis Encinas tiene un contrato de investigación PFSE del FIS.

Federica Pederiva tiene un contrato de investigación de la CAM.

Este trabajo ha sido subvencionado por la Fundación Mutua Madrileña y el Fondo de Investigación Sanitaria

Trabajo presentado en el XLVIII congreso de la SECP. 20 de Mayo del 2009.

Recibido: Mayo 2009

Aceptado: Mayo 2010

## BLADDER MALFORMATIONS IN A MODEL OF MYELOMENINGOCELE. PRELIMINARY REPORT

### ABSTRACT

**Purpose.** To describe the presence of bladder malformations in a surgically induced model of myelomeningocele (MMC).

**Methods.** A MMC like defect was created in the mid gestation using the previously described model in sheep. Bladders were examined macroscopically and histopathological changes were assessed using H-E.

**Results.** Non prenatally corrected animals presented dilated bladders and separation between muscle bundles. Those malformations were not found in corrected animals or controls.

**Conclusions.** Some bladder changes can be described in a surgically-induced model of MMC. These changes could be prevented using open fetal surgery.

**KEY WORDS:** Myelomeningocele; Fetal; Bladder; Sheep.

## INTRODUCCIÓN

Las mielodisplasias son la causa más frecuente de vejiga neuropática en niños y entre ellas, el mielomeningocele (MMC) representa el 90% de los casos. La alteración en la inervación de la vejiga y el sistema esfinteriano produce una disfunción vesico-esfinteriana y asocia un elevado riesgo de lesión del tracto urinario superior que solo puede evitarse mediante tratamiento médico, cateterismo intermitente o intervenciones quirúrgicas que consigan un reservorio vesical de baja presión con vaciamiento completo.

Las alteraciones urodinámicas de estos pacientes pueden presentarse como vejigas de baja acomodación con altas presiones de llenado o vejigas con vaciamiento incompleto y residuo postmiccional elevado<sup>(1)</sup>.

Varios grupos han hecho descripciones urodinámicas de pacientes en los que el MMC fue corregido prenatalmente mediante cirugía fetal abierta; y aunque en ningún caso los resultados fueron concluyentes, la mayoría coinciden en que fueron semejantes a los del tratamiento postnatal convencional<sup>(2-6)</sup>. Estos trabajos representan experiencias de distintos

centros con grupos reducidos de pacientes y alejados del estudio vesical anatómico o celular que podría llevarse a cabo sobre un modelo animal.

El modelo de MMC en oveja preñada descrito por Meuli reproduce malformaciones anatómicas medulares, cerebrales<sup>(7,8)</sup> y rectales<sup>(9)</sup> semejantes a las del humano, así como la clínica de paraplejía e incontinencia urinaria. La corrección prenatal del defecto es capaz de prevenir parcialmente algunas de estas malformaciones y completamente la clínica de incontinencia y la paraplejía.

Las principales complicaciones de la cirugía fetal abierta son el oligohidramnios y el parto pretérmino<sup>(10)</sup>. Tratando de disminuir la incidencia de ambas, grupos de todo el mundo estudian alternativas de cobertura fetoscópica del defecto que asocien beneficios clínicos similares a los de la cirugía fetal abierta<sup>(11)</sup>.

El objetivo de nuestro trabajo es describir por vez primera si este modelo animal presenta alteraciones anatómicas vesicales semejantes a las de la enfermedad humana y si la cobertura del defecto mediante cirugía fetal abierta o mediante abordaje fetoscópico es capaz de prevenir las.

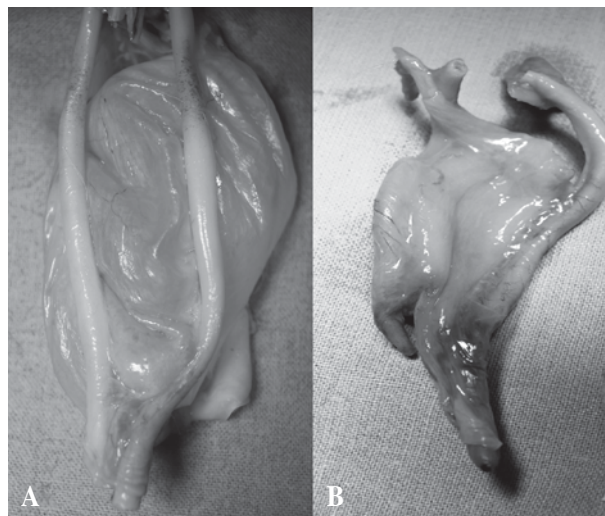
## MATERIAL Y MÉTODOS

Las ovejas preñadas fueron trasladadas a nuestras instalaciones una semana antes de la cirugía con acceso libre a comida y agua hasta las últimas 24 horas previas a la intervención. En todos los casos realizamos un estudio ecográfico que confirmara y datara la gestación. Las ovejas fueron intubadas y anestesiadas con Propofol (10 mg/kg) e Isoflurano 2-2,5% con oxígeno a 2 L/min. El dolor postoperatorio fue diagnosticado mediante cambios en el comportamiento y la marcha y tratado con parches de Fentanilo.

La creación del defecto ha sido descrita previamente<sup>(7,8)</sup> y consiste en la realización de una laminectomía lumbar bilateral con apertura de la duramadre seguida de una mielotomía media. La longitud total del defecto fue de unos 3 cm.

Realizamos el defecto en 20 animales; en 10 casos este no fue corregido prenatalmente (grupo A), en 5 fue corregido mediante cirugía fetal abierta con dos suturas continuas de fascia y piel (grupo B) y en 5 mediante la aplicación fetoscópica percutánea de un pegamento biológico (grupo C). La técnica fetoscópica se realizó mediante abordaje percutáneo con control ecográfico usando un trócar Cook con su introduccion (Check-Flo Introducer Set. Cook. RCF 10.0 38-J) compatible con una óptica Storz de 2 mm (11530 AA. Kart Storz). El pegamento sintético usado fue Cosseal® (Baxter) y fue introducido de manera percutánea a través de una aguja de veress con la punta cortada.

Las gestaciones continuaron hasta el día 140 y los partos se llevaron a cabo mediante cesárea o vía vaginal. Los corderos vivieron durante las primeras 24 horas durante las que se estudió la presencia de incontinencia urinaria y seguidamente fueron sacrificados y perfundidos con Paraformalde-



**Figura 1. A)** Vejiga de grupo sin corrección (grupo A). Distendida, llena y con paredes finas. **B)** Vejiga de grupo corregido mediante cirugía fetal abierta (grupo B). Paredes de grosor normal.

hido al 7%. Los riñones, vejigas y uréteres fueron extraídos en bloque, fotografiados y estudiados en busca de hidronefrosis, dilatación ureteral y cambios en el grosor y aspecto externo de la pared vesical. Los riñones fueron cortados en cortes sagitales y las vejigas y uréteres en cortes transversales en bloques de 1 cm de grosor. Los bloques fueron embebidos en parafina, cortados con microtomo (secciones de 6  $\mu$ m) y teñidos con Hematoxilina-Eosina y Masson. Tres corderos sanos de un día de vida sirvieron como controles.

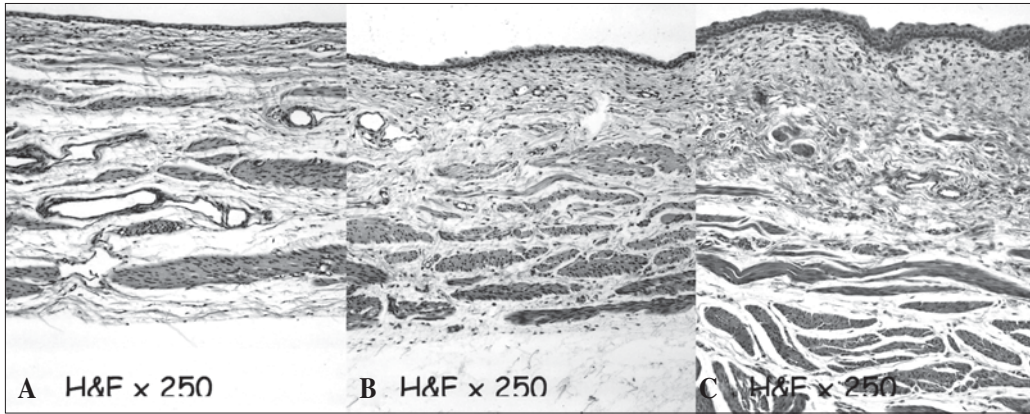
## RESULTADOS

Diez animales murieron durante la gestación (10/20. 50%) con un caso de muerte materna (1/20. 5%), lo que supone una mortalidad fetal y materna semejante a la descrita previamente por otros autores<sup>(7,8)</sup>. Cinco animales en el grupo A (5/10. 50%), 2 en el grupo B (2/5. 40%) y 3 en el grupo C (3/5. 60%) (n.s.) nacieron a término entre los días 140 y 145 de gestación.

En el momento del cierre del defecto (en los grupos B y C) y al nacimiento en el grupo A, el MMC presentaba un aspecto semejante al de la enfermedad humana, estando formado por una fina capa que contenía líquido y tejido nervioso medular displásico. Clínicamente, los animales del grupo A eran parapléjicos, incontinentes para la orina y presentaban hipotrofia de sus cuartos traseros y diversas anomalías ortopédicas en forma de artrogriposis y escoliosis graves.

En el grupo A, las vejigas se encontraban llenas y distendidas y sus paredes eran finas. Microscópicamente, existía un claro adelgazamiento urotelial y cierta proliferación de tejido fibroso submucoso. Los haces de tejido muscular eran finos y se encontraban separados entre sí por tejido fibroso.

En el grupo B y en el grupo control las vejigas no se encontraban distendidas y macroscópicamente sus paredes presenta-

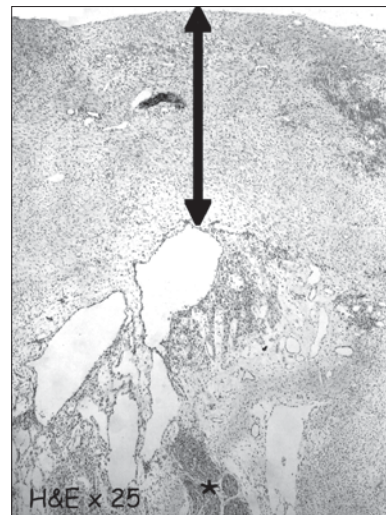


**Figura 2.** A) Grupo A. Urotelio adelgazado, presencia de tejido fibroso submucoso, fibras musculares separadas y adelgazadas. B) Grupo C. Estructura histológica conservada. Urotelio levemente adelgazado, haces musculares separados y finos en grado menor que en el grupo A. C) Grupo B. Estructura histológica normal.

ban un grosor normal. Microscópicamente, la vejiga tenía una estructura histológica conservada. El epitelio urinario tenía un grosor normal con numerosos pliegues y no existía tejido fibroso submucoso. Los haces musculares presentaban a su vez una estructura y un grosor conservado y normal (Figs. 1 y 2).

En el caso del grupo C, los cambios histológicos fueron mínimos; la estructura histológica se encontraba conservada aunque existía un ligero adelgazamiento urotelial y muscular (Figs. 1 y 2). La médula en este grupo se encontraba cubierta por una capa continua de tejido fibroso que separaba los haces nerviosos del líquido amniótico (Fig. 3).

En ninguno de los grupos ni en los controles existía ninguna alteración en la estructura parenquimatosa renal ni dilatación del sistema pielocalicial. La capa muscular ureteral se encontraba conservada y no existía dilatación de su luz.



**Figura 3.** Presencia de capa continua de tejido fibroso (doble flecha) sobre el tejido nervioso (asterisco) en el grupo corregido con pegamento (grupo C).

## DISCUSIÓN

Los pacientes con MMC necesitan tratamiento médico o quirúrgico para alcanzar la continencia urinaria en más del 90% de los casos. El 70% de estos la alcanzará mediante cateterismo intermitente y medicación de por vida y el 25% mediante diversas intervenciones quirúrgicas durante su infancia y adolescencia<sup>(1)</sup>.

No existen demasiados datos sobre el pronóstico urológico de los pacientes en los que el MMC ha sido corregido prenatalmente.

El grupo de Vanderbilt estudió a 16 pacientes en los que el MMC había sido cerrado mediante cirugía fetal abierta entre los años 1997 y 1998; sus resultados en cuanto a disinergia del detrusor y capacidad vesical fueron semejantes a los descritos en la literatura tratados mediante cierre postnatal convencional<sup>(2)</sup>. En un estudio semejante llevado a cabo por el hospital de San Francisco, los resultados urodinámicos de los pacientes en los que el defecto se había cerrado de manera prenatal tampoco fueron superiores a los controles con tratamiento postnatal convencional y en este caso los autores concluían que la cirugía fetal parecía no tener gran efecto sobre la alteración en el desarrollo vesical<sup>(3)</sup>.

Posteriormente el grupo de Filadelfia con un número mayor de pacientes y haciendo un seguimiento hasta el tercer año de vida, describió que el 13% de los pacientes que habían recibido tratamiento prenatal eran continent para la orina y tenían micciones espontáneas, lo que contrasta con el esperable 3% y sugiere a su vez que quizá con seguimientos a largo plazo las diferencias en la clínica entre el grupo de tratamiento prenatal y postnatal sea más marcadas<sup>(4,5)</sup>.

En el ámbito experimental existen pocos estudios. Algunos autores han descrito alteraciones en el desarrollo vesical fetal en la oveja gestante, pero dentro de un modelo de uropatía obstructiva. En este punto es interesante señalar que las vejigas de estos estudios con una obstrucción parcial presentaban alteraciones parecidas a las de nuestro grupo A en cuanto a adelgazamiento muscular y fibrosis<sup>(12,13)</sup>.

Además, el grupo de Filadelfia realizó en el año 2006 un estudio vesical sobre el modelo teratogénico de MMC en ratón en el que encontraban una disminución de la innervación vesical así como de su capacidad contráctil en ausencia de cambios morfológicos vesicales llamativos<sup>(14)</sup>.

El modelo de oveja descrito por Martin Meuli ha sido ampliamente estudiado en el ámbito motor y en cuanto al desa-

rollo del sistema nervioso central, pero no se han descrito estudios anatómicos vesicales aunque varios autores coinciden al describir incontinencia urinaria en los animales no corregidos y su ausencia en los corregidos<sup>(7,8)</sup>.

Los resultados de nuestra serie coinciden parcialmente con las alteraciones histológicas humanas. Los animales sin corrección del defecto tenían vejigas distendidas y finas, con pocas fibras musculares y con ligera proliferación de tejido fibroso. Todo ello sería quizá explicable por un déficit de inervación secundario al daño medular lumbar que ha obligado a la vejiga a desarrollarse sin posibilidad de vaciarse correctamente o lo que es parecido, en condiciones de obstrucción parcial.

Los animales corregidos presentaban, sin embargo, una estructura histológica conservada, lo que sugiere que la prevención del daño neuronal medular mediante la cobertura del defecto con dos capas de piel y dura permitiría el desarrollo vesical adecuado en el modelo.

En el caso del grupo C, pudimos comprobar que el pegamento biológico facilita la formación de una capa de tejido fibroso continua que separa el tejido medular del líquido amniótico evitando teóricamente su bien descrita capacidad lesiva. Los animales de este grupo fueron continentes para la orina y sus vejigas, aunque con estructura histológica conservada, presentaban distensión y adelgazamiento muscular. Estas lesiones intermedias sugieren que el pegamento como cobertura ejerce cierto efecto protector sobre la médula, pero parcial o inferior al de la cirugía fetal abierta. De hecho, el propio fabricante, en su indicación habitual que es la de sellante hemostático en cirugía cardíaca, indica que su vida media es de 30 días, lo que en nuestro caso, quizá pueda verse disminuido por encontrarse en un medio líquido en el que existe cierta movilidad que permite el contacto entre la región lumbar del animal y el endometrio.

Los potenciales beneficios de la técnica percutánea en cuanto a disminución del parto pretérmino o mortalidad fetal no han podido ser establecidos probablemente por el pequeño tamaño de la muestra.

El MMC en humanos se asocia a una considerable tasa de insuficiencia renal relacionada principalmente con pielonefritis de repetición. El número varía según series, los pacientes con un MMC tendrán cicatrices renales a los 5 años de vida en una proporción que varía entre el 5 y el 40%<sup>(15)</sup>. De cualquier manera, las lesiones renales son tardías y no suelen aparecer en el periodo postnatal inmediato. Los riñones y la vía urinaria de nuestro modelo no presentaron signos de dilatación ureteral, el parénquima renal fue normal en todos los grupos y no existían signos de hidronefrosis.

Nuestros resultados sugieren que el modelo de MMC en oveja preñada presenta alteraciones en el desarrollo vesical semejantes a los de la enfermedad humana y que pueden ser prevenidos mediante cirugía fetal abierta. Los resultados deben ser interpretados con cautela, dado el reducido número de animales y al hecho de no haber hallado del teórico patrón morfológico de vejiga de alta presión y baja capacidad. Sería interesante describir en sucesivos estudios con una muestra mayor

el potencial efecto beneficioso sobre el parto pretérmino del abordaje percutáneo y la probable disminución de la capacidad contráctil de las vejigas en los animales sin corrección del defecto.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Snodgrass WT, Adams R. Initial urologic management of myelomeningocele. *Urol Clin North Am.* 2004; 31: 427-34.
2. Holzbeierlein J, Pope JC, Adams MC. The urodynamic profile of myelodysplasia in childhood with spinal closure during gestation. *J Urol.* 2000; 164: 1336-1339.
3. Holmes NM, Nguyen HT, Harrison MR. Fetal intervention for myelomeningocele: effect on postnatal bladder function. *J Urol.* 2001; 166: 2383-2386.
4. Koh CJ, DeFilippo RE, Borer JG. Bladder and external urethral sphincter function after prenatal closure of myelomeningocele. *J Urol.* 2006; 176: 2232-2236.
5. Jonnson M, Gerdes M, Rintoul N, Pasquariello P, Melchionni J, Sutton L, Adzick S. Maternal-fetal surgery for myelomeningocele: neurodevelopmental outcomes at 2 years of age. *Am J Obs Gynecol.* 2006; 194: 1145-52.
6. Carr MC. Urologic update of patients who had undergone fetal repair of their myelomeningocele. *J Pediatr Urol* 2006; 2: 87-89.
7. Meuli A, Simmen C, Hutchins GM. In utero surgery saves neurologic function at birth in sheep with spina bifida. *J Pediatr Surg.* 1995; 30: 342-7.
8. Meuli M, Meuli-Simmen C, Yingling CD, Hutchins GM, Seller M, Harrison MR, Adkizt M. Creation of myelomeningocele in utero. A model of functional damage from spinal cord: exposure in fetal sheep. *J Pediatr Surg.* 1995; 30: 1028-32.
9. Yoshizawa J, Sbragia L, Paek B, Sydorán R, Yamazaki Y, Harrison M, Farmer D. Fetal surgery for repair of myelomeningocele allows normal development of anal sphincter in sheep. *Ped Surg Int.* 2004; 20: 14-18.
10. Longaker MT, Gobus MS, Filly RA, Rosen MA, Chang SW, Harrison MR. Maternal outcome after fetal surgery. *JAMA.* 1991; 265: 737-41.
11. Kohl T, Hartlage MG, Kiehitz D, Westphal M, Buller T, Achenbach S, Aryee S, Gembruch U, Brentrup A. Percutaneous fetoscopic patch coverage of experimental lumbosacral full-thickness skin lesions in sheep. *Surg Endoscop.* 2003; 23: 24-28.
12. Sato Y, Kitagawa H, Pringle K, Koike J, Zucollo J, Robinson R, Wakisaka M, Seki Y, Nakada K. Effects of early vesicostomy in obstructive uropathy on bladder development. *J Ped Surg.* 2004; 39: 1849-1852.
13. Wei W, Howard PS, Koagan B, Macarak EJ. Altered extracellular matrix expression in the diverted fetal sheep bladder. *J Urol.* 2007; 178: 1104-1107.
14. Danzer E, Kidoo D, Redden R, Robinson L, Radu A, Zderic S, Doolin E, Adzik S, Flake A. Structural and functional characterization of bladder smooth muscle in fetal rats with retinoic acid-induced myelomeningocele. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007; 292: 197-206.
15. Kari JA. Neuropathic bladder as a cause of chronic renal failure in children in developing countries. *Pediatr Nephrol.* 2006; 21: 517-20.