

Desarrollo de un modelo animal de mielomeningocele y opciones de tratamiento prenatal en Macaca mulatta

Alfonso Galván-Montaño,* Eduardo Cárdenas-Lailson,** Braulio Hernández-Godínez,***
Alejandra Ibáñez-Contreras,§ Andrea Martínez-del Olmo,§ Jacqueline Aragón-Inclán§§

Resumen

Introducción: El mielomeningocele es la malformación congénita más común del sistema nervioso central, con una incidencia en Estados Unidos de 4.4 a 4.6 casos por 10 mil nacimientos vivos.¹ Estudios experimentales han demostrado que el déficit neurológico no es causado por un defecto primario en la neurulación, sino por lesión mecánica y química provocada por el líquido amniótico que progresivamente daña el tejido nervioso que queda sin protección durante la gestación. El objetivo de la investigación es desarrollar un modelo animal de mielomeningocele en *Macaca mulatta* y comparar los resultados del manejo prenatal entre la colocación de una malla impermeable de silicona y el cierre con piel.

Material y métodos: Se operaron nueve macacos entre las 12 y 14 semana de gestación, asignados aleatoriamente en igual número a tres grupos. A los fetos se les practicó laminectomía con exposición de la médula espinal. Se cerró el defecto con piel o malla, dejando tres fetos expuestos. Los productos fueron obtenidos por cesárea. Se realizó estadística descriptiva y prueba de ANOVA.

Resultados: De los cuatro fetos que vivieron (44 %), ninguno presentó complicaciones en la movilidad, potenciales somatosensoriales, hidrocefalia o control de esfínteres, y sólo uno desarrolló deformidad ósea. El mayor tiempo quirúrgico se obtuvo en los fetos a los cuales se colocó malla ($p < 0.005$).

Conclusiones: La especie *Macaca mulatta* es un modelo adecuado para reproducir el mielomeningocele y evaluar diferentes opciones de tratamiento prenatal. La colocación de una malla de silicona impermeable es factible para proteger la médula del líquido amniótico, con resultados parecidos al cierre con piel.

Palabras clave: Mielomeningocele, cirugía intrauterina, modelo animal.

Summary

Background: Myelomeningocele is the most common congenital malformation of the central nervous system, with a reported incidence of 4.4-4.6 cases/10,000 live births in the U.S. Experimental studies demonstrated that the neurological deficit is not a cause for a primary defect in neurulation but is probably due to the progressive mechanical and chemical damage of amniotic liquid into the nerve tissue, which remained without protection during gestation. We undertook this study to develop an animal model in myelomeningocele in *Macaca mulatta* and compare the results of prenatal management between the colocations of an impermeable silicone mesh and closed with skin.

Methods: A total of nine macaques were surgically intervened, randomly assigned between 12 and 14 weeks of gestation. A laminectomy was carried out in a fetus with bone marrow exposure. The defect was closed with skin or mesh. Three fetuses were left completely exposed. Descriptive statistics were done by ANOVA.

Results: Of the four surviving fetuses (44 %), none presented complications in mobility in the somatosensory evoked potential, hydrocephalus, or in sphincter control. Only one fetus developed bony deformities. The majority of time of the surgical procedure was due to the use of mesh and the least amount of time was involved in skin closing ($p < 0.005$).

Conclusions: *Macaca mulatta* is an appropriate model for reproducing myelomeningocele and to evaluate the different options for prenatal management. Colocation of an impermeable silicone mesh is feasible, protecting the spine from amniotic liquid, with results similar to skin closure.

Key words: Myelomeningocele, intrauterine surgery, animal model.

Introducción

El mielomeningocele es considerado una lesión no letal que afecta a los niños, ocasionando diversos grados de disminución somatosensorial, disfunción del esfínter vesical y rectal, paraplejia, deformidades del esqueleto, disfunción sexual, hidrocefalia y retraso mental.² Un estudio de 101 niños nacidos con mielomeningocele entre 1971 y 1981 informa una supervivencia de 8.6 años en 82 %. Entre los sobrevivientes, 53 % podía deambular, 58 % acudía a la escuela, 75 % era continente social de la vejiga y 86 % continente social del intestino.³ La mayoría de los casos de mie-

* Cirujano pediatra. Subdirector de Cirugía, Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

** Médico, División de Cirugía General.

*** Coordinador de la Unidad de Primates, Centro de Investigación Proyecto CAMINA A. C.

§ Médico veterinario zootecnista, Unidad de Primates, Centro de Investigación Proyecto CAMINA A. C.

§§ Residente de cirugía, Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

Solicitud de sobretiros:

Alfonso Galván-Montaño, Calz. de Tlalpan 4800, Col. Toriello Guerra, 14080 México, D. F. Tel.: (55) 5528 2246. Fax: (55) 5528 2246.

E-mail: gamagq3@hotmail.com

Recibido para publicación: 30-11-2006

Aceptado para publicación: 24-04-2007

lomeningocele es detectable por ultrasonido a la mitad del segundo trimestre del embarazo,⁴ y los fetos con esta patología presentan movimientos disminuidos o perdidos al final de la gestación.

Se desconoce la etiología del mielomeningocele y probablemente sea multifactorial. Existen dos teorías para explicar la patogénesis:

- Que es un desorden en la neurulación caudal durante el desarrollo embriológico del cordón espinal en la cuarta semana de gestación, con protrusión de las meninges a través de un defecto en la línea media de la columna.
- Que no es un problema neuronal sino del mesodermo, lo que ocasiona falla en el cierre de la parte posterior de la columna dejando expuesta la médula espinal al líquido amniótico.

Estudios experimentales en fetos humanos con mielomeningocele han demostrado que el déficit neurológico no es causado por un defecto primario en la neurulación sino por lesión mecánica y química provocada por el líquido amniótico, que progresivamente daña al tejido nervioso que queda sin protección durante la gestación.⁵ En etapas tempranas de la gestación, el líquido amniótico tiene un origen materno y fetal.^{6,7} Al final del primer trimestre, los riñones del feto empiezan a ser funcionales⁸ y la queratinización de la piel fetal comienza después de las 22 semanas de gestación,⁹ por lo tanto, en la segunda mitad del embarazo el líquido amniótico progresivamente es más hipotónico debido al aumento de la orina fetal. Con el avance de la gestación, estos cambios bioquímicos en la composición del líquido amniótico pueden ocasionar lesión del tejido expuesto de la médula espinal.¹⁰

Otro mecanismo de lesión puede ser el trauma directo sobre el tejido de la médula espinal expuesto contra la pared uterina debido al movimiento del feto durante la gestación.

Las complicaciones ocasionadas por el mielomeningocele tanto al niño, la familia y a la sociedad justifican los riesgos para realizar una intervención anteparto.¹¹ Sin embargo, la cirugía

intruterina tiene una morbimortalidad inherente a la interrupción traumática temporal de la gestación, que incluye complicaciones como prematuerz, muerte del producto o morbilidad materna. El desarrollo y aplicación de técnicas quirúrgicas que disminuyan el trauma quirúrgico es, por lo tanto, de capital importancia para el logro de mejores resultados en el tratamiento del padecimiento, con el mínimo de complicaciones maternas y fetales. Nuestro propósito es desarrollar un modelo animal de mielomeningocele en *Macaca mulatta*, y evaluar si el uso de malla impermeable de silicona puede ser útil para proteger la médula espinal expuesta a los efectos tóxicos del líquido amniótico en comparación con el cierre con piel.

Material y métodos

Se operaron nueve monas de la especie *Macaca mulatta*, de cuatro a 10 años de edad, con un periodo gestacional de 12 a 13 semanas determinado por ultrasonido, y peso de 5,000 a 7,000 g. A los fetos se les practicó laminectomía en L5 y L6, y se dividieron en tres grupos en forma aleatoria: el primero para cierre con piel, el segundo para colocación de malla y el tercero, o de control, se dejó expuesto. La investigación se realizó de acuerdo con la Norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 y fue aprobada por el Comité Interno de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio y por las Comisiones de Ética e Investigación del Hospital sede.

Doce horas antes de la cirugía, las monas se aislaron del grupo en que vivían, con un ayuno de ocho horas. Se colocaron en jaulas de acero inoxidable metabólicas especiales para primates no humanos, en un cuarto con ambiente controlado a una temperatura 23 °C. Una hora antes de la cirugía fueron sujetadas para administrarles 1.5 a 3 mg/kg de tiletamina-zolacepam (zoletil) por vía intramuscular. Se instaló venoclisis en el antebrazo y se transfirieron 50 ml de solución tibia de glucosa a 5 %, y posteriormente



Figura 1. Inducción anestésica con sevofluorano.

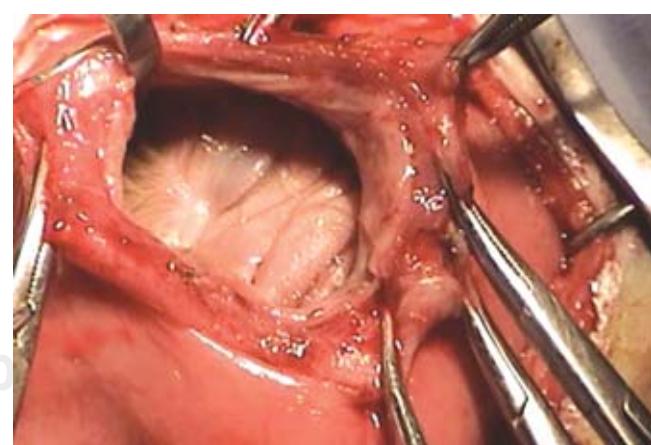


Figura 2. Ventana uterina en la que puede observarse la cara del feto.

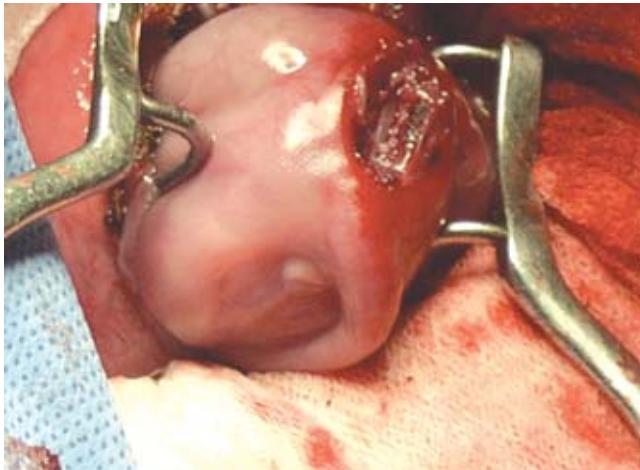


Figura 3. Laminectomía con exposición de la médula espinal.

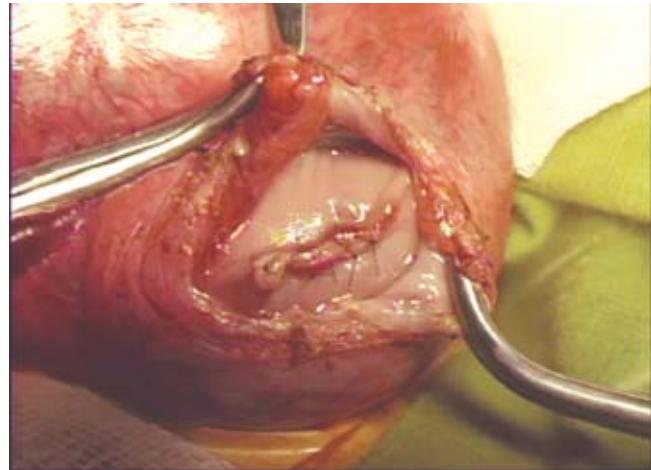


Figura 4. Cierre del defecto con piel.

100 ml de cloruro de sodio a 0.9 % para pasar en dos horas. Se administraron 0.02 mg/kg de atropina por vía intravenosa, 50 mg/kg de cefalotina y 30 mg de indometacina por vía rectal. Se realizó monitorización de la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial, saturación de oxígeno y temperatura. Para la inducción y anestesia se utilizó sevofluorano (figura 1).

Una vez con la intubación se administraron 10 mcg de fentanil, se realizó asepsia del abdomen con isodine y alcohol, se colocaron campos estériles y se practicó incisión en línea media supra e infraumbilical hasta apertura de peritoneo. Se exteriorizó el útero localizando la posición del producto y de la placenta por palpación y transiluminación, corroborando lo reportado por el ultrasonido. Se incidió en forma transversa el útero a nivel de la región lumbar del producto hasta apertura de membrana amniótica (figura 2), se extrajo el líquido amniótico con jeringas y

se guardó para su utilización posterior. A nivel de la región lumbar se incidió y se realizó laminectomía en L5 y L6, identificando la duramadre, cortando y dejando expuesta la médula espinal (figura 3). Según el grupo de estudio, en este momento se aproximó con piel utilizando nailon 7-0 (figura 4), se colocó una malla de silicona sujetándola alrededor de la piel con la misma sutura (figura 5) o se dejó expuesta (figura 6). Una vez terminada la cirugía fetal se reintrodujo el líquido amniótico tibio con 100 mg de cefalotina y se suturó la ventana uterina junto con las membranas amnióticas. Se reintrodujo el útero a la cavidad abdominal, se cerró la pared abdominal por planos y se administraron 10 mg/kg de metamizol por vía intravenosa.

A las 23 semanas se realizó cesárea para extracción del producto, el cual se aisló de su madre y se alimentó con fórmula de leche de vaca en polvo.



Figura 5. Cierre del defecto con colocación de malla de silicona.



Figura 6. Recién nacido con defecto expuesto.

El diseño del estudio fue comparativo, abierto, experimental, prospectivo y longitudinal. Las variables analizadas fueron:

- *Madre*: edad, peso y número de productos previos.
- *Cirugía practicada*: tiempo de cirugía fetal, de toda la cirugía, de anestesia, mortalidad fetal y sus causas.
- *Productos vivos*: movilidad de extremidades inferiores, control de esfínteres, potenciales somatosensoriales, deformidad ósea, hidrocefalia y cicatrización de la herida.

Las variables se analizaron mediante frecuencia simple, media, valores máximos y mínimos. Para el tiempo de duración de la cirugía fetal, de la cirugía en su totalidad y de la anestesia también se calculó desviación estándar. Se aplicó prueba de ANOVA para comparar el tiempo entre el cierre con piel, colocación de malla y los expuestos; se consideró p estadísticamente significativa cuando fue menor a 0.05.

Resultados

De las monas que perdieron sus productos, el peso promedio fue de 5,987 g (5,000 a 7000 g), la edad varió entre los cuatro y 10 años, con un promedio de 8.4 años. El número de gestas al momento de la cirugía varió entre uno y siete, con un promedio de 3.8. Murieron cinco fetos (56 %): tres por parto prematuro al final de la gestación y dos *in utero* a las 14 y 22 semanas. Las muertes ocurrieron principalmente cuando la edad y número de embarazos de la madre fue mayor (cuadro I).

Vivieron cuatro fetos (44 %), dos que se cerraron con piel, uno con colocación de malla y uno expuesto. Tres de los productos nacieron por cesárea a las 23 semanas de gestación y uno por

parto vaginal a las 22 semanas. Sus madres tuvieron un peso promedio de 5,950 g (5,100 a 7,000 g), edad promedio de seis años (cuatro a nueve años) y número de productos de la gestación de dos a cinco, con promedio de cuatro (cuadro II).

En total se operaron nueve fetos: a tres se les cerró con piel, a tres se les colocó malla y tres quedaron expuestos; la cirugía se llevó a cabo entre las 12 y 13 semanas de gestación, realizándose a todos laminectomía en L5 y L6. El tiempo promedio de la cirugía fetal fue de 41.22 + 12.95 minutos (30 a 69 minutos). El tiempo total de la cirugía desde que se incidió piel hasta el cierre de la misma tuvo un promedio de 70.22 + 14.8 minutos (60 a 105 minutos). El tiempo de anestesia varió de 65 a 140 minutos, con un promedio de 93.6 + 27 minutos. En los fetos que murieron *in utero* (22 %), el tiempo de cirugía fetal fue mayor (cuadro III).

Se compararon los tiempos de cirugía fetal de los tres grupos aplicando la prueba de ANOVA, obteniendo una *p* = 0.041 y al contrastar con la prueba de Bonferroni se encontró una diferencia significativa (*p* < 0.05) entre el grupo en el cual se colocó malla comparado con el expuesto; no hubo diferencia significativa al comparar los otros grupos entre sí (cuadro IV).

De los productos que vivieron, el que tiene mayor tiempo de sobrevida es de 1 año y el menor de un mes. Todos tienen movilidad de extremidades inferiores y potenciales somatosensoriales normales, así como control de esfínteres. Hasta el momento ninguno ha desarrollado hidrocefalia. Sólo el mono de mayor edad presenta deformidad ósea consistente en escoliosis lumbar (cuadro V).

En cuanto a la cicatrización de la herida quirúrgica, los fetos en que se cerró la piel nacieron con la herida completamente cicatrizada, el expuesto nació con la herida abierta y en los que se colocó la malla la herida estaba parcialmente cicatrizada.

Cuadro I. Datos demográficos de la madre y su relación con los productos muertos y sus causas

Cirugía practicada (n = 5)	Edad de la madre (años)	Peso(g)	Número de gestas	Resultado	Causa	Semanas de gestación
Cierre con piel	4	6000	1	Muerto	Parto prematuro	22
Cierre con malla	10	7000	5	Muerto	Óbito	22
Cierre con malla	8	6200	4	Muerto	Óbito	14
Expuesto	10	5735	6	Muerto	Parto prematuro	22
Expuesto	10	5000	7	Muerto	Parto prematuro	22

Cuadro II. Datos demográficos de la madre y su relación con los productos vivos

Cirugía practicada (n = 4)	Edad de la madre (años)	Peso(g)	Productos de la gestación	Producto vivo	Obtenido por	Semanas de gestación
Cierre con piel	4	5100	2	Vivo	Parto vaginal	22
Cierre con piel	7	6100	3	Vivo	Cesárea	23
Cierre con malla	9	7000	5	Vivo	Cesárea	23
Expuesto	4	5600	2	Vivo	Cesárea	23

Cuadro III. Tipo de cirugía practicada, tiempos y semana de gestación

Cirugía practicada n = 9	Semana de gestación para la cirugía	Tiempo de cirugía fetal (minutos)	Tiempo total de cirugía (minutos)	Tiempo de anestesia
Cierre con piel	12	30	60	85
Cierre con piel	12	30	80	91
Cierre con piel	13	36	60	65
Colocación de malla	13	35	75	85
Colocación de malla	13	54	64	72
Colocación de malla	12	69	105	135
Expuesto	13	36	62	98
Expuesto	14	46	64	140
Expuesto	12	35	62	72

Discusión

En ausencia de mayor información parece razonable que el daño progresivo a la médula espinal debe ser detenido en cuanto se identifica la lesión. La edad recomendada por Stark¹² para cubrir la lesión es entre las 21 y 22 semanas de gestación, dado que a las 22 semanas de gestación la piel empieza a queratinizarse y puede ser fácilmente traumatizada por la manipulación con instrumentos. Heffez⁵ realizó laminectomía en 14 fetos de ratas, nueve fueron reparadas *in utero*. Aquellas que quedaron expuestas al líquido amniótico nacieron con deformidades y debilidad de las patas traseras y la cola. Las ratas operadas nacieron normales. El estudio histopatológico de las ratas no operadas fue

parecido al encontrado en los niños con mielomeningocele. En experimentos posteriores en 12 fetos de borrego se creó una espina bífida lumbar con exposición del cordón espinal a los 75 días de gestación (total de la gestación, 150 días). Cuatro semanas después, las lesiones fueron reparadas *in utero*. Cinco fetos murieron antes de ser reparados. De los siete restantes, cuatro murieron *in utero* o fueron abortados y sólo tres vivieron siendo obtenidos por cesárea cerca del término del embarazo. Todos los que sobrevivieron tenían cicatrizada la herida y la función neurológica era casi normal, ya que a pesar de existir paresia fueron capaces de caminar; la función sensorial se valoró clínicamente y por electrofisiología. Histológicamente la arquitectura celular del cordón, rutas nerviosas y ganglios espinales fue preservada. Este trabajo demuestra que la reparación temprana del mielomeningocele detiene el proceso de destrucción y conserva la función neurológica, evitando la incontinencia. El tiempo de reparación se determinó asumiendo que los 100 días de gestación del borrego corresponden a 26 semanas de gestación del humano, tiempo óptimo para llevar a cabo la cirugía antes de que se produzca daño irreversible del tejido nervioso.¹³ Michejda produjo espina bífida en ocho fetos de *Macaca mulatta* al realizarles laminectomía y desplazar la médula espinal del canal central. Esta condición fue reparada *in utero* en cinco animales. Todos los productos fueron obtenidos por cesárea cerca del término

Cuadro IV. Medias y desviación estándar (DE) del tiempo realizado en la cirugía fetal

Tipo de cirugía (n = 9)	Media (minutos)	DE (minutos)
Cierre con piel (n = 3)	56	3.46
Colocación de malla (n = 3)	68	17
Expuesto (n = 3)	39	6

Cuadro V. Evolución de los productos vivos y sus complicaciones

Caso (n = 4)	Sobrevida	Movilidad	Potenciales somatosensoriales	Control de esfínteres	Hidrocefalia	Deformación ósea
Cierre con piel	30 días	Normal	Normal	Sí	No	No
Expuesto	3 meses	Normal	Normal	Sí	No	No
Cierre con piel	6 meses	Normal	Normal	Sí	No	No
Colocación de malla	1 año	Normal	Normal	Sí	No	Sí

no. Los cinco animales a los cuales se les cubrió la lesión evolucionaron en forma normal y a los que no se les corrigió la lesión quedaron parapléjicos y con incontinencia.¹⁴ No se reportaron muertes a diferencia de nuestro trabajo, en que tuvimos una mortalidad superior a 50 %, sin embargo, encontramos factores que pueden estar asociados con la misma, como la edad de la madre y el número de gestas.

Posterior a la investigación con animales, en Estados Unidos comenzaron a operarse fetos humanos con mielomeningocele. Adzick¹⁵ fue el primero en informar el primer caso exitoso de una reparación *in utero* de un feto humano con mielomeningocele a las 23 semanas de gestación, en una mujer de 27 años. El embarazo terminó a las 30 semanas por cesárea, obteniéndose un producto de 1,300 g, con movimientos de piernas normales. Existe otra publicación de tres casos operados con éxito por Tulipan.¹⁶ Desde abril de 1977 se han operado más de 60 casos de mielomeningocele en forma intrauterina en el Centro Médico de la Universidad de Vanderbilt. La mayoría de los casos han sido operados entre las 24 y 30 semanas de gestación. Los primeros 29 se han seguido durante seis meses y ninguno ha muerto.

Debido a que el tejido puede romperse y la disección y sutura es difícil a esa edad, se desarrolló un modelo en borregos para corrección del mielomeningocele por vía laparoscópica para evitar lesión de la piel, utilizando un injerto de piel de la madre y fijado con fibrina.¹⁷ En cuatro fetos humanos con mielomeningocele, Bruner realizó la colocación de injerto de piel materna fijado con fibrina, sobreviviendo únicamente dos.¹⁸

Nuestros resultados muestran que la utilización de una malla impermeable de silicona protege la médula espinal igual que la piel, de los efectos nocivos del líquido amniótico, sin embargo, impide que se lleve a cabo una buena cicatrización. En nuestro modelo únicamente expusimos la médula espinal sin desplazarla, lo que puede explicar que no hubiera complicaciones con el mono que vivió y que dejamos expuesto, quedando la interrogante de si debe existir también un factor mecánico para que la médula espinal se lesione.

Para nosotros, los cuidados perioperatorios en la cirugía fetal y que involucran a la madre y al feto son la parte más importante para obtener buenos resultados, más que la rapidez con que se realiza la cirugía. Los óbitos que tuvimos pueden ser atribuibles a la intervención quirúrgica y las muertes por parto prematuro podrían ser evitadas al extraer el producto por cesárea en la semana 21 de la gestación.

Podemos concluir que el mono a pesar de ser un animal difícil de manejar y conseguir, es un modelo ideal para llevar a cabo la investigación relacionada con cirugía *in utero*. Consideramos

que nuestros resultados fueron satisfactorios pero no concluyentes, por lo que debemos ampliarlos y plantear la posibilidad de colocar la malla por vía laparoscópica.

Referencias

- Lary JM, Edmonds LD. Prevalence of spina bifida at birth—United States, 1983–1990: a comparison of two surveillance systems. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1996;45:15–26.
- Steinbock P, Irving B, Cochrane DD, Irwin BJ. Long-term outcome and complications of children born with meningomyelocele. Childs Nerv Syst 1992;8:92–96.
- Lind T, Parkin FM, Cheyne GA. Biochemical and cytological changes in liquor amnii with advancing gestation. Br J Obstet Gynaecol 1969;76:673–683.
- Hogge WA, Dungan JS, Brooks. Diagnosis and management of prenatally detected myelomeningocele: a preliminary report. Am J Obstet Gynecol 1990;163:1061–1064.
- Heffez DS, Aryapur J, Hutchins GM, Freeman JM. The paralysis associated with myelomeningocele: clinical and experimental data implicating a preventable spinal cord injury. Neurosurgery 1990;26:987–992.
- Lind T, Parkin FM. Relation of amniotic fluid volume to fetal weight in the first half of pregnancy. Lancet 1970;1:1147–1149.
- Lind T, Kendall A, Hytten FE. The role of the fetus in the formation of amniotic fluid. Br J Obstet Gynaecol 1972;79:289–298.
- Wallenburg HCS. The amniotic fluid. Water and electrolyte homeostasis. J Perinatol Med 1977;5:191–205.
- Heffez DS, Aryapur J, Cuello-Rotellini NA, Hutchins GM, Freeman JM. Intrauterine repair of experimental surgically created dysraphism. Neurosurgery 1993;32:1005–1010.
- Stark GD, Baker GCW. The neurological involvement of the lower limbs in meningomyelocele. Dev Med Child Neurol 1967;9:732–744.
- Harrison MR, Longaker MT. Maternal risk and the development of fetal surgery. In: Harrison MR, Golbus MS, Filly RA, eds. The Unburn Patient. 2nd ed. Philadelphia: Saunders;1991. pp. 189–202.
- Stark GD, Drummond M. The spinal cord lesion in myelomeningocele. Dev Med Child Neurol 1971;13:1–14.
- Meuli M, Meuli-Simmen C, Yingling CD, Hutchins GM, McBiles-Hoffman K, Harrison MR. Creation of myelomeningocele *in utero*: a model of functional damage from spinal cord exposure in fetal sheep. J Pediatr Surg 1995;30:1028–1022.
- Michejda M. Intrauterine treatment of spina bifida: primate model. Z Kinderchir 1984;39:259–261.
- Adzick NS, Sutton LN, Crombleholme TM, Flake AW. Successful fetal surgery for spina bifida. Lancet 1998;352:1675–1676.
- Tulipan N, Bruner JP. Myelomeningocele repair *in utero*: a report of three cases. Pediatr Neurosurg 1998;28:177–180.
- Copeland ML, Bruner JP, Richards WO, Sundell HW, Tulipan NB. A model for *in utero* endoscopic treatment of myelomeningocele. Neurosurgery 1993;33:542–544.
- Bruner JP, Tulipan NB, Richards WO. Endoscopic coverage of fetal myelomeningocele *in utero*. Am J Obstet Gynecol 1997;176:256–257.