

Received: 2012.06.13
Accepted: 2013.03.16
Published: 2013.08.06

Inżynieria tkankowa – eksperymentalna metoda regeneracji pęcherza moczowego

Tissue engineering – experimental method of urinary bladder regeneration

Marta Pokrywczyńska¹, Arkadiusz Jundziłł¹, Jan Adamowicz¹, Tomasz Drewna^{1,2}

¹ Zakład Inżynierii Tkankowej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Bydgoszcz

² Oddział Urologii Ogólnej i Onkologicznej, Specjalistyczny Szpital Miejski Mikołaja Kopernika, Toruń

Streszczenie

Operacje rekonstrukcyjne pęcherza moczowego wykonywane są najczęściej u pacjentów po cystektomii radykalnej z powodu naciekającego raka pęcherza moczowego. Materiałem powszechnie wykorzystywanym w operacjach rekonstrukcyjnych dróg moczowych jest ściana jelita. Użycie jelita jako „materiału” do rekonstrukcji pęcherza związane jest z wieloma powikłaniami. Metody inżynierii tkankowej stwarzają możliwość konstruowania tkanek pęcherza moczowego *in vitro* z komórek autologicznych pochodzących spoza układu moczowego. Do tej pory nie zdefiniowano, który typ komórek oraz rusztowania będzie najbardziej użyteczny w rekonstrukcji pęcherza moczowego. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat regeneracji pęcherza moczowego za pomocą technik inżynierii tkankowej.

Słowa kluczowe:

inżynieria tkankowa • regeneracja • pęcherz moczowy • komórki macierzyste

Summary

The most common cause of bladder reconstruction is radical cystectomy for invasive bladder cancer. Currently, bowel segments remains, the most widely used in reconstruction of urinary tract. Using of bowel as a “material” for bladder reconstruction is associated with numerous complications. Tissue engineering methods provide opportunities to construct bladder tissue *in vitro* from autologous cells obtained from non urinary tract system. So far, the most useful cell and matrix type for bladder reconstruction have not been defined. In this work actual knowledge about tissue engineering in bladder regeneration was presented.

Keywords:

tissue engineering • regeneration • urinary bladder • stem cells

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1061633>

Word count:

2898

Tables:

1

Figures:

–

References:

113

Adres autorki:

dr n. med. Marta Pokrywczyńska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Zakład Inżynierii Tkankowej, ul Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz; e-mail: marta.pokrywczynska@interia.pl

WSTĘP

Ogromny postęp w opracowywaniu metod izolacji i hodowli dużej liczby komórek *in vitro*, a także syntezy materiałów służących jako nośniki dla wszczepianych komórek sprawił, iż inżynieria tkankowa stała się obiecującym narzędziem medycyny transplantacyjnej i chirurgii rekonstrukcyjnej XXI wieku. Możliwość konstruowania substytutów tkanek metodami inżynierii tkankowej z komórek autologicznych stwarza nadzieje na rozwiązanie wielu problemów, m.in. związanych z brakiem tkanek i narządów do transplantacji, czy też leczeniem immunosupresyjnym w przypadku allogenicznych przeszczepów tkankowych i narządowych. Metody inżynierii tkankowej pozwalają przede wszystkim na opracowanie nowych strategii terapeutycznych. Wzrastające znaczenie inżynierii tkankowej wyraźnie zaznacza się również w urologii rekonstrukcyjnej. Do tej pory przeprowadzono kilka badań klinicznych z zastosowaniem technik inżynierii tkankowej m.in. w leczeniu refluksu pęcherzowo-moczowodowego, nietrzymania moczu, rekonstrukcji cewki moczowej oraz pęcherza [6,29,78,101]. Dobre wyniki tych pojedynczych jak na razie eksperymentów klinicznych pozwalają przypuszczać, iż metody inżynierii tkankowej już wkrótce znajdą szersze zastosowanie w praktyce klinicznej. Rekonstrukcja pęcherza moczowego techniką inżynierii tkankowej jest jedną z największych wyzwań urologii rekonstrukcyjnej. Dyskusje ostatnich lat dotyczą tego, który typ komórek macierzystych czy zróżnicowanych oraz jaki rodzaj matrycy będzie najbardziej użyteczny w rekonstrukcji pęcherza moczowego.

Stany chorobowe pęcherza moczowego wymagające operacji rekonstrukcyjnych

Operacje rekonstrukcyjne pęcherza moczowego wykonywane są najczęściej u pacjentów po radykalnej cystektomii z powodu naciekającego raka pęcherza moczowego [89]. Innym wskazaniem do rekonstrukcji jest mały, wysokociśnieniowy pęcherz moczowy. Zmniejszenie pojemności pęcherza moczowego jest następstwem chorób neurogennych, przewlekłych zapaleń pęcherza, nadczynności mięśnia wypieracza, wad rozwojowych dolnych dróg moczowych, gruźlicy oraz innych chorób. Wskazaniem do rekonstrukcji pęcherza moczowego są również wynicowanie pęcherza moczowego oraz uraz pęcherza moczowego. Należy nadmienić, iż przypadki usunięcia pęcherza z powodu chorób nienowotworowych są niezwykle rzadkie. Wymienione choroby nienowotworowe są stanami wymagającymi często augmentacji pęcherza celem zwiększenia jego pojemności, nie zaś wytworzenia pęcherza moczowego *de novo*. Z kolei wytworzenie niskociśnieniowego zbiornika na mocz o odpowiedniej pojemności ma przede wszystkim zabezpieczyć górne drogi moczowe przed uszkodzeniem, a także zapewnić kilkunastogodzinne okresy trzymania moczu [91].

Odtworzenie pęcherza moczowego z użyciem ściany jelita

W operacjach odtwórczych pęcherza moczowego stosowano wiele materiałów. Najczęściej wykorzystywanym materiałem jest obecnie ściana jelita cienkiego. Istnieją dwie grupy metod odprowadzenia moczu po cystektomii radykalnej: zapewniające trzymanie moczu tzw. kontynentne i niezapewniające trzymanie moczu tzw. niekontynentne. Wśród metod kontynentnych wyróżnia się operacje polegające na wytworzeniu zbiornika z izolowanego, unaczynionego fragmentu jelita i połączenie go z cewką moczową (tzw. ortotopowy pęcherz jelitowy) lub wykonanie szczelnego zbiornika jelitowego [37,76,90]. Niekontynentne sposoby odprowadzenia moczu polegają na wszyciu moczowodów bezpośrednio do skóry lub za pomocą wstawki z jelita [103].

Metodą stosowaną w celu operacyjnego powiększenia pojemności pęcherza moczowego jest uzupełnienie ściany pęcherza o izolowany, unaczyniony fragment jelita [76]. Zastosowanie ściany jelita do rekonstrukcji pęcherza moczowego obarczone jest wieloma działaniami niepożądanymi. Najczęstszymi powikłaniami tego typu operacji są zaburzenia wynikające z absorpcyjnych właściwości nabłonka wyścielającego ścianę przewodu pokarmowego. Wchłanianie składników moczu prowadzi do zaburzeń elektrolitowych i równowagi osmotycznej, zaburzeń neurologicznych oraz demineralizacji kości [81,93]. Częstymi problemami związanymi z użyciem ściany jelita do rekonstrukcji pęcherza są zwiększone wydzielanie śluzu i kamica [69,104]. Znane są również inne powikłania, takie jak zakażenia układu moczowego czy nowotworzenie w obrębie nabłonka jelita oraz miejscach zespolenia z nabłonkiem dróg moczowych [76,106]. Liczne powikłania operacji rekonstrukcyjnych dolnych dróg moczowych za pomocą ściany jelita stały się przyczyną poszukiwań alternatywnych metod oraz materiałów do rekonstrukcji. Nadmiernemu wydzielaniu śluzu próbowano zapobiec usuwając błonę śluzową ze ściany jelita wykorzystywanego do rekonstrukcji. Przyczyną niepowodzeń związanych z użyciem płatów mięśniowo-surowiczkowych były obkurczenie wszczepu, formowanie kamieni oraz ponowne napełnianie nabłonka jelita w obrębie rekonstruowanej ściany pęcherza [67]. Powikłania rekonstrukcji pęcherza moczowego wynikające z użycia ściany jelita próbowano wyeliminować przez zastosowanie autoaugmentacji. Detrusotomia pozwala na powiększenie pojemności pęcherza przez utworzenie dużego pseudouchyłka z nieuszkodzonej błony śluzowej pęcherza po odpreparowaniu od niej mięśnia wypieracza. Powiększenie małego, wysokociśnieniowego pęcherza neurogennego metodą detrusotomii jest korzystne, ale krótkoterminowe, w dłuższych obserwacjach metoda ta nie sprawdza się [59]. Wadą tej metody operacyjnej jest możliwość niedużego zwiększenia w stosunku do wartości wyjściowej pojemności pęcherza oraz przerost tkanki włóknistej nad obnażoną z mięśniówki błoną śluzową, skutkujące zmniejszeniem jej podatności oraz ostatecznie obkurczeniem. Pokrycie

pseudouchyłka z nieuszkodzonej błony śluzowej pęcherza płatem mięśniowo-surowiczkowym jelita również nie pozwala na całkowite wyeliminowanie powikłań. Kamica, infekcje, deformacje oraz duży odsetek reoperacji ograniczają stosowanie tej metody [12].

Rekonstrukcja pęcherza moczowego materiałem pochodzącym spoza jelita

„Materiały” stosowane w chirurgii rekonstrukcyjnej można podzielić na uszypułowane płaty tkankowe, wolne (nieuszypułowane) wszczepy tkankowe oraz biomateriały. W eksperymentalnych operacjach augmentacji pęcherza moczowego stosowano uszypułowane płaty żołądkowe, moczowodowe, mięśniowe, otrzewnowe oraz sieci [22,23,31,55,68,83,95,99]. Szersze zastosowanie kliniczne poza uszypułowanymi płatami jelitowymi znalazły jedynie płaty żołądkowe oraz moczowodowe [1,21,32,43,109]. Obecnie materiały te stosowane są w chirurgii pęcherza u pacjentów z niewydolnością nerek, u których istnieje przeciwwskazanie użycia ściany jelita do celów rekonstrukcyjnych. Ureterocystoplastyka znajduje zastosowanie tylko w wybranych przypadkach, przy obecności poszerzonego moczowodu i niewydzielającej nerki [94].

W postaci nieuszypułowanej (wolnych wszczepów) w augmentacji pęcherza moczowego stosowano głównie materiały bogate w kolagen, takie jak powięź, liofilizowaną oponę twardą, otrzewną, konserwowane chemicznie osierdzie, błonę owodniową oraz prezerwowaną ścianę pęcherza moczowego. Materiały te nie znalazły szerszego zastosowania w operacjach rekonstrukcyjnych dolnych dróg moczowych. Wśród powikłań istotnie ograniczających przydatność wolnych wszczepów tkankowych w rekonstrukcji pęcherza moczowego należy wymienić odrzucenie wszczepu, infekcje, tworzenie kamieni moczowych, obkurczenie wszczepu, inkrustację, wyciek moczu oraz ograniczoną dostępność materiału tkankowego [33,39,40,44,46,70,71,96,97].

W chirurgii pęcherza moczowego zastosowania nie znalazły również biostabilne biomateriały syntetyczne, takie jak: akryl, poliwinyl, polietylen, politetrafluoroetylen, silikon, politereftalan glikolu etylenowego czy polieterouretan. Materiały te miały spełnić funkcje podporowe do czasu odtworzenia tkanek własnych biorcy. Przyczynami niepowodzeń zastąpienia ściany pęcherza moczowego w przypadku zastosowania syntetycznych materiałów niedegradowanych były najczęściej: silny odczyn zapalny, utrudnione gojenie, reakcja organizmu na ciało typu obcego, formowanie kamieni moczowych, metaplasja kostna, nawracające infekcje, tworzenie uchyłków, obkurczanie wszczepu oraz wyciek moczu [4,47,49,78,98,100,102].

Koncepcje dotyczące rekonstrukcji pęcherza moczowego technikami inżynierii tkankowej

Ostatnie dziesięciolecie ubiegłego wieku charakteryzuje się dynamicznym rozwojem technik inżynierii tkanko-

wej. Inżynieria tkankowa jest nową interdyscyplinarną dziedziną wykorzystującą podstawy inżynierii materiałów, biologii oraz medycyny celem stworzenia biologicznych substytutów, które odtworzą, podtrzymają lub poprawią funkcjonowanie uszkodzonej tkanki [36]. Celem badań inżynierii tkankowej w urologii jest uzyskanie funkcjonalnego materiału biologicznego, który będzie w stanie zastąpić lub zregenerować ścianę pęcherza moczowego. Idealny materiał do rekonstrukcji ściany pęcherza moczowego powinien być biokompatybilny oraz charakteryzować się odpowiednimi parametrami mechanicznymi (podatnością na rozciąganie) i fizjologicznymi (zapobiegać wchłanianiu moczu) właściwymi prawidłowej ścianie pęcherza.

Wytworzenie substytutu ściany pęcherza moczowego technikami inżynierii tkankowej daje nadzieje na rozwiązanie problemów związanych z rekonstrukcją dolnych dróg moczowych za pomocą ściany jelita. Wyróżnia się dwie podstawowe metody regeneracji tkanek pęcherza technikami inżynierii tkankowej. Pierwsza metoda polega na użyciu biodegradowalnych materiałów pozbawionych komórek. Tkanka regenerowana jest *in vivo* przez komórki gospodarza, które migrują do wszczepu. Wszczepiony materiał spełnia początkowo rolę rusztowania dla wzrastającej tkanki, z czasem ulega przebudowie i degradacji. W drugiej metodzie wykorzystuje się przygotowane *in vitro* rusztowania przestrzenne wysiane komórkami. Namnożone *in vitro* komórki wysiane na biodegradowalne materiały formują pseudotkanke *in vitro*, a następnie tkankę *in vivo*. Matryca, na której wysiano komórki również ulega degradacji ustępując miejsca wzrastającej tkance [87].

Źródłem komórek do rekonstrukcji mogą być autologiczne, allogeniczne lub ksenogeniczne tkanki. Najchętniej wykorzystywane są komórki autologiczne, ze względu na minimalne ryzyko odrzucenia oraz uniknięcie powikłań wynikających z leczenia immunosupresyjnego [5].

Rusztowania stosowane w rekonstrukcji pęcherza moczowego

Rusztowania wykorzystywane w inżynierii tkankowej mają nie tylko spełniać funkcje podporowe, czy też zastąpić funkcje fizjologiczne uszkodzonych tkanek, ale przede wszystkim pobudzać regenerację tkanek w miejscu uszkodzenia. Rusztowania dla komórek wytwarzane są z polimerów syntetycznych, materiałów naturalnych oraz ich kompozytów [73].

W operacjach rekonstrukcyjnych pęcherza moczowego wykorzystywano biomateriały naturalne w postaci nieprzetworzonej (błony łącznotkankowe), przetworzonej (matryce bezkomórkowe) oraz elementarnej (rusztowania z kolagenu, jedwabiu) [13,14,44,62,80]. Stosowano również biodegradowalne materiały syntetyczne (membrany z poli- α -aminokwasów, polikwasów glikolowych (PGA), polilaktydo-ko-glikolidów (PLGA) oraz kompo-

zyty biodegradowalnych materiałów syntetycznych i naturalnych (kolagenu i poliglaktyny, kolagenu i polakaprolaktonu, kolagenu i PGA) [6,27,28,30,41,50,61,64]. Nie udowodniono, które biomateriały najlepiej nadawałyby się do odtworzenia ciągłości dróg moczowych. Zaletami użycia naturalnych biomateriałów są obecność czynników wzrostu, naturalna struktura oraz obecność białek macierzy zewnątrzkomórkowej ułatwiających przyleganie komórek. Skład naturalnych bezkomórkowych matryc może się jednak różnić w zależności od pochodzenia. Różnorodność ta może prowadzić do różnic w funkcjonowaniu matrycy po wszczepieniu oraz być przyczyną zmiennych wyników rekonstrukcji [51]. Zaletami biomateriałów syntetycznych są łatwa dostępność oraz możliwość modyfikowania właściwości fizycznych (czas degradacji, podatność na rozciąganie) w zależności od przeznaczenia. Syntetyczne skafoldy w odróżnieniu od rusztowań naturalnych mają stały skład [82].

Najchętniej wykorzystywanym obecnie materiałem w eksperymentalnych operacjach rekonstrukcyjnych pęcherza moczowego są bezkomórkowe matryce przygotowane z podśluzówki jelita cienkiego (small intestinal submucosa – SIS) oraz podśluzówki pęcherza moczowego (bladder acellular matrix – BAM) [52,53,56,62,74,83]. Rzadziej stosuje się matryce acelluluarne przygotowane ze skóry, żołądka czy osierdzia [7,65,92]. Wszystkie wyżej wymienione matryce zbudowane są z elementów macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej i ze względu na swoją budowę cechują się niewielką immunogennością, którą dodatkowo można zmniejszyć stosując odpowiednie metody konserwacji sterylizacji. Głównymi składnikami zewnątrzkomórkowych macierzy są kolagen, elastyna, glikoproteiny (fibronektyna i laminina), glikozaminoglikany i czynniki wzrostu. Macierz zewnątrzkomórkowa stanowi nie tylko rusztowanie utrzymujące strukturę tkanki, ale również reguluje procesy proliferacji, różnicowania i migracji komórek [8].

Pierwotnie matryce SIS wykorzystywane były głównie w rekonstrukcji naczyń krwionośnych. Matryce przygotowywano poprzez mechaniczne usunięcie nabłonka i mięśniówki ze ściany jelita świni [10]. Obecnie w chirurgii rekonstrukcyjnej wykorzystuje się matryce całkowicie pozbawione komórek, które przygotowuje się przez decellularyzację chemiczną i enzymatyczną. Pierwsze badania nad rekonstrukcją pęcherza moczowego za pomocą matrycy SIS wykazały, iż materiał ten pozwala na odtworzenie w pełni funkcjonalnej ściany pęcherza moczowego [52,53]. Mniej obiecujące wyniki osiągnięto w długoterminowych badaniach na dużym modelu doświadczalnym (świnia), w których zaobserwowano znaczne obkurczenie wszczepionej matrycy SIS oraz brak poprawy w podatności i pojemności pęcherza [56,74]. Wykazano również, że matryca SIS ulega zwapnieniu i metaplastyce kostnej [74,77]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach, w których do rekonstrukcji pęcherzy moczowych wykorzystano matryce BAM. Zastosowanie matrycy BAM daje pozytywne wyniki krótkoterminowe [62,80]. W dłuższym okresie obserwacji matryca BAM

ulega znacznemu obkurczeniu oraz zwapnieniu [16]. Autorzy są zgodni co do tego, że im większa powierzchnia bezkomórkowej matrycy, tym prawdopodobieństwo obkurczenia wszczepu jest większe.

Nowym trendem w inżynierii tkankowej pęcherza moczowego jest stosowanie matryc wzbogaconych o egzogenne czynniki wzrostowe. W licznych badaniach doświadczalnych wykazano, iż wysycenie matrycy BAM zasadowym czynnikiem wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor – bFGF), naczyniowo-śródbłonkowym czynnikiem wzrostu (vascular endothelial growth factor – VEGF) czy czynnikiem wzrostu nerwów (nerve growth factor – NGF) wpływa korzystnie na procesy regeneracji naczyń krwionośnych oraz nerwów w rekonstruowanej ścianie pęcherza moczowego [45,48,58,110].

Dynamiczny rozwój natotechnologii pozwala na konstrukcję tzw. „mądrych biomateriałów” (smart biomaterials) aktywnie uczestniczących w procesie regeneracji tkanek. Jedną ze znanych metod syntezy tego typu skafoldów polega na opłaszczaniu biomateriałów czynnikami stymulującymi adhezję komórek np. sekwencją wiążącą integryny RGD, złożoną z trzech aminokwasów argininy (R), glicyny (G) i kwasu asparaginowego (D) [38]. Bardzo interesującą koncepcją jest również fuzja czynników wzrostu z domeną wiążącą kolagen (collagen binding domain – CBD). Dzięki tej metodzie zastosowane czynniki wzrostu łączą się z kolagenem swoiście, co zapobiega ich dyfuzji do płynów ustrojowych. W ten sposób wydłużony zostaje okres aktywnego półtrwania czynnika wzrostowego w miejscu wszczepienia takiego materiału [18].

Nowym kierunkiem badań w inżynierii tkankowej pęcherza jest również stosowanie rusztowań przygotowanych techniką elektroprzędzenia (electrospinning). Elektroprzędzenie jest procesem otrzymywania włókien ze stopionych polimerów lub ich roztworów z zastosowaniem wysokiego napięcia. Powstające włókna mają średnice od kilku nanometrów (nanowłókna) do kilku milimetrów. Metoda ta pozwala na uzyskanie biomateriałów o strukturze naśladującej budowę macierzy zewnątrzkomórkowej tkanek [88].

Źródła komórek do rekonstrukcji pęcherza moczowego

Mimo wielu zalet wynikających z użycia bezkomórkowych matryc, materiał ten nie pozwala na skuteczną i powtarzalną regenerację ściany pęcherza moczowego. Rekonstrukcja pęcherza moczowego wymaga regeneracji warstwy mięśniowej, ponieważ jego funkcja jako zbiornika moczu zależy głównie od podatności i kurczliwości mięśni gładkich wypieracza. W badaniach nad gojeniem tkanek u dorosłych ssaków wykazano, iż w wielu narządach tkanka nabłonkowa wraz z błoną podstawną regenerują spontanicznie, w odróżnieniu od innych tkanek, które goją się poprzez naprawę

Tabela 1. Komórki oraz rusztowania wykorzystywane w rekonstrukcji pęcherza moczowego

Rusztowanie (rozmiar wszczepu)	Rodzaj komórek (liczba/cm2)	Model	Wynik	Piśmiennictwo
Bezkomórkowa matryca ze ściany pęcherza moczowego (bladder acellular matrix, BAM) (4x5cm)	nabłonek urotelialny i komórki mięśni gładkich (1x107)	pies	trzy miesiące po rekonstrukcji obserwowano regenerację wszystkich komponentów prawidłowej ściany pęcherza moczowego.	108
Kwas poliglikolowy (polyglycolic acid, PGA) lub Matryca SIS (4x4cm)	komórki mięśni gładkich (1x107)	królik	regenerację warstwy mięśniowej obserwowano w sześć miesięcy po operacji jedynie w przypadku pęcherzy rekonstruowanych przy pomocy rusztowań z PGA wysianych komórkami mięśniowymi.	54
Bezkomórkowa matryca z podśluzówki jelita cienkiego (small intestinal submucosa, SIS) (5x7cm)	mezenchymalne komórki macierzyste szpiku kostnego lub nabłonek urotelialny i komórki mięśni gładkich (brak danych)	pies	dziesięć tygodni po augmentacji obserwowano całkowite pokrycie rekonstruowanej ściany pęcherza nabłonkiem urotelialnym oraz obecność włókien mięśniowych.	112
Matryca SIS (1x1cm)	embrionalne komórki macierzyste (1x105)	szczur	całkowita regeneracja ściany pęcherza moczowego w 28 dni po rekonstrukcji.	35
Kolagen typu I (8x8cm)	keratynocyty i fibroblasty (5x105)	świnia	nie obserwowano zastąpienia keratynocytów nabłonkiem urotelialnym nawet w trzy miesiące po rekonstrukcji pęcherza.	15
Matryca BAM (1x1cm)	komórki macierzyste mieszków włosowych (1x106)	szczur	w sześć miesięcy po operacji obserwowano całkowitą regenerację nabłonka urotelialnego oraz obecność włókien mięśniowych w obrębie rekonstruowanej ściany pęcherza moczowego. u jednego szczura w pięć miesięcy po rekonstrukcji w pęcherzu moczowym wykryto strukturę przypominającą mieszek włosowy.	26
Matryca BAM (1,5x1,5cm)	komórki macierzyste tkanki tłuszczowej (1,3x107)	królik	w sześć miesięcy po operacji obserwowano regenerację wszystkich komponentów prawidłowej ściany pęcherza moczowego.	113

[107]. Nabłonek urotelialny charakteryzuje się wysokim potencjałem proliferacyjnym oraz zdolnością samoodnowy. Urotelium regeneruje się nawet w przypadku usunięcia całego pęcherza moczowego nadpęłzając z moczowodów [98]. Regeneracja tkanki mięśniowej u dorosłych ssaków jest możliwa, ale wymaga indukcji (tzw. indukowana regeneracja) za pomocą technik inżynierii tkankowej. Regenerację mięśni pęcherza moczowego wspomaga się przez zasiedlenie wszczepu komórkami mięśniowymi lub komórkami macierzystymi mającymi zdolność do różnicowania w komórki mięśniowe [6,85,113].

Pionierskie prace doświadczalne, w których do rekonstrukcji pęcherza moczowego wykorzystano wyhodo-

wane *in vitro* komórki przeprowadzone zostały przez zespół naukowców z Uniwersytetu Harvarda w 1998 i 1999 r. Materiałem wykorzystanym do rekonstrukcji były matryce BAM lub kompozyty kolagenu i PGA wysiane zróżnicowanymi komórkami autologicznymi nabłonka urotelialnego oraz mięśni gładkich [72,108]. Te przedkliniczne badania zaowocowały konstrukcją *in vitro* substytutu ściany pęcherza moczowego z komórek autologicznych dla siedmiu pacjentów, u których wykonano cystoplastykę z powodu pęcherza neurogenego. Mimo bardzo obiecujących wyników klinicznych doświadczenie to jest jak dotąd jedynym potwierdzającym możliwość rekonstrukcji ściany pęcherza moczowego człowieka za pomocą wytworzonego *in vitro* jej substytutu [6].

Obiecujące wyniki rekonstrukcji pęcherza moczowego za pomocą matryc wysianych komórkami uzyskuje się zwykle w doświadczeniach, w których uzupełnia się ubytki mniejsze od 50% całkowitej powierzchni pęcherza. W tym przypadku regeneracja ściany pęcherza wspomagana jest nie tylko przez wszczepiane komórki, ale również jest wynikiem migracji komórek z pozostawionej ściany pęcherza [112]. Rekonstrukcja 90% powierzchni pęcherza moczowego za pomocą matrycy SIS wysianej komórkami obarczona jest wieloma działaniami niepożądanymi. Obkurczenie wszczepu, słaba regeneracja warstwy mięśniowej, zmniejszona pojemność pęcherza oraz kamica to niepożądane skutki takich eksperymentalnych operacji [111].

Istnieje wielu chorób pęcherza moczowego, w przypadku których nie można użyć komórek nabłonka urotelialnego oraz mięśni gładkich do celów rekonstrukcyjnych [24,57,86]. Ograniczone możliwości stosowania komórek pęcherza stały się przyczyną poszukiwań alternatywnych źródeł komórek do rekonstrukcji. Do tej pory z dobrym efektem stosowano zarówno komórki zróżnicowane takie jak keratynocyty, fibroblasty, jak również komórki macierzyste, takie jak mezenchymalne komórki macierzyste szpiku kostnego (mesenchymal stem cells – MSCs), komórki macierzyste adipocytów (adipocyte derived stem cells – ADSCs), komórki macierzyste mieszków włosowych oraz embrionalne komórki macierzyste (tab. 1) [15,25,26,35,84,112,113].

Jednymi z najbardziej atrakcyjnych komórek do celów rekonstrukcyjnych w urologii wydają się mezenchymalne komórki macierzyste szpiku kostnego oraz tkanki tłuszczowej [11,42]. Mezenchymalne komórki macierzyste mogą różnicować się nie tylko w komórki mięśniowe, ale również w komórki nabłonka urotelialnego, endotelium, a nawet komórki nerwowe. Mogą więc stymulować regenerację wszystkich elementów składowych prawidłowej ściany pęcherza moczowego. Chung i wsp. wykazali obecność zorganizowanych struktur mięśniowych w pęcherzach rekonstruowanych za pomocą matryc SIS wysianych komórkami MSCs już w miesiąc po rekonstrukcji. W pęcherzach rekonstruowanych za pomocą matryc SIS bez komórek formowanie zawiązków mięśni obserwowano dopiero po 3 miesiącach [19]. W innym badaniu porównano regenerację ściany pęcherza moczowego za pomocą matryc SIS bez komórek, matryc SIS wysianych komórkami mięśni gładkich i urotelium oraz matryc SIS wysianych komórkami MSCs. W 10 tygodni po rekonstrukcji na całej powierzchni wszczepu stwierdzono obecność zawiązków mięśni w obydwu grupach, w których matryce wysiano komórkami w przeciwieństwie do grupy, w której użyto matryce bez komórek. Stopień regeneracji warstwy mięśniowej w grupach, w których wykorzystano komórki MSCs oraz komórki mięśni gładkich był porównywalny [112]. Prawdopodobnie regeneracja mięśniówki pęcherza moczowego jest wynikiem kilku nakładających się procesów. Duże znaczenie w regeneracji warstwy mięśniowej rekonstruowanego pęcherza moczowego mają komórki mię-

śni gładkich napęłzające z prawidłowej ściany. Wu i wsp. wykazali, iż komórki te odróżnicowują się, migrują, a następnie z powrotem przekształcają się w dojrzałe komórki mięśniowe [105]. Komórki mięśniowe mogą również powstawać z fibroblastów lub miofibroblastów [64,77]. Mezenchymalne komórki macierzyste mogą wspomagać regenerację ściany pęcherza moczowego bezpośrednio różnicując się w komórki mięśni gładkich, pozostawać w stanie niezróżnicowanym i generować komórki prekursorowe utrzymujące homeostazę tkanki, jak również działać pośrednio wydzielając czynniki troficzne stymulujące regenerację. Dane dotyczące tego jaki procent wykorzystanych do rekonstrukcji pęcherza komórek MSCs różnicuje się w komórki o fenotypie mięśniowym są sprzeczne. Shukla i wsp. wykazali, iż zaledwie 2-3% komórek mięśniowych w obrębie zregenerowanej ściany pęcherza moczowego szczura powstaje w wyniku różnicowania wszczepionych komórek MSCs [85]. Według Sharma i wsp. w komórki mięśni gładkich różnicuje się ponad 90% wszczepionych komórek MSCs [84]. Wobec tak dużych rozbieżności należy bardzo ostrożnie podchodzić do prezentowanych wyników badań. Kiedy analizujemy prace dotyczące wpływu moczu na żywotność oraz proliferację komórek *in vitro* wydaje się, że obumieranie wszczepionych do pęcherza komórek macierzystych jest sprawą oczywistą [3,20]. Prawdopodobnie tylko niewielki procent wszczepionych komórek przeżywa i różnicuje się w komórki o fenotypie mięśniowym. Regeneracja warstwy mięśniowej może być również wspomagana przez krążące w ustroju komórki MSCs. Wykazano, że matryca wysiana nabłonkiem urotelium wszczepiona do jamy otrzewnej, podskórnie lub pod torebkę nerki zasiedlana jest przez komórki mezenchymalne wykazujące ekspresję α aktyny – wczesnego markera mięśni gładkich [64,66]. Duży odsetek komórek (~70%) zasiedlających bezkomórkową matrycę wszczepioną podskórnie pochodzi ze szpiku kostnego [10]. W zrekonstruowanej za pomocą bezkomórkowej matrycy ścianie pęcherza moczowego tylko 1,2 – 4,6% komórek mięśniowych pochodzi ze szpiku kostnego [45].

Unaczynienie i unerwienie rekonstruowanego pęcherza moczowego

Wytworzenie ściany pęcherza moczowego wymaga nie tylko regeneracji urotelium oraz warstwy mięśniowej, ale również odpowiedniego unaczynienia i unerwienia. Szybkie unaczynienie wszczepu jest czynnikiem mającym istotny wpływ na utrzymanie dużej masy komórek po wszczepieniu. Neowaskularyzację rekonstruowanej ściany pęcherza moczowego można wzmocnić poprzez wysianie matryc komórkami endotelialnymi. Chen i wsp. Wykazali, iż użycie progenitorów komórek endotelialnych, do których wprowadzono czynnik VEGF stymuluje regenerację naczyń krwionośnych w rekonstruowanym pęcherzu moczowym [17]. Istotnym elementem warunkującym prawidłowe funkcjonowanie rekonstruowanej ściany pęcherza moczowego jest reinnerwacja. Regenerację włókien nerwowych obserwowano zarówno w przypadku użycia

matryc bezkomórkowych, jak i wysianych komórkami [25,34,92,108,113]. Regeneracja nerwów w rekonstruowanej ścianie pęcherza moczowego może być również wspomagana przez wysianie matryc komórkami Shwanna [2].

PODSUMOWANIE

Odtworzenie budowy i funkcji ściany pęcherza moczowego nie jest zadaniem łatwym ponieważ proces gojenia się ran u dorosłych ssaków ma charakter

naprawczy, a nie regeneracyjny. Metody inżynierii tkankowej stwarzają możliwość odbudowy prawidłowej architektury uszkodzonej tkanki w wyniku regeneracji. Liczne badania eksperymentalne dowodzą, iż zasiedlenie wszczepu komórkami mięśniowymi lub macierzystymi zdolnymi do różnicowania w komórki mięśniowe pozwala na odtworzenie prawidłowej budowy rekonstruowanego pęcherza moczowego. Konieczne są dalsze prace doświadczalne, które stworzą solidne podstawy naukowe do rozpoczęcia badań klinicznych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abdel-Azim M.S., Abdel-Hakim A.M.: Gastrocystoplasty in patients with an areflexic low compliant bladder. *Eur. Urol.*, 2003; 44: 260-265
- [2] Adamowicz J., Drewa T., Tworkiewicz J., Kloskowski T., Nowacki M., Pokrywczynska M.: Schwann cells – a new hope in tissue engineered urinary bladder innervation. A method of cell isolation. *Central Eur. J. Urol.*, 2011; 64: 87-89
- [3] Adamowicz J., Kloskowski T., Tworkiewicz J., Pokrywczynska M., Drewa T.: Urine is a highly cytotoxic agent: does it influence stem cell therapies in urology? *Transplant. Proc.*, 2012; 44: 1439-1441
- [4] Annis D.: The total replacement of the canine urinary bladder by a silicone rubber substitute. *Br. J. Surg.*, 1968; 55: 870
- [5] Atala A.: Tissue engineering in urology. *Curr. Urol. Rep.*, 2001; 2: 83-92
- [6] Atala A., Bauer S.B., Soker S., Yoo J.J., Retik A.B.: Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet*, 2006; 367: 1241-1246
- [7] Ayyildiz A., Nuhoglu B., Huri E., Ozer E., Gurdal M., Germiyanoglu C.: Using porcine acellular collagen matrix (Pelvicol) in bladder augmentation: experimental study. *Int. Braz. J. Urol.*, 2006; 32: 88-92
- [8] Badylak S.F.: Xenogeneic extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Transpl. Immunol.*, 2004; 12: 367-377
- [9] Badylak S.F., Lantz G.C., Coffey A., Geddes L.A.: Small intestinal submucosa as a large diameter vascular graft in the dog. *J. Surg. Res.*, 1989; 47: 74-80
- [10] Badylak S.F., Park K., Peppas N., McCabe G., Yoder M.: Marrow-derived cells populate scaffolds composed of xenogeneic extracellular matrix. *Exp. Hematol.*, 2001; 29: 1310-1318
- [11] Bajek A., Olkowska J., Drewa T.: Mezenchymalne komórki macierzyste narzędziem terapeutycznym w regeneracji tkanek i narządów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 124-132
- [12] Bandi G., Al-Omar O., McLorie G.A.: Comparison of traditional enterocystoplasty and seromuscular colocolocystoplasty lined with urothelium. *J. Pediatr. Urol.*, 2007; 3: 484-489
- [13] Becker C., Olde Damink L., Laeuffer T., Brehmer B., Heschel I., Jakse G.: 'UroMaix' scaffolds: novel collagen matrices for application in tissue engineering of the urinary tract. *Int. J. Artif. Organs*, 2006; 29: 764-771
- [14] Borówka A.: Uzupełnianie rozległych ubytków pęcherza moczowego błoną kolagenową. *Pol. Tyg. Lek.*, 1981; 36: 1525-1527
- [15] Brehmer B., Rohrmann D., Rau G., Jakse G.: Bladder wall replacement by tissue engineering and autologous keratinocytes in minipigs. *BJU Int.*, 2006; 97: 829-836
- [16] Brown A.L., Farhat W., Merguerian P.A., Wilson G.J., Khoury A.E., Woodhouse K.A.: 22 week assessment of bladder acellular matrix as a bladder augmentation material in a porcine model. *Biomaterials*, 2002; 23: 2179-2190
- [17] Chen B.S., Xie H., Zhang S.L., Geng H.Q., Zhou J.M., Pan J., Chen F.: Tissue engineering of bladder using vascular endothelial growth factor gene-modified endothelial progenitor cells. *Int. J. Artif. Organs*, 2011; 34: 1137-1146
- [18] Chen W., Shi C., Yi S., Chen B., Zhang W., Fang Z., Wei Z., Jiang S., Sun X., Hou X., Xiao Z., Ye G., Dai J.: Bladder regeneration by collagen scaffolds with collagen binding human basic fibroblast growth factor. *J. Urol.*, 2010; 183: 2432-2439
- [19] Chung S.Y., Krivorov N.P., Rausei V., Thomas L., Frantzen M., Landsittel D., Kang Y.M., Chon C.H., Ng C.S., Fuchs G.J.: Bladder reconstitution with bone marrow derived stem cells seeded on small intestinal submucosa improves morphological and molecular composition. *J. Urol.*, 2005; 174: 353-359
- [20] Davis N.F., Callanan A., McGuire B.B., Flood H.D., McGloughlin T.M.: Evaluation of viability and proliferative activity of human urothelial cells cultured onto xenogenic tissue-engineered extracellular matrices. *Urology*, 2011; 77: 1007.e1-1007.e7
- [21] DeFoor W., Minevich E., Reeves D., Tackett L., Wacksman J., Sheldon C.: Gastrocystoplasty: long-term followup. *J. Urol.*, 2003; 170: 1647-1649
- [22] Dewan P.A., Owen A.J., Stefanek W., Lorenz C., Byard R.W.: Late follow up of autoaugmentation omentocystoplasty in a sheep model. *Aust. N.Z. J. Surg.*, 1995; 65: 596-599
- [23] Dewan P.A., Stefanek W., Lorenz C., Byard R.W.: Autoaugmentation omentocystoplasty in a sheep model. *Urology*, 1994; 43: 888-891
- [24] Drewa T.: Using hair-follicle stem cells for urinary bladder-wall regeneration. *Regen. Med.*, 2008; 3: 939-944
- [25] Drewa T., Adamowicz J., Lysik J., Polaczek J., Pielichowski J.: Chitosan scaffold enhances nerve regeneration within the *in vitro* reconstructed bladder wall: an animal study. *Urol. Int.*, 2008; 81: 330-334
- [26] Drewa T., Joachimiak R., Kaznica A., Sarafian V., Pokrywczynska M.: Hair stem cells for bladder regeneration in rats: preliminary results. *Transplant. Proc.*, 2009; 41: 4345-4351
- [27] Drewa T., Sir J., Czajkowski R., Wozniak A.: Scaffold seeded with cells is essential in urothelium regeneration and tissue remodeling *in vivo* after bladder augmentation using *in vitro* engineered graft. *Transplant. Proc.*, 2006; 38: 133-135
- [28] Eberli D., Freitas Filho L., Atala A., Yoo J.J.: Composite scaffolds for the engineering of hollow organs and tissues. *Methods*, 2009; 47: 109-115

- [29] el-Kassaby A., AbouShwareb T., Atala A.: Randomized comparative study between buccal mucosal and acellular bladder matrix grafts in complex anterior urethral strictures. *J. Urol.*, 2008; 179: 1432-1436
- [30] Engelhardt E.M., Micol L.A., Houis S., Wurm F.M., Hilborn J., Hubbell J.A., Frey P.: A collagen-poly(lactic acid-co-ε-caprolactone) hybrid scaffold for bladder tissue regeneration. *Biomaterials*, 2011; 32: 3969-3976
- [31] Erol A., Özgür S., Erol U., Özgür F., Akman Y., Özgüven V., Haziroğlu R., Cetin S.: Partial bladder reconstruction with pedicled rectus and gracilis muscle flaps: an experimental study in dogs. *Br. J. Urol.*, 1994; 74: 775-778
- [32] Fisang C., Hauser S., Müller S.C.: Ureterocystoplasty: an ideal method for vesical augmentation in children. *Aktuelle Urol.*, 2010; 41 (Suppl. 1): S50-S52
- [33] Fishman I.J., Flores F.N., Scott F.B., Spjut H.J., Morrow B.: Use of fresh placental membranes for bladder reconstruction. *J. Urol.*, 1987; 138: 1291-1294
- [34] Frederiksen H., Davidsson T., Gabella G., Uvelius B.: Nerve distribution in rat urinary bladder after incorporation of acellular matrix graft or subtotal cystectomy. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 2008; 42: 205-212
- [35] Frimberger D., Morales N., Shamlott M., Gearhart J.D., Gearhart J.P., Lakshmanan Y.: Human embryoid body-derived stem cells in bladder regeneration using rodent model. *Urology*, 2005; 65: 827-832
- [36] Fuchs J.R., Nasseri B.A., Vacanti J.P.: Tissue engineering: a 21st century solution to surgical reconstruction. *Ann. Thorac. Surg.*, 2001; 72: 577-591
- [37] Hautmann R.E., de Petriconi R.C., Volkmer B.G.: 25 years of experience with 1,000 neobladders: long-term complications. *J. Urol.*, 2011; 185: 2207-2212
- [38] Hersel U., Dahmen C., Kessler H.: RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials*, 2003; 24: 4385-4415
- [39] Hutschenreiter G., Rumpelt H.J., Klippel K.F., Hohenfellner R.: The free peritoneal transplant as substitute for the urinary bladder wall. *Invest. Urol.*, 1978; 15: 375-379
- [40] Iijima K., Igawa Y., Imamura T., Moriizumi T., Nikaido T., Konishi I., Nishizawa O.: Transplantation of preserved human amniotic membrane for bladder augmentation in rats. *Tissue Eng.*, 2007; 13: 513-524
- [41] Jayo M.J., Jain D., Wagner B.J., Bertram T.A.: Early cellular and stromal responses in regeneration versus repair of a mammalian bladder using autologous cell and biodegradable scaffold technologies. *J. Urol.*, 2008; 180: 392-397
- [42] Jezierska-Woźniak K., Nosarzewska D., Tutas A., Mikołajczyk A., Okliński M., Jurkowski M.K.: Wykorzystanie tkanki tłuszczowej jako źródła mezenchymalnych komórek macierzystych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 326-332
- [43] Johal N.S., Hamid R., Aslam Z., Carr B., Cuckow P.M., Duffy P.G.: Ureterocystoplasty: long-term functional results. *J. Urol.*, 2008; 179: 2373-2375
- [44] Kambic H., Kay R., Chen J.F., Matsushita M., Harasaki H., Zilber S.: Biodegradable pericardial implants for bladder augmentation: a 2.5-year study in dogs. *J. Urol.*, 1992; 148: 539-543
- [45] Kanematsu A., Yamamoto S., Noguchi T., Ozeki M., Tabata Y., Ogawa O.: Bladder regeneration by bladder acellular matrix combined with sustained release of exogenous growth factor. *J. Urol.*, 2003; 170: 1633-1638
- [46] Kelâmi A.: Duraplasty of the urinary bladder – results after two to six years. *Eur. Urol.*, 1975; 1: 178-181
- [47] Kelâmi A., Dustmann H.O., Lüdtke-Handjery A., Cárcamo V., Herlnd G.: Experimental investigations of bladder regeneration using teflon-felt as a bladder wall substitute. *J. Urol.*, 1970; 104: 693-698
- [48] Kikuno N., Kawamoto K., Hirata H., Vejdani K., Kawakami K., Fandel T., Nunes L., Urakami S., Shiina H., Igawa M., Tanagho E., Dahiya R.: Nerve growth factor combined with vascular endothelial growth factor enhances regeneration of bladder acellular matrix graft in spinal cord injury-induced neurogenic rat bladder. *BJU Int.*, 2009; 103: 1424-1428
- [49] Kline J., Eckstein E.C., Block N.L., Lyon F., Kelly R., Morgan D., Ehrlich S.: Development of a total prosthetic urinary bladder. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1978; 24: 254-256
- [50] Koiso K., Komai T., Nijima T.: Experimental urinary bladder reconstruction using a synthetic poly(α-amino acids) membrane. *Artif. Organs*, 1983; 7: 232-237
- [51] Kropp B.P., Cheng E.Y., Lin H.K., Zhang Y.: Reliable and reproducible bladder regeneration using unseeded distal small intestinal submucosa. *J. Urol.*, 2004; 172: 1710-1713
- [52] Kropp B.P., Eppley B.L., Prevel C.D., Rippey M.K., Harruff R.C., Badylak S.F., Adams M.C., Rink R.C., Keating M.A.: Experimental assessment of small intestinal submucosa as a bladder wall substitute. *Urology*, 1995; 46: 396-400
- [53] Kropp B.P., Rippey M.K., Badylak S.F., Adams M.C., Keating M.A., Rink R.C., Thor K.B.: Regenerative urinary bladder augmentation using small intestinal submucosa: urodynamic and histopathologic assessment in long-term canine bladder augmentations. *J. Urol.*, 1996; 155: 2098-2104
- [54] Lai J.Y., Chang P.Y., Lin J.N.: Bladder autoaugmentation using various biodegradable scaffolds seeded with autologous smooth muscle cells in a rabbit model. *J. Pediatr. Surg.*, 2005; 40: 1869-1873
- [55] Lailas N.G., Cilento B., Atala A.: Progressive ureteral dilation for subsequent ureterocystoplasty. *J. Urol.*, 1996; 156: 1151-1153
- [56] Landman J., Olweny E., Sundaram C.P., Andreoni C., Collyer W.C., Rehman J., Jerde T.J., Lin H.K., Lee D.I., Nunlist E.H., Humphrey P.A., Nakada S.Y., Clayman R.V.: Laparoscopic mid sagittal hemicystectomy and bladder reconstruction with small intestinal submucosa and reimplantation of ureter into small intestinal submucosa: 1-year followup. *J. Urol.*, 2004; 171: 2450-2455
- [57] Lin H.K., Cowan R., Moore P., Zhang Y., Yang Q., Peterson J.A.Jr., Tomasek J.J., Kropp B.P., Cheng E.: Characterization of neuropathic bladder smooth muscle cells in culture. *J. Urol.*, 2004; 171: 1348-1352
- [58] Loai Y., Yeger H., Coz C., Antoon R., Islam S.S., Moore K., Farhat W.A.: Bladder tissue engineering: tissue regeneration and neovascularization of HA-VEGF-incorporated bladder acellular constructs in mouse and porcine animal models. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2010; 94: 1205-1215
- [59] MacNeily A.E., Afshar K., Coleman G.U., Johnson H.W.: Autoaugmentation by detrusor myotomy: its lack of effectiveness in the management of congenital neuropathic bladder. *J. Urol.*, 2003; 170: 1643-1646
- [60] Master V.A., Wei G., Liu W., Baskin L.S.: Urothelium facilitates the recruitment and trans-differentiation of fibroblasts into smooth muscle in acellular matrix. *J. Urol.*, 2003; 170: 1628-1632
- [61] Mauney J.R., Cannon G.M., Lovett M.L., Gong E.M., Di Vizio D., Gomez P.3rd, Kaplan D.L., Adam R.M., Estrada C.R.Jr.: Evaluation of gel spun silk-based biomaterials in a murine model of bladder augmentation. *Biomaterials*, 2011; 32: 808-818
- [62] Merguerian P.A., Reddy P.P., Barriera D.J., Wilson G.J., Woodhouse K., Bagli D.J., McLorie G.A., Khoury A.E.: Acellular bladder matrix allografts in the regeneration of functional bladders: evaluation of large-segment (> 24 cm) substitution in a porcine model. *BJU Int.*, 2000; 85: 894-898
- [63] Mitterberger M., Marksteiner R., Margreiter E., Pinggera G.M., Colleselli D., Frauscher F., Ulmer H., Fussenegger M., Bartsch G., Strasser H.: Autologous myoblasts and fibroblasts for female stress incontinence: a 1-year follow-up in 123 patients. *BJU Int.*, 2007; 100: 1081-1085

- [64] Monsour M.J., Mohammed R., Gorham S.D., French D.A., Scott R.: An assessment of a collagen/vicryl composite membrane to repair defects of the urinary bladder in rabbits. *Urol. Res.*, 1987; 15: 235-238
- [65] Moon S.J., Kim D.H., Jo J.K., Chung J.H., Lee J.Y., Park S.Y., Kim Y.T., Park H.K., Choi H.Y., Moon H.S.: Bladder reconstruction using bovine pericardium in a case of enterovesical fistula. *Korean J. Urol.*, 2011; 52: 150-153
- [66] Moriya K., Kakizaki H., Murakumo M., Watanabe S., Chen Q., Nonomura K., Koyanagi T.: Creation of luminal tissue covered with urothelium by implantation of cultured urothelial cells into the peritoneal cavity. *J. Urol.*, 2003; 170: 2480-2485
- [67] Motley R.C., Montgomery B.T., Zollman P.E., Holley K.E., Kramer S.A.: Augmentation cystoplasty utilizing de-epithelialized sigmoid colon: a preliminary study. *J. Urol.*, 1990; 143: 1257-1260
- [68] Muraishi O., Ikado S., Yamashita T., Yamaguchi K., Ogawa A.: Gastrocystoplasty in dogs: an ulcerating effect of acid urine. *J. Urol.*, 1992; 147: 242-245
- [69] N'Dow J., Pearson J., Neal D.: Mucus production after transposition of intestinal segments into the urinary tract. *World J. Urol.*, 2004; 22: 178-185
- [70] Neuhoﬀ H.: Fascia transplantation into visceral defects. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1917; 14: 383-427
- [71] Novick A.C., Straﬀon R.A., Banowsky L.H., Nose Y., Levin H., Stewart B.H.: Experimental bladder substitution using biodegradable graft of natural tissue. *Urology*, 1977; 10: 118-127
- [72] Oberpenning F., Meng J., Yoo J.J., Atala A.: *De novo* reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nat. Biotechnol.*, 1999; 17: 149-155
- [73] O'Brien F.J.: Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Mater. Today*, 2011; 14: 88-95
- [74] Paterson R.F., Lifshitz D.A., Beck S.D., Siqueira T.M.Jr, Cheng L., Lingeman J.E., Shalhav A.L.: Multilayered small intestinal submucosa is inferior to autologous bowel for laparoscopic bladder augmentation. *J. Urol.*, 2002; 168: 2253-2257
- [75] Philip J., Manikandan R., Venugopal S., Desouza J., Javle P.M.: Orthotopic neobladder versus ileal conduit urinary diversion after cystectomy – a quality-of-life based comparison. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 2009; 91: 565-569
- [76] Pickard R.: Tumour formation within intestinal segments transposed to the urinary tract. *World J. Urol.*, 2004; 22: 227-234
- [77] Pope J.C. 4th, Davis M.M., Smith E.R.Jr, Walsh M.J., Ellison P.K., Rink R.C., Kropp B.P.: The ontogeny of canine small intestinal submucosa regenerated bladder. *J. Urol.*, 1997; 158: 1105-1110
- [78] Portilla-Sanchez R., Blanco F.L., Santamarina A., Casals Roa J., Mata J., Kaufman A.: Vesical regeneration in the human after total cystectomy and implantation of a plastic mould. *Br. J. Urol.*, 1958; 30: 180-188
- [79] Raya-Rivera A., Esquiliano D.R., Yoo J.J., Lopez-Bayghen E., Soiker S., Atala A.: Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study. *Lancet*, 2011; 377: 1175-1182
- [80] Reddy P.P., Barrieras D.J., Wilson G., Bāgli D.J., McLorie G.A., Khoury A.E., Merguerian P.A.: Regeneration of functional bladder substitutes using large segment acellular matrix allografts in a porcine model. *J. Urol.*, 2000; 164: 936-941
- [81] Roosen A., Gerharz E.W., Roth S., Woodhouse C.R.: Bladder, bowel and bones – skeletal changes after intestinal urinary diversion. *World J. Urol.*, 2004; 22: 200-209
- [82] Roth C.C., Kropp B.P.: Recent advances in urologic tissue engineering. *Curr. Urol. Rep.*, 2009; 10: 119-125
- [83] Sadove R.C., Rodgers J.B., Fink B.F., McRoberts J.W.: Experimental rectus abdominis myocutaneous and rectus abdominis myoperitoneal flaps as urinary bladder wall substitutes in miniature swine. *Plast. Reconstr. Surg.*, 1993; 91: 511-521
- [84] Sharma A.K., Bury M.I., Marks A.J., Fuller N.J., Meisner J.W., Tapaskar N., Halliday L.C., Matoka D.J., Cheng E.Y.: A nonhuman primate model for urinary bladder regeneration using autologous sources of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 2011; 29: 241-250
- [85] Shukla D., Box G.N., Edwards R.A., Tyson D.R.: Bone marrow stem cells for urologic tissue engineering. *World J. Urol.*, 2008; 26: 341-349
- [86] Southgate J., Varley C.L., Garthwaite M.A., Hinley J., Marsh F., Stahlschmidt J., Trejdosiewicz L.K., Eardley I.: Differentiation potential of urothelium from patients with benign bladder dysfunction. *BJU Int.*, 2007; 99: 1506-1516
- [87] Stanasel I., Mirzazadeh M., Smith J.J.3rd: Bladder tissue engineering. *Urol. Clin. North Am.*, 2010; 37: 593-599
- [88] Stankus J.J., Freytes D.O., Badylak S.F., Wagner W.R.: Hybrid nanofibrous scaffolds from electrospinning of a synthetic biodegradable elastomer and urinary bladder matrix. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2008; 19: 635-652
- [89] Stein J.P., Lieskovsky G., Cote R., Groshen S., Feng A.C., Boyd S., Skinner E., Bochner B., Thangathurai D., Mikhail M., Raghavan D., Skinner D.G.: Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: long-term results in 1,054 patients. *J. Clin. Oncol.*, 2001; 19: 666-675
- [90] Stein R., Fichtner J., Thüroﬀ J.W.: Urinary diversion and reconstruction. *Curr. Opin. Urol.*, 2000; 10: 391-395
- [91] Studer U.E., Burkhard F.C., Schumacher M., Kessler T.M., Thoeny H., Fleischmann A., Thalmann G.N.: Twenty years experience with an ileal orthotopic low pressure bladder substitute – lessons to be learned. *J. Urol.*, 2006; 176: 161-166
- [92] Sutherland R.S., Baskin L.S., Hayward S.W., Cunha G.R.: Regeneration of bladder urothelium, smooth muscle, blood vessels and nerves into an acellular tissue matrix. *J. Urol.*, 1996; 156: 571-577
- [93] Tanrikut C., McDougal W.S.: Acid-base and electrolyte disorders after urinary diversion. *World J. Urol.*, 2004; 22: 168-171
- [94] Tekgöl S., Oge O., Bal K., Erkan I., Bakkaloğlu M.: Ureterocystoplasty: an alternative reconstructive procedure to enterocystoplasty in suitable cases. *J. Pediatr. Surg.*, 2000; 35: 577-579
- [95] Tiffany P., Vaughan E.D.Jr, Marion D., Amberson J.: Hypergastrinemia following antral gastrocystoplasty. *J. Urol.*, 1986; 136: 692-695
- [96] Tsuji I., Ishida H., Fujieda J.: Experimental cystoplasty using preserved bladder graft. *J. Urol.*, 1961; 85: 42-44
- [97] Tsuji I., Kuroda K., Fujieda J., Shiraishi Y., Kassai T., Shida H.: A clinical and experimental study on cystoplasty not using the intestine. *J. Urol.*, 1963; 89: 214-225
- [98] Tsulukidze A., Murvanidze D., Dvali R., Ivashchenko G.: Formation of a bladder by a plastic shell after total cystectomy. *Br. J. Urol.*, 1964; 36: 102-105
- [99] Turner-Warwick R.T., Wynne E.J., Handley-Ashken M.: The use of the omental pedicle graft in the repair and reconstruction of the urinary tract. *Br. J. Surg.*, 1967; 54: 849-853
- [100] Uhler K.: Substitution of the urinary bladder by means of an artificial prosthesis. *Urologia*, 1963; 30: 396-406
- [101] Velikonja N.K., Coer A., Gorensek M., Knezević M., Kmetec A.: Tissue formation following implantation of cultured elastic chondrocytes for treatment of vesicoureteral reflux. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2008; 23: 764-766
- [102] Vrind S.H., Kloppe P.J.: Implantation of silicone rubber in the urinary bladder. *Arch. Chir. Neerl.*, 1969; 21: 235-242
- [103] Williams O., Vereb M.J., Libertino J.A.: Noncontinent urinary diversion. *Urol. Clin. North Am.*, 1997; 24: 735-744

- [104] Woodhouse C.R., Robertson W.G.: Urolithiasis in enterocystoplasties. *World J. Urol.*, 2004; 22: 215-221
- [105] Wu H.Y., Baskin L.S., Liu W., Li Y.W., Hayward S., Cunha G.R.: Understanding bladder regeneration: smooth muscle ontogeny. *J. Urol.*, 1999; 162: 1101-1105
- [106] Wullt B., Agace W., Mansson W.: Bladder, bowel and bugs – bacteriuria in patients with intestinal urinary diversion. *World J. Urol.*, 2004; 22: 186-195
- [107] Yannas I.V.: Similarities and differences between induced organ regeneration in adults and early foetal regeneration. *J. R. Soc. Interface*, 2005; 2: 403-417
- [108] Yoo J.J., Meng J., Oberpenning F., Atala A.: Bladder augmentation using allogenic bladder submucosa seeded with cells. *Urology*, 1998; 51: 221-225
- [109] Youssif M., Badawy H., Saad A., Hanno A., Mokhless I.: Augmentation ureterocystoplasty in boys with valve bladder syndrome. *J. Pediatr. Urol.*, 2007; 3: 433-437
- [110] Youssif M., Shiina H., Urakami S., Gleason C., Nunes L., Igawa M., Enokida H., Tanagho E.A., Dahiya R.: Effect of vascular endothelial growth factor on regeneration of bladder acellular matrix graft: histologic and functional evaluation. *Urology*, 2005; 66: 201-207
- [111] Zhang Y., Frimberger D., Cheng E.Y., Lin H.K., Kropp B.P.: Challenges in a larger bladder replacement with cell-seeded and unseeded small intestinal submucosa grafts in a subtotal cystectomy model. *BJU Int.*, 2006; 98: 1100-1105
- [112] Zhang Y., Lin H.K., Frimberger D., Epstein R.B., Kropp B.P.: Growth of bone marrow stromal cells on small intestinal submucosa: an alternative cell source for tissue engineered bladder. *BJU Int.*, 2005; 96: 1120-1125
- [113] Zhu W.D., Xu Y.M., Feng C., Fu Q., Song L.J., Cui L.: Bladder reconstruction with adipose-derived stem cell-seeded bladder acellular matrix grafts improve morphology composition. *World J. Urol.*, 2010; 28: 493-498

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.