



T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

ASELLÜLER MATRİKSLE İŞLEVSEL TAVŞAN MESANESİ OLUŞTURMA MODELİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. ERÇİN ALTIOK

Danışman

Doç. Dr. OĞUZ EKMEKÇİOĞLU

KAYSERİ 2007

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tez konusu seçiminde ve bu çalışma esnasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Oğuz EKMEKIOğLU'na sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalıőmalarım sırasında büyük yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Mustafa KARACAGİL, Prof. Dr. Atila TATLIŐEN, Prof.Dr. İbrahim GÜLMEZ, Doç. Dr. Deniz DEMİRCİ, Uz. Dr. Mustafa SOFİKERİM, Uz. Dr. Abdullah DEMİRTAŐ ve tüm üroloji çalıőanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
MESANE ANATOMİSİ.....	3
MESANE FİZYOLOJİSİ	6
REJENERATİF TIP VE ÜROLOJİ.....	11
MATERYAL VE METOT.....	13
BULGULAR.....	18
TARTIŞMA.....	28
SONUÇLAR.....	34
KAYNAKLAR.....	35
TEZ ONAY SAYFASI.....	41

KISALTMALAR

DNA	: Deoksiribonükleik asit
EUS	: External Uretral Sfinkter (Dış üretral sfinkter)
GAG	: Glikosaminoglikan
IM	: Intramüsküler
KU	: Kunitz Units
mM/L	: Milimol / Litre
NaCl	: Sodyum Klorür
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PMC	: Pontin İşeme Merkezi
SF	: Serum Fizyolojik
µm	: Mikrometre

TABLO LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 1 : 24 Hafta sonundaki kilo farkları.....	19
Tablo 2 : Kontrol grupları arasındaki basınç ve hacim farkları.....	19
Tablo 3 : Parsiyel sistektomi öncesi ve sonrası basınç ve hacim farkları.....	20
Tablo 4: Ogmentasyon grupları arasındaki basınç ve hacim farkları.....	20
Tablo 5 : Ogmentasyon öncesi ve sonrası basınç ve hacim farkları.....	21
Tablo 6: Kontrol grupları, parsiyel grubu ve ogmentasyon grupları arasındaki basınç ve hacim farkları.....	21
Tablo 7: Kontrol grupları ve ogmentasyon grupları arasındaki hacim farkları....	22
Tablo 8: Parsiyel grubu ve ogmentasyon grupları arasındaki hacim farkları.....	22

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa no
Şekil 1: Normal mesane.....	25
Şekil 2: Parsiyel sistektomi yapılan mesane.....	25
Şekil 3: Ogmentasyon yapılan mesane (12 haftalık).....	26
Şekil 4: Ogmentasyon yapılan mesane (12 haftalık).....	26
Şekil 5: Ogmentasyon yapılan mesane (24 haftalık).....	27
Şekil 6: Ogmentasyon yapılan mesane (24 haftalık).....	27

ÖZET

Amaç: Mesanelerine Aselluler matriks grefti yamayan tavşanlar, parsiyel sistektomi yapılan tavşanlar ve normal tavşanların mesaneleri arasında ürodinamik ve histopatolojik farklılıklar karşılaştırıldı.

Materyal ve metot: Üçerli beş grup halinde bir yaşında, dişi 15 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. İlk iki grup kontrol grubuydu. İlk gruba üradinami yapıp tavşanlar sakrifiye edildi ve mesaneleri çıkarılıp histopatolojik inceleme yapıldı. İkinci gruptaki tavşanlara 24 hafta takip sonrası ürodinamik ve histopatolojik inceleme yapıldı. Üçüncü gruptaki tavşanlara sadece parsiyel sistektomi yapıldı ve 24 hafta süreyle tavşanlar takip edildi. Bu sürenin sonunda bu grubada ürodinami ve histopatolojik inceleme yapıldı. Son iki grup ogmentasyon grubuydu. Her iki guruptaki tavşanların mesanelerinin %40-50 kadarı, kubbe kısmını da içerecek şekilde çıkarıldı. Bu bölgelerin yerine daha önce farklı tavşanların mesanelerinden çıkarılıp kimyasal maddelerle işleminden geçirilip hücresizleştirilen yamalar implante edildi. Dördüncü gruptaki tavşanlar 12 hafta beşinci gruptakiler ise 24 hafta takip edildi. Bu sürenin sonunda her iki grubada ürodinamik ve histopatolojik inceleme yapıldı

Bulgular: 24 hafta takip edilen grupların başlangıç ve son kilo farkları arasında istatistiksel açıdan fark bulunamadı. İki kontrol grubunun ürodinamik incelemesinde basınç ve hacimler arasında istatistiksel farklılık bulunmadı. İki ogmentasyon grubu arasında da basınç ve hacim yönünden istatistiksel farklılık bulunmadı. Kontrol grubu, parsiyel grubu ve ogmentasyon gruplarının basınçları arasında istatistiksel fark yokken hacimleri arasında istatistiksel farklılık tespit edildi. Bu farkın sebebi parsiyel grubuydu ve ortalama hacimleri diğer iki grubun yaklaşık yarısı kadardı.

Histopatolojik incelemede ise parsiyel grubu ile kontrol grubu arasında fark görülmedi. Ogmentasyon grubunda ise üroteliyal tabaka ve damarlanma diğer iki gruba yakın seviyede gelişme gösterirken kas tabakası gerek miktar gerek organizasyon açısından diğer gruplardan kötü gelişme gösterdi. İki ogmentasyon grubunun kas gelişmeleri karşılaştırıldığında, 24 haftalık grubun miktar ve organizasyon açısından daha iyi olduğu görüldü. Sinir hücreleri ve kollajen ise ogmentasyon yapılan gruplarda daha fazla tespit edildi.

Sonuç: Histopatolojik incelemede düzensiz kas gelişimi ve normale göre kollajen fazlalığı olmasına rağmen asellüler matriks ile mesane yaması yapılan tavsanlarda kapasite ve kompliyans açısından normale yakın sonuçlar elde edilmesi, bu tekniğin uygulanabilir olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Aselluler matriks yama, mesane, ogmentasyon, parsiyel

ABSTRACT

Aim: To compare the urodynamic and histopathological differences between normal, partial cystectomy and augmentation cystoplasty with acellular matrix grefts in rabbits.

Material and Methods: Fifteen female New Zealand rabbits were used. There were five groups each consisting three.

First and second groups were the control groups. In the first group, the rabbits were sacrificed following urodynamic investigation and the bladders were removed for histopatological examination. In the second group the same procedures were realized at the and of 24th week. In the third group only partial cystectomy was performed and the animals were followed for 24 weeks. Parsial cystectomy and augmentation cystoplasty with acellular matrix was performed to the animals in the 4th and 5th groups. The animals in the 4th and 5th groups were sacrific at the end of 12th and 24th weeks, respectively. Before sacrifice urodynamic investigations were performed. Then bladders were removed for histopathological examination.

Results: The weight differences were not significant in the rabbits which was followed for 24 weeks. There were no significant differences in terms of bladder capacity and detrusor pressure between both control and augmentation groups. Detrusor pressures were not different between control, augmentation and partial cystectomy groups. However bladder capacity has significantly reduced in partial cystectomy group. In histopathological evaluations there were no differences between control and partial cystectomy groups. In augmentation groups urothelial lining and vascularisation was nearly the same as control groups however muscle layer was less organised and was thinner than control groups. The amount of muscle and muscle layer organisation was better in the 24 week augmentation group when compered with 12 week augmentation group. Collagen deposition and innervation was more prominent in augmented animals when compered with controls.

Conclusion: Although the detrusor muscle has less organised with more collagen deposition, the bladders of the animals augmented with acellular matrix had near normal capacity and compliance. This suggests that acellular matrix technology might be useful.

Keywords: Acellular matrix graft, bladder, augmentation, partial.

GİRİŞ VE AMAÇ

Detrusor kası, vücuttaki en kalın düz kas tabakalarından biridir. Mesanenin temel görevi idrarın depolanması ve boşaltımını sağlamasıdır (1). Tüm dünyada yaklaşık 400 milyon insan mesane hastalıklarından etkilenmektedir. Bu grup içerisinde, son dönem mesane hastalığı bulunanlarda, genellikle mesane replasmanı veya onarımı gerekmektedir (2).

Detrusor kasındaki patolojik değişiklikler kontraksiyon bozukluğu ile sonuçlanır. Bu durum; konjenital (epispadias, üretral valv, mesane ekstrofisi), inflamatuvar (interstisyel, kronik veya kimyasal sistit), travmatik (cerrahi sonrası iatrojenik mesane yaralanması), fonksiyonel (stabil olmayan mesane ve disfonksiyonel mesane) gibi patolojilerle veya radyoterapi (serviks, rektum, prostat ve mesane kanserleri) nedeniyle oluşabilir (3).

Kontraksiyon kaybı, düşük kompliyans ve kas koordinasyonunun bozulması, mesanenin depolama ve periyodik olarak idrar boşaltma fonksiyonlarına engel olur. Bu durum üriner sistemin tamamını etkiler, sonuçta tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları, enkontinans, taş oluşumu, renal parankim hasarı ve renal yetmezliğe yol açar (4).

Mesane patolojilerinde konservatif tedaviden fayda görülmediği takdirde, üç çeşit cerrahi tedavi alternatifi vardır; intestinal segment kullanılarak yapılan üriner diversiyon, ogmentasyon ve yerine koyma sistoplastisi (3). Gastrointestinal segment çeşitli benign ve malign ürolojik hastalıklarda üriner sistem rekonstrüksiyonu için kullanılmıştır. Fakat

intestinal mukozanın sekretuar ve absorptif özellikleri nedeniyle bir çok komplikasyon görülmüştür (5). Yine gerek ince gerek kalın bağırsağın hemen her segmenti ogmentasyon ve sistoplasti için kullanılmıştır. Fakat düşük basınçta işemeyi sağlayacak ve üst üriner sistemi yan etkilerden koruyabilecek ideal segment bulunamamıştır (4,6).

Bir çok sentetik materyal ve doğal doku fonksiyonel olarak yetersiz mesanelerin rekonstrüksiyonunda deneysel ve klinik uygulamada kullanılmaktadır. Doğal materyaller; mesane allogreftleri, gastrointestinal segmentler, deri, perikart, plesenta, dura ve ince bağırsak submukozasını kapsar. Sentetik materyaller ise silikon, polivinil spanç ve teflon gibi maddelerdir (5,7-12).

Bu çalışmada her birinde üç adet tavşan bulunan beş grup oluşturuldu. İlk iki grup kontrol grubu olarak takip edildi, ilk gruba başlangıçta ikinci gruba ise 24 hafta sonra ürodinamik ve histopatolojik değerlendirme yapıldı. Üçüncü gruptaki üç adet tavşana ise ürodinami ve parsiyel sistektomi yapıp 24 hafta takip edildikten sonra ürodinamik ve histopatolojik inceleme yapıldı. Dördüncü ve beşinci gruptaki üçer adet tavşanın mesanelerine, daha önce farklı tavşanlardan alınmış ve çeşitli enzimatik işlemlerden geçirilerek oluşturulmuş, asellüler matrikslerden mesane yaması yapıldı. Yeni oluşturulan mesaneler, 12 ve 24 hafta sonra ürodinamik ve histopatolojik olarak incelenerek kontrol grupları ve parsiyel sistektomi grubuyla karşılaştırıldı.

GENEL BİLGİLER

MESANE ANATOMİSİ

Mesane idrar rezervuarı olarak görev yapan içi boş müsküler bir organdır. Üreteral orifisler üzerinde bulunan gövde ve trigon ile mesane boynunda oluşan mesane çıkımı olarak iki kısıma bölünebilir (13). Mesane gövdesinin histolojik incelenmesi, miyofibrillerin raslantısal doğrultularda demetler halinde yerleştiğini gösterir (14). Bu mimari, üreter ve gastrointestinal sistemdeki farklı sirküler ve longitudinal düz kas yapısından ayrılmaktadır (15).

Mesane çıkımı, mesane tabanı, üretra ve dış üretral sfinkterden oluşur. Mesane tabanında longitudinal tabakanın, trigonun altına yerleştiği laminar yapısı vardır. Yüzeysel kas tabakasının altındaki tabaka detrusor ile devamlılık gösterir (16,17,18).

Mesane tabanındaki derin kas tabakasını oluşturan kk kas liflerinin çoğunlukla dairesel düzlemde yerleştiği görülür. Üretra, mesanenin i meatusundan başlar ve dış meatusa kadar devam eder. Erkeklerde, dört bölüme ayrılır. İlk bölüm, preprostatik kısım ya da mesane boynudur. Prostatik üretra prostat boyunca devam eder ve prostatın apeksinde sonlanır. Membranöz üretra prostat apeksinden başlayıp, pelvik taban kaslarına, penis

kökünde bulböz ve penil üretra olana kadar devam eder. Kadınlarda üretra, ön vajinal duvarın distal üçte birlik kısmında, mesane boynundan meatusa kadar uzanım gösterir. Detrusor kaslarından hangisinin proksimal üretraya uzandığı tartışmalıdır. Embriyogenik bilgiler, mesane ve üretra kaslarının farklı orjinlerden köken aldığını desteklemektedir (17, 18).

Histolojik çalışmalar mesane boynundaki longitudinal kasların üretraya inerek burada iç longitudinal tabakayı oluşturduğunu göstermektedir (16, 19). Erişkin ve fetal örneklerin incelenmesi çizgili ve düz kasların üretrada birleştiğini ve fibröz prostatik kapsül ile kaynaştığını göstermiştir (20). Erkek mesane boynunda, yeterli düz kas halkası tarif edilmiştir (21). Fakat böyle bir kas dokusu kadınlarda gösterilmemiştir (15).

Mesane düz kas hücrelerinin kasılma özellikleri hem idrar depolaması hem de atılımı için uygun yapıdadır. Mesane, düşük bir fizyolojik hız ile doldurulduğunda intravezikal basınç 10 cmH₂O'nun altında kalmaktadır (22). Mesanenin akut denervasyonu düşük basınçlı dolumu önemli ölçüde etkilememektedir (23). Yine de, işemeye eşlik eden hızlı ve sürdürülebilir düz kas kasılması için sinirsel uyarıya ihtiyaç vardır (15).

Alt idrar yolları, parasempatik, sempatik ve somatik sistemlerden oluşan periferel sinirlerin üç takımı tarafından innerve edilir;

1- Pelvik parasempatik sinirler spinal kordun sakral seviyesinden çıkar, mesaneyi uyarır ve üretrayı gevşetir.

2- Lumbar sempatik sinirler mesane gövdesini inhibe ederken, mesane tabanı ve üretrayı uyarır.

3- Pudental sinirler eksternal üretral sfinkteri uyarır. Bu sinirler afferent (somatik) ve efferent aksonlar içerir (24, 25).

Arterleri

Mesanenin kanlanması büyük oranda arteria vezikalis süperior ve inferior ile olur. A. vezikalis süperior mesanenin üst ve orta bölümünün kanlanmasını sağlar. A. vezikalis inferior genellikle a. iliaka internadan tek olarak, bazen a. rektalis mediayla birlikte çıkar, mesanenin tabanına, vezikula seminalislere ve prostata dallar verir. Ayrıca obturator ve inferior gluteal arterlerden mesaneye küçük dallar gelir. Kadınlarda uterin ve vajinal arterler de bu bölgeye küçük dallar verir. Mesane iyi kanlanan bir organdır ve damarlar arasında zengin anastomozlar vardır (26).

Venleri

Mesane çevresi ve adventisyası altında çok zengin ven pleksusları bulunur. Bunlardan bir kısmı arterlere paralel seyrederken bazıları bağımsızdır. Bu pleksuslardan gelen venöz kan, mesane ve prostatın ön, yan ve arka yüzlerini kuşatan geniş vezikal ve prostatik venöz pleksuslara boşalır. Ön taraftan v. dorsalis penisi de alan bu pleksuslar (Santorini pleksus) internal iliak vene açılırlar (26).

Lenfatikleri

Mesanenin lenfatikleri kas tabakaları arasında ve dışında olmak üzere iki pleksusta toplanır. Mesanenin üst kısmından çıkan lenf damarları eksternal iliak lenf bezlerine, alt kısımdan çıkanlar ise internal iliak lenf bezlerine açılırlar. Mesane boynundan çıkan lenf damarlarında sakral veya iliak komminus lenf bezlerine drene olurlar. Mesanenin lenfatikleri pelvik, alt gastrointestinal sistem ve genital organ lenfatikleriyle zengin anastomozlar yaparlar (26).

MESANE FİZYOLOJİSİ

Mesanenin önemli görevleri vardır. Birincisi sosyal uyum için yeterli miktarda idrar depolayabilmelidir. Mesane duvarı, basınçta anlamlı bir artış olmadan mesane hacmini arttırabilecek şekilde gerilebilmeli ve yeniden düzenlenebilmelidir. Başka bir deyişle mesane duvarı oldukça uyumlu olmalıdır (15).

İkinci olarak, düz kaslar ve intrinsek sinirler, dolum fazı sırasında genişlemesi gereken ürotelyum tarafından idrardan korunmalıdır (15).

Üçüncü olarak, mesane boşalması sırasında bütün düz kasların senkronize kasılması gereklidir; çünkü eğer mesanenin bir kısmı kasılırsa, kasılmayan alan gerilecek ve idrarın üretradan dışarı atılması için gereken basınç artışını engelleyecektir (15).

Mesane, düz kas, stroma, kan damarları ve ürotelyumdan oluşur (15).

Mesane Düz Kası

Mesane duvarındaki düz kas hücreleri, merkezi çekirdekleri olan küçük, iğsi, mesane gevşediği zaman, uzunluğu birkaç yüz mikrometre, çapı en fazla 5-6µm (mikrometre) olan hücrelerdir. Çizgili kas hücreleri ise yaklaşık 20 kat daha geniş ve binlerce kat daha uzundurlar (27).

Düz kasın kendine özgü fizyolojik özellikleri vardır ve özel noktalarda birleşen bir çok küçük, iğsi hücreler içeren tabakalardan oluşur. Her hücrenin kendi çekirdeği vardır. Mikroskop altında sitoplazmik çizgilenme görülmez, fakat düz kas da çizgili ve kalp kasında olduğu gibi aktin ve myozin içerir. Ek olarak, bağ dokusu ve komşu düz kas hücrelerinin kasılması sırasında oluşacak gücün iletimine yardım edecek sitoskeletal intermediate filamentler bulunur. Düz kasta Z çizgisi olmasa da, benzer görevi yapan tüm sitoplazmaya dağılmış, ince ve orta boy filamentlerin yapışmasını sağlayan yoğun cisimler içerir. Düz kas liflerinin ince ve kalın filamentleri myofibriller olarak düzenlenir ve lifleri kafes benzeri düzende oblik olarak geçerler. Filamentlerin kasılabilen proteinleri, komşu hücreler arasında birleşme komplekslerinde plazma membranlarına yapışırlar (28). Mesane kasının, geniş bir kas dinlenme uzunluğu aralığında, gerilim oluşmasına izin veren geniş bir uzunluk-gerilim

ilişkisi vardır (29). Doku, kas gerilimini de etkileyen viskoelastisite özelliği gösterir ve bu da total mesane duvar gerilimi olarak bilinir (30). İzole detrusor şeritleri belli miktarda spontan mekanik aktivite gösterebilir. Küçük memeliler de bu çok daha sık görülür (31). Gastrointestinal kanalda ve uterusu gözlemlendiği gibi birleşik tetanik kasılmalar normal mesanede hiç görülmez (15).

Mesane Stroması

Mesane duvarı stromasının ana bileşenleri, proteoglikanlardan oluşan bir matriks içerisinde yerleşmiş kollajen ve elastindir. Ana hücreler fibroblastlardır. Mesane duvarının pasif mekanik özellikleri, stromanın viskoelastik özelliklerine ve gevşemiş mesane kasına bağlıdır (32). Stroma genellikle kas lifleri, damarlar ve sinirlerin arasını dolduran, pasif, mekanizması az bir doku olarak görülür. Son yıllarda, stromanın, mesanenin patofizyolojik durumlara uyumunda önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (33). Mesane hipertrofisi mekanizması, stroma ve düz kas iletişimini de içermektedir. Damarlarda, stromadaki elastinin bozulması, düz kas proliferasyonunu uyarabilir (34). Mesanede bu tarz mekanizmalar bilinmese de, stromadaki değişiklikler ile kas fonksiyonu ve büyümesi arasında bugün bilinenden çok daha yakın bir ilişki olabilir (15).

Kan Damarları

Mesane çok katlı damar ağı içerir, bunun hem fonksiyonel hem de morfolojik faydaları vardır. Dikkatlice incelendiğinde, epitelyumun dış yüzünün kan damarcıkları tarafından doldurulan bir çok çukur ile kaplandığı görülür. Bu damarsal çukurlar, epitelyumda mikronun onda biri kadar mesafede oldukça yüksek sayıda damarların bulunmasını sağlar (35). Subepitelyal damarsal ağlar, idrardan süzülen maddelerin detrusor düz kasına temasını engelleyen epitelyumun bariyer fonksiyonuna katkıda bulunuyor olabilir (36). Ayrıca bunlar epitelyal taşıma fonksiyonunda rol alabileceği gibi, ürotelyal metabolizma için gerekli de olabilir (15).

Dolum sırasında mesane duvarının yüzey alanı çok genişlediği için, kan damarları da yeterince uzayabilmelidir. İyi bir akım sağlayabilmek için uzamaları sırasında damarlar üzerine olacak basıncın, doku perfüzyonunu bozmasına engel olacak bir mekanizma olmalıdır. Bazı gruplar mesane dolununun, kan akımı üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Bir çok çalışmada gerilim ile kan akımının azaldığı gösterilmiştir (37, 38). Uyumu azalmış

mesanelerde, mesane içi basınca artış olup, kan akımı normal kontrol grubuyla kıyaslandığında, anlamlı ölçüde azaldığı gösterilmiştir (39). Mesane duvarında kan akımının ana belirleyicisinin duvar içi gerilimi olduğu görülmektedir. Normal dolum sırasında, mesanede basınç artana kadar kan akımı, yüzey alanındaki artışa uyum sağlar (38).

İskemide olduğu gibi, detrusor oksijen veya başka bir metabolitten yoksun kalırsa, kasılma yeteneği hızla azalır (40-42). İskemi ve reperfüzyonun duvar içi sinirlerde hasara neden olduğu ve yamalı denervasyon alanları yaparak, detrusor instabilitesi olan hastalarda olduğu gibi düz kas fonksiyonlarında bozulmaya yol açtığı iddia edilmiştir (43).

Ürotelyum

Mesanenin fonksiyonları, idrar depolama, idrar içeriğini muhafaza etme ve uygun zaman aralıklarında işemeye yardımcı olmaktır. Ürotelyumun bütün bu işlemlere katılan fizyolojik fonksiyonları vardır ve sadece idrar ile plazma arasındaki bariyer olarak görülemez (15).

Ürotelyum türlere göre değişik sayıda hücre tabakalarından oluşur (44). Üç ana katman vardır. Bazal hücre tabakası 5 ile 10µm kalınlığındadır. Ara hücreler bunların yüzeyinde ve yaklaşık 20µm kalınlığındadır (45). Şemsiye hücrelerinden oluşan bir tabaka ürotelyumun iç yüzey tabakasını oluşturur. Bu hücreler vücuttaki en büyük epitel hücreleri olup boyutları 100 ile 200µm arasında değişmektedir; şemsiye hücreleri polihedral olup genellikle hegzogonaldirler ve genişleyip gerilim altında yüzey alanlarını arttırabilirler. Bir çok çekirdeğe sahip olabilirler (46). Şemsiye hücrelerinin yüzeyi GAG (glikosaminoglikan) tabakası ile örtülüdür. GAG tabakası ürotelyal bariyer fonksiyonunun önemli bir elemanıdır (15). GAG tabakasının, partiküllerin oluşmasında ve ürotelyuma yapışmalarında ve de taş oluşumunda önemli rolü vardır (47, 48).

MESANENİN DEPOLAMA FAZI

İnsanlarda ve hayvanlarda mesane dolumu sırasında intravezikal basınç ölçümleri, işemeyi uyarıcı eşik değerinin altındaki hacimlerde düşük ve göreceli olarak sabit mesane basıncı gösterir. Mesanenin artan idrar hacmine uyumu mesane düz kasının intrinsik özelliklerine ve parasempatik efferent yolların varlığına bağlı, genelde pasif bir fenomendir (25, 27). Mesane sempatik refleksi ayrıca mesane dolumu sırasında mesanenin sinirsel kontrollü kasılmalarını inhibe eden ve üretral çıkımın kapanmasına katkıda bulunan idrar depolama mekanizması ya da negatif geri bildirim katkıda bulunur (49). Alt idrar yollarında sempatik salınımın refleks aktivasyonu idrar torbasının distansiyonu ile oluşan afferent aktivite ile tetiklenebilir (25). Bu refleks cevap lumbosakral spinal kord seviyesinde organize edilir ve torasik seviyede spinal kord kesileri olsa bile devam eder (15).

Mesane dolumu sırasında, idrar kontinansının sağlanmasına yardımcı olan çıkış direncinde artış ve pudental sinir efferentlerinde ateşlenmenin belirtisi olarak sfinkter elektromyogram aktivitesi de artar. Pudental motonöronlar mesane afferent uyarılar ile aktive olurken, işeme sırasında motonöronlar karşılıklı olarak inhibe olurlar (25). Dış üretral sfinkter (EUS) motonöronları pudental sinirdeki üretral/perineal afferentlerle aktive olurlar (50). Bu refleks, üretra/pelvik tabandan gelen propriyoseptif afferentler ile aktive olan üretral çıkımın kapanmasına yardımcı olan bir kontinans mekanizmasını da kısmen temsil eder. Bu uyarıcı sfinkter refleksi spinal kordda organize edilir. EUS refleks aktivitelerinin işeme sırasında inhibisyonu, kısmen supraspinal mekanizmalara bağlıdır, çünkü kronik spinal hasarlı hayvan ve insanlarda bu refleks ya zayıftır ya da yoktur, bu da mesane ve sfinkterin eş zamanlı kasılmalarına neden olmaktadır (51).

MESANENİN BOŞALMA FAZI

Mesanenin depolama fazı istemli veya istemsiz olarak işeme fazıyla bağlantılıdır. İstemsiz işeme (refleks), çocuklarda ya da nöropatik mesaneli hastalarda idrar hacminin işeme eşiğini geçtiği zamanlarda daha önce gösterilmiştir. Bu noktada, mesane gerilim reseptörlerinden artmış afferent ateşlemeler, efferent akım paternini geri çevirerek sakral parasempatik yolları uyarır ve sempatik ve somatik yolları inhibe eder. Atılım fazı ilk olarak üretral sfinkterin gevşemesi ile başlar. Bunu birkaç saniye içinde mesane kasılması, mesane basıncında artış ve idrar akımı takip eder. İşeme sırasında üretral düz kasların gevşemesi, üretraya gelen inhibitör aracı olan nitrik oksidin salınımını tetikleyen parasempatik yolların aktivasyonu ve üretraya gelen eksitör uyarıların kaldırılması ile gerçekleşir. İdrarın üretradan akımı sırasında oluşan ikincil refleksler mesanenin boşalmasını kolaylaştırır (25, 52). Bu refleksler sinir sisteminde değişik seviyelerde yerleşmiş olan nöral oluşumların uyumu ile gerçekleşir. Detrusor ve üretraya gelen parasempatik akım, pontaki işeme merkezinden (pontin işeme merkezi [PMC]) geçen spinal ve spinobulbospinal yolları da içeren oldukça kompleks bir merkezi organizasyona sahiptir (15).

REJENERATİF TIP VE ÜROLOJİ

Rejeneratif tıp, son zamanlarda tanımlanmış bir alandır. Doku mühendisliğinin değişik alanlarını kapsar, kök hücre ve klonlama, normal doku ve organ fonksiyonlarının sürdürülmesi ve yenilenmesi için geliştirilen biyolojik materyaller, rejeneratif tıpın kapsamına girer (53).

Doku mühendisliği, hücre transplantasyonundaki ilkeleri benimser, mühendislik ve bilimsel materyallerle geliştirilen biyolojik yapılar, normal doku fonksiyonunun yenilenmesinde ve idamesinde kullanılır (53).

Doku mühendisliğinde hücreler kullanılırken ya verici hücreleri hücreleştirme işleminden sonra alıcı dokuya direk implante edilir ya da kültür ortamında geliştirilen destek matriks alıcıya implante edilir. İnplante edilen doku heterolog, allogenik veya otolog olabilir. İdeal olan bu yaklaşımla oluşturulan doku, fonksiyonunu kaybeden dokunun yerini komplikasyonsuz olarak alabilmeli ve fonksiyonunu kaybeden dokunun işlevini yerine getirebilmelidir (54).

Geçmişte ürotelyal hücrelerin yerine geçebilecek doğal hücrelerin üretilmesinin çok zor olduğu düşünülüyordu. Fakat son 20 yılda geliştirilen yöntemlerle laboratuvar ortamında ürotelyal hücrelerin büyütülmesi ve geliştirilmesi başarmıştır (55-58). Hücre kültürü metodu sayesinde 1cm² yüzey alanına sahip basit bir ürotelyal örnekten 4202 m² (bir futbol sahası büyüklüğünde) alanı kaplayacak büyüklükte hücre üretimi sağlanmıştır (55).

Genitoüriner doku mühendisliğinde üretilen yapay ekstraselüler matriks biyomateryalleri vücut içerisindeki dokulara ait doğal ekstraselüler matrikslerin fonksiyonlarını biyolojik ve mekanik olarak yerine getirir (53).

İdeal biyomateriyal, hayatla bağdaşabilmeli, transplante edildiği dokularla etkileşime girebilmeli ve nakledildiği dokuya özgü mekanik ve fiziksel işlevleri kazanabilmelidir (53)

Genitoüriner doku mühendisliğinde genellikle üç çeşit biyomaterial kullanılır;

1-Doğal türetilmiş materyaller (kollajen ve alginate).

2-Asellüler doku matriksleri (mesane submukoza ve intestinal submukoza).

3-Sentetik polimerler (poliglukolik asit, polilaktik asit ve polilaktik- koglikolik asit) (59, 60).

MATERYAL VE METOT

Deney hayvanları: Bu çalışmada 15 adet 1 yaşında, erişkin dişi Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Hayvanlar üçlü gruplara bölündü ve beş grup oluşturuldu.

Gruplar ve Yapılan cerrahi işlemler:

- **Grup 1:**

1. kontrol grubu: Bir yaşında üç adet tavşana anestezi altında ürodinamik tetkik yapıldı. Ürodinamik tetkik sonrası sakrifiye edilen tavşanların mesaneleri çıkarılıp histopatolojik olarak incelendi.

- **Grup 2:**

2. kontrol grubu: Bir yaş 24 haftalık üç adet tavşana anestezi altında ürodinamik tetkik yapıldı. Ürodinamik tetkik sonrası sakrifiye edilen tavşanların mesaneleri çıkarılıp histopatolojik olarak incelendi.

- **Grup 3:**

Parsiyel sistektomi grubu: Bu gruptaki üç adet tavşanın mesanelerinin % 40-50'si, kubbe kısmını içerecek şekilde çıkarıldı. Ameliyat öncesi ürodinamik tetkik yapıldı. Kalan mesane kapatılarak 24. hafta sonunda anestezi altında ürodinamik tetkik yapıp tavşanlar sakrifiye edildi. Sistektomi materyalleri histopatolojik olarak incelendi.

- **Grup 4:**

12 haftalık ogmentasyon grubu: Ürodinamik tetkik yapıldıktan sonra, mesanelerinin kubbe kısmını içerecek şekilde üç adet tavşana parsiyel sistektomi yapıldı ve eş büyüklükte asellüler matriks defekte yamandı. 12. hafta sonunda anestezi altında ürodinamik tetkik yapıldıktan sonra tavşanlar sakrifiye edildi ve sistektomi materyalleri histopatolojik olarak incelendi.

- **Grup 5:**

24 haftalık ogmentasyon grubu: Ürodinamik tetkik yapıldıktan sonra, mesanelerinin kubbe kısmını içerecek şekilde üç adet tavşana parsiyel sistektomi yapıldı ve eş büyüklükte asellüler matriks defekte yamandı. 24.hafta sonunda anestezi altında ürodinamik tetkik yapıldıktan sonra tavşanlar sakrifiye edildi ve sistektomi materyalleri histopatolojik olarak incelendi.

Cerrahi Yöntem

İntravenöz ketamin + ksilazin hidroklorür (Her bir anestezi için 4 ml/kg ketamin + 2 ml/kg ksilazin hidroklorür sol kulak veninden yavaş infüzyonla verildi) anestezi altında lokal saha temizliği ve uygun örtüm sonrası orta hat vertikal insizyonla mesaneye ulaşıldı. Mesane dolduruldu ve kubbe bölgesi (mesanenin % 40-50'si olacak şekilde) çıkarıldı. Daha önce hazırlanmış asellüler matriks, oluşan defekte iki tabaka halinde kromik ve vikril ile dikildi. Her 90° de bir naylon sütürlerle anastomoz bölgesine işaret sütürleri kondu. Orta hat, cilt altı ve cilt kromik sütürlerle kapatıldı.

Ameliyat öncesi bütün tavşanlara tek doz ciprofloksasin 5 mg/kg İM (intramüsküler) olarak yapıldı.

Ürodinamik Tetkik

Anestezi altında orta hat vertikal insizyonla açılan tavşanlara histopatolojik değerlendirme için sistektomi yapıp sakrifiye edilmeden önce ürodinamik tetkik yapıldı. Doldurulan mesaneye kubbe kısmından iki adet 18 G intraket yerleştirildi. İntraketin birinden SF (serum fizyolojik) verilirken diğerinden de basınç ölçümü yapıldı. Boş mesane, 2 ml/dk hızla doldurularak mesane kapasitesi ve işeme sırasındaki basınç hesaplandı.

Histopatolojik İnceleme Yöntemi

Ketamin ve ksilazin hidroklorür anestezisi altında tavşanlara total sistektomi yapıldı. Çıkarılan mesanelerin içerisine %10 formol konuldu, daha sonra tekrar formollu bir kaba tüm mesaneler konulup gece boyu bekletildi. Etanol solüsyonlarında dehidratasyon sonrası, parafine konuldu ve 5 mm'lik aralıklarla kesitler alındı. Doğal mesane, matriksin periferi, anastomoz yapılan bölge ve matriksin ortası ayrı ayrı incelendi.

Düz kas değerlendirmek için antismooth muscle α aktin (immünohistokimya).

Sinir rejenerasyonunu belirlemek için S 100 (immünohistokimya) boyama yöntemleri kullanıldı.

Çalışmaya başlamadan önce oluşturulan asellüler matrikslerden bazıları rastgele bu boyalarla değerlendirilip hücreleştirildikleri gösterildi.

Mesane Asellüler Matriksi Oluşturma Yöntemi

Yeni sakrifiye edilmiş Yeni Zelanda tavşanlarının mesaneleri bu çalışmada kullanılmak üzere çıkarıldı. Her bir mesanenin yaklaşık % 40-50'si kubbe kısmını içerecek şekilde kesildi ve hücreleştirme işleminde kullanıldı.

Mesane parçaları sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

- 1- 150 ml. 10 mM/L (milimol/litre) PBS (phosphate-buffered saline) (pH 7,0) ve % 0,1 sodyum azid içeren sıvıya konup mekanik döndürücü ile birlikte 24 saat bekletildi.
- 2- 24 saat süresi sonunda mesane parçaları beş kez PBS ile yıkandı.
- 3- 150 ml. 1mol/L NaCl (sodyum klorür) ve 2500 KU (kunitz units) DNA (deoksiribonükleik asit)'aze içeren sıvıda her biri 50 ml. olan üç flakonda mesane parçaları mekanik döndürücü içerisinde 24 saat bekletildi.
- 4- 150 ml. % 4 dezoxycholate ve % 0,1 sodyum azid içeren sıvıda mekanik döndürücü ile birlikte 24 saat bekletildi.
- 5- 4. basamakta yapılan işlem 24 saat süreyle tekrarlandı.
- 6- 24 saat süresi sonunda PBS ile beş kez yıkanan matriks, antibiyotikli solüsyonda (%10 gentamicin) + 4° C ' de kullanılana kadar bekletildi (61).

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Deneklerin tüm bilgileri için Windows Statistical Package for Sciences Version 10.0 (SPSS, 10.0) paket programında veri tabanı oluşturuldu. Ölçülebilen değerler ortanca (range) olarak tanımlandı. İki kontrol grubunun arasındaki basınç ve hacim ortancalarının karşılaştırılmasında, yine iki ogmentasyon grubunun bir biri arasındaki basınç ve hacim ortancalarının karşılaştırılmasında Mann Witney U testi, kontrol, ogmentasyon ve parsiyel gruplarının hacim basınç ortancalarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analizi, yine kontrol grubu, ogmentasyon grubu ve parsiyel sistektomi gruplarının hacimlerinin ikişerli gruplar halinde karşılaştırılmasında Mann Witney U testi, 24 haftalık sürede takip edilen kontrol grubu, parsiyel ve ogmentasyon gruplarının kilo farklarının yüzde artış olarak değerlendirilmesinde Kruskal Wallis varyans analizi testleri kullanıldı.

BULGULAR

Bir yaşında 15 adet dişi Yeni Zelanda tavşanı üçerli beş gruba ayrıldı. 1. kontrol grubundaki üç adet tavşana anestezi altında ürodinami işlemi yapıldıktan sonra tavşanlar sakrifiye edildi ve mesaneleri çıkarılarak histopatolojik olarak değerlendirildi.

2. kontrol grubundaki üç adet tavşana başlangıçta herhangi bir işlem uygulanmadı ve 24 hafta süreyle takibe alındı. 4. hafta sonunda bu gruptaki tavşanlardan biri öldü. 24. haftanın sonunda kalan iki tavşana anestezi altında ürodinami işlemi yapıldıktan sonra sakrifiye edildi ve mesaneleri çıkarılarak histopatolojik olarak değerlendirildi.

3. gruptaki üç adet tavşana önce ürodinami yapıldı. Ürodinami sonrası mesanelerinin yaklaşık % 40-50'sini içerecek şekilde anestezi altında parsiyel sistektomi yapıldı ve 24 haftalık takibe alındı. 24 haftalık takip süresince bu gruptaki hayvanlarda herhangi bir komplikasyon meydana gelmedi. 24. haftanın sonunda anestezi altında ürodinami yapıldıktan sonra sakrifiye edilen tavşanların mesaneleri histopatolojik değerlendirme için çıkarıldı.

4. gruptaki üç adet tavşana önce ürodinami yapıldı. Ürodinami sonrası mesanelerinin yaklaşık % 40-50'si kubbe kısmını içerecek şekilde çıkarıldı. Çıkarılan parçaya eşit büyüklükte asellüler matriks açıkta kalan bölgeye yamandı ve tavşanlar 12 haftalık takibe alındı. Yamama işleminden bir hafta sonra tavşanların biri öldü. Takiplerin üçüncü haftasında

kalan iki tavşandan birinde hematüri görülmeye başlandı ve bu hematüri 12 haftalık takip süresince ara ara devam etti. Diğer tavşanda herhangi bir komplikasyon görülmedi. 12. hafta sonunda anestezi altında bu iki tavşana ürodinami işlemi yapıldı. Tavşanların sakrifikasyonu sonrası mesaneler histopatolojik değerlendirme için çıkarıldı. Bu esnada hematüri görülen tavşanın mesanesinde yaklaşık 1.5 cm büyüklüğünde taş tespit edildi.

5. gruptaki üç adet tavşana önce ürodinami yapıldı. Ürodinami sonrası mesanelerinin yaklaşık % 40-50'si kubbe kısmını içerecek şekilde çıkarıldı. Çıkarılan parçalara eşit büyüklükte asellüler matriksler açık kalan bölgeye yamandı ve tavşanlar 24 haftalık takibe alındı. Takip süresi boyunca bu gruptaki tavşanlarda herhangi bir komplikasyona raslanmadı. 24. hafta sonunda anestezi altında ürodinami yapıldıktan sonra tavşanlar sakrifiye edildi ve mesaneler histopatolojik değerlendirme için çıkarıldı.

Bütün tavşanlar işlem öncesi ve sonrası tartıldı ve kiloları kayıt edildi. 24 hafta süreyle takip edilen 2, 3 ve 5 gruptaki tavşanların başlangıç ve 24.hafta sonundaki kilo farkları yüzde artışı olarak hesaplandı. Bu üç gruptaki tavşanların kilo artış farkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 1.1).

Tablo 1.1: 24 Hafta sonundaki kilo farkları (gr.)

	Grup 2 (n:2) ortanca(min-maks)	Grup 3 (n:3) ortanca(min-maks)	Grup 5 (n:3) ortanca(min-maks)	P
Kilo farkı	650 (600-700)	500 (450-700)	500 (500-700)	0,18

Kontrol gruplarının basınç ve hacim ortancaları değerlendirildi. İki grubun hem basınç hem hacim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 1.2).

Tablo 1.2: Kontrol grupları arasındaki basınç (cmH₂O) ve hacim (ml) farkları

	Grup 1 (n:3) ortanca(min-maks)	Grup2 (n:2) ortanca(min-maks)	P
Basınç	7 (5-16)	10.5 (6-15)	0,269
Hacim	24 (22-37)	22.5 (20-25)	0,167

Parsiyel sistektomi grubunun, parsiyel sistektomi yapılmadan önce ve parsiyel sistektomi yapıldıktan sonra basınç ve hacim ortancaları değerlendirildi. Basınçlar arasında istatistiksel fark yokken hacimler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. (Tablo 1.3).

Tablo (1. 3): Parsiyel sistektomi öncesi ve sonrası basınç (cmH₂O) ve hacim (ml) farkları

	Grup 3 (önce) (n:3) ortanca(min-maks)	Grup 3 (sonra) (n:3) ortanca(min-maks)	P
Basınç	6 (5-13)	3 (2-6)	0,151
Hacim	23 (21-35)	15 (14-20)	0,042

Ogmentasyon gruplarının basınç ve hacim ortancaları değerlendirildi. İki grubun hem basınç hem de hacim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo 1.4) .

Tablo 1.4: Ogmentasyon grupları arasındaki basınç (cmH₂O) ve hacim (ml) farkları.

	Grup 4 (n:2) ortanca(min-maks)	Grup 5 (n:3) ortanca(min-maks)	P
Basınç	7.5 (5-10)	6 (3-10)	0,392
Hacim	26.5 (20-33)	26 (24-31)	0,265

Ogmentasyon gruplarının, ogmentasyon yapılmadan önce ve ogmentasyon yapıldıktan sonra basınç hacim ortancaları değerlendirildi, hem basınç hem de hacim değişiklikleri arasında istatitksel açıdan fark bulunamadı. (Tablo 1.5).

Tablo (1. 5): Ogmentasyon öncesi ve sonrası basınç (cmH₂O) ve hacim (ml) farkları.

	Grup4+5 (önce) (n:6) ortanca(min-maks)	Grup4+5 (sonra) (n:5) ortanca(min-maks)	P
Basınç	7 (4-10)	6 (3-10)	0,164
Hacim	25 (21-31)	26 (20-33)	0,243

Kontrol grupları ve ogmentasyon gruplarının kendi içlerinde basınç ve hacim değişiklikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığından kontrol grupları, parsiyel grubu ve ogmentasyon grupları arasındaki basınç ve hacim ortancaları istatistiksel olarak değerlendirildi. Basınç ortancaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı Fakat hacim ortancaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. (Tablo 1. 6).

Tablo 1.6: Kontrol grupları, parsiyel grubu ve ogmentasyon grupları arasındaki basınç (cmH₂O) ve hacim (ml) farkları.

	Kontrol grubu Grup 1 ve 2 (n:5) ortanca(min-maks)	Parsiyel grubu Grup 3 (n:3) ortanca(min-maks)	Ogmentasyon grubu Grup 4 ve 5 (n:5) ortanca(min-maks)	P
Basınç	7 (5-16)	3 (2-6)	6 (3-10)	0,144
Hacim	24 (20-37)	15 (14-20)	26 (20-33)	0,045

Hacim ortancaları arasındaki farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için kontrol grubu ve ogmentasyon gruplarının hacim ortancaları değerlendirildi. İki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 1.7).

Tablo 1.7: Kontrol grupları ve ogmentasyon grupları arasındaki hacim farkları (ml)

	Kontrol grubu Grup 1 ve 2 (n:5) ortanca(min-maks)	Ogmentasyon grubu Grup 4 ve 5 (n:5) ortanca(min-maks)	P
Hacim	24 (20-37)	26 (20-33)	0,591

Parsiyel grubu ve ogmentasyon gruplarının hacim ortancaları değerlendirildi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. (Tablo 1.8).

Tablo 1.8: Parsiyel grubu ve ogmentasyon grupları arasındaki hacim farkları (ml)

	Parsiyel grubu Grup 3 (n:3) ortanca(min-maks)	Ogmentasyon grubu Grup 4 ve 5 (n:5) ortanca(min-maks)	P
Hacim	15 (14-20)	26 (20-33)	0,036

Histopatolojik Sonuçlar

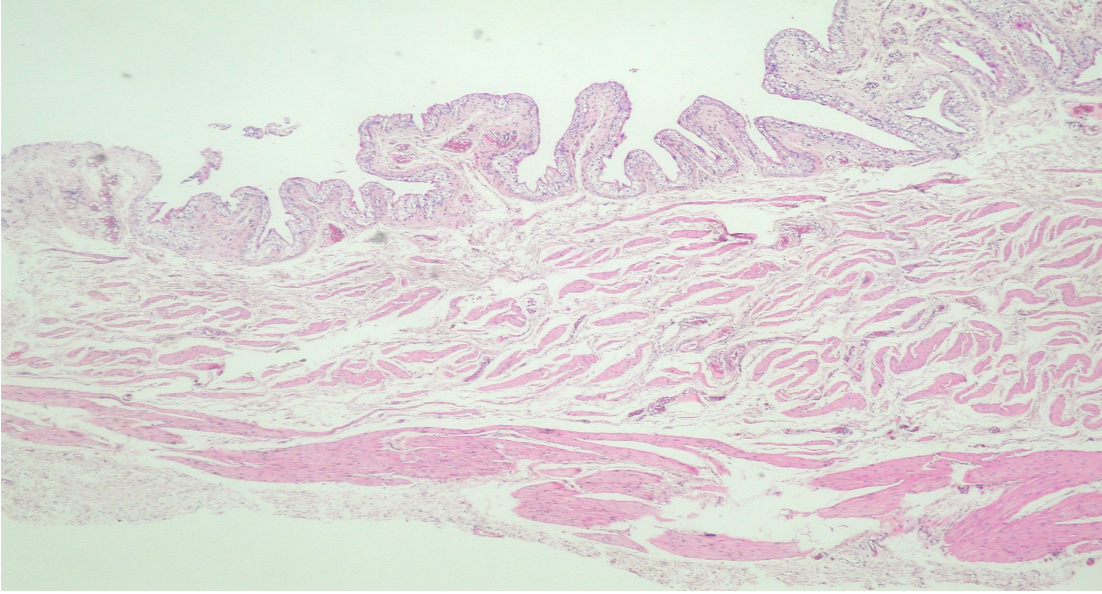
Tavşanlardan ıkarılan mesanelerin histopatolojik incelemesinde, düz kası değerlendirmek için antismooth muscle α aktin (immünohistokimya), sinir rejenerasyonunu belirlemek için S 100 (immünohistokimya) kullanıldı.

Parsiyel sistektomi yapılan gruptaki mesanelerin makroskopik görünümü, mesaneler doldurulduğunda normal mesanelerin yaklaşık yarısı kadardı, insizyon yeri net olarak seçilemedi ve mesanede belirgin çekilme izlenmedi. Parsiyel grubundaki tavşanların mesane duvar kalınlıkları kontrol grubundakilere göre incelmişti. roteliyal mukoza, kas organizasyonu ve miktarı, damarlanma ve sinir hücrelerinin mikroskopik görünümleri normal mesaneye benzemektedir (şekil 1 ve 2).

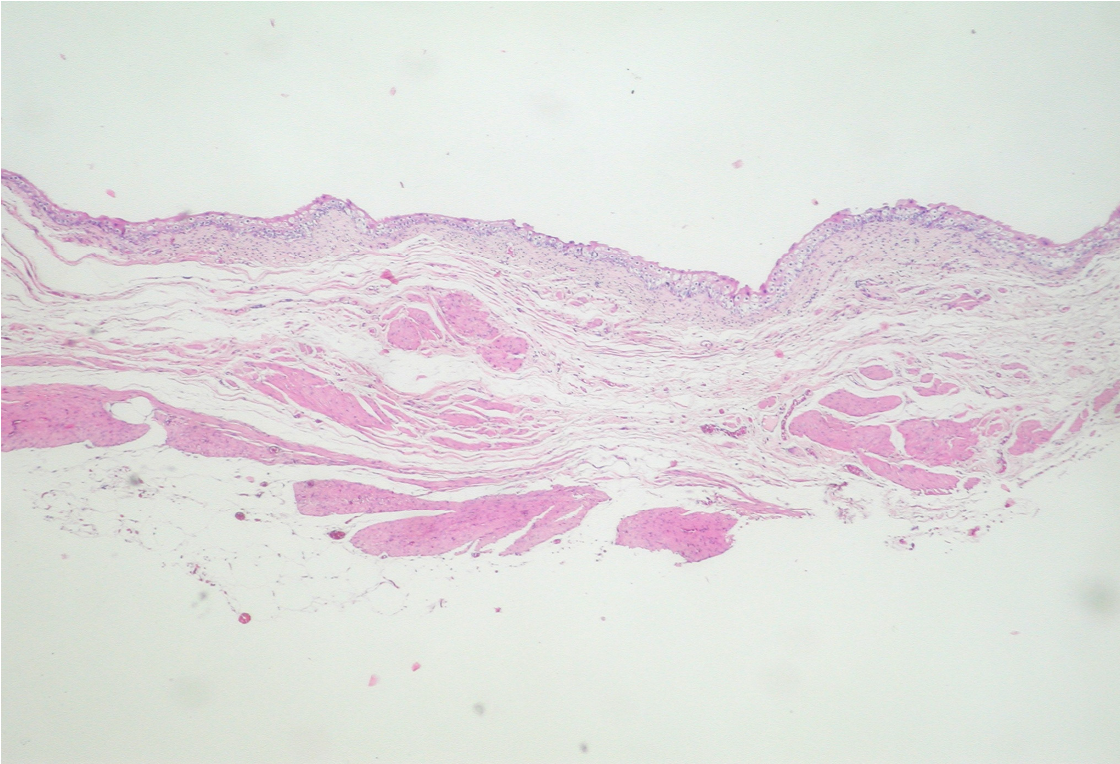
12 haftalık ogmentasyon grubundaki tavşanların mesaneleri doldurulduğunda makroskopik olarak normal mesanelerden daha kk fakat parsiyel sistektomi yapılanlardan daha büyük görünümdeydi, insizyon yeri ve yama bölgesi net olarak seçilemedi, yama bölgesini belirleyebilmek için kullanılan naylon sütürler dikildikleri yerlerden ayrılıp evre doku içerisine girmişti, sadece mesane taşı oluşan vakada taşa yapışmış olarak naylon sütür tespit edildi. Mesanenin kubbe bölgesinde, yani yamanın merkezine uyan alanda çekilme belirgindi. Mikroskopik incelemede, üroteliyal mukoza normal mesane mukozasına benzemektedir, kas lifleri düzensizdi ve geniş fibrotik alanlar içerisinde tek tek ince demetler halinde izlenmektedir. Kenarlarda vaskularizasyon daha belirgindi, sinir proliferasyonu normal mesaneye göre artmıştı (şekil 3 ve 4).

24 haftalık ogmentasyon grubundaki tavşan mesaneleri doldurulduğunda makroskopik olarak 12 haftalık gruptakilerin mesanelerine benzemekteydi, insizyon ve yama bölgesi belirgin değildi, naylon sütürler dikildikleri yerlerden ayrılıp çevre doku içerisine girmişti ve kubbe bölgesine yani yamanın merkezine uyan alanda belirgin çekilme görüldü. Mikroskopik incelemede, üroteliyal mukoza, normal mesane mukozasına benzer şekildeydi, kas lifleri 12 haftalık ogmentasyon grubuna göre daha kalın, organize ve düzenliydi. Serozada damar proliferasyonu ve fibrozis mevcuttu. Sinir proliferasyonu, 12 haftalık ogmentasyon grubundakine benzerdi ve normal mesanelere kıyasla sinir dokusu daha fazlaydı (Şekil 5ve 6).

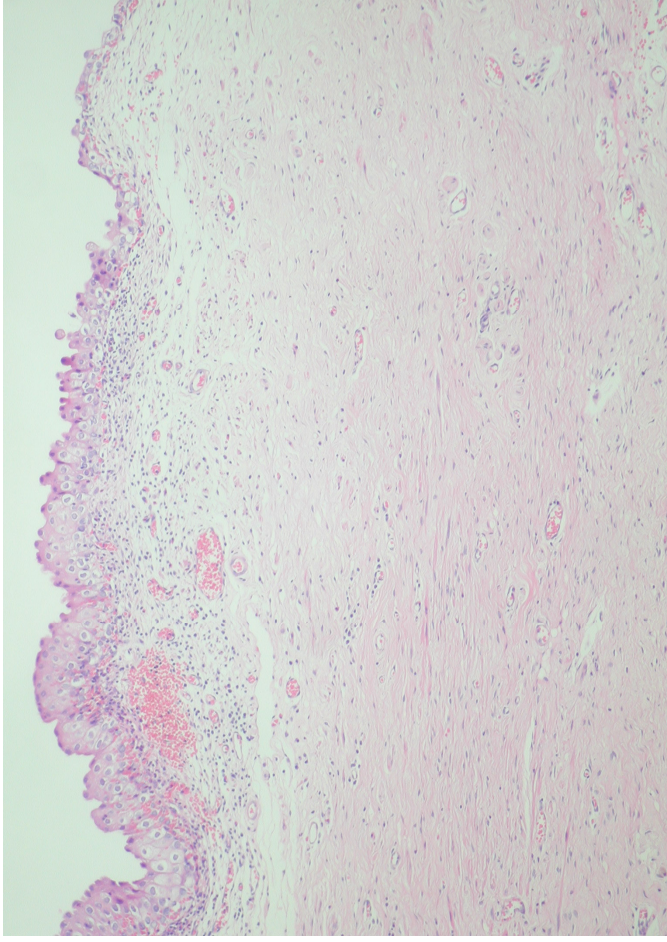
Gerek 12 haftalık ogmentasyon grubunda gerekse 24 haftalık ogmentasyon grubundaki mesane duvar kalınlıkları kontrol grubu ve parsiyel grubundakilere göre belirgin incelmışti.



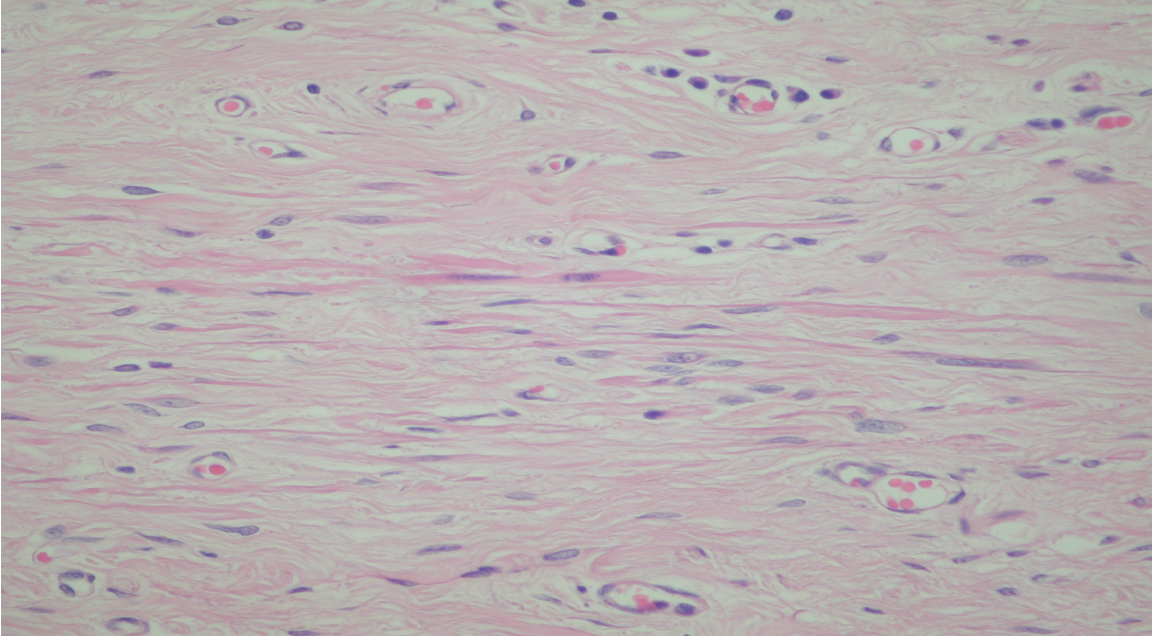
Şekil 1. Normal mesane.



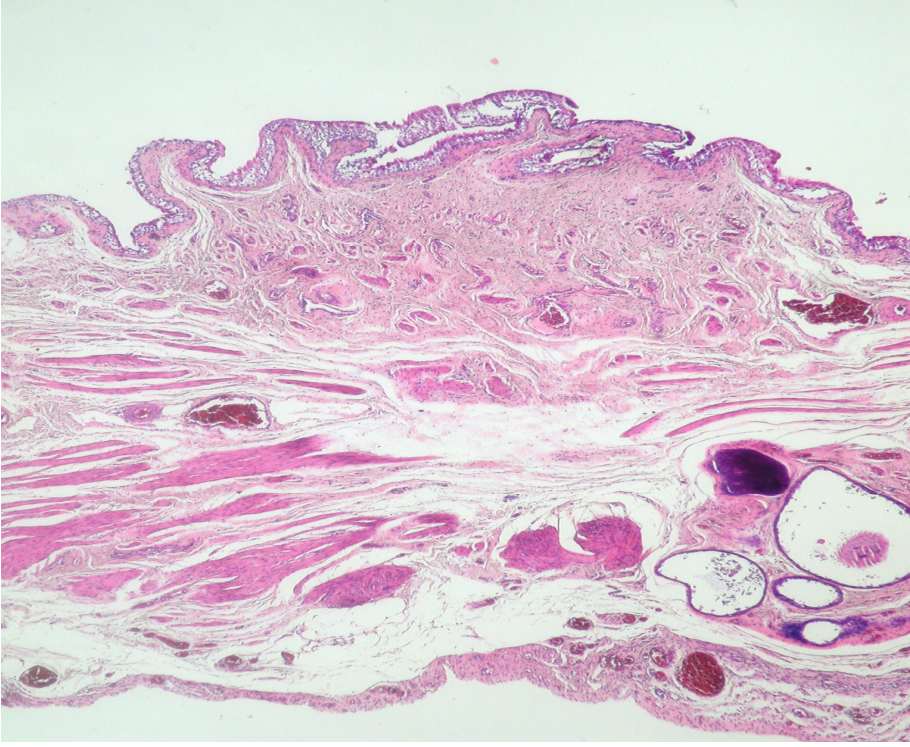
Şekil 2. Parsiyel sistektomi yapılan mesane.



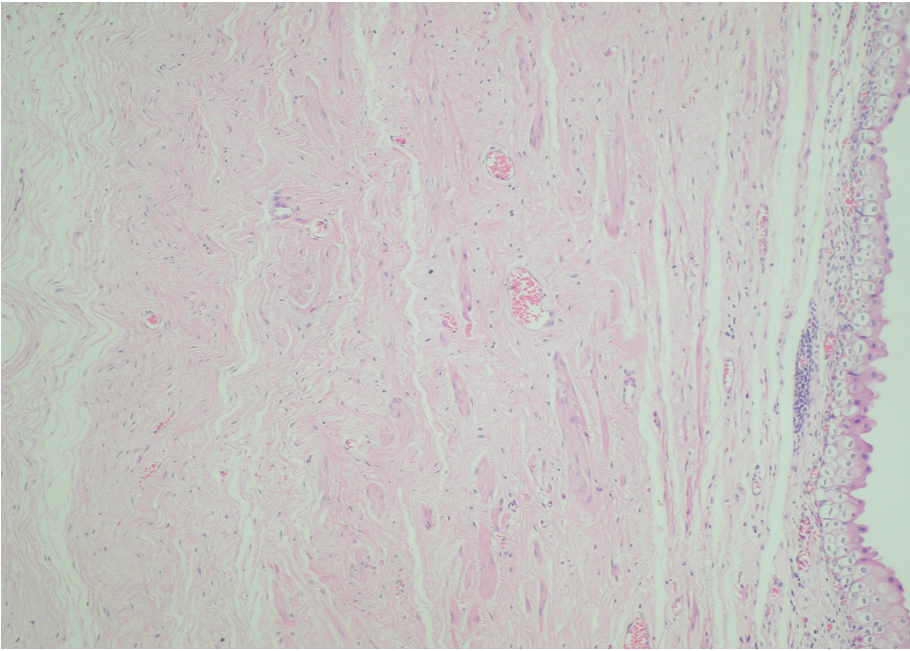
Şekil 3. Ogmentasyon yapılan mesane (12 haftalık).



Şekil 4. Ogmentasyon yapılan mesane (12 haftalık).



Şekil 5. Ogmentasyon yapılan mesane (24 haftalık).



Şekil 6. Ogmentasyon yapılan mesane (24 haftalık).

TARTIŞMA

Gastrointestinal segmentler, mesane onarımı ve yenilenmesinde sıklıkla kullanılan dokulardır. Fakat gastrointestinal dokular özel maddelerin emilimi için düzenlenmiştir. Mesane dokusu ise solutlerin depolanması ve atılması için özelleşmiş hücrelerden oluşur. Gastrointestinal ve üriner dokulardaki bu farklılık nedeniyle, bu iki yapının teması durumunda ortaya ciddi komplikasyonlar çıkabilmektedir. Bu komplikasyonlar arasında, enfeksiyon, metabolik bozukluklar, taş oluşumu, perforasyon, mukus üretiminin artması ve malignite sayılabilir (62).

Gastrointestinal segment kullanımında bu tür problemlerin ortaya çıkması nedeniyle bir çok araştırmacı, mesane dokusunun yenilenmesi ve onarımında kullanılacak alternatif materyal ve doku temini için çaba sarfetmiştir (53).

Seromüsküler greftler ve deepitelize bağırsak segmentlerinin doğal ürotelyum yapısında kullanımı fikri ürologlar için yeni bir düşünce değildir. 1961'de Blandy; ogmentasyon sistoplasti için intestinal segmentlerden submukoza nakli yapılabileceğini önermiştir. Bu sayede üriner traktın devamlılığının sağlanmasında, bağırsak kullanımından kaynaklanabilecek komplikasyonlardan kaçınılabileceğini belirtmiştir (63-64).

Blandy'nin ilk makalesinden 25 yıl sonra mukozasız intestinal segmentlerin üriner rekonsrüksiyon için kullanılması yeniden ilgi duyulan bir konu halini almıştır. 1988'den sonra bir çok araştırmacı bu konu ile ilgili çalışmalar yapmıştır (53).

Salle ve Cheng'in, köpekler üzerinde birbirilerinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda, dokuların kombine edilmesi sırasında anatomik ve hücrenel olarak karmaşık bir etkileşim olduğunu ortaya koymuşlar bu etkileşim nedeniyle nakil sırasında sadece mukoza dokusu kullanıldığında nakledilen bölgede mukozal yeniden büyüme meydana geldiğini, bunun da sekresyonu arttırdığını, mukoza ile birlikte submukozanın nakli durumunda da intestinal yamada retraksiyon ve fibrozis meydana geldiğini göstermişlerdir (65-66). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçların tatminkar olmaması, demukozal intestinal segmentlerin ogmentasyon sistoplasti için kullanımını sınırlamıştır (53).

Dewan; otoogmentasyon ve enterosistoplasti tekniklerini kombine ettiği çalışmasında otoogmentasyon yapıp divertikül oluşturduğu hastalarda divertikül üzerini mukozasız gastrik ve intestinal segment ile örtmüştür. Nörojenik mesane nedeniyle takip edilen hastaların mide ve kolon mukozaları kas tabakalarından diseke edilerek serbest mukoza greftleri oluşturulmuş, hazırlanan bu greftler yeni oluşturulmuş mesane divertiküllerinin üzerine örtülmüştür. Dewan bu çalışma sonucunda, bir çok hastada tatmin edici düzeyde mesane kapasitesi ve kompliyansın sağlandığını bildirmiştir (67).

Gonzales ve arkadaşlarının, yaptığı çalışmada seromüsküler kolosistoplasti yapılan 14 hastanın mesane kapasitelerinde ortalama 2,4 kat artış elde edilmişdir. 14 hastanın 10'unda postoperatif mesane biyopsisi alınmış, 7'sinde ürotelyumun, ogmente parçanın üzerini örttüğü, 2 hastada kolon mukozasının yeniden geliştiği, 1 hastada ise kolonik ve ürotelyumdan oluşan miks bir mukoza yapısının varlığı tespit edilmiştir. Kolonik mukozanın yeniden geliştiği grupta dahi hastalar uygulanan prosedürden fayda görmüş ve mukus sekresyonunun belirgin düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (68).

Mesane greftlerinin deneysel kullanımlarının başlangıcı, 1961 yılında olmakla birlikte son dönemlerde bir çok araştırmacı bu konu ile ilgili bir çok değişik çalışma yapmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan greft çeşitlerinden biri de hücrelesizeştirilmiş allojenik mesane matriksleridir. Bu greftler yerleştirildiği mesane duvar komponentleriyle bir yapı iskeleti oluşturarak gelişir ve hücrenel komponentlerin kimyasal ve veya, mekanik işlemlerden geçirilmesi sonucu elde edilir (53).

Kropp ve arkadaşları, domuz ince bağırsak mukozasını kullanarak hazırladıkları hücreleştirilmiş mesane greftleri ile köpeklere ogmentasyon sistoplastisi yapmışlar, cerrahi öncesi ortalama mesane kapasitesi 51 ml iken cerrahi sonrası kapasitenin 55 ml'ye çıktığı tespit edilmiştir, histopatolojik incelemede ise üroteliyal tabaka tam oluşurken kas tabakasının bütünüyle oluşmadığı, geniş kollajen dokularının arasında birkaç adet kas demetinin izlendiği, bilgisayar yardımlı resim analizinde kas kollajen oranının kollajen lehine arttığı ve normal mimarinin kaybolduğunu gözlemlenmiştir. İn vitro kasılma testinde ise ince bağırsak submukozası yamayan köpek mesanesindeki kasılma cevabının, normal mesane dokusunun yarısı kadar olduğu görülmüştür (69-70).

Tanagho ve arkadaşları, parsiyel sistektomi yapıp hücreleştirilmiş mesane grefti yamadıkları ratları, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 haftalık sürelerde takip etmişler, bu sürelerin sonunda ratları, histopatolojik ve ürodinamik olarak değerlendirmişlerdir. Aselluler hücre temini için daha önce farklı ratların mesanelerini çıkarmışlar, PBS, sodyum azid, DNAase, desoxycholate gibi kimyasallardan (her bir kimyasal solüsyonda ortalama 6-8 saat bekletip) geçirmişler ve hazırladıkları aselluler hale gelmiş greftleri rat mesanelerine yamamışlar, 1. haftanın sonunda mukoza tabakası tam olarak oluşurken, detrusor kas hücreleri 2. haftada organize olmaya başlamış, kas tabakasının organizasyonu 12. haftaya kadar artarak devam etmiş, 16. ve 20. haftalık takiplerdeki kas organizasyonun 12. haftadakinden farksız olduğu tespit edilmiş, damarlanma 1. hafta itibariyle başlayıp 8. haftaya kadar artmış 8. haftadan sonra stabil hale gelmiş 8. haftadan sonraki takiplerde damarlanmada farklılık görülmemiş, sinir hücreleri ise ilk kez 4. haftada tespit edilmiş, 20. haftaya kadar sinirlenme sürekli artarak devam etmiş, kollajen ve elastinin bütün duvar yapısında arttığı tespit edilmiştir. Kapasite için yapılan değerlendirmede ise ogmentasyon yapılan bütün ratlarda normale yakın mesane kapasiteleri rapor edilmiştir (61).

Bizim çalışmamızda, asellüler doku matriksi olarak tavşan mesaneleri kullanılmıştır. Asellüler doku temini için Tanagho ve arkadaşları gibi PBS, sodyum azid, DNAase, desoxycholate gibi kimyasallar kullanılmıştır. Her bir kimyasal ajanda 24 saat süreyle ve mekanik döndürücülerin içinde mesaneler bekletilerek asellüler dokular elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda kimyasal ajanların her birinde bekletme süresi 24 saat iken, Tanagho ve arkadaşları dokuları her bir ajanda ortalama 6-8 saat bekletmişlerdir. Ön çalışmalarımızda 6-8 saat süreli kimyasal izlemlerin dokuları hücresiz hale getirmediği saptanmıştır.

Denemelerimiz sonucunda tavşan mesanesi için 24'er saatlik sürelerin yeterli olduğu belirlenmiştir

Sadece parsiyel sistektomi yaptığımız tavşanlarda mesane kapasitesi, normal tavşanların yaklaşık yarısı iken, ogmentasyon yaptığımız tavşanlarda kapasite ve kompliyans normal tavşan mesanelerine yakın bulunmuştur. Parsiyel sistektomi yaptığımız mesanelerin mukoza gelişimi, damarlanma, kas miktarı ve organizasyonu ve sinir rejenerasyonu normal mesanelere benzer iken, normal mesanelerden farklı olarak mesane duvarında tam kat incelmeye tespit edilmiştir.

Ogmentasyon yaptığımız mesanelerde ise mukoza gelişimi ve damarlanma normal mesanelere benzerken, kas organizasyonu ve miktarının normal mesaneler kadar iyi olmadığı görülmüştür. Fakat 24 hafta süreyle takip ettiğimiz ogmentasyon yapılmış mesanelerdeki kas organizasyonu ve miktarı 12 hafta takip edilen mesanelere göre belirgin şekilde daha iyi tespit edilmiştir. Bu durum takip süresinin uzamasıyla kas rejenerasyonunun daha da iyi olabileceğini düşündürmektedir. Sinir hücreleri ogmentasyon yapılan mesanelerde normal mesanelere oranla daha fazla miktarda görülmüş ve 24 hafta takip edilen ogmentasyonlu mesanelerde bu miktarın 12 hafta takip edilenlere göre daha da fazla olduğu tespit edilmiştir. Ürokinamik sonuçlarımız, sinir dokusundaki bu artışın bir sorun teşkil etmediğini göstermiştir.

Ogmentasyon yapılan mesanelerde de parsiyel sistektomi yapılan mesaneler gibi tam kat duvar incelmeye tespit edilmiştir, hatta bu incelmeye parsiyel sistektomi yapılanlardan daha fazladır. Bu durum ogmentasyon yapılan mesanelerin makroskopik görünümlerinin normal mesanelere göre küçük olmasına rağmen kapasitelerinin normale yakın olmasını açıklayabilir.

Ürokinamik ve histopatolojik sonuçlarımız, Kropp ve Tanagho'nun çalışmalarındaki sonuçlara benzerlik göstermektedir. Fakat Tanagho'nun ogmentasyon yaptığı mesanelerdeki kas gelişiminin 12 haftalık ve 20 haftalık mesanelerde aynı olması bizim çalışmamızdan farklı bir sonuçtur. Bizim 24 hafta takip ettiğimiz mesanelerdeki kas gelişimi 12 hafta takip edilen ogmentasyonlu mesanelere göre daha iyi bulunmuştur. Bu farklılık çalışmada kullanılan hayvan türlerinin farklı olması ile açıklanabilir.

Doku mühendisliği kullanılarak yapılan selektif hücre transplantasyonunda, başarılı sayılabilmek için, fonksiyonel yeni mesane segmentleri ortaya çıkarılabilecek olmalıdır (71).

Mesane rekonstrüksiyonunda hücre transplantasyon stratejilerinin başarısı verici hücrelerinin gelişebilme, farklılaşabilme, etkileşime girebilme ve uzun dönem hayatta kalabilme yeteneklerine bağlıdır (53).

Üroteliyal hücreler ve kas hücreleri in vitro olarak geliştirilebilir. Doku kültürü yönteminde kullanılan polimer yapı iskeleti, hücre tabakalarını şekillendirebilmekte ve ilerlemelerine müsaade etmektedir. İn vitro üretilmiş hücre polimer birleşimi greftler, fare, tavşan, domuz ve köpeklere nakledilmiştir (53).

Atala ve arkadaşları, köpeklere, trigon bölgesinin korunduğu subtotal sistektomi yapmışlar ve bu hayvanları rasgele üç gruba ayırmışlar; 1. gruba herhangi bir yama yapmadan kalan mesaneyi primer kapatmışlar, 2. gruba sadece eriyebilir polimerden yapılmış serbest mesane hücre yaması nakledilmiş, 3. gruba ise laboratuvar ortamında hücre kültürleri içerisinde geliştirilmiş, iskelet çatıyı eriyebilir polimerin oluşturduğu, luminal yüzeye tutunabilen otolog üroteliyal hücreler ve dış yüzeye tutunabilen düz kas hücrelerini içeren yama nakledilmiş. Bu nakilde kullanılan yamanın üretimi için köpek mesanelerinden 1 cm²'lik biyopsi alınmış üroteliyal tabaka ve düz kas tabakası ayrıştırılıp çeşitli büyüme faktörlerini içeren (keratinosit growth faktör, epidermal growth faktör v.b) hücre kültürlerinde değişik işlemlerden geçirildikten sonra ortalama 32 günlük bir sürede 1 cm'den 25 cm büyüklüğünde yeni organ oluşturulmuş ve trigon bölgesine yamanmış. Her 3 gruba cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1, 2, 3, 4, 6 ve 11. aylarda ürodinamik, radyografik, gross, histolojik ve immunohistokimyasal analizler yapılmış (72).

Subtotal sistektomi yapıp yama işlemi yapılmayan kontrol grubunda ortalama kapasite normalin % 22'si kadar sade polimer greft kullanılarak yama yapılan grupta kapasite normalin %46'sı kadar tespit edilmiş, hücre kültüründe üretilen greftle yapılan yama grubundaki kapasite normalin % 95'i kadar tespit edilmiş, yine kompliyansların karşılaştırılmasında 1. grupta normalin %10'u, 2. grupta normalin % 42'si, 3. grupta ise normalin % 106'sı bir kompliyans elde edilmiştir (72).

Histolojik incelemede sade polimer greft kullanılan, grupta normal üroteliyal hücreler, yoğun fibrotik submukoza ve ince tabakalı kas lifleri izlenirken, hücre kültüründe üretilen greftin kullanıldığı grupta normal üroteliyal hücreler, normal submukoza ve normal kas oluşumu tespit edilmiştir (72).

İmmunohistokimyasal analizde kas ve üroteliyal hücreler için desmin, a-aktin, sitokeratin 7, pantokeratin ve üroplakin, sinir hücrelerinin değerlendirilmesinde ise S-100 kullanılmış. Sonuç olarak doku mühendisliği teknikleriyle normal hücrelerin üretilebileceği gösterilmiştir (72).

Klinikte, anormal mesanelerden doku mühendisliği için kullanılacak hücrelerin üretilebileceği düşünülerek, Atala ve arkadaşları tarafından bir çalışma yapılmış, yapılan çalışmada; fonksiyonel olarak normal olan mesane, nörojenik mesane ve ekstrofik mesanelerden alınan biyopsilerle elde edilen düz kas hücreleri hücre kültüründe geliştirildikten sonra yapılan histolojik incelemelerde orjini ne olursa olsun bütün düz kas hücrelerinin aynı özellikleri gösterdikleri görülmüş, her üç gruptan elde edilen hücrelerin elektiriksel alanda stimulyasyonla kontraktiliteleri değerlendirilmiş ve hepsinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışma ile Atala ve arkadaşları, hastalıklı mesanelerin, patolojiden etkilenen bölgelerinde fibrozisi arttırarak genetik stabilitelerini muhafaza ettikleri sonucuna varmıştır (73).

Atala ve arkadaşları, myelomeningosel nedeniyle yüksek basınçlı, düşük kompliyanslı, son dönem mesane patolojisi olan, yaşları 4-19 arasında değişen 7 hastanın mesanelerinden aldıkları biyopsilerle elde ettikleri üroteliyal hücreler ve kas hücrelerini, yedi haftalık sürede hücre kültüründe geliştirdikten sonra hastalara implante etmişler ve ortalama 46 ay süreyle hastaları takip etmişler. Takiplerde hastalarda herhangi bir komplikasyon görülmemiş, 46 ay sonunda yeni mesanelerden alınan biyopsilerde mimari çatı ve fenotipik olarak tamamen normal mesanelerin oluştuğu görülmüştür (74).

Aselluler matriks tekniğiyle oluşturulan yeni mesanelerde, doku reddi meydana gelmemesi, mesane kapasitelerinin ve kompliyansların normal mesanelere yakın düzeylerde tespit edilmesi tekniğin olumlu yönleridir.

Histopatolojik değerlendirmelerde ise her ne kadar üroteliyal mukoza, damar ve sinir rejenerasyonları normale yakın oluşsa da, kas yapısının miktar ve organizasyon olarak yetersizliği kollajen miktarındaki aşırı artış ve fibrozis, tekniğin olumsuz yönleri olarak değerlendirilebilir. Aselluler matriks tekniğindeki bu göreceli başarı, hücre kültürü yöntemi ile üretilen greftlerle yapılan rekonstruksiyonlardan daha düşük görünmektedir. Yakın gelecekte, doku mühendisliği ve hücre kültürü teknikleri ile yeni doku ve organların üretilmesi sayesinde günümüzde bir çok hastalıkta uygulanan tedavi yöntemleri, değişecek gibi görünmektedir.

SONUÇLAR

- 1- Parsiyel sistektomi yapılan mesanelerde makroskobik görünüm ve ürodinamik kapasite, normal mesanelerin yaklaşık yarısı kadardır.
- 2- Aselluler matriks yamanan mesanelerdeki kapasite ve kompliyans normal mesanelere yakın düzeydedir. Fakat makroskobik görünüm normal mesanelerden daha küçüktür.
- 3- Histopatolojik incelemede, parsiyel sistektomi yapılan grup ile normal mesaneler arasındaki tek fark, parsiyel sistektomi yapılan mesanelerin duvar kalınlığının tam kat incelmış olmasıdır.
- 4- Yama grupları histopatolojik olarak normal mesanelerle karşılaştırıldığında, üroteliyal hücre yapıları ve damarlanma birbirilerine benzerken sinir hücreleri, yama grubunda armıştır. Kas hücreleri ise yama grubunda miktar olarak hem daha az hem de daha kötü organize edilmiştir. Kollajen doku, yama grubunda belirgin şekilde daha fazladır.
- 5- 12 hafta takip edilen yama grubu ile 24 hafta takip edilen yama grubu arasında üroteliyal tabaka, damarlanma, sinir hücrelerinin organizasyonu ve kollajen miktarı bakımından belirgin farklılık izlenmezken, kas hücreleri miktar ve organizasyon açısından 24 hafta takip edilen grupta daha iyiydi.
- 6- Yama gruplarındaki mesane duvar kalınlığı, hem parsiyel grubundan hem de normal tavşanların mesane duvar kalınlıklarından ince olarak tespit edildi.
- 7- 12 ve 24 haftalık takipler sonucunda hiçbir tavşanda doku reddine bağlı komplikasyon tespit edilmedi.

KAYNAKLAR

- 1- Baskin LS, Disandro M, Li Y, et al. Mesenchymal – epithelial interactions in bladder smooth muscle development: effects of the local tissue environment. *J Urol* 2001;165:1283–88.
- 2- Oberpenning F, Meng J, Yoo JJ, Atala A. De novo reconstruction of a mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nature Biotechnology* 1999;17:149–55.
- 3- Probst M, Dahiya R, Carrier S, Tanagho EA. Reproduction of functional smooth muscle tissue and partial bladder replacement. *B J Urol*, 1997;79:505–15.
- 4- McDougal WS. Metabolic complications of urinary intestinal diversion. *J Urol* 1992;147:1199–208.
- 5- Golomb J, Klutke CG, Raz S. Complications of bladder substitution and continent urinary diversion. *Urology* 1989;34:329–38.
- 6- Goldwasser B, Barrett DM, Webster GD, Kramer SA. Cystometric properties of ileum and right colon after bladder augmentation, substitution or replacement. *J Urol* 1987;138:1007–8.
- 7- Atala A, Freeman MR, Vacanti JP, Shepard J, Retik AB. Implantation and retrieval of artificial structures consisting of rabbit human urethelium and human bladder muscle. *J Urol*. 1993;150:608–12.
- 8- Kim BS, Baez CE, Atala A. Biomaterials for tissue engineering *World J Urol* 2000;18:2–9.
- 9- Kropp BP, Eppley BL, Prevel CD, et al. Experimental assessment of small intestinal submucosa as a bladder wall substitute. *Urology* 1995;46:396–400.
- 10- El Bahnasy AM, Shalhav A, Hoening DM, Figenshau R, Clayman RV. Bladder wall substitution with synthetic and non-intestinal organic materials. *J Urol* 1998;159:628–37.
- 11- Gleeson MJ, Griffith DP. The use of alloplastic biomaterials in bladder substitution. *J Urol* 1992;147:1199–208.
- 12- Merquerian PA. Urothelium – lined enteric segmens. *World J Urol* 2000;18:31–5.
- 13- Elbadawi A, Schenk EA. Dual innervation of the mammalian urinary bladder, histochemical study of the distributions of cholinergic and adrenergic nerves. *Am J Anat* 1966;119:405-27.

- 14- Donker PJ, Droes JP, Van Alder BM. Anatomy of the musculature and innervation of the bladder and uretra. In Chisolm GO, Williams DI (eds). Scientific Foundations of Urology. Chicago, Year Book Medical, 1982, pp.404-441.
- 15- Chancellor MB, Yoshimura N. Mesane ve üretranın fizyolojisi ve farmakolojisi. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan DE, Wein AJ. (eds), Campbell's Urology. Ankara. 2005 pp. 832-53.
- 16- Tanagho EA. The ureterovesical junction. Anatomy and physiology. In Chishold GD, Williams DI (eds): Scientific Foundation of Urology. Chicago, Year Book Medical, 1982, pp. 295-404.
- 17- Dikson J, Gosling J. Structure and innervation of human bladder. In Torrens M, Morrison JFB (eds): The Physiology of the Lower Urinary Tract. Berlin, Springer-Verlag, 1987, pp. 3-22.
- 18- Zderic SA, Levin RM, Wein AJ. Voiding function and dysfunction: relevant anatomy, physiology, and pharmacology, and molecular biology. In Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JD (eds): Adult and Pediatric Urology, 3rd ed. Chicago, Mosby-Year Book, 1996, pp 1159-1219.
- 19- Hutch JA, Rambo OA. A new theory of the anatomy of the internal urinary sphincter and the physiology of micturition: III. Anatomy of the uretra. J Urol 1967;97:696-704.
- 20- Oerlich TM. The urethral sphincter muscle in the male. Am J Anat 1980;158:229.
- 21- Gosling JA. Gross anatomy of the lower urinary tract. In Abrams P, Khoury S, Wein A (eds): Incontinence. Plymouth, United Kingdom, Health Publication, 1999, pp. 23-56.
- 22- Klevmark B. Motility of the urinary bladder in cats during filling at physiologic rates: I. Intravesical pressure patterns studied by a new method of cystometry. Acta Physiol Scand 1974;90:565-77.
- 23- Langley LL, Whideside JA. Mechanism of accommodation and tone of urinary bladder. J Neurophysiol 1951;14:147-52.
- 24- Wein AJ. Neuromuscular dysfunction of the lower urinary tract. In Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED (eds): Campbell's Urology, 6th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1992, pp. 573-642.
- 25- De Groat WC, Booth AM. Synaptic transmission in pelvic ganglia. In Maggi CA (ed): The Autonomic Nervous System, vol 3, Nervous control of the Urogenital System. London, Harwood Academic, 1993, pp. 291-347.

- 26- Anafarta K, Göğüş O, Arıkan N, Bedük Y. Temel Üroloji. Baykara M: Ürogenital Organların Anatomik ve Histolojik Yapısı. Güneş Kitabevi, Ankara. 1998;13-14.
- 27- Smet PJ, Jonavicius J, Marshall VR. Distribution of nitric oxide synthase immunoreactive nerves and identification of the cellular targets of nitric oxide in guinea-pig and human urinary bladder by cGMP immunohistochemistry. *Neuroscience* 1996; 71:337-48.
- 28- Chacko S, DiSanto M, Menon C, et al. Contractile protein changes in urinary bladder smooth muscle following outlet obstruction. *Adv Exp Med Biol* 1999;462:137-53.
- 29- Uvelius B, Gabella G. Relation between cell length and force production in urinary bladder smooth muscle. *Acta Physiol Scand* 1980;110:357-65.
- 30- Venegas JG. Viscoelastic properties of the contracting detrusor: I. Theoretical basis. *Am J Physiol* 1991;261:C355-63.
- 31- Sibley GNA. A comparison of spontaneous and nerve-mediated activity in bladder muscle from man, pig and rabbit. *J Physiol (Lond)* 1984;354:431-43.
- 32- Cortivo R, Pagano F, Passerini G, et al. Elastin and collagen in the normal and obstructed urinary bladder. *Br J Urol* 1981;53:134-7.
- 33- Macarak EJ, Howard PS. The role of collagen in bladder filling. *Adv Exp Med Biol* 1999;462:225-33.
- 34- Li DY, Brooke B, Davis EC, et al. Elastin is an essential determinant of arterial morphogenesis. *Nature* 1998;393:276-80.
- 35- Inoue T, Gabella G. A vascular network closely linked to the epithelium of the urinary bladder of the rat. *Cell Tissue Res* 1991;141:137-43.
- 36- Hossler FE, Monson FC. Microvasculature of the rabbit urinary bladder. *Anat Rec* 1995;243:438-48.
- 37- Batista JE, Wagner JR, Azadzi KM, et al. Direct measurement of blood flow in the human bladder. *J Urol* 1996;155:630-3.
- 38- Greenland JE, Brading AF. Urinary bladder blood flow changes during the micturition cycle in a conscious pig model. *J Urol* 1996;156:1858-61.
- 39- Ohnishi N, Kishima Y, Hashimoto K, et al. A new method of measurement of the urinary bladder blood flow in patients with low compliant bladder. *Hinyokika Kyo* 1994;40:663-7.
- 40- Levin RM, Brendler K, Van Arsdalen KN, Wein AJ. Functional response of the rabbit urinary bladder to anoxia and ischaemia. *Neurourol Urodyn* 1983;2:233-7.

- 41- Zhao Y, Wein AJ, Bilgen A, Levin RM. The effect of anoxia on in-vitro bladder function. *Pharmacology* 1991;43:337-44.
- 42- Pessina F, McMurray G, Wiggin A, Brading AF. The effect of anoxia and glucose-free solutions on the contractile response of guinea-pig detrusor strips to intrinsic nerve stimulation and the application of excitatory agonists. *J Urol* 1997;157:2375-80.
- 43- Brading AF. A myogenic basis for the overactive bladder. *Urology* 1997;50:57-67.
- 44- Fawcett DW. The urinary system. In Bloom W, Fawcett DW (eds): *Textbook of Histology*, 12th ed. New York, Chapman & Hall, 1984, pp. 728-764.
- 45- Lewis SA. Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *Am J Physiol* 2000;278:F867-74.
- 46- Kelly SE, Wood RL, Enders AC (eds). The urinary system. In *Bailey's Textbook of Microscopic Anatomy*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984, pp. 645-686.
- 47- Grases F, Ferragut LG, Botsa-Bauza A. Study of the early stages of renal stone formation: Experimental model using urothelium of pig urinary bladder, *Urol Res* 1966;24:305-9.
- 48- Hurst RE. Structure, function and pathology of proteoglycans and glycosaminoglycans in the urinary tract. *World J Urol* 1994;12:3-10.
- 49- De Groat WC, Theobald RJ. Reflex activation of sympathetic pathways to vesical smooth muscle and parasympathetic ganglia by electrical stimulation of vesical afferents. *J Physiol* 1976;259:223-37.
- 50- Fedirchuk B, Hochman S, Shefchyk SJ. An intracellular study of perineal and hindlimb afferent inputs onto sphincter motoneurons in the decerebrate cat. *Exp Brain Res* 1992;89:511-6.
- 51- Blaivas JG. The neurophysiology of micturition: A clinical study of 550 patients. *J Urol* 1982;127:958-63.
- 52- Bennett BC, Kruse MN, Roppolo JR, et al. Neural control of urethral outlet activity in vivo: Role of nitric oxide. *J Urol* 1995;153:2004-9.
- 53- Atala A. Regenerative medicine and urology: *BJU International* 2003; 92:58-67.
- 54- Atala A. Tissue engineering in the genitourinary system. In Atala A, Mooney D eds. *Tissue Engineering*. Boston: Birkhauser Pres, 1997:149-55.
- 55- Cilento BG, Freeman MR, Schneck FX, Retik AB, Atala A. Phenotypic and cytogenetic characterization of human bladder urothelia expanded in vitro. *J Urol* 1994;152:655-70.

- 56- Scriven SD, Booth C, Thomas DF, Trejdosiewicz LK, Southgate J. Reconstitution of human urothelium from monolayer cultures. *J Urol* 1997;158:1147-52.
- 57- Liebert M, Wedemeyer G, Abruzzo LV et al. Stimulated urothelial cells produce cytokines and express an activated cell surface antigenic phenotype. *Semin Urol* 1991;9:124-30.
- 58- Puthenveetil JA, Burger MS, Reznikoff CA. Replicative senescence in human uroepithelial cells. *Adv Exp Med Biol* 1999;462:83-91.
- 59- Pariente JL, Kim BS, Atala A. In vitro biocompatibility assessment of naturally derived and synthetic biomaterials using normal human urothelial cells. *J Biomed Mat Res* 2001;55:33-9.
- 60- Pariente JL, Kim BS, Atala A. In vitro biocompatibility evaluation of naturally derived and synthetic biomaterials using human bladder smooth muscle cells. *J Urol* 2002;167:1867-71.
- 61- Probst M, Dahiya R, Carrier S, Tanagho EA. Reproduction of functional smooth muscle tissue and partial bladder replacement. *Br J Urol* 1997;79:505-15.
- 62- McDougal WS. Metabolic complications of urinary intestinal diversion. *J Urol* 1992;147:1199-208.
- 63- Blandy JP. The feasibility of preparing an ideal substitute for the urinary bladder. *Ann Royal Coll Surg* 1964;35:287-311.
- 64- Harada N, Yano H, Ohkawa T, Misse T, Kurita T, Nagahara A. New surgical treatment of bladder tumors: mucosal denudation of the bladder. *Br J Urol* 1965;37:545-7.
- 65- Salle J, Fraga C, Lucib A, Lampertz M, Jobim G, Putten A. Seromuscular enterocystoplasty in dogs. *J Urol* 1990;144:454-6.
- 66- Cheng E, Rento R, Grayhack TJ, Oyasu R, McVary KT. Reversed seromuscular flaps in the urinary tract in dogs. *J Urol* 1994;152:2252.
- 67- Dewan PA. Autoaugmentation demucosalized enterocystoplasty. *World J Urol* 1998;16:255-61.
- 68- Gonzalez R, Buson H, Reid C, Reinberg Y. Seromuscular colcystoplasty lined with urothelium (SCLU). An experimental study in 16 patients. *Urology* 1995; 45:124.
- 69- Kropp BP, Rippey MK, Badylak SF et al. Small intestinal submucosa urodynamic and histopathologic evaluation in long term canine bladder augmentations. *J Urol* 1996;155:2098-104.

- 70- Vaught JD, Kroop BP, Sawyer BD et al. Detrusor regeneration in the rat using porcine small intestine submucosal grafts: functional innervation and receptor expression. *J Urol* 1996;155:374-8.
- 71- Atala A, Vacanti JP, Peters CA, Mandell J, Retik AB, Freeman MR. Formation of urothelial structures in vivo from dissociated cells attached to biodegradable polymer scaffolds in vitro. *J Urol* 1992;148:658-62.
- 72- Oberpenning FO, Meng J, Yoo J, Atala A. De novo reconstitution of a functional urinary bladder by tissue engineering. *Nat Biotechnol* 1999;17:149-55.
- 73- Lai JY, Yoon CY, Yoo JJ, Wulf T, Atala A. Phenotypic and functional characterization of in vivo tissue engineered smooth muscle from normal and pathological bladders. *J Urol* 2002;168:1853-8.
- 74- Atala A, Bauer SB, Soker S, Yoo JJ, Retik AB. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet*. 2006;367:1215-6.