

A. Stenzl¹ · M. Ninkovic² · N. Ashammakhi³ · I. E. Eder¹ · G. Bartsch¹

¹ Urologische Universitäts-Klinik Innsbruck/Österreich

² Universitäts-Klinik für Plastische und Wiederherstellungschirurgie Innsbruck/Österreich

³ Department of Plastic Surgery, Oulu University Hospital, Oulu, Finland

Rekonstruktion des unteren Harntrakts

Entwicklungen am Beginn des neuen Jahrtausends

Zusammenfassung

Der Gastrointestinaltrakt stellt sowohl von der Verfügbarkeit als auch von der Morbidität derzeit die geeignetste Möglichkeit zur Schaffung eines Harnreservoirs dar. Es gibt bereits mehrere erfolgreiche Versuche, laparoskopisch eine Zystektomie und Harnableitung durchzuführen, wobei hier eine präfabrizierte Blase vorteilhaft wäre. Die zzt. gängigen bzw. vielversprechenden Trägersubstanzen und Techniken zur Kultivierung bzw. Beschichtung von Zellbestandteilen, die für einen Harnblasenaufbau im Labor durch „tissue engineering“ notwendig sind, werden besprochen.

Klinischen Daten über den Einsatz von kultivierten Blasenwandanteilen stehen bislang noch aus, der freie neurovaskuläre Skelettmuskeltransfer zur Substitution des funktionslosen Detrusors hingegen wird bereits klinisch angewandt. Die Latissimus-dorsi-Detrusormyoplastie (LDDM) ließe sich durch die gute Vaskularisation und gleichzeitige Innervation des Lappens gut mit Tissue-engineering-Methoden zur Schaffung eines blasenähnlichen Reservoirs kombinieren. Möglichkeiten dazu werden aufgezeigt.

Schlüsselwörter

Harnableitung · Blasenrekonstruktion · Muskeltransplantation · Zukunft der Harnableitung · Tissue engineering

Eine operative Korrektur der Harnleitung wurde erstmals vor 150 Jahren durchgeführt [1]. Seither ist es mit Hilfe von zahlreichen Pionieren und durch unzählige experimentelle Untersuchungen gelungen, einen Blasenersatz zu schaffen, der der ursprünglichen Harnblase relativ nahe kommt. Die Methoden zur Schaffung des Harnreservoirs und die Einbindung des normalerweise aus dem Gastrointestinaltrakt geformten Pouch in die ableitenden Harnwege sind jedoch recht unterschiedlich. Dies resultiert einerseits aus der unterschiedlichen Evolution von Techniken, andererseits auch aus der Tatsache, dass Funktionsweise und Wechselwirkung zwischen dem harnspeichernden Gastrointestinalpouch und dem übrigen Körper nicht zur Gänze geklärt sind.

Wir wissen heute, dass terminales Ileum und Kolon sowohl von der Morbidität der Entnahmestelle, der Transferierbarkeit ins Becken und den Problemen, die durch die Rückresorption harnpflichtiger Stoffe durch den Gastrointestinaltrakt entstehen, die beste Möglichkeit zur Schaffung eines Harnreservoirs darstellen. Wir wissen aber auch, dass gewisse Funktionen der Harnblase, wie eine praktisch druckfreie Füllungsphase und die willkürliche Entleerung in mehrstündigen Intervallen ohne zwischenzeitliche Inkontinenz – v. a. nachts – nicht bei allen Patienten und auch nicht ohne zwischenzeitliche Probleme erreicht werden können [2].

Inwieweit Darmmuskulatur bezüglich Aufbau und nervaler Steuerung überhaupt für einen Blasenersatz geeignet bzw. umwandelbar wäre, war bisher noch wenig erforscht. Anatomische Studien geben Aufschluss über die Konfiguration z. B. der glatten Muskelzellnervenanordnung, die idealerweise bei einer In-vitro- oder In-vivo-Neukonstruktion einer Harnblase vorteilhaft wäre.

Feinstruktur von Harnblase und Gastrointestinaltrakt

Auffallend bei diesen vergleichenden Studien ist zunächst die unterschiedliche Anordnung der glatten Muskelzellen. In der Blase findet man aus unterschiedlichen Richtungen ineinandergreifende, Muskelzellen ohne Schichtung [3], die insgesamt eine deutlich dickere Muskelschicht ergeben als am Darm, wo vom Ösophagus bis zum Analkanal ein diskreter Aufbau von 2 Schichten besteht: Einer inneren zirkulären und einer äußeren longitudinalen Muskelschicht, die im Bereich des Dickdarms nur mehr inkomplett in Form von Taenien vorhanden ist.

Prof. Dr. A. Stenzl
Urologische Universitäts-Klinik,
Anichstraße 35, A-6020 Innsbruck,
E-Mail: arnulf-stenzl@uibk.ac.at

A. Stenzl · M. Ninkovic · N. Ashammakhi
I. E. Eder · G. Bartsch

Bladder substitution. Prospects for the new millennium

Abstract

Gastrointestinal segments are currently by far the most popular method to create a bladder substitute. Attempts have been made to further reduce the morbidity and burden for patients by using minimal invasive techniques for both cystectomy and urinary diversion. However, laparoscopy for acceptable forms of urinary diversion is time consuming and costly. A neobladder "off the shelf" would be a better solution.

Tissue engineering is an exciting new field which enables the cultivation and expansion of individual bladder cells obtained by transurethral biopsy, the attachment of these cells to a support matrix, and their reimplantation into the body. Advances both in biomaterials as well as in the cultivation and expansion of bladder cells are described.

Promising routine clinical applications of tissue engineering may still need several years. Free neurovascular muscle transfer to the bladder demonstrated both experimentally and clinically to be a suitable treatment modality in patients with bladder acontractility. This may therefore be the next logical step towards an improved bladder substitute by combining well vascularized flaps with urothelial cell seeding. Thus a combination of commonly used flap techniques and tissue engineering may soon be possible.

Keywords

Urinary diversion · Tissue engineering · Biomaterials · Myoplasty · Future technology

Strukturelle Unterschiede

Die glatten Muskelzellen (lange spindelförmige Zellen mit einem zentralen Kern) sind in beiden Organen ähnlich aufgebaut. Unterschiede bestehen jedoch bei den Überleitungsstellen zwischen den glatten Muskelzellen, den sog. „junctions“ [4]. Bei den Myozyten des normalen Detrusors bestehen diese aus symmetrischen Verdickungen aneinanderliegender Zellmembranareale, zwischen denen wahrscheinlich extrazelluläre Strukturmoleküle eine mechanische Verbindung herstellen [5]. Beim Darm – hier v. a. in den zirkulären Muskelschichten – bestehen wesentlich engere Verbindungen, auch „gap junctions“ oder „nexus“ genannt. Durch diese „gap junctions“ ziehen Proteinkanäle, die die Zytoplasma-Kompartimente der benachbarten Zellen verbinden und durch den Transport von Ionen und Molekülen eine gute elektrische und chemische Übertragung von Signalen ermöglichen.

Unterschiede in der Innervation

Neben diesen strukturellen Unterschieden ist für die Koordination und Funktion die Innervation wichtig. Die einzelnen glatten Muskelzellen der Blase werden von sich verzweigenden postganglionären Ästen des Parasympathikus innerviert. Sympathische Nervenfasern schalten z. T. in den intramuralen Ganglien der Detrusorwand um, haben aber mit Ausnahme vom Trigonum keinen direkten Kontakt mit den Myozyten. Sie hemmen einerseits parasympathische Aktivitäten und wirken andererseits exzitatorisch auf die glatte Muskulatur der Blasenwandgefäße [6, 7].

Im Gastrointestinaltrakt besteht eine wesentlich komplexere Innervation. Hier werden die glatten Muskelzellen sowohl über exzitatorische als auch inhibitorische Nervenendigungen des sympathischen und des parasympathischen Nervensystems versorgt. In der Darmwand befindet sich ein dichtes Netzwerk an motorischen, sekretomotorischen, sensiblen und interneuronalen Nerven, deren Ganglien sich in den 2 Hauptplexus – dem Plexus myentericus Auerbach und Meissners Plexus submucosus – befinden [8].

Charakteristika der Neoblase

Obwohl es sich auch bei der Neoblase um ein von glatter Muskulatur umgebenes Hohlorgan handelt, trägt die Muskulatur aktiv nicht zur willkürlichen Entleerung bei [9, 10]. Entgegen der gerichteten Kontraktion der Harnblase gibt es auch bei der mehrere Jahre bestehenden Neoblase keine willkürliche oder unwillkürliche Auslösung einer gerichteten Muskelkontraktion. Eine Spontanmiktion bei einer Neoblase wird bestenfalls durch peristaltische Wellen und eine elastische Wandspannung unterstützt, erfolgt aber hauptsächlich über die aktive Öffnung des Rhabdosphinkters und Bauchpresse.

Unerforscht blieb bisher der Versuch, die Neoblastenmuskulatur durch eine länger dauernde Stimulation sozusagen „funktionell umzuwidmen“, d. h. ähnlich wie bei der Latissimus-Kardiomyoplastie [11] durch elektrische Reizströme eine in Richtung Blase gehende strukturelle und funktionelle Umwandlung zu erzielen.

Ideal wäre auch eine Anbindung der Neoblase an die ursprüngliche parasympathische Innervation der Blase.

Experimentellen Studien zufolge ist eine autonome Reinnervation bei Ratten vom innervierten Anteil der Blase in den reinnervierten Anteil möglich [12]. Dies konnte bisher am Menschen nicht nachgewiesen werden [4]. Ob hier die gestörte Innervation der ursprünglichen neurogenen Blase, die in den meisten Fällen die Indikation für die Blasenaugmentation war, Schuld war, oder ob es sich hier um ein Fehlen entsprechender Wachstumsstimuli der Darmwand bzw. der Darmmuskulatur handelt, ist unklar. Allerdings konnte im Tierversuch bei der Blasenaugmentation mit Dickdarm eine Degeneration des intramuralen Plexus myentericus und bei detubularisierten Segmenten ein Auswachsen von Detrusornerven in die Darmsegmente beobachtet werden [13].

Minimal-invasive Chirurgie und Blasenrekonstruktion

Seit 1995 gibt es mehrere klinische Berichte über laparoskopische Zystektomie und Harnableitung [14, 15]. Ein kontinen-

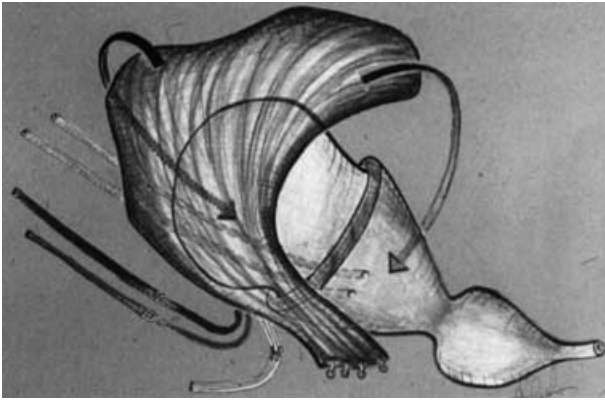


Abb. 1 ◀ **LDDM in Kombination mit einer Autoaugmentation der Blase, (Adaptiert von [53])**

ter laparoskopischer Blasenersatz wurde bisher lediglich an wenigen Patienten an 2 Zentren durchgeführt [16, 17]. In einem Bericht wurde eine modifizierte Ureterosigmoideostomie, in einem anderen Zentrum wurde der Ileumpouch nach Studer als Ableitung gewählt. Der Blutverlust wird als gering angegeben, die Operationszeiten überschreiten aber meist 8 h.

Für eine routinemäßige Anwendung minimal-invasiver Operationstechniken zur Harnableitung ist sowohl durch den Trainingszustand der meisten chirurgisch tätigen Urologen als auch durch den erforderlichen Zeitaufwand nicht zu erwarten, dass dieser Eingriff in den nächsten Jahren bei der Mehrzahl der Patienten nach Zystektomie angewandt wird. Vor allem sollten durch die Möglichkeit der Laparoskopie bisher erreichte Standards bei der Harnableitung wie orthotope Neoblase, niedrige sekundäre Neoplasierate oder relativ geringe metabolische Langzeit-Nebenwirkungen nicht verlassen werden.

Ideal für laparoskopische Eingriffe wäre eine im Labor hergestellte oder aus autologem oder heterologem Gewebe gezüchtete Blase, die zum Zeitpunkt der Zystektomie endoskopisch eingebaut werden könnte.

Die Schaffung eines Hohlraums aus resorbierbaren Biomaterialien, die mit autolog expandierten Zellen beschichtet werden können, ist heute möglich. Schwierig hingegen ist es, ein derartiges Reservoir funktionell in den Harntrakt einzubauen. Ab einer gewissen Größe des eingepflanzten Gewebestücks, von Folkman 1973 als 3 mm³ definiert, reicht die Versorgung durch Diffusion nicht mehr aus, um die Vitalität aufrecht zu erhalten [18].

Da in der ersten Zeit nach der Implantation auch die einwachsenden Gefäßstrukturen noch ungenügend sind, kommt es demnach zu mehr oder weniger weitgehenden Nekrosen. Zwar wurde versucht, durch Kapillarinfiltration entlang sich baumartig verzweigender Fasern der zelltragenden Strukturen die Diffusion und damit die Versorgung der Zellen zu verbessern [19], aber selbst bei den besten Trägermaterialien scheint bei einer Fläche von ca. 40 cm² die kritische Größe zu liegen.

Ebenso schwierig ist die Anbindung an die nervale Steuerung. Prinzipiell scheint ein Auswachsen von autonomen Nerven zwar möglich [20], jedoch ist eine funktionelle Einbindung der implantierten, kultivierten glatten Muskulatur in den nativen Harntrakt weder klinisch noch im Großtierversuch gezeigt worden.

Vaskularisation und nervale Anbindung

Eine Möglichkeit, das Problem der Vaskularisation und Innervation zu umgehen, wäre der gestielte oder freie autologe Gewebettransfer mit oder ohne Konditionierung durch Elektrostimulation oder die Augmentation bestehender bzw. verbleibender Segmente des Harntrakts. In letzterem Fall wird durch Dehnung eine Gewebsvermehrung induziert [21]. Durch eine Vermehrung bestehender Gewebeteile wie glatter Muskulatur, Schleimhaut, Gefäßen und Nerven entsteht damit ausreichend Material für ein vaskularisiertes und innerviertes Reservoir.

Durch Entfernung der Mukosa des Gastrointestinaltrakts samt sezernierender Drüsen und deren Ersatz durch lokoregionäres oder kultiviertes, expandiertes Urothel wurde experimentell

versucht, ein autologes, von kontraktile Muskulatur umgebenes Reservoir zu schaffen, dessen Schleimhautauskleidung nahezu die gleichen Barriereigenschaften wie die natürliche Blase besitzt [22, 23]. Durch starke entzündliche Reaktionen mit Schrumpfung der Lappen, sowie ein teilweises Auswachsen verbleibender Drüsenanteile waren sowohl die experimentellen als auch klinischen Ergebnisse wenig beeindruckend.

In-vivo-Blasenkonstruktion durch Gewebettransfer

Der gestielte Transfer von Anteilen des Gastrointestinaltrakts bietet sich durch die relativ geringe Morbidität an der Entnahmestelle, die gute Positionierbarkeit im kleinen Becken und den vertretbaren Aufwand für einen derartigen Eingriff an. Vor allem für Kinder, Jugendliche und Erwachsene mit einer zu erwartenden langen Lebensdauer können die aus der Rückresorption resultierenden metabolischen Probleme aber im Laufe des Lebens erhebliche Komplikationen verursachen [24]. Daher bestehen starke Bestrebungen nach Ersatzlösungen.

Aufdehnung des distalen Ureters

Eine Alternative, bestehende Organe in eine Blase umzuwandeln, ist die allmähliche Aufdehnung des distalen Ureters und dessen Rekonfiguration in eine Blase [21, 25]. In Tierversuchen konnte bisher erfolgreich gezeigt werden, dass eine fortschreitende Dilatation des distalen Ureters zur beträchtlichen Ausweitung desselben führt und dass das daraus entstehende Reservoir für eine kontraktile Harnableitung geeignet scheint.

Das Problem für die klinische Anwendung besteht darin, dass bei den meisten Patienten die dazugehörige Niere erhalten werden muss und die Harnleiterneuimplantation u. U. nicht immer komplikationslos möglich sein wird. Darüber hinaus handelt es sich bei dem Ureter ebenso wie beim Darm um ein Organ, das dem Weitertransport, nicht aber der Aufbewahrung von Stoffen dient. Daher ist auch hier nicht mit der gleichen Funktion der glatten Muskulatur wie bei der Blase zu rechnen. Bei der klinischen Anwendung ist darüber hinaus mit Schwierigkeiten bei der Aufdehnung des Ureters, v. a. mit Schmerzen

und u. U. rezidivierenden Entzündungen oder Infektionen zu rechnen.

Trotzdem müssen die ersten Ergebnisse der zzt. in New York durchgeführten klinischen Anwendungen dieser Methode abgewartet werden. Eine Konditionierung der ursprünglich Peristaltik erzeugenden glatten Muskulatur in Richtung Speicherorgan durch Reizströme wäre denkbar.

Kombination von aufdilatiertem Harntraktsegment mit neurovaskulärem Skelettmuskeltransfer

Ein weiterer Ansatz für einen Blasenersatz durch Gewebetransfer ist die Kombination eines aufdilatierten Segments des Harntraktes mit einem neurovaskulären Skelettmuskeltransfer. Klinisch wurde ein Skelettmuskeltransfer in Form einer Latissimus-dorsi-detrusor-Myoplastie (LDDM) bereits erfolgreich bei akontraktiver Blase zur Substitution der Detrusorfunktion angewandt [26]. Die LDDM eignet sich als Miktionshilfe aber für jeden Pouch, vorausgesetzt der Sphinkter lässt sich willkürlich aktiv öffnen und die Pouchwand ist ausreichend elastisch. Eine LDDM wurde bereits zur Blaserweiterung in Kombination mit einer Autoaugmentation (Abb. 1) bei Patienten mit akontraktiver Blase bei gleichzeitig stark vermindertem Füllvolumen bzw. Compliance erfolgreich angewendet [27].

Blasenrekonstruktion durch „tissue engineering“ (TE)

„Tissue engineering“ (TE), zu deutsch Gewebekonstruktion, umfasst eine Methode der Organ- oder Gewebekonstruktion, bei der entnommenes Gewebe in die Zellbestandteile aufgeteilt wird und diese Zellen entweder gleich oder nach vorheriger Kultivierung und Vermehrung im Labor wieder in einen Organismus implantiert werden [28]. Die implantierten Gewebestandteile können dabei heterolog, allogon, oder autolog sein.

Für den unteren Harntrakt ist TE fast ausschließlich mit Kultivierung und Zellexpansion und einem Wiedereinbau dieser Zellbestandteile mit einer Trägersubstanz verbunden. Als Basis für Zellkultivierung in vitro dienen entweder bereits bestehende Gewebematerialien oder künstliche, resorbierbare bzw. nichtresorbierbare Biomaterialien. Ge-

rade auf letzterem Gebiet wird derzeit intensiv versucht, ein künstliches Grundgerüst herzustellen, das die Aufgaben des nativen interstitiellen Gewebes wie Stützfunktion, Ernährung, Wachstumsstimulation und Datenübertragung erfüllen kann oder zumindest Leitstruktur für die Rekonstruktion eines derartigen Gewebes ist [29].

Neben Gewebeentnahme und Wiedereinbau sind die Auswahl des geeigneten Biomaterials für das Grundgerüst und die Kultivierung und Beschichtung der einzelnen Gewebestandteile auf diesem Grundgerüst wichtige Themen für eine In-vitro-Blasenrekonstruktion und werden im Folgenden abgehandelt.

Biomaterialien für den Blasenersatz

Die für TE verwendeten Biomaterialien nennt man:

- ▶ Grundgerüste („scaffolds“),
- ▶ Matrices bzw. Trägermaterialien („carriers“) oder
- ▶ Zelltransplantations-/Übertragungssysteme („delivery systems“).

Sie werden nach ihrer chemischen Zusammensetzung in Polymere, Keramikstoffe und Metalle unterteilt. Für die Rekonstruktion des unteren Harntrakts sind v. a. die Polymere interessant.

Polymere

Polymere können natürlicher oder synthetischer Herkunft sein und sind entweder biologisch abbaubar (bioabsorbierbar) oder biostabil. Idealerweise sollten Grundgerüste bioabsorbierbar sein, um so als temporäres Gerüst die Leitstruktur für eine nachwachsende natürliche interzelluläre Matrix zu bilden. Die hier besprochenen Polymere kann man in Homopolymere (das Polymer besteht aus einer Art von Monomer, z. B. Polyglykolsäure) und Copolymere (setzt sich aus mehreren Monomeren zusammen, wie z. B. Polylactidcolactid) einteilen. Trägermaterialien können sowohl porös sein (z. B. gewobene oder nichtgewobene Fasermaterialien, Schaumstoffe etc.) oder eine gelartige Konsistenz haben [30].

Die zzt. am meisten verwendeten Materialien sind die synthetischen bioabsorbierbaren Polyhydroxyacidpolymere wie z. B. Polyglykolsäure (PGA), Polylactid (PLA) und die Copolymere. Diese

synthetischen Materialien haben den Vorteil, dass ihre Abbaugeschwindigkeit und ihre mechanischen Eigenschaften durch verschiedene Herstellungsprozesse kontrolliert verändert werden können. Darüber hinaus sind sie mit langsam freigesetzten, Zellproliferation oder Wundheilung stimulierenden pharmakologischen Stoffen kombinierbar. Sie werden in Form von Netzen, Schaumstoffen oder Fließstoffen hergestellt.

Gelmatrices wurden v. a. für injizierbare Knorpelzellen in Form von Alginate [31, 32, 33] und als Fibrinkleber [34] verwendet.

Synthetische bioabsorbierbare Polymere

Auf der Suche nach Alternativen zu den Kollagennahtmaterialien wurden in den 60er Jahren die synthetischen Polymere Polyglykolsäure (PGA), Polylactid (PLA) und Polylactidcopolyglycolid (PLGA) entwickelt [35]. Mittlerweile können diese Polymere nicht nur in Form von Fäden, sondern auch als dünne Platten oder verschiedene dreidimensionale (3D-)Gerüstkonstruktionen hergestellt werden. Der Abbau dieser Polymere erfolgt durch Eindringen von Wasser und einer der dadurch ausgelösten Hydrolyse der Polymerketten.

Polyglykolsäure und Polylactidcopolyglycolid

PGA bzw. dessen Copolymer Polylactidcopolyglycolid (PLGA) war das erste synthetische Nahtmaterial, das kom-

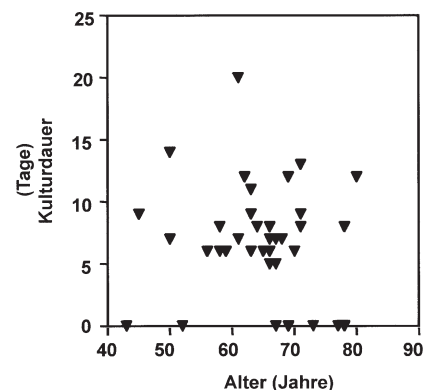


Abb. 2 ▲ Die durchschnittliche Dauer vom Ansetzen der Kultur bis zum Auswachsen der Zellen wurde korreliert mit dem Alter der Patienten. Dabei konnte jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($r = -0,074$)

merziell erhältlich war. Sein Abbau erzeugt nur eine minimale Gewebereaktion, nach 1 Woche sind noch 40%, nach 3 Wochen 20% der Reißkraft erhalten. Es wird in 60–90 Tagen vollständig resorbiert [36].

PGA wurde experimentell mehrfach als Grundgerüst zur Blasenrekonstruktion verwendet. So wurde eine 3 mm dicke, 16–20 cm² große PGA-Matrix im Rahmen einer Cokultur auf beiden Seiten mit kultivierten Urothel- bzw. glatten Muskelzellen beschichtet, die entweder endoskopisch oder videofotoskopisch durch Biopsie gewonnen und im Labor kultiviert wurden [28, 37]. Der Nachteil von PGA besteht in seiner relativ raschen Auflösung, was einen Kollaps des Grundgerüsts zur Folge hat. Durch verschiedene chemische bzw. thermische Prozesse kann man eine höhere v. a. aber längere Stabilität des Materials im Körper erreichen [38].

Das PLGA wird durch Copolymerisierung von PGA mit Polylactid erreicht. Das bekannteste PLGA-Copolymer ist das aus 90% Glycolid und 10% Lactid bestehende Polyglactin 910 oder Vicryl®. Dieses häufig benutzte Nahtmaterial hat nach 2 Wochen 60%, nach 3 Wochen 30% seiner Reißkraft und ist mit geringer Gewebereaktion assoziiert. PGA 50:50 mit PLGA beschichtet, wurde ebenfalls im Tierversuch als Grundgerüst zur Blasenrekonstruktion bei Hunden verwendet. Auch hier wurde eine Seite mit kultivierten Urothelien, die andere Seite mit kultivierten, glatten Muskelzellen beschichtet. Die so konstruierten Blasenwandanteile wurden bei Hunden, bei denen zuvor ein beträchtlicher Anteil der Blase entfernt wurde, implantiert [39].

Polylactid (PLA) und das Copolymer Poly-D/L-Lactide (PLDLA)

PLA ist ein Polymer, das sich durch einen langsameren Abbau im Gewebe auszeichnet und daher eine bessere und längere Stabilität besitzt [40]. Erfahrungen gibt es mit PLDLA in vitro als Grundgerüst für Knorpelaufbau. Durch den verzögerten Abbau und die günstigen mechanischen Eigenschaften sind diese beiden Polymere sicherlich auch interessante Trägerstrukturen für TE in der Urologie. PLA, ebenfalls ein Polyester, ist aber im Vergleich mit PLA hydrophober und hat eine amorphere Struktur.

Verschiedene PLDLA-Gewebe zeigten in vitro günstige Abbaueigenschaften. Derzeit werden diese für TE vielversprechenden Gewebe bzgl. ihrer Abbaueigenschaften und Gewebereaktionsprofile in vivo getestet [41].

Polyethylenoxid- und Polybutylenterephthalat (PEOT bzw. PBT)

Bei diesen Stoffen handelt es sich um segmentierte Blockcopolymere. Die Eigenschaften können durch Veränderungen im Verhältnis von Polyethylenoxid und Polybutyleneterephthalat verändert werden, um z. B. durch eine Erhöhung der PEOT-Komponente mehr Flexibilität des Copolymers zu erzielen [42]. Aufgrund seiner günstigen Eigenschaften bzgl. Chondrozytenanlagerung wurde es für die Knorpelneubildung vor allem im Hinblick auf die physikochemischen und mechanischen Eigenschaften des Knorpels verwendet. Daneben wird es auch noch für die Rekonstruktion von Trommelfell oder Haut verwendet.

Biologische Polymere

Kollagenmatrices

Kollagen wird im Körper hauptsächlich durch Fibroblasten synthetisiert. Zahlreiche Kollagenarten sind beschrieben worden [43]. Lange Zeit war Kollagen in Form von Catgut als Nahtmaterial in Verwendung. Kollagen eignet sich gut zur Herstellung von 3D-Grundgerüsten. Der Abbau erfolgt durch lysosomale Enzyme und Phagozytose, was mit einer gewissen Ent-

zündungsreaktion einhergehen kann. Der Abbau von Kollagen ist bzgl. Reißkraft und Stabilität wesentlich unvorhersehbarer als der von synthetischen Polymeren. Die Auflösungs- und mechanischen Eigenschaften von Kollagen können durch Quervernetzung modifiziert werden, dadurch wird aber das Gewebewachstum in das Kollagengerüst vermindert.

Kollagenmatrices wie z. B. allogene Blasensubmukosa oder SIS (small intestine submucosa) werden durch enzymatische Entfernung aller Zellbestandteile hergestellt [44, 45, 46]. Der Nachteil der so entstehenden azellulären Matrix ist eine relativ hohe Neigung zu Inkrustationen und Steinbildung.

Die Vorteile dieser biologischen Materialien sind möglicherweise bessere biologische Eigenschaften sowie eine hohe Zugkraft und Flexibilität.

Darüber hinaus begünstigen azelluläre Gewebematrix die Zell- und Geweberegeneration, wie dies bei verschiedenen Harnblasenexperimenten gezeigt werden konnte. Die mechanischen Eigenschaften unterschieden sich kaum von denen der normalen Blase. Die Entzündungsreaktionen von Kollagen in vivo sind nur gering. Bisher wurden in Tierexperimenten sowohl allogene, als auch xenogene azelluläre Matrices untersucht [29].

Fibrinkleber

Fibrinkleber sind heute in der klinischen Anwendung weit verbreitet. Sie enthalten Fibrinogen und Thrombin,

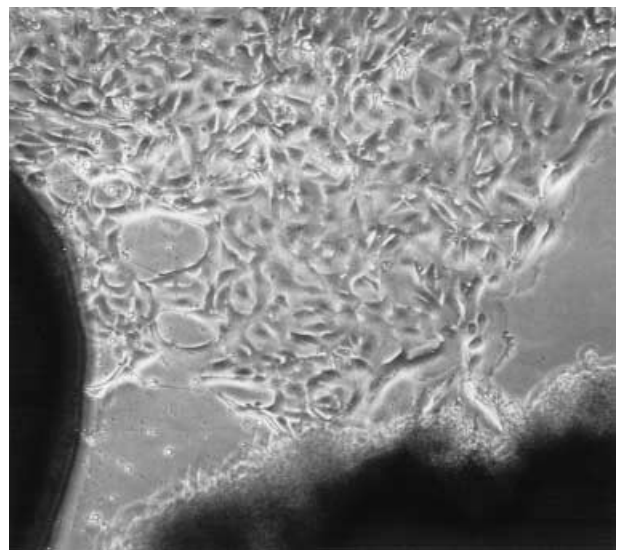


Abb. 3 ► Primäre Kultur von Urothelzellen. Das Gewebe wurde mittels Biopsie entnommen, zerkleinert und in eine Zellkulturflasche überführt. Nach kurzem Antrocknen wurden die Gewebestücke mit Medium überschichtet. Unten rechts ein Gewebestück, aus dem die Zellen ausgewachsen

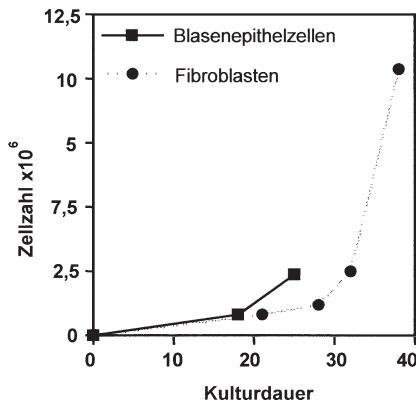


Abb. 4 ▲ Wachstum von primären Urothelzellen und Fibroblasten der Blase. Die Verdopplungszeit der Zellen wurde durch Zellzahlbestimmung bestimmt

die, wenn sie aus einem Zweikammerapparat unmittelbar vor ihrer Anwendung zusammengefügt werden, Fibrin in Form einer geflechtartigen Struktur bilden. Zur Beschichtung von präfabrizierten Hohlräumen wurden kultivierte Urothelien in einer Lösung aus Thrombin und Calciumchlorid suspendiert und kurz vor dem Auftragen mit Fibrinogenlösung vermischt [34]. Damit erfüllt der Fibrinkleber sowohl die Funktion als Suspension, als auch als Haftmaterial für das kultivierte Urothel.

Alginate

Alginate ist ein Polysaccharid, das aus Seetang gewonnen wird. Die physikalischen und mechanischen Eigenschaften hängen vom Anteil des Glucuronats in den Alginatketten ab [29]. In der Urologie wurde Alginate als Matrix für injizierbare Chondrozyten zur Behandlung von vesicoureteralem Reflux bzw. Stressinkontinenz verwendet [31, 47]. Die ungünstigen mechanischen Eigenschaften dieser Substanz versucht man durch die Herstellung von Alginathydrogelen, durch Quervernetzungen sowie mit Hilfe von Zelladhäsionsmolekülen zu verbessern [47].

Hyaluronsäure

Hyaluronsäure oder Hyaluronan ist ein Polysaccharid, das hauptsächlich im Kamm von Hähnen vorkommt. Eine andere Quelle für Hyaluronan sind Mikroorganismen, aus denen der Stoff durch einen Fermentierungsprozess gewonnen wird. Für die Rekonstruktion des

unteren Harntrakts ist dieser Stoff wegen seiner viskoelastischen und mucoadhesiven Eigenschaften, sowie seiner guten Kombinierbarkeit mit Medikamenten oder aktiven Substanzen interessant [48].

Zellkultur von Blasenwandbestandteilen

In den vergangenen Jahren wurden mehrere Protokolle zur primären Kultivierung von verschiedenen Zelltypen publiziert [30]. Das Gewebe kann grundsätzlich entweder enzymatisch verdaut oder mechanisch zerkleinert werden. Bei einem enzymatischen Verdau wird relativ viel Material benötigt, während durch eine mechanische Zerkleinerung des Gewebes bereits aus sehr kleinen Stücken Zellkulturen gewonnen werden können [49].

Bei letzterer Methode wird das dem Patienten mittels Biopsie entnommene Gewebe in möglichst kleine (1–2 mm²) Stücke zerlegt und anschließend in Zellkulturflaschen überführt, kurz ange-trocknet und schließlich vorsichtig mit Medium überschichtet. Dabei sollte ein Abschwimmen der Gewebestücke verhindert werden. Nach wenigen Tagen beginnen die ersten Zellen aus den Gewebestücken auszuwachsen. Durchschnittlich liegt die Dauer vom Ansetzen der Kultur bis zum Auswachsen von Zellen bei 7 Tagen. Dabei scheint das Alter der Spender keine wesentliche Rolle zu spielen, wie ein Vergleich von 40 Zellkulturen aus Patienten unterschiedlichen Alters zeigte (Abb. 2).

Sobald die ersten Zellen ausgewachsen sind (Abb. 3), wird dieses Medium gegen ein sog. Selektionsmedium ausgetauscht, um das Wachstum von Epithelzellen, Fibroblasten oder glatten Muskel-

zellen zu stimulieren [49]. Durch Verwendung spezifischer Selektionsmedien kann man die verschiedenen Zelltypen weitestgehend getrennt voneinander kultivieren. Zu diesem Zweck wurden spezielle Medien entwickelt, die das Wachstum von Epithelzellen bzw. glatten Muskelzellen fördern und gleichzeitig ein Überwuchern mit den viel schneller wachsenden Fibroblasten (Abb. 4) verhindern.

Das Expandieren der Zellen erfolgt mit Trypsin/EDTA, bis eine entsprechende Menge an Zellen erreicht ist und die Zellen in vivo transplantiert werden können.

Wiederaufbau von rekonstruierten Blasenwandanteilen

Bei der Implantation von in vitro gezüchteten Blasenwandanteilen sind gewisse Gesetze zu beachten. Von Judah Folkman [18] wurde 1973 bereits das maximale Gewebevolumen definiert, das ohne zentrale Nekrose aufgrund fehlender Ernährung und Gasaustausch implantiert werden kann. Bei einem Volumen von >3 mm³ überleben lediglich die Zellen an der Oberfläche, während die zentralen Zellen aufgrund fehlender Vaskularisation nekrotisieren. Daher ist es notwendig, ein sich aufzweigendes Versorgungssystem bei größeren Gewebelöcken zu imitieren, um eine größtmögliche Überlebenschance zu ermöglichen. Atala [50] gelang es, ein sich aufzweigendes Zelltransportsystem in kultiviertes Gewebe einzubauen, das eine Kapillarinfiltration in vivo und damit auch eine Gefäßversorgung größerer Gewebekonstruktionen ermöglicht.

Derzeit scheint es problemlos möglich, Blasenwandanteile mit einem Durchmesser von ca. 15 cm zu implan-

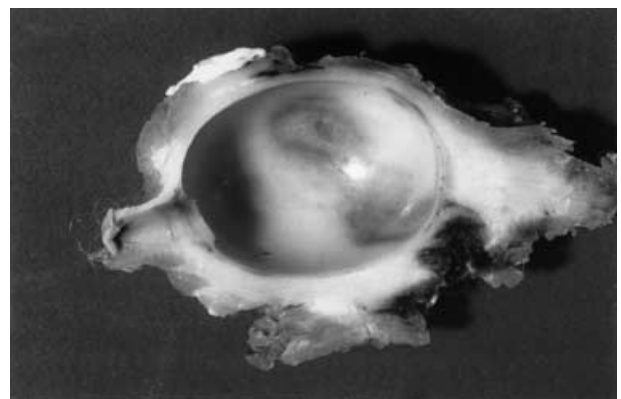


Abb. 5 ► Mittels Gewebeexpander geschaffener Hohlraum, der mit kultivierten Urothelzellen ausgekleidet wird

tieren. Die Implantation größerer Gewebestücke soll durch deren Einbettung in lokales, gut durchblutetes Gewebe wie z. B. Omentum ermöglicht werden [45].

Neben der Vaskularisation stellen aber auch die Innervation und die mögliche Steuerung der rekonstruierten Blase ein bisher größtenteils noch ungelöstes Problem dar. Zwar ist das Auswachsen autonomer Nervenendigungen in die konstruierten bzw. kultivierten Neodetrusoranteile möglich und experimentell nachgewiesen, allerdings konnte die Funktion der glatten Muskulatur konstruierter Blasenanteile an Großtierversuchen bisher noch nicht eindeutig nachgewiesen werden [28]. Hier scheinen ähnliche Probleme wie bei der Verwendung von Darmannteilen z. B. bei der Blasenaugmentation oder bei der Neoblase aufzutreten. Zusätzliche Stimuli möglicherweise auch Wachstumsfaktoren werden für eine ausreichende Anbindung der konstruierten Blase an das ursprüngliche autonome Nervennetz der Blase notwendig sein.

Kombination von autologem Gewebettransfer und TE

Mittels sog. Gewebeexpander wird schon seit mehreren Jahren in der plastischen Chirurgie versucht, eine Gewebsneubildung bzw. eine Vermehrung bestehender Gewebestrukturen zu induzieren. Experimentell wurde nun versucht, mittels Gewebeexpander ein subkutanes Reservoir zu erzeugen, welches dann zusammen mit der zuführenden Gefäßversorgung ins Becken transponiert werden kann.

Vorteile

Die Vorteile liegen klar auf der Hand: Einerseits handelt es sich hierbei ausschließlich um autologes Gewebe, die Schaffung des Reservoirs erfolgt zur Gänze innerhalb des Körpers und durch die Gefäßversorgung wird auch nach Transfer des Reservoirs die unmittelbare Vaskularisation sichergestellt.

Nachteile

Die Nachteile sind aber sowohl die fehlende Schleimhautauskleidung als auch die Kontraktilität eines derartigen Hohlraums.

Experimentell ist es gelungen, derartige Reservoirs mit gezüchteten auto-

logen Urothelzellen zu beschichten [34], (Abb. 5). In einem nächsten Schritt könnte durch Beimpfen der Reservoirwand mit ebenfalls gezüchteten Detrusormuskelzellen eine Kontraktilität erzeugt werden. Als Alternative wäre aber auch ein Transfer eines gestielten oder freien neurovaskulären Muskellappens möglich [51]. Der Muskellappen wird derzeit in Form der Latissimus-dorsi-Detrusormyoplastie klinisch erfolgreich zur Substitution des akontraktilen Detrusors mit oder ohne Blasenaugmentation verwendet [26, 27]. Ein derartiger Muskeltransfer hätte gegenüber bisherigen TE-Methoden den Vorteil, dass statt dem üblichen synthetischen oder biologischen, nicht durchbluteten Stützgewebe ein vaskularisiertes, innerviertes und kontraktierbares Trägermaterial vorhanden wäre.

„Der freie oder gestielte Muskeltransfer bietet sich als Basis für eine Blasenrekonstruktion mit aus Biopsien kultivierten Urothelien und Fibroblasten an.“

Diese Innervation des transponierten Muskels ermöglicht dessen willkürliche Betätigung und damit eine gerichtete Miktion. Hauptvoraussetzung ist die entsprechende Konfiguration des Muskels um das neu geschaffene Reservoir, ein ausreichender Antirefluxschutz und ein funktionierender Harnröhrensphinkter.

Die bisherigen klinischen Ergebnisse haben Funktionsdrücke zwischen 30 und 247 (Durchschnitt 60) cm H₂O während der Miktion gezeigt. Im Nachbeobachtungszeitraum von bis zu 68 (Durchschnitt 24) Monaten war bei intaktem Antirefluxmechanismus der Blase keinerlei Schädigung des oberen Harntraktes zu beobachten [52]. Eine zufriedenstellende, restharnfreie Miktion und vollständige Kontinenz ist bei intaktem Sphinkterspiel bei allen Patienten erzielt worden.

Der freie oder gestielte Muskeltransfer, wie er bei der LDDM und anderen Methoden zur Sphinkterrekonstruktion erfolgreich angewendet wurde, bietet sich als Basis für eine Blasenrekonstruktion in Verbindung mit aus Biopsien kultivierten Urothelien und Fibroblasten an.

Fazit für die Praxis

Am Beginn des neuen Jahrtausends stehen uns mehrere aussichtsreiche Methoden zur Blasenrekonstruktion offen. Die Ergebnisse experimenteller Forschung der letzten Jahre haben uns jedoch gezeigt, dass die Anwendung einer vollständig im Labor erzeugten und die Funktion der ursprünglichen Harnblase imitierenden Ersatzblase noch intensive Forschung benötigt. Der Weg dazu ist vorgezeichnet, der Zeitraum bis zur Erreichung des endgültigen Ziels wird aber noch etliche Jahre in Anspruch nehmen. Eine Kombination von autologem Gewebe- bzw. Muskeltransfer und Urothelzellkultivierung stellt jedoch eine brauchbare (Zwischen)Lösung dar, die kurzfristig klinisch anwendbar wäre.

Literatur

1. Hendren WH (1997) Historical perspective of the use of bowel in urology. *Urol Clin North Am* 24: 703–213
2. Stenzl A (1999) Bladder substitution. *Curr Opin Urol* 9: 241–245
3. Gosling J (1979) The structure of the bladder and urethra in relation to function. *Urol Clin North Am* 6: 31–38
4. Moore JA, Brading AF (2000) Gastrointestinal tissue as a substitute for the detrusor. *World J Urol* 18: 305–314
5. Gabella G (1997) Cells and cell junctions in the muscle coat of the bladder. *Scand J Urol Nephrol* 184 [Suppl]: 3–6
6. Cowan WD, Daniel EE (1983) Human female bladder and its noncholinergic contractile function. *Can J Physiol Pharmacol* 61: 1236–1246
7. Daniel EE, Cowan W, Daniel VP (1983) Structural bases for neural and myogenic control of human detrusor muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 61: 1247–12473
8. Furness J, Costa M (1987) The enteric nervous system. Churchill Livingstone, Edinburgh
9. Koraitim MM, Atta MA, Foda M (1996) Desire to void and force of micturition in patients with intestinal bladders. *J Urol* 155: 1214–1216
10. Iwakiri J, Gill H, Anderson R, Freiha F (1993) Functional and urodynamic characteristics of an ileal neobladder. *J Urol* 149: 1072–1076
11. Carpentier A, Chachques J (1986) The use of skeletal muscle to replace diseased human heart muscle. In: Chiu R (ed) *Biomechanical cardiac assist, cardiomyoplasty, and muscle-powered devices*. Futura Publishing, New York, pp 85–102
12. Berggren T, Gabella G, Malmgren A, Uvelius B (1993) Effects of unilateral pelvic ganglionectomy on urinary bladder function in the male rat. *Scand J Urol Nephrol* 27: 181–188

13. Frederiksen H, Davidsson T, Mansson W, Uvelius B (1999) Sprouting of bladder nerves into cystoplastic cecal segment in the rat. *Urol Res* 27: 476–482
14. Puppo P, Perachino M, Ricciotti G, Bozzo W, Gallucci M, Carmignani G (1995) Laparoscopically assisted transvaginal radical cystectomy. *Eur Urol* 27: 80–84
15. Fergany AF, Novick AC, Gill IS (2000) Laparoscopic urinary diversion. *World J Urol* 18: 345–348
16. Kaouk JH, Gill IS, Desai MM et al. (2001) Laparoscopic orthotopic ileal neobladder. *J Endourol* 15: 131–142
17. Turk I, Deger S, Winkelmann B, Baumgart E, Loening SA (2001) Complete laparoscopic approach for radical cystectomy and continent urinary diversion (sigma rectum pouch). *Tech Urol* 7: 2–6
18. Folkman J, Hochberg M (1973) Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med* 138: 745–753
19. Amiel GE, Atala A (1999) Current and future modalities for functional renal replacement. *Urol Clin North Am* 26: 235–246
20. Piechota HJ, Gleason CA, Dahms SE, Dahiya R, Nunes LS, Lue TF, Tanagho EA (1999) Bladder acellular matrix graft: in vivo functional properties of the regenerated rat bladder. *Urol Res* 27: 206–213
21. Lailas NG, Cilento B, Atala A (1996) Progressive ureteral dilation for subsequent ureterocystoplasty. *J Urol* 156: 1151–1153
22. Dewan PA, Stefanek W (1994) Autoaugmentation gastrocystoplasty: early clinical results. *Br J Urol* 74: 460–464
23. Dewan PA, Lorenz C, Stefanek W, Byard RW (1994) Urothelial lined colcystoplasty in a sheep model. *Eur Urol* 26: 240–246
24. Kaefer M, Tobin MS, Hendren WH et al. (1997) Continent urinary diversion: the Children's Hospital experience. *J Urol* 157: 1394–1399
25. Ikeguchi EF, Stifelman MD, Hensle TW (1998) Ureteral tissue expansion for bladder augmentation. *J Urol* 159: 1665–1668
26. Stenzl A, Ninkovic M, Kolle D, Knapp R, Anderl H, Bartsch G (1998) Restoration of voluntary emptying of the bladder by transplantation of innervated free skeletal muscle. *Lancet* 351: 1483–1485
27. Ninkovic M, Strasser H, Schwabegger AH, Bartsch G, Stenzl A (2000) The concept of functioning free skeletal muscle transfer in combination with tissue engineering for bladder substitution. *World J Urol* 18: 359–363
28. Atala A (2000) Tissue engineering for bladder substitution. *World J Urol* 18: 364–370
29. Kim BS, Baez CE, Atala A (2000) Biomaterials for tissue engineering. *World J Urol* 18: 2–9
30. Atala A (1998) Tissue engineering in urologic surgery. *Urol Clin North Am* 25: 39–50
31. Atala A, Cima LG, Kim W, Paige KT, Vacanti JP, Retik AB, Vacanti CA (1993) Injectable alginate seeded with chondrocytes as a potential treatment for vesicoureteral reflux. *J Urol* 150: 745–747
32. Paige KT, Cima LG, Yaremchuk MJ, Schloo BL, Vacanti JP, Vacanti CA (1996) De novo cartilage generation using calcium alginate-chondrocyte constructs. *Plast Reconstr Surg* 97: 168–180
33. Cao Y, Rodriguez A, Vacanti M, Ibarra C, Arevalo C, Vacanti CA (1998) Comparative study of the use of poly(glycolic acid), calcium alginate and pluronics in the engineering of autologous porcine cartilage. *J Biomater Sci Polym Ed* 9: 475–487
34. Wechselberger G, Schoeller T, Stenzl A, Ninkovic M, Lille S, Russell RC (1998) Fibrin glue as a delivery vehicle for autologous urothelial cell transplantation onto a prefabricated pouch. *J Urol* 160: 583–586
35. Schmitt E, Polistina R (1969) Polyglycolic acid prosthetic devices. *US Pat.* 3,463,158. USA
36. Gilding D (1981) *Biodegradable polymers*. CRC Press, Boca Raton, pp 209–232
37. Fauza DO, Fishman SJ, Mehegan K, Atala A (1998) Videofoscopically assisted fetal tissue engineering: bladder augmentation. *J Pediatr Surg* 33: 7–12
38. Mooney D, Mazzoni D, Organ G, Puelacher W, Vacanti J, Langer R (1994) Stabilizing fiber-based cell delivery devices by physically bonding adjacent fibers. *Mat Res Soc* 331: 47–52
39. Oberpenning F, Meng J, Yoo JJ, Atala A (1999) De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nat Biotechnol* 17: 149–155
40. Widmer M, Mikos A (1998) *Fabrication of biodegradable polymer scaffolds*. Pergamon Press, Oxford New York, pp 107–120
41. Ashammakhi N, Arnauld E, Marchac D, Waris T, Törmälä P, Konttinen Y (2000) Ingénierie des tissus musculosquelettiques avec polymères résorbables. *Ann Chir Plast Esthet* 45: 610–616
42. Sakkars R, de Wijn J, Dalmeyer R, Vrand R, van Blitterswijk C (1998) Evaluation of copolymers of polyethylene oxide and polybutylene terephthalate (polyactive): mechanical behaviour. *J Mater Sci Mater Med* 9: 375–379
43. Whaley K, Burt A (1992) *Inflammation, healing and repair*, 13 edn. Arnold, London, pp 112–165
44. Cheng EY, Kropp BP (2000) Urologic tissue engineering with small-intestinal submucosa: potential clinical applications. *World J Urol* 18: 26–30
45. Yoo JJ, Meng J, Oberpenning F, Atala A (1998) Bladder augmentation using allogenic bladder submucosa seeded with cells. *Urology* 51: 221–225
46. Probst M, Piechota HJ, Dahiya R, Tanagho EA (2000) Homologous bladder augmentation in dog with the bladder acellular matrix graft. *BJU Int* 85: 362–371
47. Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA (1997) Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg* 100: 297–304
48. Milella E, Brescia E, Massaro C, Ramires PA (2000) Chemico-physical properties of hyaluronan-based sponges. *J Biomed Mater Res* 52: 695–700
49. Eder IE, Corvin S, Maneschg C et al. (2000) Selective culture conditions for different types of primary human bladder cells. *World J Urol* 18: 371–375
50. Atala A (1997) *Tissue engineering in the genitourinary system*. Birkhauser, Boston
51. Stenzl A, Strasser H, Klima G et al. (2000) Reconstruction of the lower urinary tract using autologous muscle transfer and cell seeding: current status and future perspectives. *World J Urol* 18: 44–50
52. Stenzl A, Ninkovic M (2001) Detrusor myoplasty for the restoration of volitional voiding. *Microsurgery* (in press)
53. Stenzl A, Ninkovic M, Willeit J et al. (1997) Free neurovascular transfer of latissimus dorsi muscle to the bladder. I. Experimental studies. *J Urol* 157: 1103–1108