

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2022.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Tadeu Ravazi Piovesana

**ENGENHARIA DE TECIDOS EM BEXIGA URINÁRIA:
MODELO EM COELHOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestra em Pesquisa e
Desenvolvimento em Biotecnologia Médica.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Bertanha
Coorientadora: Profa. Dra. Elenice Deffune

**Botucatu
2020**

Tadeu Ravazi Piovesana

**ENGENHARIA DE TECIDOS EM BEXIGA URINÁRIA:
MODELO EM COELHOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento
em Biotecnologia Médica.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Bertanha
Coorientadora: Profa. Dra. Elenice Deffune

Botucatu
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Piovesana, Tadeu Ravazi.

Engenharia de tecidos em bexiga urinária : modelo em coelhos / Tadeu Ravazi Piovesana. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Matheus Bertanha

Coorientador: Elenice Deffune

Capes: 90400003

1. Bexiga - Doenças. 2. Células-tronco. 3. Transplante de Células-Tronco.

Palavras-chave: Bexiga urinária; Células-tronco; Doenças da bexiga urinária.

Tadeu Ravazi Piovesana

Engenharia de Tecidos em Bexiga Urinária: Modelo em Coelhos

Dissertação; apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento em Biotecnologia Médica.

Orientador: Matheus Bertanha

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Matheus Bertanha

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. José Carlos Souza Trindade Filho

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Profa. Dra. Helga Caputo Nunes

Departamento: Lab. de Hemoglobina e Genoma/Hemocentro - UNICAMP

Botucatu, 27 de Fevereiro de 2020

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus, que seja para sua honra e Glória

“Ad maiorem Dei gloriam”

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus a minha força maior.

A todos os animais que possibilitaram o desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus pais, por acreditarem em mim, me incentivarem, darem apoio e pela educação que me deram. Sem essa não estaria aqui e não seria quem eu sou.

A minha esposa, Ana Marta, por sempre me incentivar, ser meu esteio, conselheira, companheira e amiga.

Ao meu orientador, Dr. Matheus Bertanha que, com seus conselhos, cuidados e dedicação me sustentou com seus ensinamentos nessa jornada.

A Profa. Dra Elenice Deffune, pela oportunidade que me deu de levar esse sonho a frente.

A Lenize e Ana Lívia, alunas do Dr. Matheus, que me auxiliaram incansavelmente nesse projeto e que sem elas nada disso seria possível.

Ao Diego, veterinário da UNIPLEX, pelo auxílio e apoio com os experimentos.

A todos os funcionários da UNIPLEX pelo apoio.

Epígrafe

“Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena
Acreditar no sonho que se tem
Ou que seus planos nunca vão dar certo
Ou que você nunca vai ser alguém
Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Mas eu sei que um dia a gente aprende
Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança!”
(Renato Russo)

Resumo

Introdução: Diversas doenças congênitas ou adquiridas promovem alterações anatômicas ou funcionais, dificultando ou impossibilitando a função de reservatório da bexiga, ou até mesmo necessitando sua remoção cirúrgica. Quando as terapias conservadoras não são eficazes, algumas técnicas cirúrgicas podem ser empregadas para o aumento ou reconstrução da bexiga e por fim, o desvio urinário pode ser a única alternativa terapêutica. No entanto, todas as técnicas cirúrgicas atuais podem levar a complicações. A substituição de tecidos da bexiga por equivalentes criados em laboratório poderia melhorar o resultado da cirurgia reconstrutiva. **Objetivos:** Propor um modelo de remendo de bexiga urinária produzido com uso de veias descelularizadas e semeadas com células-tronco mesenquimais em modelo animal em coelhos. **Material e Métodos:** Foram constituídos dois grupos de 5 coelhos fêmeas não prenhas. Os dois grupos de animais foram submetidos a anestesia inalatória e foi realizada uma cirurgia para retirada de um fragmento de 1 cm² de bexiga para implantação do produto de teste. Grupo 1: Controle – foi implantado um segmento de 1cm² de veia cava de coelho descelularizada com pontos contínuos de Vicryl 7.0; Grupo 2: Experimento – foi implantado um segmento de veia cava descelularizada semeada com células tronco autólogas, também fixado por pontos cirúrgicos de Vicryl 7.0 com pontos contínuos. Para o grupo 2, foram coletadas células-tronco mesenquimais autólogas derivadas de tecido adiposo que foram cultivadas e expandidas e aplicadas em um arcabouço de veia descelularizada e mantidos por uma semana em cultura para uso *in vivo*. Os animais dos dois grupos foram mantidos em biotério por 21 dias e depois submetidos a eutanásia para avaliação histomorfológica do implante. **Resultados Parciais:** Os arcabouços de veia cava de coelho descelularizada foram capazes de manter a integridade da bexiga urinária no período de 21 dias do experimento. Em ambos os grupos observamos um intenso infiltrado de células inflamatórias no local dos enxertos. O grupo experimento que recebeu o arcabouço com células-tronco mesenquimais autólogas apresentou um processo regenerativo superior ao grupo controle, observado principalmente pela reepitelização urotelial e maturidade do povoamento da mucosa e submucosa por fibroblastos. Desta forma o enxerto com células tronco parece promover uma substituição mais adequada na região estudada.

Palavras chave: Bexiga Urinária, Doenças da Bexiga Urinária, Células-tronco, Terapia Baseada em Transplante de Células e Tecidos.

Abstract

Background: Several congenital or acquired diseases promote anatomical or functional changes, making it difficult or impossible for the bladder reservoir function, or even requiring its surgical removal. When conservative therapies are ineffective, some surgical techniques may be used to increase or reconstruct the bladder, and ultimately, urinary diversion may be the only therapeutic alternative. However, all current surgical techniques can lead to complications. Replacement of bladder tissues with laboratory-created equivalents could improve the outcome of reconstructive surgery. Recent research involving stem cells and cell engineering points to a promising future based on regenerative and tissue replacement therapy. **Objectives:** To propose a model of urinary bladder patch produced with the use of decellularized veins and seeded with mesenchymal stem cells in an animal model in rabbits. To evaluate the biointegration of the graft implanted in the urinary bladder of rabbits after 21 days by histomorphological study of the explant. **Methods:** Two groups of 5 non-pregnant female rabbits were formed. Both groups of animals underwent inhalation anesthesia and surgery was performed to remove a 1 cm² bladder fragment for implantation of the test product. Group 1: Control - a 1cm² segment of decellularized rabbit vena cava with continuous Vicryl 7.0 stitches was implanted; Group 2: Experiment - a decellularized vena cava segment seeded with autologous stem cells was implanted, also fixed by Vicryl 7.0 surgical stitches with continuous stitches. For group 2, autologous mesenchymal stem cells derived from adipose tissue were collected and cultured and expanded and applied to a decellularized vein framework and maintained for one week in culture for *in vivo* use. The animals from both groups were kept in a *vivarium* for 21 days and then euthanized for histomorphological evaluation of the implant. **Partial Results:** Decellularized rabbit vena cava scaffolds were able to maintain urinary bladder integrity over the 21-day period of the experiment. In both groups we observed an intense infiltration of inflammatory cells at the graft site. The experimental group that received the framework with autologous mesenchymal stem cells presented a regenerative process superior to the control group, observed mainly by urothelial reepithelization and maturation of the mucosa and submucosa settlement by fibroblasts. Thus, stem cell grafting seems to promote a more adequate replacement in the studied region.

Key words: Urinary Bladder, Urinary Bladder Diseases, Stem Cells, Cell and Tissue Transplantation Based Therapy, Urothelium.

Lista de Figuras

Figura 1 – Fluxograma da Pesquisa -----	21
Figura 2 – Processo de obtenção dos arcabouços de veia cava de coelho-----	28
Figura 3 – Fotomicrografia de cultura de células-tronc em frasco de cultura-----	28
Figura 4 – Caracterização imunofenotípica das células-tronco-----	29
Figura 5 – Histogramas da caracterização fenotípica das células-tronco mesenquimais de tecido adiposo de coelhos para CD44, CD90, CD45 e CD11b-----	29
Figura 6 – A diferenciação em tri-linhagem e perfil multipotente das células-tronco-----	30
Figura 7 – Exemplo de anestesia geral dos animais da pesquisa-----	31
Figura 8 – Implante do exerto de veia cava na bexiga do coelho com mesma técnica em ambos os grupos-----	32
Figura 9 – Aspecto macroscópico da bexiga e do segmento implantado após 21 dias ao ser retirada do animal para estudo-----	33
Figura 10 – Histologia da bexiga-----	34
Figura 11 – Fotomicrografia de lâmina em HE para o segmento do enxerto de bexiga no grupo controle após 21 dias-----	35
Figura 12 - Histologia do segmento do enxerto de bexiga no grupo experimento após 21 dias do enxerto-----	36
Figura 13 – Tecido inflamatório e reparação tecidual com a presença de células transicionais-----	36
Figura 14 – Histologia do enxerto de veia cava recelularizada com células-tronco mesenquimais evidenciando a presença de fibroblastos jovens-----	37
Figura 15 – Reepitelização tecidual, células gigantes, neovascularização, neutrófilos na volta do fio em lâmina do grupo experimento-----	37
Figura 16. Fotomicrográfias em HE. A,B e C – grupo controle evidenciando urotelização (seta), aumento 20x, 50x e 100x respectivamente; D, E e F – grupo experimento evidenciando urotelização (seta), aumento 20x, 50x e 100x respectivamente. -----	39
Figura 17 – Aspécto da bexiga “in natura” na microscopia eletrônica com magnificação de 100x evidencicando aw vilosidades da mucosa vesical-----	40
Figura 18 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos fragmentos de enxerto nos grupos controle e experimento-----	41

Lista de tabelas

Tabela 1. Escore da urotelização do arcabouço-----27

Tabela 2: Análise escore da urotelização do arcabouço-----38

Índice

<i>Resumo</i>	9
<i>Abstract</i>	10
<i>Lista de Figuras</i>	11
<i>Lista de tabelas</i>	12
<i>1. Introdução</i>	15
<i>1.1 Células-Tronco Mesenquimais do Tecido Adiposo</i>	15
<i>1.1.1 Engenharia Celular em Bexiga Urinária</i>	16
<i>1.1.2 Descelularização da veia</i>	17
<i>1.1.3 Urotélio</i>	18
<i>1.1.4 Cirurgia Urológica em Bexiga Urinária</i>	19
<i>2. Justificativa</i>	19
<i>3. Objetivos</i>	20
<i>3.1. Objetivo Geral</i>	20
<i>3.2. Objetivos Específicos</i>	20
<i>4. Material e Métodos</i>	20
<i>4.1 Etapa Zero – Obtenção dos Animais</i>	22
<i>4.2 Procedimentos Éticos</i>	22
<i>4.3 Etapa 1 – Obtenção de veias para arcabouço</i>	22
<i>4.4 Etapa 2 – Obtenção, expansão e caracterização das CTM derivadas de tecido adiposo.</i>	23
<i>4.5 Etapa 3 – Aplicação de CTM em arcabouço de veia descclularizada para compor o grupo experimento.</i>	24
<i>4.6 Etapa 4 - Experimentação in vivo</i>	25
<i>4.7 Etapa 5 – Finalização do experimento</i>	26
<i>4.8 Etapa 6 – Avaliação histológica</i>	26
<i>4.9 Etapa 7 – Avaliação por Microscopia eletrônica de varredura</i>	27
<i>5. Resultados e Discussão</i>	27
<i>5.1 Etapa 1 - Obtenção de veias para arcabouço</i>	27
<i>5.2. Etapa 2 - Obtenção, expansão e caracterização das CTM derivadas de tecido adiposo.</i>	28
<i>5.3. Etapa 3 – Aplicação de CTM em arcabouço de veia descclularizada para compor o grupo experimento.</i>	30
<i>5.4. Etapa 4 – Experimentação in vivo</i>	31
<i>5.5 Etapa 5 – Finalização do experimento</i>	32
<i>5.6. Etapa 6 – Avaliação Macroscópica</i>	33
<i>5.7 Etapa 7 – Avaliação histológica</i>	34

<i>5.7.1. Avaliação da urotelização do arcabouço.....</i>	<i>38</i>
<i>5.8 Etapa 8 – Avaliação por microscopia eletrônica de varredura.....</i>	<i>40</i>
<i>5.9. Considerações</i>	<i>41</i>
<i>6 . Conclusão</i>	<i>42</i>
<i>7 . Perspectivas.....</i>	<i>42</i>
<i>8 . Referências Bibliográficas</i>	<i>42</i>
<i>Anexo 1 – Certificado do Comitê de Ética</i>	<i>46</i>

1. Introdução

Diversas enfermidades podem acometer a bexiga urinária e comprometer sua função de armazenamento, tais como transtornos congênitos, câncer, trauma, infecção, inflamações crônicas, lesões iatrogênicas ou outras condições do sistema geniturinário podem levar a danos na bexiga.¹ Na impossibilidade de manutenção clínica desses doentes, a maioria acaba recebendo a indicação para a realização de procedimentos cirúrgicos reconstrutivos. Normalmente são utilizados tecidos autólogos não urológicos para a confecção de remendos ou de neobexigas (pele, segmentos intestinais ou de mucosa), tecidos ou substâncias heterólogas (colágeno bovino) ou mesmo materiais sintéticos (silicone, poliuretano, teflon).² Na prática clínico-cirúrgica tem-se dado preferência para a utilização de segmentos de intestino em substituição ou reparo da bexiga.³ No entanto, os tecidos gastrointestinais são projetados para absorver solutos específicos, enquanto o tecido da bexiga é projetado para a excreção desses mesmos solutos, além da constante produção de muco por esse tecido.⁴ Como resultado, várias complicações podem ocorrer, como: infecção recorrente, distúrbios metabólicos, urolitíase, perfuração, aumento da produção de muco e transformação neoplásica.⁵ Devido aos problemas encontrados com o uso de segmentos gastrointestinais e das demais técnicas atualmente disponíveis, inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas para se desenvolver soluções alternativas mais eficientes e duradouras. Nesse contexto enquadra-se a engenharia de tecidos⁶ com a utilização de células-tronco mesenquimais, que pretende trazer alternativas inovadoras com produtos baseados no conceito de medicina personalizada.

1.1 Células-Tronco Mesenquimais do Tecido Adiposo

As células-tronco mesenquimais (CTM) estão presentes em maior ou menor quantidade em todos os tecidos do organismo após a fase embrionária, sendo mais facilmente obtidas dos tecidos onde são mais abundantes, preferindo-se utilizar em pesquisa as encontradas em sangue de cordão umbilical⁷ medula óssea⁸ e tecido adiposo.⁹

O tecido adiposo representa uma fonte de CTM com grande concentração celular, de fácil obtenção cirúrgica e praticamente isento de contraindicações para sua obtenção. A fração do estroma vascular do tecido adiposo se tornou foco de investigações após a comprovação de que ele é capaz de fornecer CTM multipotentes, apresentando assim vantagens potenciais para as aplicações na engenharia de tecidos.⁷

Contudo, a preparação das células em laboratório para a cultura não é idêntica. A maioria dos pesquisadores isolam as CTM obtidas de tecido adiposo através da metodologia descrita por Rodbel et al (1960), onde os tecidos são digeridos com colagenase e o fracionamento é feito por centrifugação. As células são colocadas em cultura e a população de CTM pode ser expandida.¹⁰

A Sociedade Internacional para Terapia Celular estabeleceu critérios para que uma célula possa ser definida como CTM: deve ser aderente ao frasco de cultura durante várias passagens, deve ser capaz de se diferenciar em cartilagem, tecido ósseo e tecido adiposo, deve expressar CD73, CD90 e CD105, não deve expressar c-kit, CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79 α e os antígenos leucocitários humanos (HLA-DR).¹¹

O uso dessas células em Medicina Regenerativa implica em isolamento e expansão sem a perda da capacidade de pluripotência.¹² Muitos estudos têm isolado as CTM e tem controlado *in vitro* a sua diferenciação em diversos tecidos através de indução por fatores de crescimento específicos, com o objetivo de reparar tecidos lesionados.¹³

1.1.1. Engenharia Celular em Bexiga Urinária

O cultivo de CTM e a descoberta de técnicas que promovem a sua diferenciação tecidual apontam para novos domínios da medicina: a terapia celular e a engenharia de tecidos,¹⁴ evidenciando-se alto índice de plasticidade.¹⁵ As pesquisas com células-tronco avançam em territórios onde a medicina tradicional apresenta limitações, sendo conhecidos como fronteiras do conhecimento científico. Dessa forma, esses estudos podem contribuir em situações específicas para os portadores de doenças urológicas.

Materiais sintéticos têm sido amplamente utilizados para reconstrução urológica. Para o tratamento da incontinência urinária, próteses sintéticas de silicone têm sido utilizadas como esfíncter urinário artificial. O tratamento do refluxo vésico-ureteral pode ser realizado através de micropartículas de silicone e próteses penianas vem sendo amplamente utilizadas para o tratamento da impotência sexual masculina.¹⁶ Para o caso específico das afecções da bexiga urinária, a produção de bexigas artificiais feitas com silicone está sendo amplamente estudada. Entretanto, agentes artificiais utilizados em algumas situações tem potencial para produzir rejeição, uma vez que não são totalmente biocompatíveis.¹⁷

Para fins de medicina regenerativa, há vantagens claras na utilização de materiais biodegradáveis e degradáveis que podem funcionar como veículos de entrega de células e / ou fornecer os parâmetros estruturais necessários para a substituição de tecidos.¹⁸ Os

biomateriais na medicina regenerativa devem funcionar como matriz de suporte e atuar em consonância com as funções biológicas e mecânicas da estrutura nativa encontrada nos tecidos do corpo.¹⁹

Em estudos experimentais prévios, realizados pela nossa equipe, demonstrou-se que as veias cava de coelho podem ser descelularizadas, mantendo boa estruturação da matriz, sendo apta para servir de scaffold (arcabouço) para receber as células-tronco derivadas de tecido adiposo (CTM).²⁰ Determinou-se também que o processo de descelularização da veia não acarreta toxicidade residual significativa ou perda das características essenciais da matriz extracelular.¹⁸ Diante dos avanços obtidos, apresentamos a continuidade do modelo experimental que visa aplicar esse arcabouço delicado e bem estabelecido para técnicas de desenvolvimento de engenharia de tecidos em bexiga urinária e estabelecer a viabilidade da estrutura constituída através de experimentos que serão melhor descritos a seguir em modelo *in vivo* (modelo animal).

1.1.2. Descelularização da veia

Atualmente, tem-se usado suportes biológicos derivados de tecido e órgãos descelularizados em estudos pré-clínicos com animais e em alguns casos com aplicação clínica definida.²¹ A utilização desses arcabouços apresenta vantagens biológicas; porém, é necessário que se faça um preparo rigoroso que garanta uma adequada eliminação dos componentes celulares para se evitar uma possível reação imunológica no momento de aplicação no receptor do novo tecido.²² Antígenos celulares xenogênicos e alogênicos são reconhecidos como estruturas estranhas ao hospedeiro e assim podem induzir uma resposta inflamatória ou uma rejeição imunomediada do tecido transplantado e consequentemente expor o indivíduo aos riscos da perda do enxerto, inclusive risco de óbito.²¹

O objetivo de qualquer protocolo de descelularização é remover todo o material celular e nuclear, preservando a integridade estrutural e propriedades mecânicas da matriz extracelular restante, sendo considerado um ambiente propício para o repovoamento celular. Além disso, durante o procedimento de descelularização, os agentes descelularizantes utilizados precisam ter um efeito residual mínimo, com a finalidade de não inibir o crescimento celular após implantação da matriz no organismo. Os protocolos mais completos para um processo de descelularização incluem uma combinação de técnicas físicas, químicas e enzimáticas, que podem ser reforçadas conforme as características biomecânicas do tecido que se pretende descelularizar.¹⁸

Neste caso, como se pretende utilizar o arcabouço de veia cava inferior de coelho descelularizada que se caracteriza por ser um tecido bastante delicado; o protocolo elencado como mais seguro e eficaz será a reprodução da técnica previamente padronizada nos estudos já realizados,²³ com o uso de duodecil sulfato de sódio (SDS). O SDS é um composto orgânico com propriedades surfactantes (aniônicas). Dada a sua estrutura, esta molécula possui propriedades anfífilas, sendo comumente utilizado na indústria de detergentes, com a finalidade de remover resíduos oleosos, mas também funciona como desnaturante de proteínas, além de outros usos.²⁴

1.1.3. Urotélio

O urotélio é o tecido epitelial responsável pela pavimentação de grande parte do trato urinário, incluindo a pelve renal, a bexiga urinária e partes da uretra.²⁵ O tecido urotelial é caracterizado como um epitélio pseudoestratificado de transição, uma vez que ocorre uma variabilidade morfológica em sua constituição, podendo ser binucleadas, apresentando células com morfologia de “medusa” ou células “guarda-chuva” e até formas mais próximas ao epitélio pavimentoso que é mais achatado, variando com o local/órgão de origem.²⁶

Observando a localização das células progenitoras, bem como explorando as condições que promovem a diferenciação ou auto-renovação, tem sido possível superar alguns dos obstáculos que limitam a expansão celular *in vitro*, sendo que em um passado recente o cultivo dessas células apresentava sucesso limitado. Acreditava-se que as células uroteliais tinham uma senescência natural que dificultava o cultivo celular. Vários protocolos foram desenvolvidos nas últimas duas décadas que melhoraram o crescimento e a expansão urotelial.²⁷⁻³⁰ Foi desenvolvido um sistema de coleta de células uroteliais que não utiliza nenhuma enzima ou soro e tem um grande potencial de expansão quando cultivadas por 8 semanas.²⁷

A pesquisa com células-tronco adultas continua sendo uma área de intenso estudo, pois seu potencial para terapia pode ser aplicável a uma miríade de doenças degenerativas, sendo que as células-tronco mesenquimais, também conhecidas como células progenitoras adultas multipotentes derivadas principalmente de tecidos com origem estromal como a medula óssea, tecido adiposo, sangue ou tecido placentário, entre outros, podem se diferenciar em vários tipos de tecido.¹⁶ Entretanto, estudos utilizando células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo em modelos experimentais de bexiga urinária não são frequentes,

sendo que alguns autores vêm injetando este tipo celular em bexigas urinárias e no trato urinário para o tratamento de incontinência com resultados promissores

1.1.4. Cirurgia Urológica em Bexiga Urinária

A reconstrução da bexiga é realizada cirurgicamente em casos de perda total ou parcial do órgão como, por exemplo pós cistectomias por câncer de bexiga, iatrogenias, trauma ou qualquer situação que envolva perdas significativas de tecido vesical.²

Já a ampliação vesical tem sido usada principalmente para tratar pacientes com hiperatividade do detrusor neurogênico secundária a esclerose múltipla, lesões na medula espinhal e mielodisplasia.³⁴ Também é uma opção de tratamento para pacientes com bexiga hiperativa idiopática que falharam nas opções de tratamento de terceira linha. O objetivo principal da cistoplastia de aumento é criar um reservatório de armazenamento de baixa pressão para aumentar a capacidade e a conformidade da bexiga, proteger contra a deterioração do trato superior, melhorar a continência urinária e melhorar a qualidade de vida. Para isso, muitos tecidos humanos foram utilizados, incluindo peritônio, omento, enxertos seromusculares reversos do intestino, dura humana liofilizada, pele, bexiga preservada, pericárdio e placenta.^{31,32} Também foram utilizados materiais sintéticos, incluindo esponja de gelatina, Teflon, esponja de polivinil, papel revestido com resina, membrana de poli-amino, membrana de colágeno / galactina e Silastic. Essas fontes alternativas de aumento não são comumente usadas devido às suas altas taxas de complicações, incluindo formação óssea metaplásica, infecções recorrentes do trato urinário (ITU), formação de cálculos, contraturas vesicais e fibrose.^{33,34}

6 . Conclusão

Conclui-se que as duas formas de arcabouço de veia cava de coelho descelularizada foram capazes de manter a integridade da bexiga urinária no período de 21 dias. Entretanto, observou-se que o grupo que recebeu CTM autólogas apresentou uma aparente melhora do desenvolvimento do processo regenerativo, observado pela maturidade do povoamento da mucosa e submucosa por fibroblastos. A reepitelização urotelial foi aparentemente superior no grupo CTM autóloga, mas através da análise por score, não foi possível obter diferença estatística. Novas avaliações dos resultados obtidos serão procedidas para aumentarmos a acurácia de futuras conclusões.

7 . Perspectivas

Novos estudos com esse modelo de arcabouço podem trazer benefícios futuros para o tratamento de pacientes com necessidade de ampliação vesical que hoje são submetidos a procedimentos que envolvem a necessidade de substituição por tecidos alternativos como intestinal e que apresentam inúmeras complicações tanto na bexiga que recebe o tecido quanto nos órgãos doadores. Algumas das complicações desse procedimento são fístulas (urinárias e/ou intestinais), produção excessiva de muco na urina, infecções do trato urinário, disfunções miccionais devido a falta de capacidade de contração do enxerto e distúrbios hidroeletrólitos pela alteração de absorção do tecido do enxerto em contato com a urina.

8 . Referências Bibliográficas

1. Atala A. Tissue engineering in urology. Current urology reports 2001;2:83-92.
2. Atala A. New methods of bladder augmentation. BJU international 2000;85:24-34.

3. Lepper FG, Ramos TM, Trindade Filho JC, Vale FR, Padovani CR, Goissis G. Bladder augmentation in rabbits with anionic collagen membrane, with or without urotelial preservation. Cistometric and hystologic evaluation. *International Brazilian Journal of Urology*, Rio de Janeiro 2002;28:464-470.
4. Skinner DG, Lieskovsky G, Boyd S. Continent urinary diversion. *The Journal of urology* 1989;141:1323-1327.
5. Shekarri B, Upadhyay J, Demirbilek S, Barthold JS, González R. Surgical complications of bladder augmentation: comparison between various enterocystoplasties in 133 patients. *Urology* 2000;55:123-128.
6. Zhang Y, Atala A. Bladder regeneration. *Biomaterials and Regenerative Medicine: Cambridge University Press*, 2015.
7. Naruse K, Hamada Y, Nakashima E, Kato K, Mizubayashi R, Kamiya H, Yuzawa Y, Matsuo S, Murohara T, Matsubara T. Therapeutic Neovascularization Using Cord Blood-Derived Endothelial Progenitor Cells for Diabetic Neuropathy. *Diabetes* 2005;54:1823-1828.
8. Zhang WJ, Liu W, Cui L, Cao Y. Tissue engineering of blood vessel. *Journal of cellular and molecular medicine* 2007;11:945-957.
9. Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, Fraser JK, Hedrick MH. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *The Keio journal of medicine* 2005;54:132-141.
10. Rodbell M. The removal and metabolism of chylomicrons by adipose tissue in vitro. *Journal of Biological Chemistry* 1960;235:1613-1620.
11. Baksh D, Song L, Tuan R. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *Journal of cellular and molecular medicine* 2004;8:301-316.
12. Vigorito AC, Souza CAD. Transplante de células-tronco hematopoéticas e a regeneração da hematopoese. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 2009.
13. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Machalinski B, Kucia M. Bone-marrow-derived stem cells—our key to longevity? *Journal of applied genetics* 2007;48:307-319.
14. Stoltz J-F, De Isla N, Li Y, Bensoussan D, Zhang L, Huselstein C, Chen Y, Decot V, Magdalou J, Li N. Stem cells and regenerative medicine: myth or reality of the 21th century. *Stem cells international* 2015;2015.
15. Vemuri MC, Chase LG, Rao MS. Mesenchymal stem cell assays and applications. *Mesenchymal Stem Cell Assays and Applications: Springer*, 2011:3-8.

16. Atala A. Tissue engineering of human bladder. *British medical bulletin* 2011;97:81-104.
17. Atala A. Use of non-autologous substances in VUR and incontinence treatment. *Dialogues Pediatr Urol* 1994;17:11.
18. Bertanha M, Moroz A, Jaldin RG, Silva RA, Rinaldi JC, Golim MA, Felisbino SL, Domingues MA, Sobreira ML, Reis PP. Morphofunctional characterization of decellularized vena cava as tissue engineering scaffolds. *Experimental cell research* 2014;326:103-111.
19. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials* 2011;32:3233-3243.
20. Bertanha M, Sobreira ML, Bovolato ALdC, Rinaldi JdC, Reis PP, Moroz A, Moraes LNd, Deffune E. Ultrastructural analysis and residual DNA evaluation of rabbit vein scaffold. *Acta cirurgica brasileira* 2017;32:706-711.
21. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials* 2006;27:3675-3683.
22. Elder BD, Eleswarapu SV, Athanasiou KA. Extraction techniques for the decellularization of tissue engineered articular cartilage constructs. *Biomaterials* 2009;30:3749-3756.
23. Bertanha M, Moroz A, Almeida R, Alves FC, Valério MJA, Moura R, Domingues MAC, Sobreira ML, Deffune E. Tissue-engineered blood vessel substitute by reconstruction of endothelium using mesenchymal stem cells induced by platelet growth factors. *Journal of vascular surgery* 2014;59:1677-1685.
24. Singer MM, Tjeerdema RS. Fate and effects of the surfactant sodium dodecyl sulfate. *Reviews of environmental contamination and toxicology*: Springer, 1993:95-149.
25. Southgate J, Varley CL, Garthwaite MA, Hinley J, Marsh F, Stahlschmidt J, Trejdosiwicz LK, Eardley I. Differentiation potential of urothelium from patients with benign bladder dysfunction. *BJU international* 2007;99:1506-1516.
26. Everaerts W, Vriens J, Owsianik G, Appendino G, Voets T, De Ridder D, Nilius B. Functional characterization of transient receptor potential channels in mouse urothelial cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2009;298:F692-F701.
27. Cilento BG, Freeman MR, Schneck FX, Retik AB, Atala A. Phenotypic and cytogenetic characterization of human bladder urothelia expanded in vitro. *The Journal of urology* 1994;152:665-670.
28. Scriven S, Booth C, Thomas D, Trejdosiwicz L, Southgate J. Reconstitution of human urothelium from monolayer cultures. *The Journal of urology* 1997;158:1147-1152.

29. Liebert M, Hubbel A, Chung M, Wedemeyer G, Lomax MI, Hegeman A, Yuan TY, Brozovich M, Wheelock MJ, Grossman HB. Expression of mal is associated with urothelial differentiation in vitro: identification by differential display reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *Differentiation* 1997;61:177-185.
30. Puthenveetil JA, Burger MS, Reznikoff CA. Replicative senescence in human uroepithelial cells. *Advances in Bladder Research: Springer*, 1999:83-91.
31. Neuhof H. Fascia transplantation into a visceral defect. *Surg Gynecol Obstet.* 1917;24:383-4.
32. Elbahnasy AM, Shalhav A, Hoenig DM, Figenshau R, Clayman RV. Bladder wall substitution with synthetic and non-intestinal organic materials. *J Urol.* 1998;159:628-37.
33. Elbahnasy AM, Shalhav A, Hoenig DM, Figenshau R, Clayman RV. Bladder wall substitution with synthetic and non-intestinal organic materials. *J Urol.* 1998;159:628-37.
34. Barrett DM, Donovan MG. Prosthetic bladder augmentation and replacement. *Semin Urol.* 1984;2:167-75.
- 35 - Wang Y, et al. Bioengineered bladder patches constructed from multilayered adipose-derived stem cell sheets for bladder regeneration. *Acta biomater.* 2019;85: 131-141.
- 36 - Zhou Z, et al. Adipose-derived stem-cell-implanted poly (ϵ -caprolactone)/chitosan scaffold improves bladder regeneration in a rat model. *Regen med.* 2018;13: 331-342
- 37 - Zhe, Zhou, et al. Bladder acellular matrix grafts seeded with adipose-derived stem cells and incubated intraperitoneally promote the regeneration of bladder smooth muscle and nerve in a rat model of bladder augmentation. *Stem cells and devel.* 2016;25: 405-414.
- 38 - Bagai S, et al. Fibroblast growth factor-10 is a mitogen for urothelial cells. *J Biol Chem.* 2002;277: 23828-23837.
- 39 - de Graaf P, et al. Systematic review to compare urothelium differentiation with urethral epithelium differentiation in fetal development, as a basis for tissue engineering of the male urethra. *Tissue Eng Part B: Reviews.* 2017;23: 257-267.
- 40 - Tash JA, et al. Fibroblast growth factor-7 regulates stratification of the bladder urothelium. *The Journal of Urol.* 2001; 66: 2536-2541.