

A HÚGYHÓLYAG BÉLLEL VAGY GYOMORRAL TÖRTÉNŐ MEGNAGYOBBÍTÁSA ÉS PÓTLÁSA GYERMEKKORBAN

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

DR. VAJDA PÉTER

DC_1620_18



**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
KLINIKAI KÖZPONT
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
GYERMEKGYÓGYÁSZATI KLINIKA**

2019.

TARTALOMJEGYZÉK

I.	RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
II.	BEVEZETÉS	5
III.	CÉLKITŰZÉSEK	18
IV.	A GYERMEKKORI HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁS ÉS -PÓTLÁS SIKERESSÉGE ÉS SZÖVŐDMÉNYEI	21
V.	A BÉLLEL ÉS/VAGY GYOMORRAL TÖRTÉNŐ HÚGYHÓLYAG- MEGNAGYOBBÍTÁST KÖVETŐEN FELLÉPŐ SZÖVETTANI ELVÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA	28
VI.	A SIKERTELEN HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁS KÓRISMÉZÉSE ÉS KEZELÉSI LEHETŐSÉGEI GYERMEKKORBAN	35
VII.	ÉLETMINŐSÉG A GYERMEKKORBAN ÉS SERDÜLŐKORBAN TÖRTÉNŐ HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁST ÉS -PÓTLÁST KÖVETŐEN	43
VIII.	A MIKROBIÓTA HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁS UTÁN	47
IX.	AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA	49
X.	AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA, TOVÁBBI CÉLKITŰZÉSEK	51
XI.	AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	52
XII.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	55
XIII.	IRODALMI HIVATKOZÁSOK	57
XIV.	SUPPLEMENTUMOK	63

I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ALP	- alkalikus foszfatáz
ANOVA	- analysis of variance (teszt)
Ca	- kalcium
CCD	- charged coupled devide
CEA	- carcinoembrionális antigén
CIC	- tiszta (Clean) Intermittáló katéterezés (Catheterisation)
Cl	- klór
DAPI	- diamino-phenil-indol
DMSA	- technetium-99m dimercapto-succinic aciddal végzett (statikus) vesescintigraphia
DTPA	- technetium-99m mercapto-acetyl-triglycine-nel végzett (dinamikus) vesescintigraphia
EKC	- testfelszínre korrigált endogén kreatinin clearance (ml/min/1,73m ²)
gluc	- glükóz
HCO ₃ ⁻	- bikarbonát(ion)
HDS	- haematuria-dysuria szindróma
HE	- haematoxylin-eozin (festés)
IBD	- inflammatory bowel disease (gyulladásos bélbetegség)
i.u.	- incontinentia urinae
kreat	- kreatinin
LC	- laser capture
MCU	- mictios cysto-urethrographia
MMC	- meningomyelocele
Na	- nátrium
NH ₃	- ammónium
OCT	- optimal cutting temperature
P	- foszfor
PAS	- perjódsav+Schiff-reagens (festés)
PBS	- phosfate-buffered-saline
PCNA	- proliferating cell nuclear antigen
PCR	- polimerase chain reaction
PTH	- parathormon
se	- szérum

SPSS	- statistical package for social sciences
sy.	- szindróma
u	- vizelet
u pH	- vizelet hidrogénion koncentrációjának negatív alapú logaritmusa
vér pH	- vér hidrogénion koncentrációjának negatív alapú logaritmusa
VUR	- vesico-ureteralis reflux
HRQoL	- health-related quality of life

II. BEVEZETÉS

A gyermekkori részleges vagy teljes vizelettárolási, -tartási és/vagy -ürítési elégtelenség (incontinentia urinae – i.u.) egyike azoknak az egész életre ható fogyatékoságoknak, melyek a beteg életminőségét, a társadalomba való beilleszkedését (iskolai tanulmányok végzése, szakma elsajátítása, anyagi és fizikai önellátás) súlyosan megnehezítik, vagy lehetetlenné teszik. A gyermekkori i.u. mintegy 80%-áért a húgyhólyag veleszületett beidegzési zavara (neuropathias hólyag) felelős, melynek leggyakoribb oka a meningomyelocele (MMC), a sacralis agenesia és a tethered cord. Az i.u. etiopathológiájának további 20%-át egyéb fejlődési rendellenességek (extrophia vesicae urinariae, epispadiasis totalis) és a gerincvelőből kilépő idegek és/vagy a húgyhólyag beidegzését érő szerzett károsodások (trauma, gyulladás, tumor, anorectalis agenesia, cloaca malformatio és hátsó húgycső billentyű súlyos formái miatt végzett műtétek és iatrogen sérülések) alkotják.

Az i.u. *pathofiziológiája* gyermekkorban három egymástól jól elkülönülő, klinikai megjelenésében azonban szorosan összefüggő összetevőből áll. Ezek:

- a vizelettárolási elégtelenség: a húgyhólyag az élettani mennyiségű folyadékbevitel és veseműködés esetén termelt vizeletmennyiséget sem képes 3-4 óráig tárolni (csökkent kapacitás),
- a vizeletürítési elégtelenség: a hólyag kapacitása normális, a beteg képes tartani a vizeletet, de nem tudja kiüríteni, vagy ha képes erre, azt csak részlegesen tudja megvalósítani, így vizelést követően jelentős mennyiségű vizelet (reziduum) marad vissza a hólyagban,
- és a vizelettartási elégtelenség: a hólyag kapacitása normális, a beteg ki is tudná üríteni vizeletét, azonban a beteg inkontinens, mivel az elégtelen működésű

hólyagnyak-záró izomzat miatt a vizelet folyamatosan, vagy gyakran kis frakciókban ürül.

A klinikai gyakorlatban az i.u. fenti három tényezője gyakran társul, egy vagy két összetevő dominanciájával. Például az MMC-s betegnek kicsi a hólyag kapacitása és a beteg nem tudja spontán vagy akaratlagosan kiüríteni hólyagját. Extrophia vesicae urinariae esetén kicsi a hólyag vizelettárolási képessége és elégtelen a hólyagnyak záró működése.

Az i.u. pathomechanizmusának megértéséhez, valamint a sikeres kezeléséhez elengedhetetlenül szükséges a hólyagon belüli (intravesicalis) nyomásviszonyok ismerete. Ha a hólyag a vizeletet magas nyomáson (40 vízcmm felett) tárolja és csak e nyomás felett képes kiüríteni, akkor a megnövekedett intravesicalis nyomás eredményeként a hólyag feletti húgyutak és a vesék súlyos, akár irreverzibilis morfológiai és funkcionális károsodása következhet be. Ezek az alapvető patológiai ismeretek határozzák meg az i.u. kezelésének fő irányvonalait, melyek a következők:

- *megfelelő hólyagkapacitás kialakítása,*
- *3-4 óránként történő reziduum-mentes vizeletürítés biztosítása,*
- *szárazságot biztosító vizelettartó-képesség kialakítása,*
- *olyan intravesicalis hólyagnyomás biztosítása, ami nem károsítja sem a veséket, sem a supravesicalis húgyutakat.*

A hólyagkapacitás növelése (*augmentatio*) történhet konzervatív (gyógyszeres) vagy sebészi úton. Csak konzervatív terápiával, azaz gyógyszeres húgyhólyag-megnagyobbítással (oxybutynin) és ún. tiszta, intermittáló (ön)katéterezéssel (Clean Intermittent Catheterisation – CIC), a betegek több mint felében tartós sikert érhetünk el (1). A húgyhólyag kapacitás konzervatív, gyógyszeres úton történő megnövelésére (gyógyszeres hólyagaugmentáció) a muszkarin receptor antagonisták (oxybutinin és származékai) az első választandó gyógyszerek (2,3). Ezek kompetitív antagonisták, melyek leginkább a húgyhólyag telődési szakaszában

hatnak. A vizezés megkezdésekor a masszív acetil-kolin kibocsátás miatt működésük visszaszorul, és a vizezés spontán, könnyen megtörténik. A legtöbb hatóanyag tercier amin (oxybutinin, tolteridin, propiverin), ami a bélfalon keresztül jól felszívódik és a citokróm p-450 enzimrendszer bontja el. A negyedleges aminok közé azokat a hatóanyagokat sorolják amiket a citokróm enzimrendszer kevésbé bont el (pl. trospium), ezek 80%-a a vizelettel ürül (4, 5). Újabban a hosszabb kibocsátású (extended release) és az azonnali kibocsátású (instant release) tolteridinnel végzett kezelésnél is jó eredményekről számolnak be, a cisztometriás eredmények kedvezőbbek (6). Az antikolinerg szerek használata, beállítása mindig egyénileg, betegre szabottan történik, az adagolást a hólyagnyomás mérésekkel kell a beteghez igazítani. Ezen szerek alkalmazása során meg kell említeni, hogy a vizelet spontán kiürítése a hólyagból nem mindig teljes, ún. vizelet reziduum maradhat vissza, illetve mellékhatásként figyelem- és gondolkodási zavarok is kialakulhatnak (7). Léteznek ugyanakkor olyan randomizált, kettősen vak vizsgálatok, melyek szerint az antikolinerg szerek nem befolyásolják károsan a memóriát és a figyelmet (8).

További konzervatív kezelési alternatíváknak, így köztük a medencefenék tornának csak megtartott beidegzés esetén van értelme. Ezzel a módszerrel a stressz inkontinencia és a hólyag hiperaktivitás tünetei enyhíthetők jól (4,5,7).

Elektromos stimulációt több mint 40 éve használnak inkontinencia kezelésére felnőttekben (4,9,10). Kivitelezhető transurethralisan (9,10), de beszámolnak a n. tibialis ingerlésével elért pozitív eredményekről is (11,12). Gyermekekben erről a kezelési eljárásról kevés információ áll rendelkezésre. A közölt eredmények szerint a nem-neurogén hólyag jobban reagál erre a kezelésre, mint a neurogén húgyhólyag (3). Néhány éve sacralis és pudendális neuromodulációt is alkalmaznak a hólyag funkciózavarainak kezelésére. Az S₃ és S₄ ideggyökök stimulációjával növelhető a spinchter tónus és a hólyag tágulékonyság. A módszer alkalmazásával jó eredményekről számoltak be (14,15,16).

A húgyhólyag kapacitásának növelésére további nem műtéti, hanem ún. szemikonzervatív módszer az úgynevezett „teljes endoszkópos kezelés” (total endoscopic management) melyet Neel és mtsai vezettek be (17). Ennek során cisztoszkópos úton Botulinum toxin A-t injektálnak a detrusor izomzatba és hyaluronsavat (vagy más szövetbarát anyagot) az ureterszájadékok alá. A szerzők féléves nyomonkövetés után a hólyagkapacitás és a kontinencia szignifikáns javulásáról, valamint a vesico-ureteralis reflux (VUR) megszűnéséről számoltak be. A módszer azonban számos kérdést nyitva hagy, mint pl. a felső húgyutak hosszú távú védelme és az ismételt, gyermekkorban csak altatásban végezhető, hólyagtükrözések szükségessége. Ez a kezelési forma csak rövidtávon (3-9 hónap) eredményes (17), mert a toxin néhány hónap alatt elveszti hatását, a blokkolt receptorok újratermelődnek.

A húgyhólyag sebészi augmentatiojára napjainkban is a legkézenfekvőbb megoldás a tápcsatorna egy szakaszának (gyomor-szegmentum, vékony- vagy vastagbélszakasz) felhasználása. A világon napjainkban a húgyhólyag augmentatiojára leggyakrabban az ileumot (*ileocystoplastica*) használják (18). A csökkent vesefunkciójú vagy rövid vékonybélszakasszal rendelkező betegekben a gyomor-szegmentummal (*gastrocystoplastica*), esetleg vastagbéllel (*colocystoplastica*) történő hólyagmagnagyobbítás is mind a mai napig ajánlható módszerek (19). A húgyhólyag magnagyobbítása történhet továbbá ureter felhasználásával (ureterocystoplastica) (20,21), a hólyag izomzatának behasításával (autoaugmentatio) (22) vagy nyálkahártyájától megfosztott (seromuscularis) tápcsatorna-szakasszal (23) is. A hólyagmagnagyobbítás szélsőséges formája a húgyhólyag teljes pótlása (*substitutio*), melyre akkor van szükség, ha a hólyag kapacitása nagyon kicsi (például az extrophia vesicae urinae és totális epispadiasis bizonyos eseteiben), vagy ha a betegnek nincs húgyhólyagja (malignus folyamat – rhabdomyosarcoma, leiomyosarcoma – miatt végzett hólyag-exstirpatio után). A húgyhólyag pótlására vékonybél (*ileum conduit, pl. Kock-pouch* (24)), vastagbél (*colon conduit* (25)) vagy ileocecalis szegmentum (*Mainz I.* (26) és *Indiana pouch* (27)) egyaránt alkalmas

lehet. Húgyhólyagpótlást „szövetbarát anyagból” készült ún. „műhólyag” beültetésével eddig csak állatkísérletben végeztek (28), de ismert a szövettenyésztést (*tissue engineering*) követően beültetett húgyhólyagpótlás – sajnos mindezidáig hosszabb távon sikertelen – módszere is (29).

A reziduum-mentes vizeletürítés biztosítása: kielégítő hólyagkapacitás, de spontán (akaratlagosan) nem üríthető hólyag esetén a vizelet lebocsátása a hólyagból két módon történhet. Ha jó a hólyagnyak zárómechanizmusa, és a szenzoruim nem ép, akkor az eredeti húgycsőön keresztül történő CIC a választandó kezelési mód. Ha a hólyag kiürítése az eredeti urethran át történő CIC-vel nem biztosítható (nem sikerült vizelettartó, katéterezhető hólyagnyak-záró funkciót kialakítani, az ismételt katéterezés fájdalmas, vagy a gyakran elhízott és kerekesebb beteg ülő helyzetben nem tudja magát katéterezni az eredeti urethran át), akkor a vizelet lebocsátását a hólyag és a hasfal között kialakított kontinens sztómán keresztül CIC-vel kell biztosítani. A húgyhólyag és a hasfal közötti összeköttetés (kontinens hasfali stoma) az esetek nagyobb részében az appendix felhasználásával Mitrofanoff-szerint (30), vagy a Mitrofanoff-elv alapján vékonybélből készített Monti sztómával (31) alakítható ki. Esetleg defunkcionalizált ureterből képzett, kontinens sztómán keresztül végezhető a katéterezés. A gyermekkorban történő húgyhólyag-megnagyobbítást és –pótlást követően az esetek túlnyomó többségében a hólyag kiürítése CIC-vel történik.

A vizelettartó-képesség kialakítása: a kifolyási ellenállás kívánt szintre történő növelése hólyagnyak-plasztikával (Young-Dees-Leadbetter- (32), Young-Dees- (33), Kroop és Pippi Salle módszerek (34, 35)), a hólyagnyak megemelésével (például fascia-csíkkal (36)), vagy a hólyagnyak endoscopos úton történő beszűkítésével (periurethralis injektálásával (37)) érhető el.

Intravesicalis nyomás: A húgyhólyagban uralkodó nyomásviszonyokról műszeres (urodinámiás) vizsgálattal kaphatunk információt. Ez a vizsgálat a konzervatív és/vagy sebészi

kezelés nyomonkövetésében is nélkülözhetetlen. Az urodinámiás vizsgálat során mérhető a húgyhólyagban uralkodó nyomás (*intravesicalis nyomás*) és a hólyag tágulékonyság (*compliance*) is, mely a mért térfogat- és nyomásváltozás hányadosa ($\Delta V/\Delta p$ ml/vízcm). A húgyhólyagban normálisan 40 vízcm alatti nyomás uralkodik. A normális compliance 20-25 ml/vízcm vagy e feletti érték.

A húgyhólyag-megnagyobbító (és -pótló) műtétek akkor tekinthetők eredményesnek, ha a 3-4 óra alatt termelődő vizelet alacsony nyomáson tárolódik az új hólyagban (a húgyhólyag kellő tágulékonyságú), valamint a hólyag CIC-vel könnyen és reziduum-mentesre kiüríthető és a beteg két katéterezés között teljesen kontinens („száraz”). Ezáltal a pelenka elhagyható és a beteg teljes társadalmi beilleszkedésének a lehetősége megteremtődik. Kiemelkedő fontosságú szempont, hogy az új húgyhólyagban a vizelet alacsony nyomáson tárolódjon. Ennek eredményeképpen – amennyiben a műtétet megelőzően VUR állt fenn – megszűnik a hólyag felől a vesék irányába történő vizelet visszaáramlás, valamint a vesékből a vizelet is alacsony nyomással ürül a húgyhólyagba. Így csökken a supravescalis húgyutak és a vesék morfológiai és funkcionális károsodásának veszélye.

A húgyhólyag-megnagyobbítás (és -pótlás) kedvező eredményei mellett számos, a hólyagmegnagyobbítással oki összefüggésbe hozható szövődmény vált ismertté az utóbbi évtizedekben, melyek az alkalmazott tápcsatorna szakasz típusától és annak hosszától függnék (19,20,38,39,40). Az egyes beavatkozásoktól várható előnyöket és hátrányokat az *1. táblázat* mutatja be.

MŰTÉTI TÍPUS	ELŐNYÖK	HÁTRÁNYOK / SZÖVŐDMÉNYEK
Vékonybél felhasználása: Ileocystoplastica illetve Hólyagpótlás ileummal /Kock-pouch/	- Tágulékonyasága a legnagyobb (ileum>>colon) - Könnyen, kellő hosszúságban nyerhető - Jó vérellátású - Mucin képződés kisebb mértékű (colon>>ileum) - Alacsonyabb, ritmikus kontraktilitás	- Heterotopias nyálkahártya - Infekció hajlam magas - Kőképződésre hajlamosít - Metabolikus acidózis - Hypochloraemia, hyponatraemia - Bélobstrukcióra hajlamosít - Bl2-vitamin hiány (terminális ileum) - Epesav felszívódás csökken - Vékonyabb izomréteg - Csont demineralisatio - Szöveti elváltozások Nem alkalmazható: Rövid bél sy.-ban, IBD-ben, hasi irradiatio után, veseérintettség esetén
Vastagbél felhasználása: Colocystoplastica illetve Hólyagpótlás ileocecalis szegmetummal /Mainz I.-, Indiana-pouch/	- Könnyen, kellő hosszúságban nyerhető - Jó vérellátású - Nagyobb kaliber miatt rövidebb szakasz is elegendő - Könnyen detubularisálható - Könnyebb ureter neoinplantatio (colon>ileum)	- Heterotopias nyálkahártya - Mucin képződés (colon>>ileum) - Infekció hajlam magas - Kőképződésre hajlamosít - Metabolikus acidózis - Hyperchloraemia, hypernatraemia - Hasmenés - Bl2-vitamin hiány (ileocecalis szegmentum) - Kifejezettebb kontraktilitás (colon>>ileum) - Vékonyabb izomréteg - Csont demineralisatio - Szöveti elváltozások Nem alkalmazható: Rövid bél sy.-ban, IBD-ben, hasi irradiatio után, veseérintettség esetén
Gyomor felhasználása: Gastrocystoplastica	- Minimális mucin termelődés - Nincs kőképződés - Kisebbségi infekció hajlam - Vastagabb izomréteg (gyomor>vastagbél>vékonybél) - Könnyű ureter neoinplantatio - Veseérintettség, rövid bél sy. esetén is használható	- Heterotopias nyálkahártya - HDS - Hypergastrinaemia - Metabolikus alkalózis - Hypochloraemia, hypokalaemia - Spontán perforatio / ruptura - Helicobacter pylori infectio - Szöveti elváltozások
Uretero-cystoplastica	- Eredeti urothelium – nincs metabolikus eltérés - Intakt bélrendszer - Vastagabb izomréteg	- Kevés betegben, ritkán alkalmazható (Egyoldali, tágult ureter + u.a. oldalon végstádiumban lévő vese pl. VUR miatt nephrectomia történt) - Kevésbé tágulékony szövet
Autoaugmentatio	- Eredeti urothelium – nincs metabolikus eltérés - Intakt bélrendszer - Extraperitonealis beavatkozás - További enterocystoplastica végezhető ha nem eredményes	- A hólyagkapacitás megnövelésének mértéke és sikeressége bizonytalan - Spontán perforatio / ruptura
Seromuscularis enterocystoplastica	Urothelium újraképződése – nincs metabolikus eltérés	- Technikailag nehezen kivitelezhető - Zsugorodási hajlam

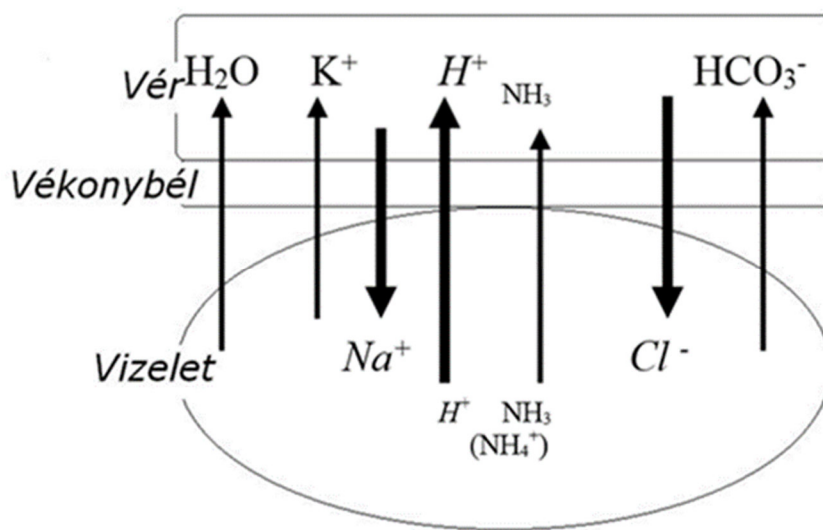
1. táblázat: A húgyhólyag-augmentatio és -pótlás lehetséges előnyei és hátrányai a különböző műtéti eljárások esetén

A béllel és gyomorral történő hólyagmegnagyobbítás és -pótlás metabolikus és egyéb klinikai *szövődménye*iért a következő tényezők tehetők felelőssé (40):

- *A tápcsatorna egy szakaszának, a hólyagképzés céljából történő funkcionális kiiktatása különböző szövődmények (pl. felszívódási zavar, vitaminhiány) forrása lehet.*
- *A hólyagmegnagyobbítás után a vizelettel állandóan érintkező heterotopias gyomor, vékonybél, vastagbél aktív felszívó és kiválasztó tulajdonsága miatt is számos szövődménnyel (pH- és ioneltérések, nyáktermelés, savtermelés, kőképződés) számolhatunk.*

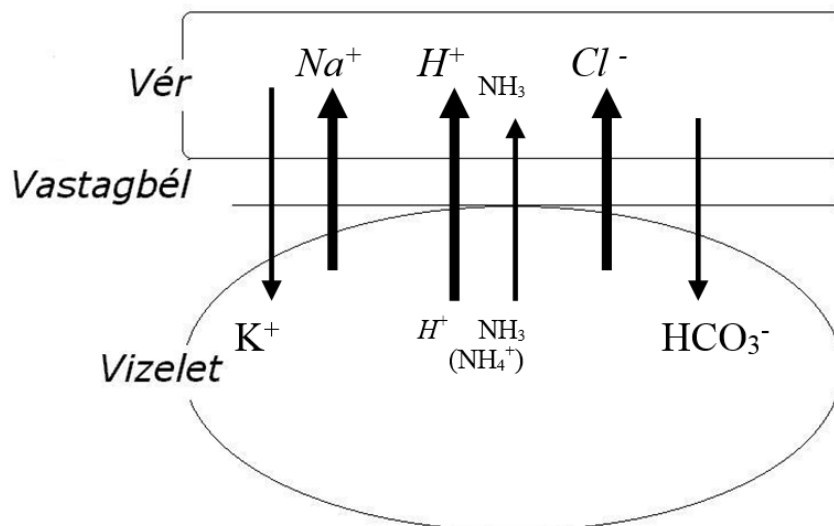
A gyomor egy részének eltávolítását (resectio) követően csökkenhet a szénhidrát felszívódás, a gyomornyálkahártya által termelt intrinsic faktor hiánya B₁₂-vitamin hiányhoz vezethet. Az antrum G sejtjeinek gastrin termelése fokozódhat (hypergastrinaemia), hypokalaemia, hypochloraemia, metabolikus alkalosis jöhet létre. A vékonybél hosszabb szakaszának resectioját követően bélbolyg-hypertrophia alakul ki. Az ileum 60, 100 cm-es vagy annál hosszabb szakaszának eltávolítása az epesavak felszívódásának elmaradása miatt a lipid anyagcsere súlyos zavarához, zsírszéklethez, hasmenéshez, vízvesztéshez, a zsírban oldódó vitaminok hiányához vezethet. A vékonybél resectioja fokozott epekő-képződést is eredményezhet. A terminális ileum resectioját követően 3-4 évvel B₁₂-vitamin hiány, anaemia léphet fel, mert a májban lévő tartalékok ekkorra ürülnek ki. A Bauhin-billentyű eltávolítása után a vékonybélben a vastagbél bakteriális flórája kolonizálhat. A vastagbél egy részének eltávolítását követő csökkent só- és vízviasszívás, hasmenést eredményezhet, azonban ezzel a szövődménnyel ritkán találkozunk, mivel a megmaradó vastagbél szakasz jelentős mértékben kompenzál. A jobb colonfél ebből a szempontból fontosabb szereppel bír, mint a vastagbél egyéb szakaszai.

A húgyhólyag képzésére felhasznált tápcsatorna-szakasz nyálkahártyájának vizelettel való tartós érintkezése is számos metabolikus következményhez vezethet. Gyomornyálkahártya alkalmazásakor (gastro-cystoplastica) a nyálkahártya hidrogénion, káliumion és kloridion szekréciója miatt a vizelet savasodik (41). A savas vizelet miatt haematuria-dysuria szindróma (HDS) (42,43,44), hólyagperforáció alakulhat ki (45,46). A vérben hypokalaemia, hypochloraemias metabolikus alkalózis jöhet létre. Gyomor-szegmentum felhasználásakor esetleg *Helicobacter pylori* fertőzéssel (47,48) is számolhatunk. Vékonybéllel történő hólyagmagnagyobbítás és -pótlás esetén hyponatraemia, hypochloraemias metabolikus acidosis fejlődhet ki (49). A különböző ionok és molekulák vérből vizeletbe, illetve vizeletből vérbe jutását ileo-cystoplastica esetén az 1. ábra demonstrálja.



1. ábra: A hyponatraemia, hypochloraemia és metabolikus acidózis kialakulásának mechanizmusa vékonybéllel történő húgyhólyag-augmentatio és -substitutio esetén (40)

Vastagbél felhasználása hypernatraemiahoz, hyperchloraemias metabolikus acidózishoz vezethet (50). Az ion- és a molekula-cserélődés folyamatát vastagbél felhasználása esetén a 2. ábra mutatja be.



2. ábra: A hypernatraemia, hyperchloraemia és metabolikus acidózis kialakulásának mechanizmusa vastagbéllel történő húgyhólyag-augmentatio és -substitutio esetén (40)

A fent vázolt kóros metabolikus elváltozások esetenként változó súlyosságú, további következményeket eredményezhetnek. Az idült metabolikus acidózis csont demineralisatiót, osteomalatiát okozhat (49,50,51). A vizelettel ürülő gyógyszerek, metabolitok és a glükóz visszaszívódása miatt bizonyos gyógyszerek toxicitása megnőhet, a cukorbetegség súlyossága fokozódhat (52,53). Azonban a kialakuló metabolikus változások jó vese- és májfunkció mellett kompenzálódhatnak. További fontos és gyakori probléma a bél nyálkahártyájának nyák (mucin) termelése, mely vastagbél esetén a legkifejezettebb. Ez katéterezési nehézséget (nehezen kiüríthető nyákos vizelet) és húgyhólyagkő-képződést eredményezhet (54,55). A gyakori kőképződés másik fontos forrása a megnagyobbított hólyagban tárolt vizelet alacsony

csíraszámú, klinikailag általában tünetmentes, bakteriális fertőzöttsége, mely kialakulásáért a CIC is felelős lehet.

A felnőttkorban végzett hólyag-augmentatioval és -pótlással foglalkozó közlemények mindig megemlítik a vastagbéllel és a gyomor-szegmentummal történő hólyagmegnagyobbítás utáni malignus folyamatok kialakulásának lehetőségét (18,56,57,58,59). E lényeges problémakör gyermekkori vonatkozásait tárgyaló, prospektíven átfogó tanulmányt keveset találni a nemzetközi irodalomban (60,61,62,63,64). A gyermek és serdülő korban végzett húgyhólyag-megnagyobbítás és -pótlás esetén a malignitás kialakulásának, valamint a metabolikus eltérések elemzésének jelentősége kiemelkedő fontosságú, mert a műtétek még növekedésben lévő szervezetben történnek és ezek a beavatkozások egy egész életre kiható (sok évtizedre szóló) állapotot hoznak létre. Ezért a különböző típusú hólyag augmentatiók szövődményeinek korai felismerése, ezek súlyosságának értékelése és kezelése, szükség esetén a jelenleg alkalmazott terápiás módok megváltoztatása, új terápiás eljárások keresése, az i.u. összetett kezelésének szükséges és fontos feladata.

A Pécsi Gyermekgyógyászati Klinika húgyhólyag-megnagyobbításon és -pótláson átesett betegeit 2000-óta prospektíven, előre meghatározott protokoll szerint követjük nyomon. A betegekben a műtéteket követően 3, 6 és 12 hónappal, majd a műtétet követő 4. évig évente, ezt követően két évente laboratóriumi (vér- és vizeletvizsgálat) és eszközös vizsgálatok (ultrahang, MCU, izotópvizsgálat – DMSA, uromanometria és DEXA vizsgálatok) történnek. A műtétet követő 4. évtől az éves vizsgálatok kapcsán hólyagtükrözés (cystoscopy) is történik, mely során az eredeti hólyagrészből és a húgyhólyag-megnagyobbításra vagy -pótlásra felhasznált bél- vagy gyomorrészből szövettani mintákat veszünk, a protokollunknak megfelelően (2. táblázat).

I. Vizsgálatok

A.) Preoperatív vizsgálatok:

- Uh, cystographia, DMSA/DTPA/MAG3, cystometria, DEXA, súly- és hosszpercentil
- Labor + 24 órás vizeletgyűjtés (katéteres)
- Életminőségi kérdőív

B.) 3. hónapos kontroll:

- Uh, cystometria, 24^h vizelet pH monitor (gastrocystopl.)
- Labor + 24^h vizeletgyűjtés

C.) 6. hónapos kontroll:

- Uh, cystographia (ha preop. VUR/neoimpl.), cystometria, 24^h vizelet pH monitor (gastrocystopl.)
- Labor + 24^h vizeletgyűjtés

D.) 1, 2, 3. éves kontroll:

- Uh, natív has, cystographia (mindig), DMSA/DTPA/MAG3, cystometria, DEXA, súly- és hosszpercentil, 24^h vizelet pH monitor (gastrocystopl.)
- Labor + 24^h vizeletgyűjtés
- Életminőségi kérdőív

E.) 4, 6, 8, 10. éves kontroll:

- Uh, natív has, cystographia (mindig), DMSA/DTPA/MAG3, cystometria, DEXA, súly- és hosszpercentil, 24^h vizelet pH monitor (gastrocystopl.)
- Labor + 24^h vizeletgyűjtés
- Szövettani vizsgálat (cystoscopia/nyílt műtét)
- Életminőségi kérdőív

II. Szempontok

A.) Preoperatív szempontok:

A műtét indikációja, a megelőző konzervatív th. hossza (hónap, CIC: ____óránként.
Gyógysz. th., egyéb konzerv. th.: (hólyag training, konductor stb.), vizelet/széklet kontinencia
Hydrocephalus, shunt, „mentális st.”, milyen iskolába jár (norm, kiegészítő, stb.)?
Önálló mozgásképesség: járás önállóan / segédeszközzel / kerekesszékhöz kötött
Orth. mozgást javító műtét: + / - *ÉLETMINŐSÉGI (QoL) KÉRDŐÍV*

B.) 3. hónapos kontroll:

GI panaszok megjelentek-e?: Súlyvesztés, diarrhoea, obstipatio, dyscomfort, teltségérzés, hányinger, hányás, GI vérzés (jellege), dumping, Gyógyszerei: Ditropan / Zantac: ____/die

C.) 6. hónapos és későbbi kontroll:

Kontinencia: Javulás / Romlás / Változatlan. Spontán vizelet?, CIC: ____óránként.
Katéterezhetőség: Könnyű / Nehéz. Katéter típusa: ____Ch.
Szövődmények: Haematuria, dysuria, vizelet infekció, pyelonephritis, nyákürítés, GI panaszok megjelentek-e?, Gyógyszerei, *ÉLETMINŐSÉGI (QoL) KÉRDŐÍV*

III. Laborvizsgálatok (minden kontroll esetén)

/+Testmagasság, Testsúly (percentil görbék) RR/

Vér: Vérték (Hgb; Htk; Fvs; Vvt; MCH; MCV; MCHC), We, Na, K, Ca, Cl, Mg, P, Fe, Transferrin, Ferritin, UN, Húgysav, Kreatinin, Összfehérje, Albumin, pH (astrup), Vércukor, Parathormon (SePTH), Alkalikus foszfatáz (SeALP), CRP, Gastrin (ha gastrocystoplastica – fagyasztoiba tenni centrifugálás után)

Vizelet: Vizelet rutin, Üledék, Bakt. + Rezisztencia, Mennyiség (ml/24ó), Fajsúly, pH, Na, K, Ca, Cl, Mg, P, Húgysav, Vizelet kreatinin (PD, EKC, TPR).

2. táblázat: A húgyhólyag-megnagyobbításon és-pótláson átesett betegek nyomon követési protokollja

A 1987 és 2000 között vastagbéllel történő húgyhólyag megnagyobbítás után 28 beteg metabolikus eltéréseit retrospektíven vizsgálatuk (65). Szignifikáns Ca, P, ALP és parathormon változásokat észleltünk, az eltérések azonban csak a műtétet követő első néhány évben voltak kifejezettek. A műtét utáni első két évben növekedésbeli elmaradást is tapasztaltunk, mely háttérben metabolikus adaptációs mechanizmusokat tételeznek fel a műtétet követően. Ennek egyik magyarázata a nyálkahártyának szövettani vizsgálattal igazolt krónikus gyulladása és atrofíája lehet, mely feltehetően csökkenti az augmentatiora használt tápcsatorna szakasz reabsorptios képességét. A vastagbéllel végzett műtét esetén a csontanyagcsere zavar oka minden bizonnyal a krónikus acidózisra vezethető vissza. A szérum kalcium-szint csökkenés és az alkalikus foszfatáz aktivitás emelkedése a csont demineralizációjára hívhatja fel a figyelmet az évek előre haladtával. A fentiek miatt nyomonkövetési protokollunkba a DEXA vizsgálatok reguláris elvégzését is beillesztettük.

III. CÉLKITŰZÉSEK

1. Az 1987 és 2000 között húgyhólyag-megnagyobbító és –pótló műtéten átesett betegeket retrospektíven vizsgáltuk, mely vizsgálatok eredményeiről hazai folyóiratokban számoltunk be (1,66).

Ezen eredmények ismeretében a további célunk már a gyermekkorban történő húgyhólyag-megnagyobbítás és -pótlás sikerességének és szövödményeinek prospektív klinikai vizsgálata lett. Ehhez a vizsgálathoz, a korábbi tanulmányaink alapján létrehozott protokollt használtuk.

2. Az 1987 és 2000 között húgyhólyag megnagyobbító műtéten átesett betegeinek szövettani elváltozásait vizsgáló tanulmányunkban 20 vastagbéllel- és 15 gyomorszegmentummal augmentált beteg szövettani eredményeit dolgoztuk fel (67). A mintavételeket követően a mintákat rutin hisztológiai (HE és PAS festéssel) és immunhisztokémiai módszerekkel értékeltük, a carcionembionális antigen (CEA), a mib-1 és a p53 fehérjéket vizsgáltuk. A vizsgálat döntően gyulladásos, metaplasticus és praemalignus elváltozásokat (metaplasia, dysplasia) igazolt. Ezen megfigyelések a betegek rendszeres, évente vagy kétfévente történő endoscopos és szükség szerint szövettani vizsgálatait indokolják, melyeket a nyomonkövetési protokollunkba beillesztettünk.

A muc gének termékei, a mucinok (MUC), a sejtek differenciálódásának jellemző fehérjéi (markerei). Napjainkban több mint 20 féle mucin fehérje és az ezeket kódoló muc gén ismert. A legtöbb nyálkahártyának jól meghatározott un. mucin mintázata (pattern) létezik. A húgyhólyag fő mucinja a MUC 1, a vékony- és vastagbélben általában MUC 2 fehérje észlelhető, de kis mértékben a MUC 1 is megtalálható a nyálkahártyáján. A gyomorban döntően MUC 1 és MUC 5a található (68). Ha az adott nyálkahártyán

malignus elváltozás lép fel, a nyálkahártya mucin mintázata megváltozhat. Ezt a jelenséget először a colon karcinómája esetén írták le (69). A mucinok exspressziójának megváltozása a tumorképződés folyamatában igen korán végbemegy, a makroszkóposan észlelhető elváltozásokat akár meg is előzheti (70).

A fentiek miatt fontos célkitűzésünk a béllel és/vagy gyomor-szegmentummal végzett húgyhólyag-megnagyobbítást és -pótlást követően kialakuló hisztológiai és sub-mikroszkopikus elváltozások klinikai és állatkísérletes vizsgálata volt.

3. Betegekben és állatkísérletesen is vizsgáltuk a sikertelen húgyhólyag-megnagyobbítás kórismézésének és kezelésének lehetőségeit.
4. A vizeletinkontinencia veleszületett és szerzett formái is hatásosan kezelhetők gyermekkorban. Napjainkban éppen ezért került a figyelem előterébe a betegek hosszú távú életminőségének kérdése. A WHO definíciója szerint az életminőséget egészségi, szomatikus indikátorok alkotják, a pszichés és fizikai jólét összetevőiből állnak (HRQoL – Health-Reality Quality of Life), kérdőívekkel vizsgálhatók. A gyermekkori vizeletinkontinenciára alkalmazott, a HRQoL-t érintő, az egészséget mutató életminőséget vizsgáló kérdőívekkel azonban csak elvétve találkozunk az irodalomban. Javarészt inkább csak az egyes betegségeket érintő kérdőívek léteznek, például a gerincvelői sérülést követő gyermekekre is adaptálható HRQoL-kérdőív (71). Vizsgálatainkat megelőzően a hólyagmegnagyobbító és -pótló műtéten átesett betegek életminőségi kérdőívére felállított, validált kérdőívet nem találtunk. Ezért a gyermek- és serdülőkorban végzett húgyhólyag-megnagyobbítást és -pótlást követően – vizsgálva a betegek életminőségét – kezelés-specifikus életminőségi kérdőívet kívántunk létrehozni és validálni.
5. A mikrobiommal, mikrobiótával kapcsolatos kutatások szintén az elmúlt években kerültek a figyelem középpontjába. Ismertté vált, hogy az emberi test egy szimbionta és

patogén mikroorganizmusok által alkotott ökológiai rendszer. A mikrobiom olyan mikrobák (mikrobioták) összessége, amely az emberi testben, bennünk vagy rajtunk, élnek. Ezek a mikroorganizmusok részben táplálnak, védenek, de időnként károsan is hathatnak szervezetünkre. Az emberi mikrobiomba minden olyan baktérium, vírus vagy gomba is beletartozik, amelyek az emberi szervezet integritását biztosítják, nélkülözhetetlen anyagokat állíthatnak elő az emberi test számára, illetve megakadályozhatják bizonyos káros, betegséget hordozó mikroorganizmusok tartós megtelepedését a szervezetben. Érthető, hogy ezen összetett ökológiai rendszer megváltozása bizonyos, az immunrendszerrel is szorosan összefüggő kórképek kialakulásához vezethet (72). A húgyhólyag-megnagyobbító és -pótló műtéteket követően a vizeletelvezető rendszerben teljes értékű, életképes bél- vagy gyomorszövet kerül, melynek a saját mikrobiom rendszere megváltozhat. A műtéteket követően fellépő szövődmények; a kőképződés és malignitás kialakulásában a mikrobiom megváltozása is szerepet játszhat.

Ezért a gyermekkorban történt húgyhólyag-megnagyobbítást követően a mikrobióta vizsgálatát is célul tűztük ki.

IV. A GYERMEKKORI HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁS ÉS -PÓTLÁS SIKERESSÉGE ÉS SZÖVŐDMÉNYEI

Célkitűzés

A gyermekkorban történő húgyhólyag-megnagyobbítás és -pótlás sikerességének és szövődményeinek prospektív klinikai vizsgálata (*Suppl. 1, 2, 3*).

Módszerek

A Pécsi Gyermekgyógyászati Klinika Sebészeti Osztályán 1987 és 2018 között 105 betegben történt húgyhólyag-megnagyobbítás (94/105) vagy –pótlás (11/105). A húgyhólyag pótlása 18 esetben gyomorral, 30 esetben vastag-, 46 esetben vékonybéllel történt; a húgyhólyag pótlására 8 betegben csak vastag-, 3 betegben pedig csak vékonybél-szegmentumot használtunk. A fenti műtétek sikertelensége miatt négy betegben ismételt hólyagmegnagyobbítás (re-augmentatio) történt. Munkacsoportunk több tanulmányban (1987-2000) retrospektíven (66) és (2000-től) prospektíven vizsgálta a fenti műtétek sebészi eredményeit, szövődményeit (*Suppl. 1, 2*). A leggyakoribb sebészi szövődményt, a kőképződést külön tanulmányban is vizsgáltuk (*Suppl. 3*).

A fejezetben a betegek műtéteket követő sebészi szövődmények prospektív nyomonkövetésének eredményeit (*Suppl. 1*) és a műtétek utáni kőképződés vizsgálatait (*Suppl. 3*) kívánom részletezni.

Nyolcvanhat betegben történő hólyagmegnagyobbítást és 6 betegben történő húgyhólyag-pótlást követően történő prospektív vizsgálat során a betegek átlagos életkora a műtétkor 12,5 (4,3-20,9) év volt, az átlagos nyomonkövetési idő 8,6 (1-20) évnek adódott. A vizsgálatban a húgyhólyag megnagyobbítása vékonybéllel 32, vastagbéllel 30, gyomorral 18

betegben történt. A húgyhólyag pótlására vastagbél-szegmentumot használtunk mind a 6 hólyagpótolt betegben.

A műtéteket követően minden beteg intermittáló önkatéterezést végez, 35%-ban az eredeti urethran keresztül. A betegek másik 2/3-ában (65%) ún. kontinens katéterezhető hasfali stomán keresztül történik a CIC. A hasfali katéterezhető stoma kialakítása 46 esetben appendix felhasználásával, 4 esetben vékonybél felhasználásával (Monti fistula), míg 6 esetben az eredeti ureter felhasználásával készült. A 86 betegből 14 esetben hólyagnyak-lezárásra kényszerültünk. Öt betegnél a húgyhólyag-megnagyobbító műtéttel egyidejűleg, míg 9 betegnél, egy újabb műtét során került a hólyagnyak lezárásra.

Eredmények

A műtéteket követően észlelt szövődeményeket és a szövődemények miatti beavatkozások számát a *Suppl. 1, 3. táblázata* részletezi.

A fenti beavatkozásokat követően 56/86 betegben (65%) 105 szövődeményt észleltünk. Az 56 betegből 25-ben kettő vagy több szövődemény is jelentkezett. Összesen 81 beteg igényelt valamilyen további, összesen 91 sebészi beavatkozást. Tizenhét betegben egy, 7 betegben kettő, 14 betegben három vagy több sebészi beavatkozás történt a húgyhólyag-megnagyobbítást vagy -pótlást követően.

Kőképződés

A műtéttel összefüggésbe hozható, leggyakrabban előforduló szövődeményt, a kőképződést, a gyomorral vagy béllal megnagyobbított, és/vagy -pótolt húgyhólyagokban 20/86 betegben észleltünk (23%). Tizenkilenc augmentált betegből, tizenhatban vastagbéllal, kettőben vékonybéllal, míg egyben gyomor-szegmentummal történt a húgyhólyag

megnagyobbítása. További egy betegben, a húgyhólyag vastagbéllel történő pótlását követően észleltünk kövességet. A kövek a műtétet követően átlagosan 3,9 évvel (5 hónap – 13 év) jelentek meg. Hét betegben 2 alkalommal, egy betegben 3 alkalommal, további három betegben, háromnál több alkalommal észleltünk kövességet a megnagyobbított húgyhólyagban. Összességében 34 beavatkozás történt a kőképződés miatt. Statisztikailag igazolást nyert, hogy azon betegek, akik a hólyagjukat rendszeresen öblítik, illetve a katéterezést „alulról”, az eredeti húgycsőön keresztül végzik, kevésbé hajlamosak a kőképződésre. A visszatérő húgyúti infekciók és a kőképződés között nem találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést. Gyomorral végzett húgyhólyag-megnagyobbítás esetén a kőképződés előfordulási esélye jóval kisebb, mint vastagbéllel, illetve vékonybéllel történő húgyhólyag-megnagyobbítást követően. A kőanalízisek alapján előforduló kőalkotókat a *Suppl. 3, 2. táblázata* mutatja be. Az analízis alapján majdnem minden kőalkotóban struvit is szerepelt, Ca-oxalát és Ca-foszfát csak kisebb arányban volt kimutatható (*Suppl. 3*).

A hasfali (katéterezhető) sztóma szövődményei

A húgyhólyag-megnagyobbítással egyidejűleg 48 betegben katéterezhető, kontinens hasfali sztóma kialakítása is történt, 40 esetben appendixból, 2 esetben vékonybéllel (Monti fistula), 6 esetben ureter felhasználásával. A műtéteket követően 6 betegben a megjelenő HDS miatt, az addig eredeti húgycsőön keresztül katéterező gyermeknél később hasfali sztóma kialakítás történt. A betegeink közel 2/3-a (65%), kontinens katéterezhető hasfali sztómán át végez CIC-t. A hasfali járaton át történő katéterezési nehézség, a sztóma kialakítása után átlagosan 6,6 évvel (1 hónap -16 év) jelent meg. A szövődmények – a katéterezhető járat szűkülete (4 beteg), a járaton át történő vizeletcsorgás (inkontinencia) (4 beteg), nehéz katéterezés a sztóma járat bőrszintű beesése (4 beteg) vagy előesése, azaz prolapsusa (6 beteg), illetve vérzés (2 beteg) – miatt összesen 20 beteg, 22 alkalommal igényelt sztóma-revíziót.

Bélelzáródás

A műtéteket követően 8 betegben (9%) alakult ki bélelzáródás (ileus), mely miatt 11 alkalommal történt sebészi beavatkozás. A bélelzáródás a műtétet követő 6. nap és 7 év között jelentkezett (a betegek felében a műtétet követő első hónapban). A re-operáció során leggyakrabban bélösszenövéseket, adhaesiokat észlelünk, melyek oldásra kerültek.

A vizelet rezervoár perforációja

A húgyhólyag-megnagyobbítást követően összesen 5 betegben észleltük a rezervoár perforációját, a hasüreg felé történő vizeletszivárgást. Nagyon korai és nagyon késői időszak (2 nappal, illetve 11 évvel a beavatkozásokat követően) egyaránt előfordult. Két esetben kényszerültünk urin-peritonitis miatt műtetre. A többi esetben a rezervoár tartós, katéteres drainage-a és a konzervatív kezelés (széles spektrumú antibiotikumok) mellett a perforáció gyógyult.

A vesico-ureteralis reflux fennállása a húgyhólyag-megnagyobbítással egyidejűleg történt neoimplantatiót követően

A húgyhólyag-megnagyobbítás vagy –pótlás elvégzésekor 33 betegnél állt fenn VUR. A fenti műtéttel egyidejűleg 19/33 betegnél egyidejűleg ureter neoimplantatio is történt. A nyommonkövetés során 5 betegnél a továbbra is fennálló VUR-t suburetericus Teflon- vagy Deflux-injektálással kezeltük. A neoimplantatiót követően 7/33 esetben a neoimplantatio után szűkület kialakulását láttuk, mely egy esetben ismételt beavatkozást, re-neoimplantatiót igényelt. A szövödmény részletesebb tanulmányozását a VI. fejezetben ismertetem.

A hólyagnyak-lezárást követő szövődmények

A húgyhólyag-megnagyobbításon átesett 86 betegből 14-ben húgyhólyagnyak lezárás történt, 5 betegnél a műtéttel egyidejűleg, 9 betegnél második lépcsőben. A húgyhólyagnyak-lezárását követően 2 betegnél további vizelet elcsepegés, fisztula kialakulása, 4 betegnél következményes orchido-epididymitis klinikai képe alakult ki. A diagnosztikus nehézség miatt (herecsavarodás gyanúja) 4-ből egy esetben sebészi feltárássra is kényszerültünk.

Haematuria-dysuria szindróma (HDS)

A gyomorral történő húgyhólyag-megnagyobbítást követően 4/18 betegben észleltünk HDS-t. Két betegben a tünetek H₂-blokkoló adása mellett megszűntek, míg a másik két betegben a hólyagnyak lezárás és a kontinens hasfali sztóma kialakítása oldotta meg a panaszokat.

Csökkent húgyhólyag-kapacitás/-tágulékenység miatt történő ismételt húgyhólyag-megnagyobbítás (re-augmentatio) szükségessége

Három betegben a húgyhólyag-megnagyobbítást követően ismételten csökkent húgyhólyag-kapacitást és megnövekedett hólyagnyomást (alacsony compliance-t) észleltünk. Két betegben ezt a jelenséget colocysto-plasticat, egy betegben gastro-cystoplasticat követően figyeltük meg. Három, négy és nyolc évvel a fenti műtéteket követően a húgyhólyag ismételt megnagyobbítására kényszerültünk. A sikertelen hólyagmegnagyobbítást követő diagnosztikai és kezelési lehetőségeket a *VI. fejezetben* kívánom bemutatni.

Pre-malignus szövettani elváltozások kialakulása

Nyomonkövetésünk során egy betegben észleltünk prae-malignus szövettani elváltozást (carcinoma in situ), mely miatt a húgyhólyagban levő növedék, polyp eltávolításra került. A műtéteket követő szövettani elváltozásokat az *V. fejezetben* ismertetem.

A vékonybél flóra túlnövekedése, a vékonybél colonizációja

E ritka szövődményt egy betegünkben, vastagbéllal történt hólyag-megnagyobbítás követően 8 évvel, profúz hasmenés klinikai tünetei mellett láttunk.

Egyéb sebészi komplikációk

Számos további sebészi szövődménnyel találkoztunk (hasfali sérv, arteria iliaca thrombosis, decubitus kialakulás, sebgyógyulási zavarok), amiket döntően konzervatíván kezeltünk.

Összefoglalás

Colocystoplasticat, illetve colonnal történő húgyhólyag-pótlást követően az irodalmi adatoknál szignifikánsan magasabb számban észleltünk sebészi szövődményeket. Ugyanakkor számottevően kevesebb sebészi szövődményt láttunk a vékonybéllel- és a gyomor-szegmentummal történő húgyhólyag-megnagyobbítást követően.

A leggyakoribb sebészi szövődmény a colocystoplasticat követően kialakuló hólyagkőképződés volt. Összesen a betegeink több mint 50%-ában alakult ki hólyagkövesség, ami némileg meghaladja az irodalomban közölt 33-44%-os előfordulást. Betegeink között sokkal nagyobb arányban jelentkeztek recidív kövek is, ugyancsak a vastagbéllal történő húgyhólyag-megnagyobbítás után.

A kőképződés szempontjából fontos tényező, hogy a beteg kontinens hasfali sztómán (mert a húgyhólyagnyak lezárásra került), vagy eredeti húgycsövén keresztül bocsátja le vizeletét. A hasfali járaton keresztül a vizelet rezervoárt szinte lehetetlen maradéktalanul kiüríteni, így a katéterezést követően gyakran marad vizelet a rezervoárban, a vizelet pangás pedig kedvezően hat a kőalkotók kicsapódására. A rendszeres húgyhólyagöblítés elmaradása is hozzájárulhat a hólyagkőképzéshez. Az irodalomban mind a mai napig egymásnak ellentmondó adatokat találunk a vizeletfertőzések és a húgyhólyagkövek kapcsolatáról a fenti műtéteket követően. A súlyos vizeletinfekciók kezelése is eltérő megítélés alá esik. Ha urea-bontó baktériumok telepsznek meg, az urea bontása során magasabb pH keletkezik a húgyhólyagban, ami kedvez a kőképződésnek.

A fenti műtéteket követő szignifikáns morbiditásnak számít, hogy a betegek 65%-ában valamilyen sebészi szövődmény alakult ki, valamint, hogy a műtéteket követően a betegek 43%-ában további sebészi beavatkozásra kényszerültünk. Ugyanakkor a vizelet biztonságos nyomáson történő tárolása és kiürítése („lekatéterezése”) a betegek 95%-ában a fenti műtéttel, vagy műtétekkel elérhető, azaz hosszútávon az addig a vizeletükre nézve inkontinens betegek „szárazzá” tehetők (csak 4/86 betegben nem sikerült javítani a vizelet kontinenciát). További romlás, vagy a műtétekkel összefüggésbe hozható maradandó károsodás a műtétek után nem volt észlelhető. A húgyhólyag-megnagyobbítás és -pótlás alkalmas arra, hogy a gyermekek, a serdülőkorúak vizelettárolását és -ürítését hosszútávon is megbízhatóan biztosítsa. Azonban a hosszútávon létrejövő szövődmények kockázata miatt a betegek egész életén át tartó gondozásra szorulnak.

V. A BÉLLEL ÉS/VAGY GYOMORRAL TÖRTÉNŐ HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁST KÖVETŐEN FELLÉPŐ SZÖVETTANI ELVÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA

Célkitűzés

A béllel és/vagy gyomor-szegmentummal végzett húgyhólyag-megnagyobbítást és -pótlást követően kialakuló hisztológiai és sub-mikroszkopikus elváltozások klinikai (*Suppl. 4*) és állatkísérletes (*Suppl. 5, 6, 7, 8, 9*) vizsgálata.

Módszer

A Pécsi Gyermekklinika Sebészeti Osztályán 1987-től napjainkig 102 betegben történt húgyhólyag-megnagyobbító vagy pótló műtét. A betegek prospektív nyomonkövetése során a műtéteket követően a 4. évtől kétévente, szűrő jellegű cystoscopiás vizsgálat és szövettani mintavétel történik a húgyhólyag-megnagyobbítására felhasznált gyomor- vagy bél-szegmentumból, az anastomosis-vonalból és az eredeti hólyagrészből. Hólyagpótlás esetében a mintákat a hólyagpótlásra használt vastagbélből vesszük.

Az endoszkópos vizsgálat, bár minimálisan invazív, a betegek számára mégis megterhelő. Ezért a humán kutatással párhuzamosan, olyan egyre kisebb méretű, akár molekuláris kísérletekre is alkalmas állatkísérletes modellek kialakításán dolgoztunk, ami hozzásegíthet minket a tumorok kialakulásának jobb megértéséhez és a kevésbé invazív, szűrő jellegű vizsgálatok kifejlesztéséhez.

A.) Humán vizsgálat

A prospektíven nyomonkövetett 54 betegben a MUC 1 és a MUC 2 glikoproteinek nyálkahártyán történő expressziójának változásait vizsgáltuk (*Suppl. 4.*). Huszonkét vastagbéllel, 17 vékonybéllel és 8 gyomor-szegmentummal történő hólyagmegnagyobbításon átesett betegnél történtek vizsgálatok. További 7 betegben vastagbéllel történt a húgyhólyag pótlása. A MUC 1 és MUC 2 glikoproteinek expressziójának kvalitatív vizsgálatához kettős immunfestést használtunk. A megfestett mintákat fluoreszcens mikroszkópia során zöld (MUC 1), piros (MUC 2) és kék (sejtmagok) fénnel világítottuk át. A megfestett mintákról készült képeket CCD-kamerával nyertük. A mikroszkóphoz csatlakoztatott szoftver segítségével a meghatározott reprezentatív területeken a MUC 1 és a MUC 2 jelintenzitását a sejtmagok jelintenzitásával normalizáltuk. A MUC 2 / MUC 1 arányt is külön meghatároztuk.

A neoplasiás mintákon, illetve ahol szignifikáns változás volt észlelhető a MUC 1 és MUC 2 tekintetében további vizsgálatokat végeztünk, összesen 14 beteg mintája került ebbe a csoportba. Laser capture (LC) microdisszekció segítségével a nyálkahártyát szeparáltuk, majd az így kapott sejteket összegyűjtöttük és RNS-t izoláltunk belőlük. Real-time PCR módszerrel a MUC 1 és MUC 2 gének amplifikációját mértük.

Az adatokat statisztikus segítségével analizáltuk, az ANOVA-tesztet és a legkisebb négyzetek módszerét alkalmaztuk.

B.) Állatkísérletek

Az állatkísérletek a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Kar Sebészeti és Oktató Kutatóintézetében, az Egyetemi Etikai Bizottság előzetes engedélyeivel történtek.

A szövettani vizsgálatokat nyulakban *B/1. (Suppl. 5)*, kutyákban *B/2. (Suppl. 6, 7, 8)* valamint patkányokban *B/3. (Suppl. 9)* végeztük.

B/1.

Tizenhárom nyúlban gastrocystoplasticat követően 3, 6 és 12 hónappal történtek szövettani vizsgálatok. A mintákat rutin hisztológiai módszerekkel (HE és PAS-festés) értékeltük, valamint a CEA és p53 fehérjék expressios mintázatát is vizsgáltuk (*Suppl. 5*).

B/2.

Tizenkét fiatal nőtény beagle kutyában húgyhólyag-megnagyobbítást követően végeztünk szövettani vizsgálatokat. A műtét technikai részletei a *Suppl. 6*-ban található. Két-két állatban csak gyomorral vagy csak vastagbéllel, 8 kutyában gyomorral és vastagbéllel egyszerre és egyidejűleg történő húgyhólyag-megnagyobbítást követően. A műtétkor, majd a műtétek elvégzése után 4-8 hónappal és a nyomonkövetési idő végén 12 hónappal történtek mintavételek, majd rutin szövettani vizsgálatok (HE, PAS festés) és a PCNA fehérje expressziós mintázat vizsgálat történt (*Suppl. 7*). Ugyanezen állatokban a humán anyagban részletezett módon a MUC 1, MUC 2 fehérjék kvantitatív (kettős immunfestés) és kvalitatív (rt-PCR) expresszióját is vizsgáltuk (*Suppl. 8*).

B/3.

Negyvenöt fiatal (3 és 6 hónapos) hím, Wistar patkányban történtek műtétek (30 ileocystoplastica és 15 álműtét). A patkányokat 12, 18 és 24 hónapig követtük nyomon.

A nyomonkövetési idő végén az augmentált hólyag-preparátumokat HE festett metszeteken vizsgáltuk (*Suppl. 9*).

Eredmények

A.) Humán vizsgálat

Egy betegben in situ adenocarcinomát észleltünk, 11 évvel a vastagbéllel történt húgyhólyag-megnagyobbítás után. Az anastomosis vonalban, polyp formájában felismert elváltozást in toto eltávolítottuk. Egy esetben a vastagbél-szegmentumban, egy esetben az anastomosis-vonalban, egy esetben pedig az eredeti hólyagrészben metaplasias elváltozásokat találtunk 8, 10 és 14 évvel a colocystoplasticat követően (*Suppl. 4, 1. táblázat*). A MUC 1 és MUC 2 glikoproteinek expressziós mintázatában nem volt szignifikáns változás sem gyomorral, sem vékonybéllel történő hólyagmegnagyobbítás, sem pedig a vastagbéllel történő hólyagpótlás után. Colocystoplasticát követően a colon nyálkahártyáján a MUC 1 expressziós szintje idővel szignifikánsan nőtt, a MUC 2 pedig ezzel párhuzamosan csökkent. Az in situ adenocarcinoma mintában ezzel megegyezően magasabb MUC 1 és alacsonyabb MUC 2 expressziót volt igazolható (*Suppl. 4, 3. ábra*).

B.) Állatkísérletek

B/1. Gyomorral történt hólyagmegnagyobbítás nyulakban

Az eredeti hólyagrészben 3 hónappal a műtétet követően polypokat, mucosalis oedemat, submucosalis fibrosist észleltünk, 3 állatban laphámsejtes metaplasia képét figyeltük meg. Hat és tizenkét hónappal a műtétet követően a szövettani eredmények már érdemi változást nem mutattak. Négy nyúlban parietalis sejt-hyperplasiát észleltünk

a fennálló catarrhalis gastritis képe mellett (*Suppl. 5, 1. és 2. ábra*). Gyomornyálkahártya atrophiat 4 állatban, colon típusú metaplasiat 2 állat gyomor-szegmentumában figyeltünk meg (*Suppl. 5, 1. és 2. táblázatok*). Dysplasiara, malignitásra utaló jelet a 12 hónapos nyomonkövetés során nem találtunk. A CEA, mib-1 és p53 festések normális mintázatot mutattak a 12 hónap nyomonkövetési idő alatt.

B/2. Gyomorral és vastagbéllel egyidejűleg megnagyobbított húgyhólyag kutyákban

Tizenkét hónappal a beavatkozást követően a csak gyomorral történt húgyhólyag-megnagyobbítás után inflammatorikus jeleket, egy esetben dysplasia jeleit figyeltük meg. A csak vastagbéllel megnagyobbított hólyagú kutyákban döntően gyulladásos jeleket, egy kutyában dysplastikus jeleket észleltünk. Gyomorral és vastagbéllel történő egyidejű húgyhólyag-megnagyobbítást követően döntően gyulladásos jeleket, 3 kutyában dysplasia jeleit, 1 esetben metaplasia jeleit láttuk, míg 1 kutyában in situ carcinoma volt látható a húgyhólyag-megnagyobbításra felhasznált gyomor-szegmentumban (*Suppl. 7, 1. táblázat és 4. ábra*).

Ugyanezen állatok MUC 1 és MUC 2 fehérje expressziójának vizsgálata során a vastagbélminták MUC 1 expressziójában szignifikáns csökkenést láttunk, mind a csak vastagbéllel, mind pedig a vastagbéllel és gyomorral megnagyobbított húgyhólyagú állatokban. A bélminták MUC 2 expressziójában szignifikáns változást nem észleltünk.

A csak gyomorral történő húgyhólyag-megnagyobbítás után és a kompozit hólyagképzésen átesett állatok gyomorrészében a MUC 2 expressziója szignifikánsan csökkent, ugyanakkor a MUC 1 expressziója gastrocystoplasticat követően nem mutatott számottevő eltérést (*Suppl. 8, 1. táblázat és 2. ábra*).

B/3. A patkányokban végzett kísérletek

Az ileocystoplastican átesett patkányok 60%-a (18/30) élte túl a tervezett nyomonkövetési időt. A patkányok elhullásának okai többek között az érnél elégtelensége, a húgycső elzáródása, mechanikus bélelzáródás és anastomosis-elégtelenség miatti hasúri fertőzés és a következményes sepszis voltak.

Tizenkét hónappal a műtét után 1 patkányban laphám metaplasiat észleltünk. Huszonnégy hónappal a vékonybéllel történt hólyagmegnagyobbítást követően 1 állatban polyposus elváltozást, 2 állatban bélnyálkahártya hypertrophiát figyeltünk meg, melyek szövettanilag hyperplasiás urotheliumnak és urothelialis carcinomának (*Suppl. 9, 6. ábra*) bizonyultak. Általános megfigyelés volt, hogy az idővel arányosan az ileum nyálkahártyáját egyre nagyobb mértékben váltotta fel az urothelium.

Összefoglalás

A humán vizsgálatokban a húgyhólyag-megnagyobbítást és –pótlást követően végzett prospektív nyomonkövetés szövettani eredményei alapján malignus, prae-malignus elváltozások megjelenése a műtétet követően 10 éven belül nem valószínű. Ugyanakkor az ezt követően megjelenő, döntően gyulladásos, metaplasticus és prae-malignus elváltozások (dysplasia, in situ carcinoma) a betegek rendszeres, évente vagy kétevente történő endoscopos és szükség szerint szövettani vizsgálatait helyezi előtérbe. A betegek hosszútávú nyomonkövetése ajánlott, mely vizsgálatok során pl. a MUC 1 és MUC 2 fehérjék expressio változásainak nyomonkövetésével a prae-malignus és malignus elváltozások korábban felismerhetők lehetnek, főleg colocystoplastikát követően. A szövettani vizsgálatok, betegellátásra is kiható jelentőségét jelzi, hogy részben saját eredményeink alapján született az

európai gyermekurologiai ajánlás 2008-ban a műtéteket követő szövődmények nyomkövetésére, valamint eredményeinket angol nyelvű urológiai tankönyvekben is idézik.

A humán vizsgálataink szövettani megfigyeléseit az állatkísérleteink is részben alátámasztották; a műtéteket követően döntően gyulladásos jelek figyelhetők meg, melyek később pre-malignus, malignus elváltozásokká alakulhatnak.

A gyomorral és vastagbéllel egyidejűleg történő húgyhólyag-megnagyobbítás nem csökkenti a prae-malignus elváltozások időbeni és számbeli megjelenését (ezen vizsgálatainkat molekuláris módszerekkel nem tudtuk alátámasztani).

Patkányokban ileocystoplastikát követően a vékonybél hám urothelialis transzformációjának mintázata alátámasztja az emberben is a szövettani elváltozások okai közé sorolt konstans vizelet jelenlét, illetve a közvetlen urothelium kapcsolat transzformáló hatását. Ez a morfológiai megfigyeléseken alapuló hipotézis azonban még további vizsgálatokat igényel.

VI. A SIKERTELEN HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBITÁS KÓRISMÉZÉSE ÉS KEZELÉSI LEHETŐSÉGEI GYERMEKKORBAN

Célkitűzés

A sikertelen húgyhólyag-megnagyobbítás kórismézésének és kezelési lehetőségeinek klinikai (*Suppl. 10, 11*) és állatkísérletes (*Suppl. 6*) vizsgálata.

Módszerek

A.) Klinikai vizsgálatok

A/1. A vesico-ureteralis reflux perzisztálása hólyag-augmentatioval egyidőben történt ureter neoimplantatiót követően (Suppl. 11)

1987 és 2004 között a hólyag-augmentatiók kapcsán 26 betegben 33 ureter neoimplantatio történt a hólyagmagnagyobbító műtéttel egyidejűleg.

Az 1. csoportban 10 (6 meningomyelocelus, 4 nem neuropathias) beteget hólyagürülési zavar miatt kezeltünk augmentációval és a műtéttel egyidejűleg a betegek összesen 16 ureterét is neoimplantáltuk. A betegek átlag életkora a műtétkor 11,6 (7-17) év volt. Öt betegben vastagbéllel, három betegben gyomorral, kettő betegben vékonybéllel történt a húgyhólyag megnagyobbítása. Az 1. csoport betegeinek átlagos nyomonkövetési ideje 5 (1-13) év volt.

A 2. csoportban a betegeknél ugyan a VUR fennállt, de ureter neoimplantatio a húgyhólyag-megnagyobbítással egyidejűleg nem történt, ez 16 beteg 17 ureterét jelenti. Ebben a csoportban 8 meningomyelocelus és 8 nem neuropathias hólyagürülési zavar miatt történt húgyhólyag-megnagyobbító műtét. Az augmentatiókra a betegek átlag életkor 10,9 (4-17) év volt. Hét betegben vastagbéllel, 6 betegben gyomorral, 3 betegben

vékonybéllel történt a húgyhólyag augmentatioja. A nyomkövetési idő ebben a betegcsoportban 6,2 (1-13) év volt.

A/2. Saját betegeinkben és külföldi centrummal (Isztambul, Törökország) közösen, nagy beteganyagon történt klinikai vizsgálat a sikertelen hólyagmegnagyobbítást követő ismételt augmentatio (re-augmentatio) szükségességéről (Suppl. 10)

1987 és 2004 között 136 hólyagmegnagyobbításon átesett beteg adatait tanulmányoztuk. A 136 betegből 2 esetben colocystoplasticat, 3 esetben gastrocystoplasticat követően vált szükségessé az ismételt hólyagmegnagyobbítás. A fenti betegekből négyben (két colocystoplasticat és két gastrocystoplasticat követően), vékonybéllel történt a húgyhólyag ismételt megnagyobbítása, egy betegben pedig gastrocystoplasticat követően sigmabéllel történt re-augmentatio. A 136 betegből azokban, akikben primeren az első műtét során ileocystoplastica történt, nem került sor ismételt hólyagmegnagyobbító műtetre. A betegek nyomkövetése során végzett urodinamiás vizsgálat szolgáltatott minden esetben diagnózist és indikációt a re-augmentatio elvégzéséhez.

B.) Állatkísérlet (Suppl. 6)

Ezen állatkísérlet is a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Oktató és Kutató Intézetében, az Egyetemi Etikai Bizottság engedélyével történtek.

A műtétek 12 növekedésben lévő, hathónapos, átlagosan 10 kg-os, nőstény beagle kutyákban történtek. Az állatokat három csoportra osztottuk:

A csoport – két kutyában csak gyomorral történt a húgyhólyag augmentáció (gastrocystoplastica); *B csoport* – két kutyában a húgyhólyag megnagyobbítás

kirekesztett, antimezenteriális oldalán felhasított (detuburalizált) vastagbél szegmentummal történt (colocystoplastica); *C csoport* – nyolc állatban gyomorral és béllel egy ülésben történt a hólyagplasztika (kompozit hólyag). Az *A és B csoport* állatai kontrollként szolgáltak.

A húgyhólyag megnagyobbító műtétek előtt az állatok 24 órán át nem kaptak táplálékot, folyadékot korlátlanul fogyaszthattak. A műtéteket megelőzően a kutyák parenterális (i.m.) testsúlyra számított antibiotikumot (2,5 mg/ttkg gentamycin és 2 gram penicillin) kaptak. A gyomorral és kompozit hólyaggal történő plasztika esetén H₂-receptor blokkolót (150 mg ranitidin) is adtunk. A műtétek thiopental indukciót követően intratracheális narkózisban (halothan, N₂O) történtek. A narkózis bevezetése után per urethram 10 Ch-es Foley katéter behelyezése történt a hólyagba az anasztomózis védelmére.

A csoport (gastrocystoplastica): a műtéteket hosszú median laparotomiából végeztük. A gyomor corpusából egy kb. 7 x 7 cm-es megközelítőleg egyenlő oldalú háromszöget vágtunk ki, mely vérellátását az a. gastroepiploica sinistra biztosította. A gyomor folytonosságát kétrétegű varratsorral állítottuk helyre. Az érneles gyomorlebenyt intraperitonealisan vittük le az eredeti húgyhólyaghoz. A hólyag craniális felét rezekáltuk, majd a gyomor-szegmentumot egyrétegű, tova futó varratsorral varrtuk a visszamaradó caudális hólyagrészhez.

B csoport (colocystoplastica): a műtéteket alsó median laparotomiából végeztük. A colon descendesből egy kb. 10-12 cm hosszú szakaszt izoláltunk az érellátásának megtartásával. A vastagbél folytonosságát vég-a-véghez anasztomózissal állítottuk helyre. Az izolált érneles vastagbél-szegmentumot az anti-mesocolikus oldalán hosszanti irányban felhasítottuk, majd az így keletkezett téglalap alakú vastagbél szakaszt U alakban, „sapka-szerűen” összevarrtuk (detubularisatio) és azt a

visszamaradó eredeti (1/2) hólyagrészhez egyrétegű, tova futó varratsorral varrtuk hozzá.

C csoport (kompozit hólyagképzés): a műtéteket hosszú median laparotomiából végeztük. A gyomorból az A csoportban, a vastagbélből a B csoportban részletezett technikával izoláltunk gyomor- illetve vastagbél szegmentumokat. A húgyhólyag kraniális felét reszekáltuk, majd a kirekesztett gyomor- és vastagbél-szegmentumokat egy rétegben az eredeti fél hólyagrészhez és egymáshoz anasztomizáltuk. Így olyan vizeletrezervoárt kaptunk mely egynegyedét gyomor, egynegyedét vastagbél, felét az eredeti hólyag maradéka alkotta.

Eredmények

A.) Klinikai vizsgálatok

A/1. A vesico-ureteralis reflux perzisztálása hólyag-augmentatioval egyidőben történt ureter neoimplantatit követően (Suppl. 11)

Az 1. csoportban 9 beteg 14 ureterét neoimplantáltuk, míg 1 betegben kétoldali suburetericus Teflon-injektálás történt antireflux beavatkozásként. Tizenhárom ureterben a műtéteket megelőzően III-V. (magas) fokozatú refluxot, míg 3 ureterben II. (alacsony) fokozatú refluxot észleltünk. Minden betegnél a vesico-ureteralis reflux eltűnését észleltük, átlagosan 11 (3-72) hónappal a műtéteket követően. Nem észleltünk korrelációt a reflux megszűnése és annak fokozata között. Összesen 2 betegben észleltünk 3 évvel a húgyhólyag-megnagyobbító műtétet és a re-implantatit követően recurraló refluxot, mely refluxok további 2 év nyomonkövetés és oxybutynin kezelés mellett eltűntek.

A 2. csoport 16 betegében a 17 VUR közül 8 ureterben III-V. (magas) fokozatú, 9 ureterben pedig II. (alacsony) fokozatú refluxot észleltünk. Mind a 14 hólyag-megnagyobbító műtéten átesett betegben a reflux átlagosan 13,6 (3-108) hónappal a fenti műtétek után, mindenfajta további antireflux beavatkozás (ureter neomplantatio vagy suburetericus injektáló kezelés) nélkül eltűnt. Ebben a betegcsoportban sem észleltünk korrelációt a reflux eltűnése és súlyossági fokozata között.

Mindkét betegcsoport nyomonkövetése során a cystographias vizsgálatok mellett a rendszeres urodinamiás vizsgálatok szolgáltatnak információt a reflux kezeléséhez, illetve az anticholinerg kezelés szükségességéről.

A hólyagmegnagyobbító műtéteket követő rezervoár kapacitást és tágulékonyságot az egyidejűleg meglévő vesico-ureteralis reflux egyik csoportban sem befolyásolta, függetlenül a húgyhólyag-megnagyobbításhoz választott szegmentum típusától. Urodinamikailag a két csoport között csak az ileocystoplasticat követő maximális hólyagkapacitások között volt különbség.

A/2. Saját betegeinkben és külföldi centrummal (Isztambul, Törökország) közösen, nagy beteganyagon történt klinikai vizsgálat a sikertelen hólyagmegnagyobbítást követő ismételt augmentatio (re-augmentatio) szükségességéről (Suppl. 10)

A re-augmentációra került 5 betegből kettőben megfelelő hosszúságú vastagbél került detubularizálásra a primér húgyhólyag-megnagyobbító műtét kapcsán és mindhárom gastrocystoplastica is hagyományos módon történt. A primér augmentatio és a re-augmentatio között eltelt idő átlagosan 4,2 (2-7) év volt. Mind az 5 beteg tiszta intermittáló önkatéterezéssel bocsátotta le rezervoárját. A betegek átlagos nyomonkövetési ideje 6,8 (2-10) év volt. A betegeknél a primer augmentatión követően az inkontinencia 0,5-2 évvel jelent meg. A vizeletelcsepegés a katéterezéseket követően

1-1,5 órával jelentkezett. Mind az 5 betegben urodinámia igazolta a csökkent rezervoárkapacitást és/vagy -tágulékonytságot. Minden betegben az urodinámia során bélkontrakciók voltak mérhetőek.

A tünetek észlelésekor bevezetett anticholinerg kezelés egyik esetben sem javított a kontinencián, annak ellenére sem, hogy az orális anticholinerg kezelés mellett két beteg rezervoárjában helyi, lokális anticholinerg kezelést is alkalmaztunk (a rezervoárba adott, lokálisan ható oxybutininnal).

Mindkét vastagbéllel megnagyobbított húgyhólyag esetén szignifikáns bakteriuriát láttunk, a gastrocystoplastican átesett betegekben azonban ez nem volt következetes.

Egyéb metabolikus és szövettani eltérést, kőképződést, HDS-t, perforációt, *Helicobacter pylori* fertőzést a re-augmentációra szoruló öt betegben nem észleltünk.

A re-augmentációt követően – mely a két primér colocystoplastica esetén ileummal, 3 primér gastrocystoplasticat után két betegben ileummal, egyben pedig colonnal történt – a betegek kontinenssé váltak. Az urodinámiai paramétereik a további nyomonkövetési idő alatt javultak. A re-augmentatio során használt bélszakasz eredete (ileum vagy colon) szignifikánsan nem befolyásolta az urodinámiai paramétereiket.

B.) Állatkísérlet (Suppl. 6)

Mind a tizenkét kutya a nyomonkövetési idő végéig túlélte. A nyomonkövetési idő alatt a következő szövődményeket figyeltük meg: *A csoport* – a gyomorral történő húgyhólyag-megnagyobbítást követően makroszkópos haematuria jelentkezett 1 állatban a műtétet követő 5. hónap végéig; *B csoport* – vastagbéllel történt hólyagmegnagyobbítás után szövődményt nem észleltünk, *C csoport* – kompozit

hólyagképzést követően 1 állatban láttunk haematuriát a műtétet követő 3. hónap végéig.

Megbeszélés

Az urodinámia segítségével megállapíthatók az inkontinencia okai, fontos adatokat kapunk a terápia megválasztásához, nyomon követhető a konzervatív kezelés eredménye is. Az urodinamiás vizsgálat adhat indikációt a húgyhólyag-augmentáció elvégzéséhez, illetve az elégtelen terápiás effektus esetén ezzel a módszerrel tisztázható a kudarc oka és az urodinamiás leletek birtokában dönthetünk további műtét (re-augmentatio) szükségességéről, azaz meghatározhatjuk a további kezelés irányát. A húgyhólyag-megnagyobbítás idejében fennálló VUR esetén, a húgyhólyag-megnagyobbítást követően önmagában a műtét elvégzésétől remélhető, hogy az alacsony, de akár a magas (III.-V.) fokozatú VUR is eltűnhet. Amennyiben a VUR perzisztál, ennek oka a műtét elvégzése ellenére fennálló magas intravesicalis nyomás, mely vizeletfertőzéssel szövődhet. Ennek kezelésére az antibiotikus és az anticholinerg terápia önmagában elégséges lehet. A VUR eltűnését a húgyhólyag-megnagyobbításra felhasznált gyomor vagy bél típusa nem befolyásolja, ugyanakkor az ileummal történő hólyagmegnagyobbítást követően az urodinamiás mérési eredmények jóval kedvezőbbek.

Az urodinamiás mérések során a húgyhólyag-megnagyobbítás ellenére csökkenő kapacitást és/vagy tágulékonytságot észlelhetünk a klinikai tünetek romlásával párhuzamosan, ami a hólyag-megnagyobbítás sikertelenségére utal. A húgyhólyag-megnagyobbításra felhasznált gastrointestinalis szegmentum zsugorodhat, a vérellátása károsodhat. Ez önmagában előidézheti a vizelet rezervoár kapacitásának csökkenését. Az ezzel egyidejűleg bevezetett konzervatív kezelés, anticholinerg szerek szisztémás vagy akár lokális adása a kapacitást átmenetileg javíthatja. A detubularizáció ellenére mind a vastagbéllel, mind a

gyomor-szegmentummal történő húgyhólyag-megnagyobbítást követően mérhető bélkontrakciókat láthatunk a vizelet rezervoárokban. Amennyiben ezek az úgynevezett „mass-kontrakciók” kifejezettek és a rezervoár nyomását kritikus mértékben emelik, ez oka lehet a klinikai kép romlásának, a vizelet elcsepegésnek. E magas amplitúdójú kontrakciók oka ismeretlen.

A re-augmentatio effektív kezelési lehetőség olyan esetekben, amikor a primer húgyhólyag-megnagyobbítással nem sikerült megfelelő kapacitást és/vagy tágulékonyságot elérni. Re-augmentatio esetén, függetlenül a primer műtét során használt tápcsatorna szakasz minőségétől, ileum-szegmentum használata ajánlott. A re-augmentatit követően béllal (ileum és/vagy vastagbél), illetve gyomor-szegmentummal egyszerre, vagy kétlépcsőben megnagyobbított, úgynevezett kompozit hólyag jöhet létre. A kompozit hólyag egyidejű kialakítása technikailag két módon, „emelet”-szerűen vagy „szendvics”-módon képzelhető el (*Suppl. 6, 3. ábra*). A szendvics-módon, sapka-szerűen kialakított kompozit hólyag esetében a műtéti idő hosszabb, de az eredeti hólyaghoz jobban hasonlító vizelet rezervoárt sikerül kialakítani.

VII. ÉLETMINŐSÉG A GYERMEKKORBAN ÉS SERDÜLŐKORBAN TÖRTÉNŐ HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBITÁST ÉS -PÓTLÁST KÖVETŐEN

Célkitűzés

A betegek életminőségének vizsgálata a gyermek- és serdülőkorban végzett húgyhólyag-megnagyobbítást és -pótlást követően. Kezelés-specifikus életminőségi kérdőív felállítása és validálása (*Suppl. 12*).

Módszer

1988 és 2006 között 67 hólyag-megnagyobbításon és 7 –pótláson átesett beteg életminőségét vizsgáltuk, azon betegeket, akiknél a műtét legalább 1 éve történt és legalább 10 évesek vagy e felettiek voltak (összesen 61 beteg). A betegeket a következő csoportokra osztottuk.

- *A csoport*: meningomyelocele betegek
- *B csoport*: hólyag extrophias betegek
- *C csoport*: eredeti húgycsővön keresztül katéterező betegek
- *D csoport*: hasfali kontinens stomán át katéterező betegek
- *E csoport*: kerekesszékes betegek
- *F csoport*: nem kerekesszékekkel közlekedő, önállóan járó betegek

Harmincyolc kérdésből álló életminőségi kérdőívet alakítottunk ki, melyet a műtétet végző sebészek, az ápolásban részt vevő nővérek, gyermek-pszichológusok, szociológusok és statisztikusok segítségével állítottunk össze.

A két fő részből álló kérdőíveket a betegek és szüleik (vagy gondozójuk) számára postai úton küldtük ki. A kérdőívekre anonim módon, otthonukban, azaz nem kórházi körülmények

között válaszoltak. A kérdőívek első része a műtétet megelőző állapotra, a második része pedig a műtétet követő életminőségre kérdezett rá. A válaszokat 0-3 skálán kértük osztályozni. A kiküldött kérdőív a *Suppl. 12. függeléké*-ben található.

A kérdésekre adott válaszok statisztikai értékelését és analízisét statisztikus segítségével végeztük t-teszttel, Wilcoxon-teszt segítségével és korreláció analízissel.

Eredmények

Ötvennégy hólyagmagnagyobbításon átesett és 7 húgyhólyag-pótláson átesett beteg és szülei számára küldtünk kérdőívet, melyekből 51 (82%) beteg és szülő vagy gondozó válaszolt a feltett kérdésekre. Az 51 betegből 2 csak részlegesen adott választ, így összesen 49 beteg és szülő számára kiküldött kérdőívet tudtunk maradéktalanul értékelni. A 49 kérdőívet visszaküldött betegekből, 21-ben vastagbéllel, 14-ben gyomorral és 9-ben vékonybéllel történt a húgyhólyag magnagyobbítása, 5 betegben húgyhólyagpótlás történt. Húsz lány és huszonkilenc fiú kérdőívét értékeltük.

Az *A csoport*ba 23 meningomyelocellel született beteg, míg a *B csoport*ban 18 hólyag extrophiaival született beteg került. Huszonegy beteg az eredeti urethran keresztül katéterezte magát (*C csoport*), míg 28 kontinens katéterezhető hasfali stomát használt a rezervoár kiürítéséhez (*D csoport*). Hét beteg (*E csoport*) volt kerekesszékes, 42 beteg a mozgásához, járásához nem használt kerekesszéket (*F csoport*).

A kérdésekre adott válaszok statisztikai értékelésénél a válaszok függetlenek voltak a műtéttől eltelt időtől és a betegek életkorától.

A 49 beteg un. szomatikus komponense a műtét előtti (5,22) értékhez képest a műtét után (8,31) emelkedett, az életminőség 5,42-ről 8,02-re emelkedett. Mindkettő szignifikánsnak bizonyult (*Suppl. 12, 1. ábra*).

Az alábbi kérdéseket külön is vizsgáltuk:

A B.1.1.2. kérdésre („Ismételten (ma is) szeretnéd-e, hogy műtét történjen az inkontinencia-javítás céljából?”) 44 beteg (90%) pozitív választ adott és csak 5 beteg válaszolta, hogy nem kívánná újra a műtét elvégzését (*Suppl. 12, 2. ábra*). A 44 beteg összességében a szomatikus státuszát és az életminőségét is jobbnak értékelte.

A B.24-es kérdésre („Könnyebb lett-e az életed a műtétet követően?”) 37 beteg számottevő javulásról, 18 beteg javulásról számolt be.

A betegek a műtétet követő nyomonkövetéssel (munkacsoportunk végzett posztoperatív vizsgálati protokoll) meg voltak elégedve.

Az *A és B csoport* összehasonlításánál azt észleltük, hogy az életminőség a műtétet követően mind a meningomyelocele, mind a hólyag extrophias betegeknél számottevő mértékben javult, bár a meningomyelocele csoportban pelenka vagy betét viselésére gyakrabban volt szükség a műtétet követően (a széklet inkontinencia még komplikálhatta a klinikai képet).

A *C és D csoport* összehasonlításánál a hasfali stomán át katéterező betegek jobb életminőségről számoltak be, mint azok, akik az eredeti urethrán keresztül bocsátották le a vizeletüket. Ez a különbség szignifikánsnak mutatkozott.

Megbeszélés

Annak ellenére, hogy a gyermekkorban történő hólyagmegnagyobbító és –pótló műtétek számos szövődménnyel járhat, az életminőségi vizsgálatok minden betegcsoportban bizonyították, hogy a fenti műtétek szignifikáns mértékben javítják a betegek hosszútávú szomatikus állapotát és a betegek életminőségét.

Validált, gyermekkori kérdőív hiányában az irodalmi adatokkal összevetést nem tehattünk, további hosszútávú prospektív vizsgálatok szükségesek a kérdéskör tanulmányozására. Az általunk kidolgozott kérdőívet számos szerző idézte, ami annak validálását nagymértékben elősegíti.

VIII. A MIKROBIÓTA HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBITÁS UTÁN

Célkitűzés

A mikrobióta vizsgálata a gyermekkorban történt húgyhólyag-megnagyobbítás után (*Suppl. 13*).

Módszer

Etikai bizottsági engedéllyel 12 betegben tanulmányoztuk mikrobiom minőségét és esetleges változását. Hat betegben (3 fiú és 3 lány) ileocystoplastica, míg 6 betegben (3 lány és 3 fiú) colocystoplastica történt. A betegek a hólyag-megnagyobbító műtét kapcsán, perioperatíván hármas kombinációjú antibiotikus kezelést (metronidazol-cefuroxim-gentamycin) kaptak. A posztoperatív időszakban, a vizeletleoltások alapján, pedig célzott antibiotikus kezelés történt. A vizsgálatok a protokoll szerinti nyomonkövetés során a műtétet követő 4. évtől kétévente vett biopsziás mintákból történtek. A biopsziás minták az eredeti hólyagrészt és a hólyagmegnagyobbításra felhasznált vékony- vagy vastagbél-szegmentumot reprezentálták. A mintákat a mintavételeket követően -80 C°-on tároltuk OCT-be ágyazva. A beágyazást, és a -80 C°-os hőmérsékleten történő tárolását követően a minták teljes DNS-ét izoláltuk, majd 16 SrRNS-gén könyvtár preparálása és szekvenálása történt. A mikrobióták génállományának beazonosítása standardizált módszerekkel, a QIIME 2.0 szoftver segítségével történt. A módszertan részletes leírása a *Suppl. 13*-ban található.

Eredmények

Átlagosan a hólyagmegnagyobbítást követően 11 évvel (az ileocystoplasticat követően 12, a colocystoplasticat követően 9 évvel) a következő eredményeket kaptuk:

Az eredeti hólyagrészben a *Corynebacterium*, a *Pseudoxanthomonas*, *Flavobacterium* és a *Micrococcus* volt a leggyakoribb mikrobióta. A bélszegmentumokban a *Corynebacterium*, a *Lactobacillus*, a *Nocardioideae* és *Leucobacter* volt a leggyakoribb mikrobióta. A *Corynebacterium* előfordulása a mintákban mind az eredeti, mind a vékony- vagy vastagbél-szegmentumokban is dominánsnak tűnt (*Suppl. 13, 1. és 2. ábra*).

Megbeszélés

Hasonló vizsgálatokkal a hólyagmegnagyobbító és -pótló műtéteket követően az angol nyelvű irodalomban nem találkoztunk.

A mikrobiom jelenléteért és megváltozásáért elsősorban környezeti faktorok tehetők felelőssé (pH, étrend, emésztő enzimek, fermentáció), melyek nagyban befolyásolják a mikrobiom diverzitását. Minden bélszakasznak megfelelő, sajátos colonisatioja ismert, és ez a húgyhólyag-megnagyobbítás vagy –pótlás során megváltozhat. Az urothelium mikrobiomja a bél mikrobiótáival érintkezve hosszútávon a hólyagmegnagyobbító műtétek utáni komplikációkban, szövődményekben is szerepet játszhat. A mikrobiom és a szövődmények (például – és különösen – a kőképződés és a hisztológiai elváltozások) ok-okozati összefüggése a mai napig nem ismert. A szövődmények pathomechanizmusa továbbra is magyarázatot igényel. A *Corynebacterium* jelenlétét számos húgyúti infekcióban és húgyúti kövességben igazolták, melyek a hólyagmegnagyobbító műtétet követően is komplikációt okozhat.

A kérdéskör szélesebb tanulmányozására további vizsgálatokat tervezünk, melyekben mind az esetszámot, mind pedig a nyomonkövetés hosszát növelni kívánjuk.

IX. AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. *A vastagbéllel, illetve a gyomor-szegmentummal végzett húgyhólyag megnagyobbítás és -pótlás után a betegek kétharmadában valamilyen sebészi szövődmény alakulhat ki, illetve, a műtéteket követően a betegek közel felében további sebészi beavatkozásra kényszerülhetünk. Ugyanakkor a vizelet biztonságos nyomáson történő tárolása és kiürítése a betegek 95%-ában a fenti műtéttel, vagy műtétekkel elérhető, azaz hosszútávon az addig a vizeletükre nézve inkontinens betegek kontinensé tehetőek. A húgyhólyag-megnagyobbítás és -pótlás alkalmas arra, hogy a gyermekek, serdülőkorúak vizelettárolását és –ürítését hosszútávon is megbízhatóan biztosítsa.*
2. *A humán vizsgálatok és az állatkísérletek során nyert szövettani minták hisztológiai értékelése alapján a vastagbéllel, illetve a gyomor-szegmentummal végzett húgyhólyag megnagyobbítás és -pótlás utáni első tíz évben (rövid- és középtáv) az augmentatioval összefüggő malignitás nagy valószínűséggel nem várható. Ennek ellenére a hólyag-augmentatiók és -substitutiók után 5-7 évvel kétevenként, 10 év után évenként javasolt szövettani mintavételt végezni a beteg saját (natív) hólyagjából, az augmentatióra használt tápcsatorna szakaszából valamint a két szövet anasztomózisának vonalából az esetleges pre-malignus szövettani elváltozások korai kórismézése céljából.*
3. *Az urodinámia segítségével gyermekkorban is megállapíthatók a vizelet inkontinencia okai. A vizsgálat fontos adatokat szolgáltat a terápia megválasztásához, és nyomonkövethető vele a konzervatív és a sebészi kezelés eredménye is. A re-augmentatio effektív kezelési lehetőség olyan esetekben, amikor a betegekben a primer húgyhólyag-megnagyobbítással nem sikerül megfelelő kapacitást és/vagy*

tágulékonyságot elérni. Re-augmentatio esetén, függetlenül a primer műtét során használt tápcsatorna szakasz minőségétől, az ileum-szegmentum használata ajánlott.

- 4. Annak ellenére, hogy gyermekkorban történő hólyagmegnagyobbító és –pótló műtétek számos szövődémmel járhatnak, szignifikáns mértékben javítják a betegek hosszútávú szomatikus állapotát és a betegek életminőségét.*
- 5. A hólyagmegnagyobbító műtétek után dominánsan előforduló Corynebacterium jelenlétét számos húgyúti infekcióban és húgyúti kövességben igazolták, melyek a hólyagmegnagyobbító műtétet követően is komplikációt okozhat. A mikrobiom megváltozásának oka és ennek esetleges következménye(i) a hólyagmegnagyobbító műtétek után ismeretlen. Ennek tanulmányozására további vizsgálatok szükségesek.*

X. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA, TOVÁBBI CÉLKITŰZÉSEK

- 1. A munkacsoportunk által operált betegek hosszútávú nyomonkövetése rávilágított arra a tényre, hogy a béllel- vagy gyomorral történő húgyhólyag-megnagyobbítás és –pótlás számos szövődménnyel járhat. A műtét(ek)nek azonban mind a mai napig van létjogosultsága. A műtéti indikáció felállításakor a beteg egészségi állapotát és szociális helyzetét (szülői/gondozói háttérét) is gondosan mérlegelni kell. Olyan műtéti megoldást kell választani, mely nemcsak a beteg egészségi állapotát, hanem a beteg és a család életminőségét is tartósan javítja.*
- 2. A béllel- vagy gyomorral történő húgyhólyag-megnagyobbítás és –pótláson átesett betegek egy életre szóló nyomonkövetést, gondozást igényelnek.*
- 3. A műtétek után kialakuló, a műtéttel összefügsbe hozható malignitás kialakulásának oka és mechanizmusa mind a mai napig ismeretlen. Ezért munkacsoportunk tovább kívánja folytatni ezen szövődmény tudományos igényességű vizsgálatát.*

XI. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

JEGYZÉKE

- 1.) A Doktori pályázat témájában írt közlemények a Ph.D. fokozat megszerzését megelőzően (1-11.):
 - a.) Angol nyelvű közlemények:
 - (1) **Vajda P.**, Kaiser L, Magyarlaki T, Farkas A, Vastyan AM, Pinter AB
Histological findings after colocystoplasty and gastrocystoplasty.
JOURNAL OF UROLOGY 168:(2) pp. 698-701. (2002) **Q1 CIT:39**
 - (2) **Vajda P.**, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyan A M, Oberritter Zs
Metabolic findings after colocystoplasty in children.
BRITISH JOURNAL OF UROLOGY INTERNATIONAL
89:(Suppl. 2) pp. 25-26. (2002) (**Abstract**) **Q1**
 - (3) **Vajda P.**, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyan AM, Oberritter Zs
Metabolic findings after colocystoplasty in children.
UROLOGY 62:(3) pp. 542-546. (2003) **Q1 CIT:14**
 - (4) **Vajda P.**, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyan AM, Oberritter Zs
Metabolic findings after colocystoplasty in children. - Reply
UROLOGY 62:(3) pp. 542-546. (2003) **Q1 CIT:2**
 - b.) Magyar nyelvű közlemények:
 - (5) Farkas A, Pintér A, **Vajda P.**, Juhász Zs, Vástyán A, Oberritter Zs
A húgyhólyag gyermekkorban végzett sebészi megnagyobbításának középtávú eredményei.
ORVOSI HETILAP 142:(30) pp. 1617-1621. (2001) **Q3**
 - (6) Juhász Zs, Oberritter Zs, Farkas A, **Vajda P.**, Vástyán A, Pintér A
Az urodinámia helye a gyermekkori vizeletincontinentiák kezelésének megválasztásában.
REHABILITÁCIÓ 11:(1) pp. 7-9. (2001)
 - (7) **Vajda P.**, Pintér A, Farkas A, Juhász Zs, Vástyán A, Oberritter Zs
A húgyhólyag ismételt megnagyobbítása (re-augmentatio) három eset kapcsán.
MAGYAR UROLÓGIA 14:(3) pp. 207-213. (2002) **Q4**

2.) A Doktori pályázat téziseihez közvetlenül kapcsolódó közlemények a Ph.D. fokozat megszerzését követően (12-28.) – Supplementumok (1-13):

a.) Angol nyelvű közlemények:

- (8) **Vajda P**, Pinter AB, Magyarlaki T, Vastyan AM, Juhasz Zs, Oberitter Zs, Fathi K
Histologic findings after gastrocystoplasty in rabbits.
JOURNAL OF PEDIATRIC SURGERY 40:(9) pp. 1470-1474. (2005)
Q1 CIT:3

- (9) **Vajda P**, Buyukunal CSN, Soylet Y, Danismed N, Juhasz Zs, Pinter AB
A therapeutic method for failed bladder augmentation in children: re-augmentation.
BRITISH JOURNAL OF UROLOGY INTERNATIONAL (BJU INTERNATIONAL) 97:(4) pp. 816-819. (2006) **Q1 CIT:6**

- (10) Juhasz Z, Somogyi R, **Vajda P**, Oberitter Zs, Fathi K, Pinter AB
Does the type of bladder augmentation influence the resolution of pre-existing vesicoureteral reflux? Urodynamic studies.
NEUROUROLOGY AND URODYNAMICS 27:(5) pp. 412-416. (2008)
Q1 CIT:7

- (11) Pinter AB, **Vajda P**, Juhasz Zs
Bladder augmentation in childhood: metabolic consequences and surgical complications - review and own investigations.
JOURNAL OF PEDIATRIC SURGICAL SPECIALTIES 2: pp. 62-67. (2008)

- (12) **Vajda P**, Kispal Z, Lenart I, Pinter A, Farkas A, Vastyán A
Quality of life: urinary bladder augmentation or substitution in children.
PEDIATRIC SURGERY INTERNATIONAL 25:(2) pp. 195-201. (2009)
Q2 CIT:21

- (13) Kispal Z, Balogh D, Erdei O, Kehl D, Juhasz Z, Vastyan AM, Farkas A, Pinter AB, **Vajda P**
Complications after bladder augmentation or substitution in children: a prospective study of 86 patients.
BRITISH JOURNAL OF UROLOGY INTERNATIONAL 108:(2) pp. 282-289. (2011)
Q1 CIT:19

- (14) Kispal Z, **Vajda P**, Kereskai L, Jakab CS, Vastyan AM, Juhasz Z, Pinter AB
Composite urinary reservoir in dogs: histological findings.
JOURNAL OF UROLOGY 187:(3) pp. 1110-1115. (2012)
Q1 CIT:1

- (15) Kispal Z, Kardos D, Jilling T, Kereskai L, Isaacs M, Balogh DL, Pinter AB, Till H, **Vajda P**
Long-term histological and mucin alterations in the neobladder mucosa following urinary bladder augmentation or substitution with gastrointestinal segment.
JOURNAL OF PEDIATRIC UROLOGY 11:(6) pp. 349.e1-349.e6. (2015)
Q2 CIT:4

- (16) Kispál Z, **Vajda P**, Kardos D, Klymiuk I, Moissl-Eichinger C, Castellani C, Singer G, Till H
The local microbiome following pediatric bladder augmentation: Intestinal segments and the native urinary bladder host similar mucosal microbiota.
JOURNAL OF PEDIATRIC UROLOGY 15:(1) pp. 30.e1-30.e7. (2019) **Q1**

b.) Magyar nyelvű közlemények:

- (17) Kispál Z, **Vajda P**, Vástyán A, Juhász Zs, Pintér A
Új kísérletes modell kutyákban: a húgyhólyag gyomorral és béllal történő egyidejű megnagyobbítása – kompozit hólyag.
MAGYAR UROLÓGIA 18:(6) pp. 230-236. (2006) **Q4**
- (18) Vástyán A, Erdei O, Kispál Z, **Vajda P**, Farkas A, Balogh LD, Juhász Zs, Pánczél L, Pintér A
Kőképződés húgyhólyag-megnagyobbítás vagy pótlás után gyermekkorban.
MAGYAR UROLÓGIA 23:(1) pp. 1-6. (2011) **Q4**
- (19) Kispál Z, Jilling T, Vástyán A, Pintér A, **Vajda P**
MUC 1- és 2-fehérje expressziójának változása kutyákban gyomorral és vastagbéllal egyidejűleg megnagyobbított húgyhólyagban.
GYERMEKGYÓGYÁSZAT 63:(1) pp. 24-28. (2012)
- (20) Kardos D, Váradi B, Kispál Z, Kereskai L, Pintér A, **Vajda P**
Patkánymodell ileocystoplasticát követő nyálkahártya-változások vizsgálatára.
MAGYAR UROLÓGIA 28:(1) pp. 12-17. (2016) **Q4**

XII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni néhai **Dr. Tóth Gézának**, volt gimnáziumi biológia tanáromnak, hogy annak idején egy életre belém oltotta a biológia és tudomány iránti szeretet.

Köszönöm tudományos diákköri témavezetőimnek, **Dr. Vástyán Attilának** és **Dr. Farkas Andrásnak**, a segítségét, munkáját és életre szóló barátságát. Ezen medikusi évek vezettek ahhoz a döntéshez, hogy gyermeksebész legyek és munkahelyemnek a Pécsi Tudományegyetem Gyermekgyógyászati Klinikájának sebészeti osztályát választam. Tőlük kaptam a kutatómunkához és a gyermeksebészethez, gyermekurologiához szükséges kíváncsiságot és szemléletet.

Szeretném megköszönni mentoromnak, **Prof. Pintér Andrásnak**, hogy orvostanhallgató koromtól kezdve, egészen haláláig segített és támogatott. Számomra megtisztelő, hogy első Ph.D. hallgatója lehettem. Tapasztalata és segítése nélkül e nemzetközi viszonylatban is számottevő, gyermeksebészeti, gyermekurologiai kollaboráció és kutatómunka nem jöhetett volna létre. Professzor Úr életének utolsó napjáig önzetlenül inspirált, segített és nemcsak felbecsülhetetlenül hasznos tanácsokkal látott el, hanem igazi emberi értékeket mutatott számomra.

Egy több évtizeden átívelő kutatómunka nem jöhet létre egy „igazi csapat” nélkül. E munkacsoport mindvégig állandó tagja ma is **Dr. Juhász Zsolt** és **Dr. Oberitter Zsolt**. A későbbi években Ph.D. hallgatóként **Dr. Kispál Zoltán** és **Dr. Kardos Dániel** segítette és jelenleg is segíti a munkámat. Nagy köszönet e kiváló csapat tagjainak.

Köszönöm a Pécsi Tudományegyetem Gyermekgyógyászati Klinika volt és jelenlegi vezetőinek, **Prof. Soltész Gyulának**, **Prof. Molnár Dénesnek** és **Prof. Decsi Tamásnak** a mindenkori támogatást és biztatást. A sebészeti osztály dolgozóinak, az anyaggyűjtésben, az állatkísérletek elvégzésében és az eredmények értékelésében nyújtott nélkülözhetetlen segítségét.

Az értekezés szerzője köszönetet mond a kollaborációban segítséget nyújtó PTE ÁOK Patológiai Intézetének, Sebészeti Oktató és Kutató Intézetének és Állatkísérletes Laboratoriumának volt és jelenlegi dolgozóinak; **Dr. Magyarlaki Tamásnak**, **Dr. Kaiser Lászlónak**, **Dr. Sükösd Farkasnak**, **Dr. Kereskai Lászlónak** és **Dr. Tornóczki Tamásnak**, **Dr. Lantos Jánosnak** és **Prof. Róth Erzsébetnek**. Külön köszönet **Dr. Jilling Tamásnak**, aki a kutatás molekuláris biológiai módszereiben segített elmélyedni és laboratóriumának

felszerelését is rendelkezésre bocsátotta. **Holger Till Professzornak**, aki a mikrobiom vizsgálatok kapcsán nyújtott segítséget.

Társzerzőimnek, és statisztikusainak **Dr. Harangi Ferencnek, Dr. Fathi Khalednek, Dr. Somogyi Rékának, Dr. Erdei Orsolyának, Dr. Váradi Biankának, Dr. Jakab Csabának, Prof. Czenk Buyukunalnak, Prof. Yunus Soyletnek, Prof. Nur Danismednek, Dr. Jeges Sárának, Lénárt Imrének, Kehl Dánielnek és Balog Dánielnek** is szeretném megköszönni a segítségüket és együttműködésüket.

Végül, de nem utolsó sorban, **Szüleim** támogatása és **Családom** szeretete nélkül sem szakmai, sem tudományos munkámat nem tudtam volna, és most sem tudnám nyugodt körülmények között végezni. Feleségemnek, **Emesének** és három gyermekemnek, **Nórának, Julcsinak és Jocinak** köszönöm, hogy mind a mai napig sokáig engednek a számítógép előtt ülni otthon is.

XIII. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. Pintér A., Vajda P., Farkas A. et al: Incontinentia urinariae gyermekkorban – kórismézés és kezelés, pécsi algoritmus. Gyermekgyógyászat. 2001; 52:609-618.
2. Juhász Zs., Janisch M., Hock A. et al: Az urodinámia hely és értéke gyermekekben végzett húgyhólyag-megnagyobbítás és -pótlás nyomán követésében. Orv. Hetil. 2000; 141:1561-1566.
3. Juhász Zs., Oberritter Zs., Farkas A. et al: Az urodinámia helye a gyermekkori vizeletinkontinenciák kezelésének megválasztásában. Rehabilitáció. 2001; 11:7-9.
4. Guys J.M., Henry G., Haddad M. et al.: Neurogenic Bladder in Children: Basic Principles, New Therapeutic Trends. Scand. J. Surg. 2011; 100:256-263.
5. Pytel Á: A vizelettárolási zavarok terminológiája. in Katona F., Hamvas A., Klauber A. Inkontinencia: Diagnosztika, Terápia, Rehabilitáció. pp.83. Medicina Könyvkiadó ZRT. Budapest
6. Mahanta K., Medhi B., Kaur B. et al.: Comparative efficacy and safety of extended-release and instant-release tolterodine in children with neural tube defects having cystometric abnormalities. J. Ped. Urol. 2008; 4:118-123.
7. Mehnert U., Nehiba M.: Neurourológische Funktionsstörungen des unteren Harntraktes bei Erkrankungen des ZNS. Urologe A. 2012; 51:189-197.
8. Giramonti K.M., Kogan B.A., Halpern L.F.: The effects of anticholinergic drugs on attention span and short-term memory skills in children. Neurourol. Urodyn. 2008; 27:315–318.
9. Hagerty J.A., Richards I., Kaplan W.E.: Intravesical electrotherapy for neurogenic bladder dysfunction: a 22-year experience. J. Urol. 2007; 178:1680-1683.
10. Katona F., Eckstein H.B.: Treatment of Neuropathic Bladder by Transurethral Electrical Stimulation. The Lancet. 1974; 303:780-781.
11. MacDiarmid S.A., Peters K.M., Shobeiri S.A. et al.: Long-term durability of percutaneous tibial nerve stimulation for the treatment of overactive bladder. J. Urol. 2010; 183:234-240.
12. Peters K.M., Macdiarmid S.A., Wooldridge L.S. et al.: Randomized trial of percutaneous tibial nerve stimulation versus extended release tolterodine: results from the overactive bladder innovative therapy trial. J. Urol. 2009; 182:1055-1061.

13. Capitanucci M.L., Camanni D., Demelas F. et al: Long-term efficacy of percutaneous tibial nerve stimulation for different types of lower urinary tract dysfunction in children. *J. Urol.* 2009; 182: 2056–2061.
14. Oerlemans D.J., van Kerrebroeck P.E.: Sacral nerve stimulation for neuromodulation of the lower urinary tract. *Neurourol. Urodyn.* 2008; 27:28–33.
15. Lordêlo P., Teles A., Veiga M.L. et al.: Transcutaneous electrical nerve stimulation in children with overactive bladder: a randomized clinical trial. *J. Urol.* 2010; 184:683–689.
16. Guys J.M., Haddad M., Planche D. et al.: Sacral neuromodulation for neurogenic bladder dysfunction in children. *J. Urol.* 2004; 172:1673-1676.
17. Neel K.F., Salem M., Soliman S.: Total endoscopic management (TEM approach) of children with noncompliant neuropathic bladder: a preliminary report. *J. Ped. Urol.* 2008; 4:124-126.
18. Adams M.C, Joseph D.B., Thomas J.C.: Urinary Tract Reconstruction in Children. In: *Campbell-Walsh Urology*. 11th edition, Elsevier – Philadelphia, 2016; 3330-3367.
19. Duel B.P., Gonzalez R., Barthold J.S.: Alternative techniques for augmentation cystoplasty. *J. Urol.* 1998; 159:998-1005.
20. Mitchell M.E., Rink R.C., Adams M.C.: Augmentation cystoplasty implantation of urinary sphincter in men and women and reconstruction of the dysfunctional urinary tract. In: *Campbell's Urology*. 6th edition, WB Saunders – Philadelphia, 1992; 2654-2716.
21. Wolf J.S. Jr., Turzan C.W.: Augmentation ureterocystoplasty. *J. Urol.* 1993; 149:1095-1098.
22. Cartwright P.C., Snow B.W.: Bladder autougmentation: partial detrusor excision to augment the bladder without use of bowel. *J. Urol.* 1989; 142:1050-1053.
23. Shoemaker W.C., Marucci H.D.: The experimental use of seromuscular grafts in bladder reconstruction: preliminary report. *J. Urol.* 1955; 74:314.
24. Kock N.G., Nelson A.E, Nelsson L.O. et al: Urinary diversion via a continent ileal reservoir: clinical results in 12 patients. *J. Urol.* 1982; 128:469-475.
25. Elder D.D., Moisey C.U., Rees R.W.M.: A long term follow up of the colonic conduit operation in children. *Br. J. Urol.* 1983; 55:629-631.
26. Stein R., Fisch M., Beetz R. et al: Urinary diversion in children and young adults using the Mainz Pouch I technique. *Br. J. Urol.* 1997; 79:354-361.

27. Rink R.C., Cain M.P.: Urinary diversion. In: Clinical Pediatric Urology. 4th edition, Martin Dunitz – London, 2002; 491-528.
28. Szabó Z., Géczy I., Furka I.: A húgyhólyag teljes pótlása protézissel kutyában. Magyar Urológia. 2000; 12:139-144.
29. Atala A.: Tissue engineering of human bladder. Br. Med. Bulletin. 2011; 97:81-104.
30. Duckett J.W., Snyder H.M.III.: Continent urinary diversion: variations on the Mitrofanoff principle. J. Urol. 1986; 135:58-60.
31. Monti P.R., Lara R.C., Dutra M.A. et al: New techniques for construction of efferent conduits based on the Mitrofanoff principle. Urology. 1997; 49:112-115.
32. Leadbetter G. Jr.: Surgical correction of total urinary incontinence. J. Urol. 1964; 91:261-264.
33. Dees J.: Congenital epispadiasis with incontinence. J. Urol. 1949; 62: 513-522.
34. Kroop K., Angwafo F.: Urethral lengthening and reimplantation for neurogenic incontinence in children. J. Urol. 1986; 135:533-536.
35. Salle J.L., McLorie G.A., Bägli D.J. et al.: Urethral lengthening with anterior bladder wall flap (Pippi Salle procedure): modifications and extended indications of the technique. J. Urol. 1997; 158:585-590.
36. McGuire E., Wang C., Usitalo H. et al: Modified pubovaginal sling in girls with myelodysplasia. J. Urol. 1986; 135:94-96.
37. Politano V., Small M., Harper J. et al: Periurethral teflon injection for urinary incontinence. J. Urol. 1974; 111:180-183.
38. Nurse D.E., Mundy A.R.: Metabolic complications of cystoplasty. Br. J. Urol. 1989; 63:165-170.
39. McDougal W.S.: Metabolic complications of urinary intestinal diversion. J. Urol. 1992; 147:1199-1208.
40. Mills R.D., Studer U.E.: Metabolic consequences of continent urinary diversion. J. Urol. 1999; 161:1057-1066.
41. Gosalbez R. Jr., Woodard J.R., Broecker B.H et al: Metabolic complication of the use of stomach for urinary reconstruction. J. Urol. 1993; 150:710-712.
42. Nguyen D.H., Bain M.A., Salamonson K.L. et al: The syndrome of dysuria and hematuria in pediatric urinary reconstruction with stomach. J. Urol. 1993; 150:707-709.

43. Plawker M.W., Rabinowitz S.S., Etwaru D.J. et al: Hypergastrinemia, dysuria-hematuria and metabolic alkalosis: complications associated with gastrocystoplasty. *J. Urol.* 1995; 154:546-549.
44. Plaire J.D., Snodgrass W.T, Grady R.W. et al: Long-term followup of the hematuria-dysuria syndrome. *J. Urol.* 2000; 164:921-923.
45. Bauer S.B., Hendren W.H., Kozakeiwich H. et al: Perforation of the augmented bladder. *J. Urol.* 1992; 148:699-703.
46. Reinberg Y., Manivel J.C., Froemming C. et al: Perforation of the gastric segment of an augmented bladder secondary to peptic ulcer disease. *J. Urol.* 1992; 148:369-371.
47. Celayir S., Goksel S., Unal T. et al: *Helicobacter pylori* infection in a child with gastric augmentation. *J. Pediatr. Surg.* 1997; 32:1757-1758.
48. Celayir S., Goksel S., Buyunkunal S.N. et al: The relationship between *Helicobacter pylori* infection and acid-hematuria syndrome in pediatric patients with gastric augmentation-II. *J. Pediatr. Surg.* 1999; 34:532-535.
49. McDougal W.S., Koch M.O., Shands C. et al: Bony demineralisation following urinary intestinal diversion. *J. Urol.* 1988; 140:853-855.
50. Koch M.O., McDougal W.S., Thompson C.O.: Mechanisms of solute transport following urinary diversion through intestinal segments: an experimental study with rats. *J. Urol.* 1991; 146:1390-1394.
51. Mundy A.R., Nurse D.E.: Calcium balance, growth and skeletal mineralisation in patients with cystoplasties. *Br. J. Urol.* 1992; 69:257-259.
52. Ekman I., Mansson W., Nyberg L.: Absorption of drugs from continent caecal reservoir for urine. *Br. J. Urol.* 1989; 64:412-415.
53. Sridhar K.N., Samuell C.T., Woodhouse C.R.: Absorption of glucose from urinary conduits in diabetics and non-diabetics. *Br. Med. J.* 1983; 287:1327-1328.
54. Kronner K.M., Casale A.J., Cain M.P. et al: Bladder calculi in the pediatric augmented bladder. *J. Urol.* 1998; 160:1096-1098.
55. Kaefer M., Hendren W.H., Bauer S.B. et al: Reservoir calculi: a comparison of reservoirs constructed from stomach and other enteric segments. *J. Urol.* 1998; 160:2187-2190.
56. Filmer R.B., Spencer J.R.: Malignancies in bladder augmentations and intestinal conduits. *J. Urol.* 1990; 143:671-678.

57. Barrington J.W., Fulford S., Griffiths D. et al: Tumors in bladder remnant after augmentation enterocystoplasty. *J. Urol.* 1997; 157:482-485.
58. Gregoire M., Kantoff P., DeWolf W.C.: Synchronous adenocarcinoma and transitional cell carcinoma of the neobladder associated with augmentation: case report and review of the literature. *J. Urol.* 1993; 149:115-118.
59. Nahas W.C., Iizuka F.H., Mazzucchi E. et al: Adenocarcinoma of an augmented bladder 25 years after ileocystoplasty and 6 years after renal transplantation. *J. Urol.* 1999; 162:490-491.
60. Giannini O., Friedli A., Scharli F.: Sigmoid adenocarcinoma complicating ureterosigmoideostomy. *Pediatr. Surg. Int.* 1998; 14:124-126.
61. Nurse D.E., Mundy A.R.: Assessment of the malignant potential of cystoplasty. *Br. J. Urol.* 1989; 64:489-492.
62. Rove K.O., Higuchi T.T.: Monitoring and malignancy concerns in patients with congenital bladder anomalies. *Curr. Opin. Urol.* 2016; 26:344-350.
63. Husmann D.A.: Mortality following augmentation cystoplasty: A transitional urologist's viewpoint. *J. Ped. Urol.* 2017; 13:358-364.
64. Rove K.O., Husmann D.A., Wilcox D.T. et al.: Systematic review of bladder cancer outcomes in patients with spina bifida. *J. Ped. Urol.* 2017; 13:456.e1-456e9.
65. **Vajda P.**, Pinter A.B., Harangi F. et al.: Metabolic findings after colcystoplasty in children. *Urol.* 2003; 62:542-546.
66. Farkas A., Pintér A., **Vajda P.** et al.: A húgyhólyag gyermekkorban végzett sebészi megnyagyobbításának középtávú eredményei. *Orv. Hetil.* 2001; 142:1617-1621.
67. **Vajda P.**, Kaiser L., Magyarlaki T. et al.: Histological findings after colcystoplasty and gastrocystoplasty. *J Urol.* 2002; 168:698-701.
68. Jia Y., Persson C., Hou L. et al.: A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer. *Cancer Causes Control.* 2010; 21:313-321.
69. Kim Y.S.: Mucin glycoproteins in gastrointestinal malignancies and metastasis. *Eur J Gastroent. Hepatol.* 1993; 5:219-225.
70. Castro M.A., Ferreira U., Martins M.H. et al.: Histological and histochemical changes of the intestinal mucosa at the urothelial-enteric anastomotic site. *Int. Braz. J. Urol.* 2006; 32:222-7.

71. Tulskey D.S., Kisala P.A., Victorson D. et al.: Overview of the Spinal Cord Injury – Quality of Life (SCI-QOL) measurement system. *J. Spinal. Cord. Med.* 2015; 38:257-269.
72. Thomas S., Izard J., Walsh E. et al.: The Host Microbiome Regulates and Maintains Human Health: A Primer and Perspective for Non-Microbiologists. *Cancer. Res.* 2017; 77:1783-1812.

XIV. SUPPLEMENTUMOK

- S.1. Kispal Z., Balogh D., Erdei O. et al.: Complications after bladder augmentation or substitution in children: a prospective study of 86 patients. BJU Int. 2011; 108:282-289.
- S.2. Pinter A.B., **Vajda P.**, Juhasz Zs. et al.: Bladder augmentation in childhood: metabolic consequences and surgical complications - review and own investigations. J. Ped. Surg. Spec. 2008; 2:62-67.
- S.3. Vástyán A., Erdei O., Kispál Z. et al.: Kőképződés húgyhólyag-megnagyobbítás vagy pótlás után gyermekkorban. Magyar Urol. 2001; 23:1-6.
- S.4. Kispal Z., Kardos D., Jilling T. et al.: Long-term histological and mucin alterations in the neobladder mucosa following urinary bladder augmentation or substitution with gastrointestinal segment. J. Ped. Urol. 2015; 11:349.e1-349.e6.
- S.5. **Vajda P.**, Pinter A.B., Magyarlaki T. et al.: Histologic findings after gastrocystoplasty in rabbits. J. Ped. Surg. 2005; 40:1470-1474.
- S.6. Kispál Z., **Vajda P.**, Vástyán A. et al.: Új kísérletes modell kutyákban: a húgyhólyag gyomorral és béllal történő egyidejű megnagyobbítása – kompozit hólyag. Magyar Urol. 2006; 18:230-236.
- S.7. Kispal Z., **Vajda P.**, Kereskai L. et al.: Composite urinary reservoir in dogs: histological findings. J. Urol. 2012; 187:1110-1115.
- S.8. Kispál Z., Jilling T., Vástyán A. et al.: MUC1- és 2-fehérje expressziójának változása kutyákban gyomorral és vastagbéllal egyidejűleg megnagyobbított húgyhólyagban. Gyermekgyógyászat 2012; 63:24-28.
- S.9. Kardos D., Váradi B., Kispál Z. et al.: Patkánymodell ileocystoplasticát követő nyálkahártya-változások vizsgálatára. Magyar Urol. 2016; 28:12-17.
- S.10. **Vajda P.**, Buyukunal C.S.N., Soylet Y. et al.: A therapeutic method for failed bladder augmentation in children: re-augmentation. BJU. Int. 2006; 97:816-819.

- S.11.** Juhasz Z., Somogyi R., **Vajda P.** et al.: Does the type of bladder augmentation influence the resolution of pre-existing vesicoureteral reflux? Urodynamic studies. Neurourol urodyn. 2008; 27:412-416.
- S.12.** **Vajda P.**, Kispal Z., Lenart I. et al.: Quality of life: urinary bladder augmentation or substitution in children. Ped. Surg. Int. 2009; 25:195-201.
- S.13.** Kispal Z., **Vajda P.**, Kardos D. et al.: The local microbiome following pediatric bladder augmentation: Intestinal segments and the native urinary bladder host similar mucosal microbiota. J. Ped. Urol. 2019; 15:30.e1-30.e7

Complications after bladder augmentation or substitution in children: a prospective study of 86 patients

Zoltan Kispal, Daniel Balogh*, Orsolya Erdei, Daniel Kehl*, Zsolt Juhasz, Attila M. Vastyan, Andras Farkas, Andras B. Pinter and Peter Vajda

Department of Pediatrics, Surgical Unit, and *Faculty of Economics, University of Pecs, Pecs, Hungary

Accepted for publication 21 July 2010

Study Type – Therapy (case series)
 Level of Evidence 4

OBJECTIVE

- To evaluate complications after urinary bladder augmentation or substitution in a prospective study in children.

PATIENTS AND METHODS

- Data of 86 patients who underwent urinary bladder augmentation (80 patients) or substitution (6 patients) between 1988 and 2008 at the authors' institute were analysed.
- Ileocystoplasty occurred in 32, colocolocystoplasty in 30 and gastrocystoplasty in 18. Urinary bladder substitution using the large bowel was performed in six patients.
- All patients empty their bladder by intermittent clean catheterization (ICC), 30 patients via their native urethra and 56 patients through continent abdominal stoma. Mean follow-up was 8.6 years.
- Rate of complications and frequency of surgical interventions were statistically analysed (two samples *t*-test for proportions) according to the type of gastrointestinal part used.

RESULTS

- In all, 30 patients had no complications. In 56 patients, there were a total of 105

What's known on the subject? and What does the study add?

A lot of information has been gathered on the subject of *complications following urinary bladder augmentation and/or substitution* in the recent years. The present study, based on the analysis of 86 patients, gives a critical analysis of these complications (stone formation, bowel obstruction, hematuria-dysuria syndrome, small bowel bacterial overgrowth, persistent vesico-ureteral reflux, obstruction at the site of ureteral reimplantation, reservoir perforation, premalignant histological changes, decreased bladder capacity/compliance requiring reaugmentation, etc.).

The study adds one more new complication (*small bowel colonization following colocolocystoplasty performed with the cecum and ascending colon*) and reports complications in a fairly big (by European standards) cohort of patients with a long follow-up.

complications (39 bladder stones, 16 stoma complications, 11 bowel obstructions, 5 reservoir perforations, 7 VUR recurrences, 1 ureteral obstruction, 4 vesico-urethral fistulae, 4 orchido-epididymitis, 4 haematuria-dysuria syndrome, 3 decreased bladder capacity/compliance, 3 pre-malignant histological changes, 1 small bowel bacterial overgrowth and 7 miscellaneous).

- In 25 patients, more than one complication occurred and required 91 subsequent surgical interventions. Patients with colocolocystoplasty had significantly more complications ($P < 0.05$), especially more stone formation rate ($P < 0.001$) and required more post-operative interventions ($P < 0.05$) than patients with gastrocystoplasty and ileocystoplasty.

CONCLUSIONS

- Urinary bladder augmentation or substitution is associated with a large number of complications, particularly after colocolocystoplasty.
- Careful patient selection, adequate preoperative information and life-long follow-up are essential for reduction, early detection and management of surgical and metabolic complications in patients with bladder augmentation or substitution.

KEYWORDS

urinary bladder augmentation, substitution, complication, children, adolescents

INTRODUCTION

The causes of urinary incontinence in children are mostly innate diseases, such as meningomyelocele (MMC), exstrophy of the

urinary bladder, epispadias or acquired diseases, such as tumours or trauma. In the past decades, surgical treatment of children and young adolescents with urinary incontinence has moved from incontinent

urinary diversion to continent diversion with ICC or artificial sphincters [1]. In 80% of the cases, especially in the case of a neuropathic urinary bladder, urinary incontinence can be managed conservatively by intermittent

TABLE 1 Indications for urinary bladder augmentation or substitution

• Meningocele	43
• Exstrophy-epispadias complex	24
• Neurogenic bladder	7
• Anomalies of the anorectum	5
• Pelvic trauma	2
• Spinal cord tumour	1
• Sacral dysgenesis	1
• Posterior urethral valves	1
• Caudal regression syndrome	1
• Tumour	1
Total	86

clean catheterization (ICC) and anticholinergic drugs. The indications for augmentation in this group of patients are low bladder compliance and/or capacity which can not be treated conservatively. Bladder augmentation or substitution with continent urinary diversion through an abdominal wall stoma or ICC per urethram improves health-related quality of life (HRQL) in many patients [2,3]. However, numerous complications can occur after surgery, which can be divided into two main categories:

1 Metabolic and histological complications:

- Electrolyte and acid-base alterations (alkalosis or acidosis, depending on the type of the gastrointestinal segment used for augmentation), disturbances in bone metabolism, impaired linear growth and/or vitamin deficiencies are some metabolic complications.
- Malignant histological alterations of the native bladder and the gastrointestinal segment used for augmentation might also be partially explained through metabolic causes.

2 Non-metabolic (mainly surgical) complications:

- Bowel obstruction, stone formation in the neobladder, perforation of the reservoir, vesico-urethral fistula, VUR, stoma complications, haematuria-dysuria syndrome (HDS), re-augmentation etc.

Of course, there is an overlap between the two categories. Authors of the present study have already reported the metabolic and histological alterations and HRQL issues of their patients with urinary bladder augmentation or substitution in their previous publications [2,4–6]. We now believe

- Stone formation
- Abdominal wall stoma complications
- Bowel obstruction
- Reservoir perforation
- Persistency of VUR after re-implantation of the refluxing ureter
- Obstruction at the site of ureteral re-implantation
- Complications of bladder neck closure
 - Vesico-urethral fistula
 - Orchioepididymitis
- Haematuria-dysuria syndrome
- Decreased bladder compliance/capacity requiring reaugmentation
- Pre-malignant histological changes
- Small bowel bacterial overgrowth
- Miscellaneous complications

TABLE 2 Complications after bladder augmentation or substitution

it is useful and necessary to analyse the 'mainly surgical' complications in these patients in the long term, in order to answer the question: which part of the gastrointestinal system is most suitable for urinary bladder augmentation? Therefore, the aim of the present study was to evaluate short- and long-term surgical complications, and their frequency and occurrence, depending on the type of gastrointestinal tissue used for bladder augmentation or substitution in childhood.

PATIENTS AND METHODS

Between 1988 and 2008, 86 patients underwent bladder augmentation (80/86) or substitution (6/86) at the authors' institute. The distribution of the pathologies included in the present study is listed in Table 1. Bladder augmentation was performed using the small bowel (ileocystoplasty) in 32, the large bowel (colocystoplasty) in 30 and the stomach (gastrocystoplasty) in 18 patients. All augmentations were performed by two senior surgeons (A.B.P. and A.F.). In the six patients undergoing urinary bladder substitution, only the large bowel was used. Mean age at the time of the operation was 12.5 years (4.3–20.9 years). Mean follow-up time was 8.6 years (1–20 years).

All patients empty their bladders using ICC. Thirty patients (35%) use their urethra for catheterization. Out of the 86 patients, 56 (65%) continent, catheterizable abdominal wall stomas were created using the Mitrofanoff principle with augmentation or substitution simultaneously. The appendix was used to create an abdominal wall stoma in 46 cases, the small bowel (Monti fistula) in 4 patients and the ureter in 6 patients.

Out of the 86 patients, 14 needed bladder neck closure, 5 patients simultaneously with augmentation and 9 patients later, because of otherwise non-treatable bladder neck incompetency. In 17 cases, as a result of VUR, ureteral re-implantation was performed at the time of bladder augmentation.

The patients took part in long-term follow-ups using a strict protocol. US scans, cystography, isotope studies, uroflowmetry and laboratory (blood and urine tests) which were run preoperatively, were repeated at 3, 6, 12 months postoperatively. There were yearly follow-ups in the first 4 postoperative years, then, on a biannual basis, even into adulthood. Tissue samples from the native urinary bladder and the gastrointestinal part(s) used for augmentation or substitution were taken at the time of surgery, first at 4 years postoperatively, then biannually. The complications related to bladder augmentation or substitution were prospectively recorded and analysed (Table 2).

With the help of statisticians (D.K., D.B.) for the statistical analysis, Student's *t*-test, Wilcoxon's signed rank test and linear correlation analysis were used with the help of statistical software SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). If a *P*-value is not indicated, conclusions were drawn at a 5% level of significance.

The study was approved by the University Ethical Committee.

RESULTS

The rate of complications and number of interventions after augmentation or

TABLE 3 Number of patients with the complications (first column) and rate of interventions (second column) after urinary bladder augmentation or substitution

	No. of patients/ complications*	No. of interventions*
Stone formation	20/39	34
Abdominal wall stoma complications	16/16	22
Bowel obstruction	8/11	11
Reservoir perforation	5/5	2
Persistence of VUR after re-implantation of the refluxing ureter	5/7	7
Obstruction at the site of ureteral re-implantation	1/1	1
Complications of bladder neck closure:		
Vesico-urethral fistula	4/4	2
Orchido-epididymitis	4/4	1
Haematuria-dysuria Syndrome	4/4	2
Decreased bladder capacity/compliance requiring re-augmentation	3/3	3
Pre-malignant histological changes	3/3	0
Small bowel bacterial overgrowth	1/1	0
Miscellaneous complications	7/7	6
Total	81/105	91

*In 25 (29%) patients more than one complication occurred and surgical interventions were needed.

substitution are listed in Table 3. One hundred and five complications occurred in 56/86 patients (65%). Out of these 56 patients, 25 had two or more complications. Altogether, 81 patients needed 91 surgical interventions after augmentation/substitution which is 1.05 (91/86) interventions per patient. Sixteen patients had one, 7 had two and 14 had three or more surgical interventions.

STONE FORMATION

Stone formation occurred in 20 patients (23%). Out of these 20 patients, 16 had colcystoplasty, 2 had ileocystoplasty, 1 had gastrocystoplasty and 1 patient had bladder substitution. The mean time from augmentation to the first stone episode was 3.9 years (5 months to 13 years). Stones formed twice in 7 patients, 3 times in 1 patient, 5 times in 1 patient and 7 times in 1 patient. Altogether, there were 34 interventions in cases of stone formation. Open surgery was used 22 times to remove these stones and cystoscopy was used 11 times. In one patient, the stone was removed by percutaneous vesicolithotomy after extracorporeal shockwave lithotripsy. The recurrence rate of stones after open or endoscopic stone removal was 50% (10/20). Sixteen of the 30 patients who underwent colcystoplasty (53%) developed stones. Some of them were giant (Fig. 1).

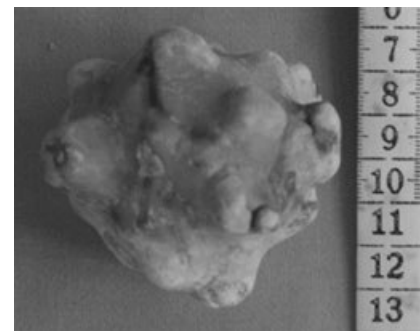
ABDOMINAL WALL STOMA COMPLICATIONS

At the time of the augmentation, 48 continent abdominal wall stomas were created. Forty of them were appendiceal, 2 were Monti and 6 were ureteral fistulae. Because of persistence of urinary incontinence in 6 patients and HDS in 2 patients, 8 further abdominal wall stomas were created using the appendix. Therefore, presently we have 56 patients (65%) using continent, catheterizable abdominal wall stomas. Mean time from augmentation and stoma creation to the first problems was 6.6 years (1 month to 16 years). Sixteen patients needed to undergo surgical intervention because of various stoma problems. Altogether, there were 22 stoma revisions performed in 16 patients after appendicovesicocutaneostomy. Stenosis at the skin level was observed in 4 patients, incontinence in 4, difficult catheterization (redundancy) in 6 and prolapse and bleeding in 2. In one patient, two interventions were performed. In the remaining five patients, a peristomal Deflux injection became necessary as a result of leakage. No complications were seen with the ureteral and Monti stomas.

BOWEL OBSTRUCTION

Eight patients (9%) presented with bowel obstruction and surgery was needed 11 times. Of these 8 patients, 3 underwent

FIG. 1 Giant stone after removal from a neo-bladder augmented with the large intestine.



colocystoplasty, 3 ileocystoplasty, 1 gastrocystoplasty and 1 substitution. Time from surgery to obstruction varied from 6 days to 7 years. In four patients, the obstruction developed in the first postoperative month. Surgical exploration of the cases revealed that adhesions were the aetiologic factor. The site of the obstruction was the ileum in seven patients and the large intestine in one. One patient with gastrocystoplasty had three episodes of bowel obstruction.

RESERVOIR PERFORATION

We encountered five patients with reservoir perforation. Two of them had colcystoplasty, two had ileocystoplasty and one had gastrocystoplasty. The time elapsed from operation to perforation ranged from 2 days to 11 years. Out of these, only two patients needed surgical intervention: in one patient the anastomotic suture line leakage led to urine peritonitis on the 2nd postoperative day (Fig. 2); in the other, a 14-year-old boy, blunt abdominal trauma (bicycle handlebar injury) caused perforation and necessitated surgical exploration. In the other three patients, perforation was treated conservatively (bladder drainage with broad spectrum antibiotics).

PERSISTENCE OF VUR AFTER RE-IMPLANTATION OF REFLUXING URETER

At the time of augmentation or substitution, 33 patients had VUR. Out of these 33, 19 underwent ureter neoimplantation simultaneously with augmentation or substitution. During follow-up, five patients needed further surgical intervention(s) (subureteric Teflon or Deflux injection or redo- ureteric reimplantation) as a result of

FIG. 2. Cystography performed 2 days after cololecystoplasty; the arrows indicate where the contrast material escapes the bladder, indicating the insufficiency of the anastomosis between the native bladder and the intestinal segment used for augmentation.



persistent reflux, one of them three times. Two out of these five patients had ileocystoplasty, one gastrocystoplasty, one cololecystoplasty and one bladder substitution.

OBSTRUCTION AT THE SITE OF URETERAL RE-IMPLANTATION

Seven patients underwent ureter re-implantation simultaneously with bladder augmentation because of pre-existing ureterovesical obstruction. Re-stenosis at the site of the re-implantation requiring a second surgery was noted in one patient 2 years postoperatively, after gastrocystoplasty.

COMPLICATIONS OF BLADDER NECK CLOSURE

Fourteen out of 80 patients had bladder neck closure, 5 patients simultaneously with bladder augmentation and 9 patients later. In 4 patients, a vesico-urethral fistula developed after cololecystoplasty. Two patients had MMC and two had bladder exstrophy. Two fistulae closed spontaneously after 3 weeks of bladder drainage. In one case, Teflon injection resulted in occlusion of the fistula and in the fourth patient, surgical closure became necessary. Four patients developed orchidoepididymitis. As a result of diagnostic difficulties (suspicion of torsion of the testis), surgical exploration was performed in one patient.

HAEMATURIA-DYSURIA SYNDROME

Out of 18 patients with gastrocystoplasty, 4 developed HDS. Two of them could be treated using H₂-blockers, the other two required surgery wherein the bladder neck was closed

and a continent, catheterizable abdominal wall stoma was created.

DECREASED BLADDER CAPACITY/ COMPLIANCE REQUIRING RE-AUGMENTATION

Re-augmentation became necessary in three patients as a result of decreased bladder capacity, increased intravesical pressure and/or deteriorating renal morphology. Two out of these three patients had previously undergone cololecystoplasty and one had undergone a gastrocystoplasty. Time interval from primary augmentation to reaugmentation was 3, 4 and 8 years, respectively. Re-augmentation was performed with the ileum in two patients and with the large bowel in one patient.

PREMALIGNANT HISTOLOGICAL CHANGES

No malignancy was found, however, premalignant histological changes were detected in one colonic segment, in one native bladder and in one anastomotic line during regular tissue sampling from the augmented bladder in 3 of our patients 9, 10, and 14 years after augmentation, respectively. Two of them were squamous cell metaplasia and the one in the anastomotic-line was a polyp-like growth.

SMALL BOWEL BACTERIAL OVERGROWTH (SBBO) (COLONIZATION OF THE SMALL BOWEL)

We have experienced this rare complication in only one patient after an otherwise successful cololecystoplasty with a continent appendiceal abdominal wall stoma. In this 15-year-old boy, drug-resistant diarrhoea developed 8 years after augmentation with the ascending colon and caecum which involved the Bauhin valve and appendix.

MISCELLANEOUS SURGICAL COMPLICATIONS

In all, there were three patients with abdominal wall hernias, necessitating surgery after augmentation. One patient developed an iliac artery thrombosis shortly after surgery. Decubitus (1 patient) and secondary wound healing (2 patients) occurred in three patients, which were successfully treated conservatively.

The number of patients with complications (Table 4) and the number of those patients in whom surgical interventions were performed because of these complications (Table 5) were compared, depending on the type of tissue used for augmentation or substitution. Patients augmented or substituted with the colon had significantly higher numbers of complications than those who were augmented with the small bowel or a gastric segment (two-samples proportion test, $P < 0.05$). Frequency of surgical interventions depending on the type of tissue used for augmentation was also significantly higher in cases of cololecystoplasty than in ileo- or gastrocystoplasty (two-samples proportion test, $P < 0.05$). These statements about complications and surgical interventions being more frequent following cololecystoplasty than after ileo- or gastrocystoplasty were also valid even if we did not take into account the stone-related complications and the subsequent number of interventions performed for removal of those stones. Stones were the most frequent complication in patients with cololecystoplasty (two-samples t -test assuming equal proportions, $P < 0.001$).

DISCUSSION

Despite the prospective nature of the present study, it is subject to numerous imperfections. As a result of the large number of variables, we have tried to maximize simplicity and minimize inaccuracy in our work. We were unable to analyse numerous pertinent risk data, such as surgical technical details, catheterization frequency and efficacy, the number of urinary infections and complete urodynamic and medical management etc.. However, we are confident that we have captured an accurate representation of significant surgical complications in the bladder augmentation population.

In all, 65% of our patients had one or more surgical complication, and 43% of our patients needed to undergo various surgical interventions after augmentation or substitution. Also, previous series have demonstrated significant morbidity. Herschorn *et al.* [7] presented a reoperation rate of 36% in patients with bladder augmentation as a result of a neurogenic bladder. In Shekarriz's study [8], 39% of their patients suffered significant surgical complications, requiring reoperation.

TABLE 4 Number of patients with surgical complications depending on the type of tissue used for augmentation or substitution of the bladder

Complication	Colocystoplasty n = 30	Gastrocystoplasty n = 18	Ileocystoplasty n = 32	Substitution n = 6	Total number of patients
Stone formation	16	1	2	1	20
Abdominal wall stoma complications	6	2	5	3	16
Bowel obstruction	3	1	3	1	8
Reservoir perforation	2	1	2	–	5
Persistence/development of VUR after re-implantation	1	1	2	1	5
Obstruction at the site of re-implantation	–	1	–	–	1
Vesico-urethral fistula	4	–	–	–	4
Orchidoepididymitis	4	–	–	–	4
Haematuria- dysuria syndrome	–	4	–	–	4
Decreased bladder capacity/compliance requiring re-augmentation	2	1	–	–	3
Pre-malignant histological changes	2	1	–	–	3
Small bowe bacterial overgrowth	1	–	–	–	1
Miscellaneous complications	2	2	2	1	7
Total	43	15	16	7	81

TABLE 5 Number of surgical interventions depending on the type of tissue used for augmentation or substitution of the bladder

Intervention	Colocystoplasty n = 30	Gastrocystoplasty n = 18	Ileocystoplasty n = 32	Substitution n = 6	Total number of interventions
Stone formation	29	1	3	1	34
Abdominal wall stoma complications	11	2	6	3	22
Bowel obstruction	3	4	3	1	11
Reservoir perforation	1	1	–	–	2
Persistence of VUR after re-implantation	1	1	2	3	7
Obstruction at the site of re-implantation	–	1	–	–	1
Vesico-urethral fistula	2	–	–	–	2
Orchidoepididymitis	1	–	–	–	1
Haematuria-dysuria syndrome	–	2	–	–	2
Decreased bladder capacity/compliance requiring re-augmentation	2	1	–	–	3
Pre-malignant histological changes	–	–	–	–	0
Small bowel bacterial overgrowth	–	–	–	–	0
Miscellaneous problems	3	3	–	–	6
Total	53	16	14	8	91

Husmann and Cain reported [9] a reoperation rate of 48% in 62 patients with ileocecal bladder augmentation and a cutaneous stoma for catheterization.

The literature investigating the surgical complications of bladder augmentation usually has dealt with bowel obstruction, stone formation, hematuria dysuria syndrome, stoma complications, malignancy and perforation. We have analysed a few further non-metabolic complications, which generally are not mentioned in other studies. These include complications of the bladder neck closure (orchido-epididymitis and vesico-urethral fistula), necessity for

secondary augmentation, obstruction at the site of ureteral neoimplantation, persistence of VUR after re-implantation of the refluxing ureter, small bowel bacterial overgrowth (colonization of the small bowel) and other complications unrelated to entero-cystoplasties (abdominal wall hernia, etc.).

Discussion of the investigated complications follows below.

STONE FORMATION

Stone formation because of mucus production and bacteriuria is the most common problem after urinary bladder

augmentation or substitution, especially in those patients who do not perform regular bladder irrigation. The choice of gastrointestinal segment influenced the risk of stone formation in our patients, as is reported in the literature [10–14]. Gastrocystoplasty and ileocystoplasty did not seem to promote stone formation in our patients, which correlates with the literature [10–13]. We detected stones in 23% of our patients, which is the same rate that has been reported earlier by other authors [12,13]. The rate of recurrence has been reported to be as high as 44% (13), which is higher than in our recent study, where only 11.6% of our patients had repeated stone episodes.

In the present study, stone formation was higher in patients with continent catheterisable abdominal wall stoma than in patients who catheterized themselves per urethra. This finding is in accordance with the literature [12] but we cannot prove it statistically as 18 out of our 20 stone patients catheterise themselves via continent abdominal wall stoma and there are only 2 who perform catheterization through their urethra. Most probably, urethral catheterization provides a far better emptying of the augmented bladder. There are a number of other reasons why stone formation after cololecystoplasty is more frequent than after other kinds of bladder augmentation. The colonic segment retains its ability to produce mucus which can act as a nucleating matrix for stones. This segment is rich in bacteria which is also a promoting factor. The choice of treatment of stones should be individualized, based on the size and number of stones. We do not remove all stones, only those which cause problems. Hensle *et al.* [12] documented that regular daily prophylactic irrigation significantly decreased the rate of stone formation from 43% to 7% in enterocystoplasty patients. We also strongly recommend a regular, daily, irrigation protocol of the neobladder using saline solution or diluted iodine solution and/or antibacterial chemoprophylaxis [11,12,14].

ABDOMINAL WALL STOMA COMPLICATIONS

The number of stoma complications was lower, in contradiction with Castellan's findings, as we only encountered problems with the appendicocutaneostomas. The Monti fistulae and vesico-uretero-cutaneostomas developed no problems [15]. The frequency of stoma revision was somewhat lower than that which is mentioned by Novak *et al.* [16].

BOWEL OBSTRUCTION

The frequency of bowel obstruction in the present study is higher (10.5%) than what is expected after major abdominal operations (3–5%). Defoor *et al.* [17] estimate the frequency of obstruction to be 5% after gastrocystoplasty during a 10-year follow-up. On the other hand, Metcalfe *et al.* [18] mention that obstruction is more frequent after augmentation with the stomach. This is in contrast with the present study where we experienced bowel obstruction after gastrocystoplasty only in one patient but three times.

RESERVOIR PERFORATION

According to the literature, the frequency of perforation of the neobladder was 6–13% [19,20]. The aetiological factors of late perforation include ischaemia secondary to high intravesical pressure, abdominal and catheter trauma, chronic transmural infection and overdistension secondary to delayed catheterization. In the present study, one perforation appeared as the insufficiency of the anastomosis between the native bladder and the gastric segment used for augmentation. Another perforation occurred in a 14-year-old patient who suffered blunt abdominal trauma. Both patients required surgical intervention. The three remaining cases of perforation were treated conservatively.

PERSISTENCE OF VUR AFTER RE-IMPLANTATION OF REFLUXING URETER AND OBSTRUCTION AT THE SITE OF THE NEOIMPLANTATION

To date, re-implantation of the refluxing ureters at the time of augmentation is usually not recommended, because VUR as a result of the decreased intravesical pressure after augmentation will resolve [21–23]. In the present study, refluxing ureteral re-implantation was only performed in patients whose VUR was deemed more severe than what would resolve from augmentation, or if the upper urinary tracts were endangered.

COMPLICATIONS RELATED TO BLADDER NECK CLOSURE

The fact that we regarded vesico-urethral fistulae after bladder neck closure as an augmentation-related complication, also adds to our high complication rate. Our fistula rate after bladder neck closure is somewhat higher (28%) than what Novak *et al.* [16] experienced. For repair, they mainly used the Gracilis flap and open surgery [16], whereas only two of our vesico-urethral fistulae needed surgical intervention. One repair used a perifistular Teflon injection and one needed open surgery.

HAEMATURIA-DYSURIA SYNDROME

Secretion of gastric acid can irritate the bladder and urethra, leading to painful voiding and haematuria which might be present in one-third of patients with

otherwise normal bladder and urethral sensation. According to the literature, the frequency of HDS after gastrocystoplasty is between 9% and 36% [24,25]. Most cases of HDS are minor and can be treated pharmacologically with H₂-blockers or proton pump inhibitors. In certain cases when drug therapy is insufficient, the gastric patch can be removed [24]. The the present study, our patients were routinely given H₂-blockers after gastrocystoplasty for at least 1–2 years after surgery. In two of our patients, conservative treatments sufficed. In another two patients, because of the conservatively untreatable painful urination and haematuria, bladder neck closure and creation of a continent, catheterizable abdominal wall stoma were necessary.

DECREASED BLADDER COMPLIANCE/CAPACITY REQUIRING RE-AUGMENTATION

Despite the many complications encountered in patients with augmentation cystoplasty, only a few studies deal with the reasons for its failure and subsequent treatment in children [26,27]. Decreased bladder compliance and capacity, increased intravesical pressure, worsening of the kidney morphology and function and anticholinergic drug intolerance are the main indications for secondary augmentation. The reaugmentation rate in large paediatric series is reported to be around 2–13%. Our rate is 3–4%, which is lower than Pope's and McLaughlin's results [24,25]. Our findings are in accord with other authors, as we had to perform secondary augmentation only after colo- or gastrocystoplasty, but not after ileocystoplasty.

PRE-MALIGNANT HISTOLOGICAL CHANGES

The literature estimates the formation of malignancy to be 5–7% [14]. The average presentation time for tumours is between 15 and 25 years after augmentation cystoplasty. The incidence is reported to be higher after gastrocystoplasty than after cololecystoplasty. Patients with spina bifida tend to present with advanced stage, invasive bladder cancer [14]. We only observed signs of pre-malignant histological changes, not malignancy, in 3.4% of our patients which is lower than the rate mentioned above. We recommend cystoscopy and biopsy of the reservoir first at 4 years after augmentation or substitution and then biannually thereafter, in order to detect pre-malignant histological changes [6].

SMALL BOWEL BACTERIAL OVERGROWTH (COLONIZATION OF SMALL BOWEL)

Small bowel bacterial overgrowth (SBBO) is characterized by excessive proliferation of colonic bacterial species in the small bowel. Symptoms are weight loss, watery diarrhoea, meteorism, flatulence and abdominal pain, mimicking acute flare. This state is usually observed in Crohn's disease or in short bowel syndrome and can lead to malabsorption. To our knowledge, there is no recorded event of small bowel bacterial overgrowth after the resection of the Bauhin valve in connection with augmentation cystoplasty. We have 13 patients whose Bauhin valves were removed during augmentation. Only one of these patients has experienced SBBO. He is under regular gastroenterological follow-up and is still having problems with this complication. To our knowledge, this is the first reported case of SBBO in the literature after augmentation cystoplasty where the colonization of the small bowel occurred after using the cecum with the Bauhin valve for augmentation.

MISCELLANEOUS COMPLICATIONS

The miscellaneous complications (abdominal wall hernia, decubitus and secondary wound healing) encountered are not directly related complications of the augmentation or substitution, however, they are also considered as complications of the augmentation cystoplasties.

Not only the metabolic complications but also the high number of surgical complications presented in the present study and in the literature confirm the view that many of these are associated with intestinal mucosa in the neobladder. Therefore, it is essential to look for alternative methods such as tissue engineering to replace the intestinal mucosa used for bladder augmentation or substitution.

Because of the number of patients and the length of follow-up, the present does not provide evidence-based data about which type of gastrointestinal part has the lowest number of complications, but in accordance with the literature and general practice, the ileocystoplasty is the most promising [1]. The least promising seems to be the colcystoplasty because of the intensive mucus production and the subsequent significant high stone formation rate.

A large and increasing number of patients with augmentation cystoplasty require that not only should paediatric and adult urologists be familiar with the large variety of mainly surgical complications, but also other specialists, such as paediatric and general surgeons. Moreover, patients and their caretakers must be informed in detail about the possibility of the large number of surgical and non-surgical complications. Better understanding of these complications will lead us to the earlier recognition and better treatment of early and late complications associated with gastrointestinal cystoplasties and their prevention.

Augmentation or substitution of the bladder provides an acceptable HRQL choice, although it is associated with a large number of surgical and metabolic complications. Up to date, there is still no evidence-based agreement about which type of gastrointestinal segment has the lowest rate of complications after augmentation cystoplasty; however, ileocystoplasty is the most promising. Because of the high number of complications arising from the gastrointestinal mucosa in the neobladder, it is essential to replace the intestinal mucosa in the neobladder with alternative tissues.

A better understanding and awareness of these complications will lead us to prompt identification, prevention and better treatment both in the early and in the late postoperative period. Therefore a life-long follow-up is mandatory.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Mrs Joda Jona for her help in preparing the manuscript. Funding was received from the Hungarian Scientific Research Foundation (OTKA, T046213) for P. Vajda and A.B. Pinter.

CONFLICT OF INTEREST

None declared.

REFERENCES

- 1 Thomas DFM. Surgical treatment of urinary incontinence. *Arch Dis Childhood* 1997; **76**: 377–80
- 2 Vajda P, Kispal Z, Lenart I, Farkas A,

Vastyán AM, Pinter AB. Quality of life: urinary bladder augmentation or substitution in children. *Ped Surg Int* 2009; **25**: 195–201

- 3 MacNeilly AE, Morell J, Secord S. Lower urinary tract reconstruction for spina bifida—does it improve health related quality of life? *J Urol* 2005; **174**: 1637–43
- 4 Vajda P, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyán AM, Oberritter Z. Metabolic findings after colcystoplasty in children. *Urology* 2003; **62**: 542–6; discussion 546
- 5 Vajda P, Kaiser L, Magyarlaci T, Farkas A, Vastyán AM, Pinter AB. Histological findings after colcystoplasty and gastrocystoplasty. *J Urol* 2002; **168**: 698–701; discussion 701
- 6 Farkas A, Pinter A, Vajda P, Juhasz Z, Vastyán A, Oberritter Z. Intermediate results of surgical bladder augmentation in children. (Article in Hungarian). *Orv Hetil* 2001; **142**: 1617–21
- 7 Herschorn S, Hewitt RJ. Patient Perspective of Long-term outcome of augmentation cystoplasty for neurogenic bladder. *Urology* 1998; **52**: 672–8
- 8 Shekarriz B, Upadhyay J, Demirbilek S, Barthold JS, González R. Surgical complications of bladder augmentation: comparison between various enterocystoplasties in 133 patients. *Urology* 2000; **55**: 123–8
- 9 Husmann OA, Cain MP. Fecal and urinary continence after ileal cecal cystoplasty for the neurogenic bladder. *J Urol* 2001; **165**: 922–5
- 10 Robertson WG, Woodhouse CR. Metabolic factors in the causation of urinary tract stones in patients with enterocystoplasties. *Urol Res* 2006; **34**: 231–8
- 11 DeFoor W, Minevich E, Reddy P *et al*. Bladder calculi after augmentation cystoplasty: Risk factors and prevention strategies. *J Urol* 2004; **172**: 1964–6
- 12 Hensle TW, Bingham J, Lam J, Shabsigh A. Preventing reservoir calculi after augmentation cystoplasty and continent urinary diversion: the influence of an irrigation protocol. *BJU Int* 2004; **93**: 585–7
- 13 Palmer LS, Franco I, Kogan SJ, Reda E, Gill B, Levitt SB. Urolithiasis in children following augmentation cystoplasty. *J Urol* 1993; **150**: 726–9
- 14 Austin JC. Long term risks of bladder augmentation in pediatric patients. *Cur Opin Urol* 2008; **18**: 408–12

- 15 Castellan MA, Gosalbez R, Labbie A, Ibrahim E, Disandro M. Outcomes of continent catheterizable stomas for urinary and fecal incontinence: a comparison among different tissue options. *BJU Int* 2005; **95**: 1053–7
- 16 Novak TE, Salmasi AH, Lakshmanan Y, Matthews RI, Gearhart JP. Bladder neck transection for intractable pediatric urinary incontinence. *J Urol* 2008; **181**: 310–4; discussion 314
- 17 DeFoor W, Minevich E, Reeves D, Tackett L, Wacksman J, Sheldon C. Gastrocystoplasty: long-term followup. *J Urol* 2003; **170**: 1647–9; discussion 1649–50
- 18 Metcalfe P, Cain M, Kaefer M *et al.* What is the need for additional bladder surgery after bladder augmentation in childhood? *J Urol* 2006; **176**: 1801–5; discussion 1805
- 19 Metcalfe P, Casale A, Kaefer M. Spontaneous bladder perforations: a report of 500 augmentations in children and analysis of risk. *J Urol* 2006; **175**: 1466–70; discussion 1470–1
- 20 Kurzrock EA. Pediatric enterocystoplasty: long-term complications and controversies. *W. J Urol* 2009; **27**: 69–73
- 21 López Pereira P, Martínez Urrutia MJ, Lobato Romera R, Jaureguizar E. Should we treat vesicoureteral reflux in patients who undergo bladder augmentation for neuropathic bladder? *J Urol* 2001; **165**: 2259–61
- 22 Soylet Y, Emir H, Ilce Z, Yesildag E, Buyukunal SN, Danismend N. Quo vadis? Ureteric reimplantation or ignoring reflux during augmentation cystoplasty. *BJU Int* 2004; **94**: 379–80
- 23 Juhasz Z, Somogyi R, Vajda P, Oberitter Z, Fathi K, Pinter AB. Does the type of bladder augmentation influence the resolution of pre-existing vesicoureteral reflux? Urodynamic studies. *Neurourol Urodyn* 2008; **27**: 412–6
- 24 Chadwick Plaire J, Snodgrass WT, Grady RW, Mitchell ME. Long term followup of the Hematuria-Dysuria Syndrome. *J Urol* 2000; **164**: 921–23
- 25 McLaughlin KP, Rink RC, Adams MC, Keating MA. Stomach in combination with other intestinal segments in pediatric lower urinary tract reconstruction. *J Urol* 1995; **154**: 1162–8
- 26 Pope JC IV, Keating MA, Casale A, Rink RC. Augmenting the augmented bladder: treatment of the contractile bowel segment. *J Urol* 1998; **160**: 854–7
- 27 Vajda P, Buyukunal CS, Soylet Y, Danismend N, Juhasz Z, Pinter AB. A therapeutic method for failed bladder augmentation in children: re-augmentation. *BJU Int* 2006; **97**: 816–9; discussion 819

Correspondence: Zoltan Kispal, Department of Paediatrics, Surgical Unit, University of Pecs, 7 Jozsef Attila Street, Pecs, H-7623, Hungary. e-mail: zachary22@gmail.com

Abbreviations: ICC, intermittent clean catheterization; MMC, meningomyelocele; HDS, haematuria-dysuria syndrome; HRQL, health-related quality of life; ICC, intermittent clean catheterization; SBBO, small bowel bacterial overgrowth.

BLADDER AUGMENTATION IN CHILDHOOD: METABOLIC CONSEQUENCES AND SURGICAL COMPLICATIONS – REVIEW AND OWN INVESTIGATIONS

Andrew B. Pinter, Peter Vajda, Zsolt Juhasz
Department of Paediatrics, Medical Faculty of Pécs University
Pécs, Hungary

ABSTRACT

Bladder augmentation is an invaluable tool for paediatric surgeons interested in paediatric urology, and paediatric urologists for both the protection of upper urinary tract and achievement of urinary continence. However, it remains a major surgical undertaking with significant morbidity. This paper reviews the pathophysiology of some of the most common metabolic consequences and the most frequent surgical complications of bladder augmentation. Furthermore, it summarizes the authors' investigations regarding this topic.

Key words: bladder augmentation, metabolic consequences, surgical complications, animal experiments

Historical background

The use of other than urinary tissue to create a reservoir for urine is not a new concept. Uretero-sigmoidostomy was used to a child with bladder extrophy over 150 years ago (1), however, most of children with bladder extrophy, severe posterior urethral valves, cloacal malformations and/or myelodysplasia were primary treated with urinary diversion (2,3).

A new area of management of children previously diverted was initiated by Hendren [4]. He found that these children could be undiverted if the primary pathology could be corrected (e.g. fulguration of urethral valves, correction of severe reflux, tapering of megaureters) (5). In some of these cases bladder augmentation with bowel is also described (6).

The application of augmentation cystoplasty in children could not be realized until Lapedes et al (7) showed the effectiveness of Clean Intermittent Catheterization (CIC) to empty the augmented bladder. Application of CIC totally changed the management of child with abnormal bladder function with or without augmentation.

Review of literature

In the first part of this study we briefly discuss the most frequent metabolic changes following bladder augmentation.

Metabolic consequences

Incorporation of bowel segments in the genitourinary tract is associated with several metabolic consequences and late surgical complications (8, 9). The gastrointestinal tract is a relatively poor substitute for urothelium and its semipermeability permits non-physiological fluid and electrolyte abnormalities (secretion and absorption).

Material used for bladder augmentation

a. parts of the alimentary tract

- ✗ stomach
- ✗ large bowel
- ✗ small bowel

b. urothelial segments

- ✗ ureter
- ✗ auto-augmentation
- ✗ auto-augmentation combined with seromuscular flap

Augmentation using gastrointestinal segment

Gastrocystoplasty

The use of gastric segment for augmentation cystoplasty is not common, however in certain specific instances stomach can be valuable. Surgically, the stomach is relatively thick and easy to work with it.

Correspondence

Andrew B. Pinter
Department of Paediatrics, Medical Faculty, University of Pécs, Hungary
7623 Pécs, Hungary József A. u. 7.
e-mail: andras.pinter@aok.pte.hu
Fax: 00/36-72/535-900/7925; Mobile: 00/36-20/9564-169

The metabolic advantages of gastric cystoplasty are intestinal sparing and prevention of short bowel syndrome, decreased occurrence of hyperchloremic metabolic acidosis and decreased mucous production, lower rates of urine infection and stone formation.

Patients with renal insufficiency and chronic acidosis may benefit from gastrocystoplasty because of the ability of the stomach to secrete acid (10). However, the use of stomach for bladder augmentation is not without consequences. Fluid, potassium and chloride losses may develop, resulting in hypochloremic, hypokalemic metabolic alkalosis. When patients present with symptoms (lethargy, mental status changes, compensatory respiratory acidosis that develops in response to metabolic alkalosis (11), electrolyte and fluid repletion are the primary treatment.

A potentially painful complication of gastrocystoplasty is haematuria-dysuria syndrome, a complex that includes dysuria, genital skin irritation and excoriation, bladder spasms, suprapubic and/or urethral pain and gross haematuria. The aetiology is likely related to chemical irritation of the urothelium when exposed to gastric acid. Treatment includes increased fluid intake, correction of potassium abnormalities, use of histamine-2 blockers, anticholinergic agents and omeprazole, and at times removal of the gastric segment (12).

Use of small and large bowel

The major function of intact small and large bowel is to absorb food, fluid, and electrolytes. When urine is stored in the bowel for prolonged periods there is increased absorption of urinary solutes, which increases the risk of metabolic derangement. In patients with normal renal function, serum electrolytes are usually unaffected by enterocystoplasty. However, in patients with impaired renal function metabolic acidosis can be profound.

Ileocystoplasty

Advantage of use of ileum for augmentation is the abundant mesenteric blood supply of the small bowel, moderate mucous production compared to the colon and less severe associated metabolic complications compared to stomach and colon. Contraindications of use of ileum are short gut syndrome, inflammatory bowel disease, pelvic and abdominal irradiation and renal insufficiency. Ileal segments are associated with some disadvantages, like occasional hyperchloremic, hypokalemic metabolic acidosis, vitamin B12 deficiency, sometimes diarrhea and steatorrhea. Creation of submucosal tunnels for ureteral implantation is more difficult into the wall of ileum than in case of large bowel (tenia).

Colocystoplasty

Enterocystoplasty using colon is complicated by several functional and anatomical characteristics unique to the large bowel. Shorter mesenteries can make the mobilisation and detubularisation of the large bowel more difficult. More than 50% of patients with a colonic reservoir have some degree of measurable hyperchloremic metabolic acidosis. The problem is the ammonium chloride resorption and resultant hyperchloremic metabolic acidosis. The intensive mucus production predispose to a higher potential for infection and

stone formation. A higher potential for bladder rupture in patients with sigmoid augmentation has been noted (13).

There is some evidence that the absorptive properties of the intestinal segment used for augmentation may decrease with time (14). Certainly histological changes in the intestinal mucosa occur, including mucosal atrophy and decreased villous height. Primary treatment of metabolic acidosis should be alkalization with oral sodium bicarbonate.

Continent colon urinary diversion carries an increased risk of hypokalemia compared to ileal neobladder (15). Severe depletion may result in flaccid paralysis. Treatment for hypokalemia is replacement of potassium in addition to correcting acidosis with bicarbonate.

Although hypocalcaemia and hypomagnesaemia can occur with urinary diversion, they are uncommon. Chronic metabolic acidosis results in the loss of calcium stores from bone as phosphates and sulphates are used to buffer the acids. Clinically significant hypocalcaemia can result in symptoms, including tetany, tremors, irritability and in extremely severe cases death. Treatment is based on calcium repletion. Symptoms of hypomagnesaemia are similar to those that occur with low calcium levels and treatment consists of exogenous replacement.

Augmentation using urothelial segment

Ureterocystoplasty

The main disadvantage of ureterocystoplasty is that it is applicable only in a minority of patients. Ureterocystoplasty has been reported to be effective in some patients with dilated ureter associated with posterior urethral valves, or with a duplex system in which either the upper or lower pole is non-functioning. The distal or entire ureter can be opened to form a flap for bladder augmentation (16). The end result will be a bladder diverticulum which improves bladder compliance. However, the ureteric segment may have significant scarring and will provide an adynamic patch. No metabolic consequences are associated with use of ureter.

Auto-augmentation

Bladder myomectomy to achieve bladder expansion, called auto-augmentation, was first reported by Cartwright and Snow (17). The principle of surgery is to resect a part of bladder muscle with preservation of bladder mucosa. The resultant bladder diverticulum might give a significant improvement in compliance and capacity, but in some cases a scar formation can occur. Achievement of better compliance after auto-augmentation procedures seems to be less pronounced and of shorter duration than that of conventional enterocystoplasty. On the other hand, the low morbidity and lack of side effects of bowel integration into the urinary tract are the definite advantages of this technique. A possible solution to the problem might be the replacement of bladder muscle with a seromuscular flap (intestine or stomach). The stripping of the mucosa from the intestine, which is a technically demanding procedure, seems to be the key factor for success in this procedure, as retained intestinal mucosa would negate any advantage (18).

Bowel dysfunction, vitamin B12 deficiency and steatorrhea

Bowel dysfunction is known to occur occasionally after enterocystoplasty. Diarrhoea can develop after resection of large segments of ileum, removal of the ileocecal valve, and extensive colonic resections.

Therefore, approximately 15 cm of ileum proximal to the ileocecal junction should be spared using ileum for augmentation. Vitamin B12 (cyanocobalamin) deficiency is a well recognized abnormality that may arise with resection of the terminal ileum.

Deficiency causes megaloblastic anemia and varying neurological consequences, including peripheral neuropathies, optic atrophy, degenerative changes in the spinal cord involving the dorsolateral columns and dementia.

Surgical resection of the terminal ileum can also result in fat malabsorption, altered bile salt reabsorption and resultant decreased fat-soluble vitamin absorption.

Bone disease: rickets and osteomalacia

Chronic acidosis can result in bone demineralization after enterocystoplasty, resulting in rickets in children and osteomalacia in adults. In response to chronic acidosis bone releases carbonate and phosphate into circulation to buffer excess hydrogen ions. Skeletal calcium content is decreased (19). Because the acid-base changes in patients with enterocystoplasty are often subtle with only slightly decreased calcium, magnesium and bicarbonate, the extent of the impact on bone mineralization is often difficult to assess. In patients who present with rickets or osteomalacia initial treatment should be aimed at the correction of acidosis (20).

Growth retardation

One of the most concerning areas of the use of bowel in the urinary tract in children has been the potential impact on growth. Mingin et al reviewed the literature to critically examine linear growth in children who have had bladder augmentation with a particular emphasis on the correlation between acid-base status, bone mineralization and growth (21). The majority of studies suggest that linear growth is not affected by bladder augmentation. In the short-term, children post-augmentation have varying degrees of metabolic acidosis which, overtime, appears to resolve with no effect on linear growth. No alterations in bone density levels were seen with short-term follow-up. Data with long-term follow-up suggesting that urinary intestinal diversion may negatively impact growth and development. However, these older studies were largely in patients with myelodysplasia and while such patients have growth retardation, it is unclear if that growth retardation was the result of primary disease or urinary diversion.

Surgical complications

Bladder augmentation has revolutionized the care of children with a neuropathic bladder but it remains a major surgical procedure. Metcalfe et al retrospectively reviewed the records of the first 500 bladder augmentations performed from 1978 to 2003 at their institution (22). Charts were reviewed for complications requiring additional surgery, includ-

ing malignancy, bladder perforation, repeat augmentation, bowel obstruction and bladder calculi. Mean and median follow-up was 13.3 years. Complications occurred in 169 patients (34%) resulting in a total of 254 surgeries. Three patients (0.6%) had transitional cell carcinoma, of whom all presented with metastatic disease and died. Bladder perforation occurred in 43 patients (8.6%) with a total of 53 events. Of the patients 16 (3.2%) required laparotomy for bowel obstruction and 47 (9.4%) required repeat augmentation. Bladder stones were treated in 75 patients (15%), who required a total of 125 surgeries.

Mucus production, infection and stone formation

Mucus production and bladder stone formation both complications related to the use of the gastrointestinal tract for urinary reconstruction. All segments of bowel produce mucus. However, mucus production from the ileum is less than from the colon. Clinically mucus production appears to decrease over time following ileocystoplasty. This is probably because of villous atrophy that occurs in the ileum. Colonic epithelium does not appear to undergo this type of change. Significant mucus production in colonic augmentations continues throughout the life of the patient.

Bacteriuria and colonization of the urinary tract following urinary diversion or augmentation with bowel is common. Several studies show that patients with continent urinary diversion are at increased risk for upper and lower urinary tract calculous disease (23). Calculous rates have been reported to be between 18% and 30%. Several factors may be contributory: urinary stasis, mucous production from the intestinal segment and frequent colonization. Acidosis can also result in the increased mobilization of calcium from bone stores and impaired reabsorption in the distal renal tubule, causing hypercalciuria (24).

The management of calculous disease in urinary diversion and augmentation cases is largely preventive. Patients should receive postoperative instructions to remain hydrated and undergo routine catheterization to prevent urinary stasis. Excess mucus production should be managed by regular irrigation. Recently Hensle et al reported that the use of a standard prophylactic irrigation protocol significantly decreased the rate of reservoir calculous formation from 43% to 7% in patients undergoing augmentation cystoplasty or continent urinary diversion (25).

Malignant transformation

The risk of carcinogenesis in isolated intestinal segment following urinary diversion with a lack of faeces and urine mixture is not well defined. To date there have been 56 such tumours reported, including 31 involving ileal segments and 25 in colonic segments (26). Most tumours reported were adenomas or adenocarcinomas, although transitional cell carcinoma, carcinoid and sarcoma have also been described. Recently a group from Indiana University reported on 3 patients treated with augmentation cystoplasty who subsequently had transitional cell carcinoma (27). The interval between augmentation and cancer diagnosis was 21, 17 and 20 years, respectively. All patients died of metastatic disease. This re-

port highlights the need for long-term follow-up in patients with enterocystoplasty and raises the question of considering routine surveillance cystoscopy in this population (28).

Spontaneous bladder perforation

Spontaneous bladder perforation is a potentially life-threatening complication of augmentation cystoplasty with a reported incidence of up to 13%. A retrospective review of medical records from 1988 to 2001 identified 107 children (57 males and 50 females) who underwent augmentation cystoplasty at Cincinnati Children's Hospital Medical Centre (29). The overall incidence of bladder perforation was 5%, with one traumatic (1%) and four spontaneous (4%) perforations. All patients recovered uneventfully after exploratory laparotomy.

Patients presented with abdominal pain, distension and occasionally fever, need for prompt diagnosis and treatment. To our knowledge the cause of spontaneous perforation is unknown, although several aetiologies have been suggested. Traumatic catheterization, bladder outlet obstruction and urinary retention, chronic infection and chronic bowel wall ischemia secondary to chronic over distension are possible mechanisms. There is a significant association between a decreased risk of perforation and the use of a strict, incremental catheterization schedule.

Own investigations

In the second part of the paper we would like to briefly introduce the research which has been done in our institute to investigate some metabolic, histological and urodynamic aspects of augmentation in those children who underwent bladder augmentation or substitution (80 patients) over the last 18 years (1988-2006).

Metabolic findings after colocolocystoplasty in children (30)

This study investigated whether colocolocystoplasty has resulted in metabolic changes in the growing child during long-term follow-up according to which part was used: ascending coecum or sigmoid colon.

In order to answer this question twenty-eight patients (mean age at surgery 11 years) were included in the study and divided into two groups: group 1, cystoplasty with coecum and ascending colon (12 patients) and group 2, sigmoid cystoplasty (16 patients). Patients' linear growth, body mass index, and the following parameters were estimated before surgery and at 3, 6, and 12 months, and then yearly after surgery: blood and urine electrolytes (sodium, potassium, chloride, calcium, phosphorus, magnesium), creatinine, urea, blood gases, blood pH, urine pH, and blood alkaline phosphatase (ALP). All the data were statistically analyzed.

We found that in group 1, the blood ALP increased significantly ($P = 0.026$) during follow-up. Severe metabolic acidosis with or without hyperchloremia was found in 7 patients. In group 2, the serum sodium and serum calcium levels decreased significantly ($P = 0.014$ and $P = 0.003$, respectively); however, the blood ALP, urine sodium, and urine phosphorus levels increased significantly ($P = 0.033$, $P = 0.027$, and $P = 0.026$, respectively) during follow-up. A statistically significant decrease in blood pH ($P = 0.022$) was

found after surgery. Severe metabolic acidosis with or without hyperchloremia was detected in 5 patients. The average linear growth decreased significantly ($P = 0.001$ and $P = 0.016$, respectively) 1 and 2 years postoperatively.

We concluded that the statistically significant increase in blood ALP and decrease in serum calcium indicate bone demineralization after colocolocystoplasty. Our investigations in children suggest that bone demineralization is more frequent after sigmoid cystoplasty than after the use of coecum and ascending colon.

Histological findings after colocolocystoplasty and gastrocystoplasty (28)

In this study we conducted a prospective, long-term assessment of the histological changes that can occur following bladder augmentation with colon or stomach.

In order to approach this problem histological evaluations of biopsies from 44 consecutive patients undergoing augmentation (colocolocystoplasty in 26, gastrocystoplasty in 18) were performed. Patients underwent endoscopic assessment and tissue sampling at 2 or 4-year intervals following the initial augmentation procedure. Patients with less than 2 years of follow-up were excluded from the analysis. Specimens were taken from the native bladder, the augment segment (large bowel or stomach) and the anastomotic line. Sections (4 micron) were examined using standard histological staining methods (hematoxylin and eosin and periodic acid-Schiff) and immunohistochemistry was performed for different markers of neoplasia, cellular proliferation and blood group antigens. Histological findings were correlated with the incidence of stone formation and urinary tract infection.

Group 1 consisted of 20 patients undergoing colocolocystoplasty who met the criteria for study inclusion. Of the patients 10 (50%) had stones, 19 (95%) had a positive urine culture and 6 had no histological changes. While no cases of malignancy were identified, other forms of pathological change were noted in 14 of the 20 patients (70%). Group 2 included 15 patients undergoing gastrocystoplasty who met the criteria for study inclusion. No stones or malignancy were identified in this group. Positive urine cultures were recorded in 2 patients (13%), no histological changes were found in 6 and 9 (60%) had pathological changes.

We concluded that periodic prospective biopsy evaluation of children who have undergone either colocolocystoplasty or gastrocystoplasty failed to reveal any histological evidence of malignancy after 10 year follow-up. However, histological evidence of a premalignant lesion 13 years after follow-up suggests that screening for premalignant lesions should be initiated no later than 6 to 10 years following enterocystoplasty.

Therapeutic method for failed bladder augmentation in children: re-augmentation (31)

In collaboration with Turkish paediatric surgeons we looked for a therapeutic method for failed bladder augmentation.

Between 1988 and 2004, 136 bladder augmentations were performed in two paediatric urological units in Hungary and

Turkey. Re-augmentation was necessary in two patients after colocolostomy and in three after gastrocystoplasty. A secondary augmentation was not required in any patients after ileocolostomy. The clinical data of these five patients were evaluated.

On the basis of the clinical signs and urodynamic studies, re-augmentation was performed 2-7 years after the initial augmentation cystoplasties. Anticholinergic therapy given before re-augmentation did not improve bladder capacity, intravesical pressure and/or bladder compliance. An ileal or sigmoid segment was used for the secondary augmentation. After re-augmentation, all five patients became continent, and showed marked improvement in their urodynamic parameters at a mean follow-up of 6.8 (2-10) years.

Our opinion is that a decreased bladder capacity and/or compliance and increased bladder pressure after successful augmentation cystoplasty might be the result of: (i) impairment of the blood supply to the large bowel or gastric segment used for augmentation; or (ii) bowel mass contractions. Ileocolostomy seems to be the 'first-line' of choice for primary augmentation. Re-augmentation with a bowel segment is a suitable treatment if conservative treatment fails. Regular urodynamic investigations are needed for early detection of malfunction of the augmented bladder, and advising therapy.

Does the type of bladder augmentation influence the resolution of pre-existing vesicoureteral reflux? Urodynamic studies (32)

In the literature there are only scanty data how to deal with a pre-existing reflux if bladder augmentation is necessary. The other important topic – not investigated yet – is whether the type of bladder augmentation will influence the resolution of reflux?

The type of bladder augmentation on pre-existing vesicoureteral reflux (VUR) was assessed. The effects of urodynamic changes on the resolution of VUR following augmentation cystoplasty performed with various gastrointestinal segments were examined. It was queried whether elimination of high-pressure bladder is sufficient to resolve pre-existing reflux.

A retrospective record review of patients who underwent bladder augmentation between 1987 and 2004 was done. Patients were divided into two groups. Group I included patients who had a simultaneous augmentation and ureteral reimplantation. Group II included patients with reflux in whom only a bladder augmentation was performed. Pre- and post-augmentation urodynamic results were compared in both groups. The outcome of VUR and the role of various gastrointestinal (GI) segments on the resolution of VUR were studied.

Sixty-three patients underwent bladder augmentation during the study period. Twenty-six of them had VUR before augmentation. There were 10 patients in Group I and 16 patients in Group II. In Group I, VUR ceased in all patients, while in group II, VUR resolved in 14 patients and persisted in two patients. Small and large bowel seg-

ments used for augmentation had no effect on the resolution of VUR but the results of gastrocystoplasties were less favourable. Urodynamically there was no significant difference between the various augmentation cystoplasties. Our conclusion is that bladder augmentation alone without simultaneous antireflux repair is usually sufficient for the resolution of pre-existing reflux. The various GI segments used for augmentation have no effect on urodynamic results and the resolution of VUR.

Seromuscular gastrocystoplasty in dogs (33)

Some complex and complicated aspects of bladder augmentation can not be investigated in human material. In these cases we used animal model to approach the problem.

The aim of this study was to investigate the feasibility of seromuscular gastrocystoplasty (SGCP) in an animal model and to compare it to conventional gastrocystoplasty (CGCP).

CGCP and SGCP (using gastric segments without mucosa) were each performed in 6 dogs. In both procedures, two-thirds of the dome of the bladder was excised and the gastric segment anastomosed to the bladder remnant. Cystography, cystomanometry, measurements of urine pH, and gross and microscopic pathological studies were carried out preoperatively, and postoperatively, at 6 and 12 weeks.

All seromuscular gastric segments proved viable, and 6 weeks after the operation they were covered by a thin layer of transitional epithelium, which had gradually thickened by the end of the 12-week follow-up. There was no difference in bladder capacity and compliance between the two groups, however, fasting urinary pH values were higher (less acidic) in the SGCP group.

Stripping off the mucosa of the gastric segment appears to stop hydrochloric acid secretion, thereby lessening the possible risk of ulceration, perforation, dysuria-haematuria, metaplasia and malignancy. The uroepithelium overgrowth of the seromuscular gastric segments might provide a more physiological neobladder than when using full-thickness gastrocystoplasty.

Histological findings after gastrocystoplasty in rabbits (34)

Malignant transformation in the augmented bladder is frequently mentioned, only single cases are reported, however, the potential carcinogenesis is hardly investigated in animal model.

We investigated the long-term histological changes after bladder augmentation with gastric segment in an animal subject.

Gastrocystoplasty was performed in 13 young, 3-month-old male rabbits. Open biopsies were taken from the native bladder and the gastric segment preoperatively and at 3, 6, and 12 months postoperatively. Sections were examined with H&E and periodic acid-Schiff (PAS) staining. Indirect immune peroxidase method was additionally applied to detect the carcinoembryonic antigen, the proliferative activity, and the gene for the tumour protein p53 in the epithelium.

On the native bladder, at the 3-month follow-up, polyps, mucosal oedema, submucosal fibrosis, and squamous cell metaplasia were detected, which did not change during the follow-up. On the gastric segment, at the 3-month follow-up, parietal cell hyperplasia and inflammatory mucosal overgrowth were detected; at the 6-month follow-up, inflammation or atrophy of the gastric mucosa and colonic-type metaplasia was found. These alterations remained unchanged during later course of follow-up. Neither dysplasia nor malignancy was observed during the 12-month follow-up. Our investigations supported the clinical observations of low cancer risk after gastrocystoplasty and may indicate different effect of gastric secretion on uroepithelium and that of urine on gastric mucosa.

Conclusions

Augmenting the bladder is a widely used method in children with developmental abnormalities and it has become a standard part of armamentarium for management of neurogenic and myogenic bladder over the last few decades. However, augmentation is often associated with metabolic consequences and surgical complications. Therefore, besides the improvement of the present complex therapeutic management, the future goal in treating children with abnormal bladders is not catheterization and/or augmentation, but reach normal voiding by avoiding incorporation of gastrointestinal segment in the genitourinary tract and intermittent catheterisation.

REFERENCES

- Simon J. Extropia vesicae (absence of the anterior walls of the bladder and rubic abdominal parietes); operation for directing the orifices of the ureters into the rectum; temporary success; subsequent death; autopsy. *Lancet* 1852; ii: 568–9.
- Shapiro SR, Lebowitz R, Colodny AH. Fate of 90 children with ileal conduit urinary diversion a decade later: analysis of complications, pyelography, renal function and bacteriology. *J Urol* 1975; 114: 289–95.
- Hendren WH. Nonrefluxing colon conduit for temporary or permanent urinary diversion in children. *J Pediatr Surg* 1975; 10: 381–98.
- Hendren WH. Reconstruction of previously diverted urinary tracts in children. *J Pediatr Surg* 1973; 8: 135–50.
- Hendren WH. Urinary tract re-functionalization after long-term diversion. A 20-year experience with 177 patients. *Ann Surg* 1990; 212: 478–94.
- Dretler SP, Hendren WH, Leadbetter WF. Urinary tract reconstruction following ileal conduit diversion. *J Urol* 1973; 109: 217–24.
- Lapides J, Diokno AC, Silber SM, Lowe BS. Clean, intermittent self-catheterization in the treatment of urinary tract disease. *Trans Am Assoc Genitourin Surg* 1971; 63: 92–6.
- Mitchell ME. Bladder augmentation in children: where have we been and where are we going? *BJU Int* 2003; Suppl 1: 29–34.
- Gilbert SM, Hensle TW. Metabolic consequences and long-term complications of enterocystoplasty in children: a review. *J. Urol* 2006; 173: 1080–1086.
- Adams MC, Mitchell ME, Rink RC. Gastrocystoplasty: an alternative solution to the problem of urological reconstruction in the severely compromised patient. *J. Urol* 1988; 140:1152.
- Gozalbez R. Jr., Woodard JR, Broecker BH, Warshaw B. Metabolic complications of the use of stomach for urinary reconstruction. *J Urol* part2, 1993; 150:710.
- Nguyen DH., Bain MA, Salmonson KL., Ganesan GS, Burns MN, Mitchell ME. The syndrome of dysuria and hematuria in pediatric urinary reconstruction with stomach. *J Urol* 1993; 150:707.
- Rosen MA, Light JK. Spontaneous bladder rupture following augmentation enterocystoplasty. *J Urol* 1991; 146: 1232–4.
- Akerlund S, Forsell-Aronsson E, Jonsson O, Kock NG. Decreased absorption of ²²Na and ³⁶Cl in ileal reservoirs after exposure to urine. An experimental study in patients with continent ileal reservoirs for urinary or fecal diversion. *Urol Res* 1991; 19:249.
- Geist RW, Ansell JS. Total body potassium in patients after ureteroileostomy. *Surg Gynecol Obstet* 1961; 113:585.
- Connor JP, Hensle TW, Lattimer JK, Burbige KA. Long-term followup of 207 patients with bladder exstrophy: an evolution in treatment. *J Urol* 1989; 142: 793–5.
- Cartwright PC, Snow BW. Bladder autoaugmentation, partial detrusor excision to augment the bladder without use of bowel. *J Urol* 1989; 142: 1050–3.
- Nguyen DH, Mitchell ME, Horowitz M, Bagli DJ, Carr MC. Demucosalized augmentation gastrocystoplasty with bladder autoaugmentation in pediatric patients. *J Urol* 1996; 156: 206–9.
- Bushkinsky DA, Krieger NS, Geisser DI, Grossmann EB, Coe FL. Effects of pH on bone calcium and proton fluxes in vitro. *Am J Physiol* 1983; 245:F204.
- Siklos P, Davie M., Jung RT, Chalmers TM. Osteomalacia in uretero-sigmoidostomy: healing by correction of the acidosis. *Br J Urol* 1980; 52:61.
- Mingin G, Maroni P, Gerharz EW, Woodhouse CR, Baskin LS. Linear growth after enterocystoplasty in children and adolescents: a review. *World J Urol* 2004; 22: 196–199.
- Metcalfe PD, Cain MP, Kaefer M, Gilley DA, Meldrum KK, Misseri R et al. What is the need for additional bladder surgery after bladder augmentation in childhood? *J Urol* 2006; 176: 1801–1805.
- Cohen TD, Streem SB, Lammert G. Long-term incidence and risks for recurrent stones following contemporary management of upper tract calculi in patients with urinary diversion. *J Urol* 1996; 155: 62.
- Lemann J.Jr., Litzow JR, Lennon EJ. Studies of the mechanism by which chronic metabolic acidosis augments urinary calcium excretion in man. *J Clin Inv* 1967; 46:1318.
- Hensle TW, Bingham J, Lam J, Shabsigh A. Preventing reservoir calculi after augmentation cystoplasty and continent urinary diversion: the influence of an irrigation protocol. *Br J Urol* 2004; 93:585.
- Kälbe T, Austen M. Sekundäre Malignome nach Harnableitungen unter Verwendung von Darm. *Akt Urol* 2002; 33:120.
- Soergel TM, Cain MP, Misseri R., Casale AJ, Rink RC. Transitional cell cancer following augmentation cystoplasty for neuropathic bladder. Presented at annual meeting of American Academy of Pediatrics Poster Presentation. 2003 November; New Orleans, Louisiana.
- Vajda P, Kaiser L, Magyarlaki T, Farkas A, Vastyan AM, Pinter AB. Histological findings after colcystoplasty and gastrocystoplasty. *J Urol* 2002; 168: 698–701.
- DeFoor W, Tackett L, Minevich E, Wacksman J, Sheldon C. Risk factors for spontaneous bladder perforation after augmentation cystoplasty. *Urology* 2003; 62: 737–741.
- Vajda P, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyan AM, Oberritter Zs. Metabolic findings after colcystoplasty in children. *Urology* 2003; 62:542–6.
- Vajda P, Buyukunal CSN, Soylet Y, Danismed N, Juhasz Zs, Pinter AB. A therapeutic modality for failed bladder augmentation in children – re-augmentation. *BJU Int* 2006; 97: 816–9.
- Juhasz Zs, Somogyi R, Vajda P, Oberritter Zs, Fathi F, Pinter AB. Does the type of bladder augmentation influence the resolution of pre-existing vesicoureteral reflux? *Urodynamic studies. Neurourology and Urodynamics* 2007;26 (in press.)
- Vastyan AM, Pinter AB, Farkas AP, Vajda P, Lantos J, Mehes G, et al. Seromuscular gastrocystoplasty in dogs. *Urol Int* 2003; 71:215–218.
- Vajda P, Pinter AB, Magyarlaki T, Vastyan AM, Juhasz Zs, Oberritter Zs, et al. Histological findings after gastrocystoplasty in rabbits. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1470–4.

¹Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Gyermekklinika (igazgató: Molnár Dénes dr.)

²Pécsi Tudományegyetem, Közgazdaságtudományi Kar,
Gazdaságmódszertani Intézet (igazgató: Vörös József dr.)

³Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Urológiai Klinika, Pécs
(igazgató: Farkas László dr.)

Kőképződés húgyhólyag-megnagyobbítás vagy -pótlás után gyermekkorban

Vástyán Attila dr.¹, Erdei Orsolya dr.¹, Kispál Zoltán dr.¹, Vajda Péter dr.¹,
Farkas András dr.¹, Balogh L. Dániel², Juhász Zsolt dr.¹,
Pánczél Lórándné³, Pintér András dr.¹

ÖSSZEFOGLALÁS: A Pécsi Tudományegyetem Gyermekklinikáján 1988 óta végeznek húgyhólyag-megnagyobbító vagy -pótló műtéteket. Jelen közleményben a szerzők áttekintik a megnagyobbított vagy pótoló húgyhólyagokban előforduló kőképződés lehetséges okait és a kezelési lehetőségeket. A hólyagkövek képződésében jelentős szerepet játszik a műtét során felhasznált bélszakasz típusa, annak nyákszekréciója és a kontinens hasfali sztomán keresztül, nem teljes hólyagürülést biztosító (ön)katéterezés. Betegeikben a gyakori vizeletfertőzések és a kövek megjelenése közötti kapcsolat statisztikailag nem volt szignifikáns, ugyanakkor a kőanalízis eredménye alapján feltételezhető a litogenezisben betöltött szerep. Nélkülözhetetlen a betegek rendszeres kontrollvizsgálata, amelynek során a hólyagkövek korán felfedezhetőek és endoszkópos műtéttel viszonylag könnyen eltávolíthatók. A megelőzés szempontjából kiemelkedő fontosságú a hólyagkatéterezések során a vizelet teljes lebocsátásra és a rendszeres hólyagöblítés.

STONE FORMATION IN PATIENTS FOLLOWING URINARY BLADDER AUGMENTATION OR SUBSTITUTION IN CHILDHOOD

SUMMARY: Urinary bladder augmentation or substitution has been carried out in the author's institute since 1988. The purpose of this retrospective review was to evaluate the stone formation in the augmented bladder and the treatment strategies. The mucous production of the segment of the gastrointestinal tract, used for the augmentation, the mode of the emptying of the bladder (continent abdominal stoma, bladder neck closure) and the role of regular bladder washout were found as significant factors in stone formation. Recurrent urinary infections were statistically not significant, although the result of the stone analysis suggest their possible role. Life long follow-up is essential for prevention, early detection and management of stone formation in patients with bladder augmentation or substitution.

KEY WORDS: bladder augmentation, bladder stones, stone analysis

Az inkontinencia urinae (i.u.) háttérében a vizelet részleges, vagy teljes tárolási, tartási és/vagy ürítési elégtelensége áll (1, 2). Patogenezisében veleszületett vagy szerzett okok szerepelnek. Gyermekkorban leggyakoribb a húgyhólyag veleszületett beidegzési zavara, amelynek oka legtöbbször meningomyelocele (MMC), epispadiasis totalis, extrophia vesicae urinariae (3). A konzervatív terápia a hólyag inter-

mittáló, tiszta (ön)katéterezéséből, gyógyszeres augmentációból (antikolinerg gyógyszerek szedése) és antibiotikus profilaxisból áll (3, 4, 5). Ha a konzervatív kezelés hatástalan, az i.u. sebészi kezelése válhat szükségessé, ami hólyag-megnagyobbításból (augmentáció) vagy -pótlásból (szubsztitúció), vagy egyéb alternatív megoldásokból állhat (4, 5). A műtéti kezelésnek számos hosszú távú szövődménye lehet, mint például a hólyagkő-képződés, spontán hólyagperforáció, metabolikus acidózis, vagy alkalózis, hematuria-dizúria szindróma, malignitás és vizeletretenció (6, 7, 8, 9). Jelen közleményben az egyik leggyakoribb szövődménnyel, az augmentált hólyagban keletkező kövekkel foglalkozunk.

Betegek és módszer

A PTE-KK Gyermekklinika Sebészeti osztályán 1988 óta végeznek hólyag-megnagyobbító vagy -pótló műtétet. 1988 és 2008 között 86 betegben történt ilyen műtét.

A húgyhólyag augmentációjához 32 esetben vékonybélszakaszt, 30 esetben vastagbélszakaszt és 18 esetben gyomor-szegmentumot használtunk. A 6 hólyagpótló műtét vastagbéllal történt. Reaugmentációra 3 esetben került sor. Műtétkor az átlagos életkor 12,5 év (4,3-20,9 év) volt. A nyomkövetési idő átlagosan 8,6 év (1-20 év) volt.

Az összes beteg tiszta intermittáló (ön)katéterezéssel üríti a hólyagját. Közülük 30 beteg (35%) az uretrán keresztül végzi a vizelet lebocsátását, míg 56 (68,1%) esetben kontinens hasfali sztomát használnak a katéterezéshez. Negyvenhat betegben az appendixet, 4 betegben vékonybélből képzett ún. Monti-fisztulát, míg 6 betegben nefrekromia után visszamaradt urétert használtuk a katéterezhető kontinens hasfali sztoma kialakítására. Tizennégy betegben vált szükségessé a hólyagnyak zárása.

Munkánk során azon betegek anyagát elemeztük, akikben a protokoll szerinti nyomkövetés során hólyagkő kialakulását észleltük. Ezen gyermekek kórlapjaiból további adatokat gyűjtöttünk a vizeletfertőzésekről, a katéterezések és hólyagöblítések gyakoriságáról, a lebocsátott frakciókról, a hólyagkő/kövek augmentációtól számított megjelenésének idejéről, a kövek számáról és a kőeltávolítás módjáról.

A statisztikai értékelést Excel: Mac Analysis ToolPak (2004), Gretl 1.8.4 (Open-source) programok és statisztikai képletgyűjtemény segítségével végeztük.

Eredmények

A 86 betegből 20-ban (23%) észleltünk köveket. A 20 betegben összesen 37 alkalommal keletkeztek hólyagkövek. Kilenc betegben egyszer fordult elő hólyagkő, 7

1. táblázat: A húgyhólyag-megnagyobbítás műtéti indikációi a hólyagköves betegek esetében, valamint az ezen indikációk mellett szükséges további sebészi beavatkozások

Műtéti indikációk	Betegszám	Hasfali stoma	Hólyagnyak zárása
<i>Extrofia vesicea urinariae</i>	8	7	2
<i>MMC</i>	7	6	1
<i>Epispadiasis totális</i>	1	1	-
<i>Neurogén hólyag</i>	4	4	-
<i>Összesen</i>	20	18	3



1. ábra: Egy nagyméretű eltávolított hólyagkő

betegben kétszer, 1 betegben 3-szor, 1 betegben 5-ször és egy betegben 6 alkalommal észleltünk követ. A 20 betegből 7 (35%) leány és 13 (65%) fiú volt.

A húgyhólyag-megnagyobbítás vagy -pótlás műtéti indikációit és a kontinencia eléréséhez szükséges további műtéti beavatkozásokat az 1. táblázat foglalja össze.

A 20 hólyagköves betegből 16-ban (80%) vastagbéllel történt az augmentáció, 2 esetben (10%) vékonybéllel, 1 esetben (5%) gyomorral nagyobbítottuk meg a hólyagot és 1 alkalommal (5%) történt hólyagpótlás.

A hólyagkövek általában nem okoztak panaszt, csak a rendszeres ellenőrző vizsgálatokon kerültek felfedezésre. Mindössze egy esetben fordult elő hematuria.

A hólyagmegnagyobbító vagy -pótló műtét és az első kő megjelenése között átlagosan 3,9 év (0,5-13) telt el.

A kövek nagy részét a rendszeresen nyomonkövetés során végzett natív hasi röntgenvizsgálat, ultrahang és cisztográfiás vizsgálat diagnosztizálta, míg néhány esetben cisztoszkópia vagy CT-vizsgálat során kerültek felismerésre.

A kövek mérete igen változatos eloszlást mutatott. Fél centiméterestől, egészen a gyermekököl nagyságig (8 cm) terjedt (1. ábra).

A hólyagkövek száma is változó volt, átlagosan 3 darab követ találtunk. A 20 hólyagköves beteg közül 14-nek (70%) gyakori vizeletinfekciói voltak. Öt beteg (25%) egyáltalán nem végezte a hólyagöblítéseket.

Összesen 34 beavatkozás történt a kövek eltávolítására. Endoszkópos műtéti beavatkozás 11 esetben (32%) volt sikeres, egy betegben (4%) perkután vesicolithotomia történt.

Huszonkét esetben (64%) a kövek mérete, száma, elhelyezkedése, illetve az endoszkópos beavatkozás sikertelensége miatt nyílt műtétre volt szükség.

Statisztikai számításokkal vizsgáltuk, hogy a hólyagkövek képzésében szerepet játszik-e az augmentációhoz felhasznált gasztrointesztinális szegment típusa, a kontinens hasfali sztomia, a rendszeres hólyagöblítések és a vizeletfertőzés.

Kismintás aránypróba 90%-os megbízhatósággal igazolta, hogy akik a neohólyagot rendszeresen öblítik, azokban kisebb arányban fordul elő hólyagkőképződés.

Nem találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést a visszatérő húgyúti infekciók és a kőképződés között.

Nagy bizonyossággal ($p=0,029$) állítható, hogy az uretrán keresztül (ön)katéterezők között kisebb arányban fordul elő kőképződés mint a hasfali kontinens sztomával rendelkező betegekben.

2. táblázat: A kőanalízisek során előfordult kőalkotók

Előforduló kőalkotók	n
Foszfát/karbonát-apatit	14
Struvit	12
Ca-oxalát-mono- és -dihidrát	3
Ca-foszfát	1

Gyomorral végzett hólyagmagnagyob-
bítás esetén alacsonyabb a kőképződés
előfordulási esélye, mint colocistoplas-
tica esetén.

Kőanalízist tizennégy esetben sikerült
végezni a PTE ÁOK Urológia Klinikán.
Az előforduló kőalkotókat a 2. táblázat
foglalja össze.

Az analízis szerint mindegyik kőben
előfordult foszfát/karbonát-apatit és majdnem mindben struvit is szerepelt a kőal-
kotók között. Ezen kívül kisebb arányban kalcium-oxalát-mono és -dihidrát, valamint
kalcium-foszfát is kimutatható volt. Egy betegünk kőanalízise során készített fény-
mikroszkópos felvételek láthatóak a 2. ábrán.

Megbeszélés

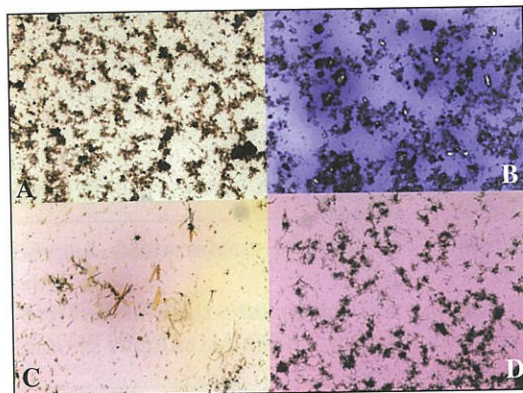
A 86 hólyagaugmentált vagy hólyagpótolt betegünkben 20-ban (23%) találtunk
köveket, ami megfelel az irodalomban leírt 10-52%-os gyakoriságnak (10-14).

A 20 betegben összesen 37 alkalommal keletkeztek hólyagkövek: 9 betegben egy
alkalommal fordult elő hólyagkő, a többi 10-ben (52,3%) pedig recidiváltak a kövek.
Ez az arány meghaladja az irodalomban közölt 33-44%-os előfordulást (13, 15). Sta-
tisztikailag nem találtunk összefüggést a recidív kövek előfordulása és a vizeletfertő-
zések gyakorisága, valamint a betegek neme között. Ugyanakkor szoros összefüg-
gést dokumentáltunk a kőképződés és az augmentációhoz használt tápcsatorna-sza-
kasz típusával. Betegeink között sokkal nagyobb arányban jelentkeztek recidív kö-
vek olyanoknál, akikben vastagbéllel történt a hólyagmagnagyobbítás.

A gyomorral végzett augmentáció kedvezőbb volt a hólyagkövek megjelenésének
szempontjából. Az irodalmi adatok is kisebb kőképződésről számolnak be gastro-
cistoplastica után (10, 13, 15). Ennek az lehet az oka, hogy a gyomornyálkahártya
nem termel nyákot, valamint fedősejtjeinek sósavtermelése alacsonyabb pH-t hoz
létre a hólyagban, ezzel csökkenti a kőképződés valószínűségét.

Eredményeink, megegyezően az irodalmi adatokkal, arra engednek következtetni,
hogy a litogenezisben a vastagbél által termelt nyák játszik elsődleges szerepet (16, 17).

A kőképződés megelőzésére a műtét után a betegeket arra kérjük, hogy rendsze-
resen öblítsék a neohólyagot (13, 17, 18). Azokban a betegeken, akik hetente leg-



2. ábra:

- a: Karbonát-apatitra jellemző szórva-
nyos buborékok és a struvitra
jellemző feloldódás
- b: Ca-oxalátra jellemző kék udvar a
kő körül
- c: Struvitra jellemző sárga színű, lán-
dzsa alakú kristályok
- d: Ca-oxalátra és karbonát-apatitra
jellemző tűs kristályok

alább egyszer öblítették hólyagjukat, bizonyíthatóan kisebb számban keletkeztek hólyagkövek.

A kőképződés szempontjából fontos tényező, hogy a beteg a kontinens hasfali sztomát vagy az uretrát használja a vizelet lebocsátására, valamint az, hogy zárták-e a hólyagnyakat (6, 13, 20). Ezt azzal magyarázzuk, hogy a hasfali sztomán keresztül nehéz maradéktalanul kiüríteni a hólyagot, gyakran marad vizelet a neohólyag legmélyebb részén. Ez a vizelet pangás kedvez bizonyos kőalkotók kicsapódásának. Ezért is fontos, hogy a hasfali sztomával rendelkező betegek törekedjenek a hólyag lehetőleg maximális kiürítésére. Ezzel nemcsak a hólyagkövek keletkezése csökkenthető, hanem a gyakori vizeletinfekciók is megelőzhetők.

Az irodalomban egymásnak ellentmondó adatok vannak a vizeletfertőzések szerepéről a hólyagkövek keletkezésében. Számos tanulmány összefüggést talált a vizeletfertőzések és a hólyagkövek keletkezése között (11, 15, 17). Más tanulmányok azonban nem tartják indokoltnak a nem súlyos vizeletinfekció során annak kezelését, csak abban az esetben, ha urea-bontó baktérium tenyészik ki, ugyanis az urea bontásával magasabb pH keletkezik a hólyagban (6).

A hólyagkövek többsége a rendszeres kontrollvizsgálatok során véletlenül került felfedezésre, mivel nem okoztak panaszokat. A hólyagkövek több mint felének eltávolítása műtéti úton történt. Ennek oka a kövek mérete, száma és helyzete volt. A többi követ endoszkópos úton, vagy ESWL-lel távolítottuk el.

Az irodalommal ellentétben, ahol a nemek között nem találtak különbségeket, a mi betegeink között lányokban ritkábban fordultak elő hólyagkövek (18).

A hólyagkövek analízise során hasonlóan más szerzők adataihoz, a kövek fő alkotója nálunk is foszfát/karbonát-apatit volt, emellett majdnem mindegyikben megtalálható volt struvit is (10, 12). A foszfát eredetű kövek a bakteriuria és ureáz reakció kőképződésben játszott szerepére utalhatnak.

Összefoglalóan elmondható, hogy gyomor- és vékonybélsegmentumok alkalmazása kedvezőbb volt a kőképződés és a vizeletinfekciók szempontjából mint a vas-tágbéllal végzett hólyagmagnagyobbítás. A rendszeres hólyagöblítés és a saját urethra megtarthatósága ugyancsak kedvező hatású volt, míg a katéterezhető hasfali vizeletsztoma – különösen hólyagnyak lezárással együtt – a későbbi hólyagkőképződés szempontjából kedvezőtlenebb megoldás.

Köszönetnyilvánítás

A képi dokumentációban nyújtott segítségért köszönet illeti Bodnár Gabriellát és Dr. Gaszner Balázst.

Irodalom

1. Juhász Zs. Az urodinámia szerepe az incontinentia urinae miatt bél- vagy gyomor szegmentummal végzett hólyagmagnagyobbításon átesett gyermekekben. Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei 2008.
2. Vástyán A. Magasnyomású neuropathias hólyag kezelésében szerzett klinikai tapasztalatok és állatkísérletes vizsgálatok. Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei 2005.
3. Vajda P. A gyermekkori incontinentia urinae miatt béllal vagy gyomorral végzett hólyagaugmentatio és -substitutio szövődményeinek klinikai és állatkísérletes vizsgálata. Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei 2003.
4. Farkas A, Pintér A, Vajda P, et al. A húgyhólyag gyermekkorban végzett sebészeti magnagyobbításának középtávú eredményei. Orvosi Hetilap 2001; 30: 1617–1621.

5. Smith JJ III, Stanley J, Swierzewsky III. Augmentation Cystoplasty. *BJU* 1997; 24: 745–754.
6. López Pereira P, Moreno Valle JA, Espinosa L, et al. Enterocystoplasty in children with neuropathic bladders: Long-term follow-up. *J Pediatr Urol* 2008; 4: 27–31.
7. DeFoor WR, Heshmat S, Minevich E, et al. Long-Term Outcomes of the Neobladder in Pediatric Continent Urinary Reconstruction. *J Urol* 2009; 181: 2689–2694.
8. Gough DCS. Review: Enterocystoplasty. *BJU* 2001; 88: 739–743.
9. Mahan JD, Menster MI, Koff SA. Complications of intestinal augmentation and substitution cystoplasty. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 505–507.
10. Kaefer M, Hendren WH, Bauer SB, et al. Reservoir calculi: A comparison of reservoirs constructed from stomach and other enteric segments. *J Urol* 1998; 160: 2187–2190.
11. Palmer LS, Franco I, Kogan SJ, et al. Urolithiasis in children following augmentation cystoplasty. *J Urol* 1993; 150: 726–729.
12. Blyth B, Ewalt DH, Duckett JW, et al. Lithogenic properties of enterocystoplasty. *J Urol* 1992; 148: 575–577.
13. Kronner KM, Casale AJ, Cain MP, et al. Bladder calculi in the pediatric augmented bladder. *J Urol* 1998; 160: 1096–1098.
14. Shekariz B, Upadhyay J, Demirbilek S, et al. Surgical complications of bladder augmentation: comparison between various enterocystoplasties in 133 patients. *Pediatr Urol* 2000; 55: 123–128.
15. DeFoor W, Minevich E, Reddy P, et al. Bladder calculi after augmentation cystoplasty: risk factors and prevention strategies. *J Urol* 2004; 172: 1964–1966.
16. Khoury AE, Salomon M, Doche R, et al. Stone formation after augmentation cystoplasty: The role of intestinal mucus. *J Urol* 1997; 158: 1133–1137.
17. Nurse DE, McInerney PD, Thomas PJ, et al. Stones in enterocystoplasty. *BJU* 1996; 77: 684–687.
18. Zhang H, Yamataka A, Koga H, et al. Bladder stone formation after sigmoidocolocystoplasty: statistical analysis of risk factors. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 407–411.
19. Stein R, Fisch M, Erment A, et al. Urinary diversion and orthotopic bladder substitution in children and young adults with neurogenic bladder: A safe option for treatment? *J Urol* 2000; 163: 568–573.
20. Austin JC. Long-term risks of bladder augmentation in pediatric patients. *Curr Opin Urol* 2008; 18: 408–412.



Long-term histological and mucin alterations in the neobladder mucosa following urinary bladder augmentation or substitution with gastrointestinal segment

^aSurgical Unit, Department of Paediatrics, University of Pécs, Hungary

^bThe Evanston Hospital, Northshore University Healthsystem, Evanston, IL, USA

^cDepartment of Pathology, University of Pécs, Hungary

^dDepartment of Paediatric and Adolescent Surgery-Medical University of Graz, Graz, Austria

Correspondence to:
Z.F. Kispal, Department of Paediatric and Adolescent Surgery-Medical University of Graz, Augnbruggerplatz 34, 8036 Graz, Austria

zachary22@gmail.com
(Z.F. Kispal)
kardos.daniel@pte.hu
(D. Kardos)
tjilling@peds.uab.edu
(T. Jilling)
laszlo.kereskai@aok.pte.hu
(L. Kereskai)
marlaissac2011@u.northwestern.edu
(M. Isaacs)
radibutz@gmail.com
(D.L. Balogh)
pinter.andras@pte.hu
(A.B. Pinter)
holger.till@medunigraz.at
(H. Till)
vajda.peter@pte.hu (P. Vajda)

Keywords

Urinary bladder augmentation;
MUC genes; Neoplasia

Zoltan Farkas Kispal ^{a,d}, Daniel Kardos ^a, Tamas Jilling ^{b,1},
Laszlo Kereskai ^c, Marla Isaacs ^b, Daniel L. Balogh ^a,
Andrew B. Pinter ^a, Holger Till ^d, Peter Vajda ^a

Summary

Introduction

Bladder augmentation is widely used to treat otherwise unmanageable urinary incontinence. However, it is associated with a large number of complications, of which tumor formation is the most severe. Mucin proteins and MUC genes are linked, among others, to malignancies of the urinary bladder and the gastrointestinal system.

Objective

To investigate histological alterations as well as changes in expression of MUC1 and MUC2 genes and proteins following different types of urinary bladder augmentation or substitution performed in children and adolescents.

Patients and methods

Between 1988 and 2013, 91 patients underwent urinary bladder augmentation or substitution at the study institute. Patients were included on whom cystoplasty had been performed 4 years previously or earlier, and could have been followed-up prospectively. Thus, 54 patients were involved in the study. In eight patients gastrocystoplasty was performed, in 17 patients ileocystoplasty, and in 22 patients colcystoplasty. Seven patients underwent bladder substitution using a colonic-segment. Biopsies were taken via cystoscopy from the native bladder, from the gastrointestinal segment used for augmentation, and from the anastomotic line between these two. One part of the samples was fixed in formaldehyde for routine histological processing.

The other part of the biopsies was embedded into OCT medium, then cryosectioned and fluorescently double-immunostained for MUC1 and MUC2 proteins. Samples from the microscopically dysplastic lesions and from the 15-year-old or older biopsies were processed by laser capture microdissection, and then real-time PCR was done. Data were statistically analyzed by ANOVA and ordinary least squares regression tests.

Results

One adenocarcinoma was found in a female patient, 11 years after colcystoplasty. There were no significant changes in the level of MUC1 and MUC2 proteins and gene expression in the urothelium and in the gastrointestinal segment used for augmentation following ileocystoplasty and gastrocystoplasty. Significant increase in MUC1 and decrease in MUC2 protein levels were detected following colcystoplasty in the large bowel segment used for augmentation, both with qualitative and quantitative methods ($p < 0.05$) (Figure). The uroepithelium showed no significant change. RT-PCR revealed progressive increase in MUC1 gene expression and decrease in MUC2 gene expression after colcystoplasty in the course of time. It also showed highly increased MUC1 gene expression and decreased MUC2 gene expression in the samples of patients.

Conclusions

Alterations in gene expression of MUC1 and MUC2 might serve as promising markers for early detection of histological changes after colcystoplasty.

Received 15 October 2014
Accepted 6 April 2015
Available online 26 June 2015

¹ Present address. Neonatology Faculty, Department of Paediatrics, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA.

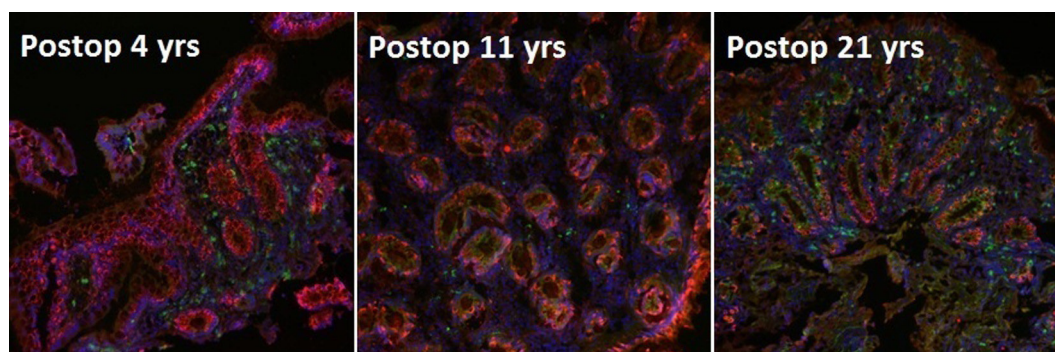


Figure Changes in MUC1 (green) and MUC2 (red) protein levels 4, 11, and 21 years after colocytoplasty. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Introduction

Urinary bladder augmentation is widely used for conservatively unmanageable urinary incontinence. However, to date, there is no evidence-based consensus in the literature as to which tissue type is the ideal for these operations. The uncertainty is caused by the fact, that after the increasing popularity of the technique in the 1980s and 1990s, long-term complications were identified, which were dependent on the type of the gastrointestinal segment used [1–3]. These can be grouped as metabolic and non-metabolic (mainly surgical) complications [2]. Malignancy is considered to be one of the most serious in the metabolic group [1,3]. Literature puts the incidence of bladder cancer at 1.5% per decade after colocytoplasty and 2.8% per decade after gastrocycloplasty [3].

Many factors are suspected to play a role in tumor formation following urinary bladder augmentation. Bacteria living in the urine may transform nitrates into potentially carcinogenic nitrosamines [4]. Urine may exert a direct toxic, DNA damaging effect on the gastrointestinal epithelium [5]. Aberrant signal mechanisms between the bladder mucosa and tissue used for augmentation may also play a role [1].

According to the literature, the average time elapsing between augmentation cycloplasty and first tumor detection is about 17 years [6]. Therefore, regular cystoscopies with mucosal biopsies are strongly recommended by many specialists for early cancer detection [2,3].

Mucins have been investigated widely in connection with malignancy of various tissues. They are high-molecular-weight glycoproteins containing at least 50% carbohydrate. Their oligosaccharide side chains, which are O-glycosidically linked to an apomucin core peptide, consist of N-acetylgalactosamine, galactose, fucose, N-acetylglucosamine, and sialic acid residues. The apomucin peptides are typically rich in serine, threonine, proline, alanine, and glycine [7,8]. To date, 19 types of mucin genes have been identified.

Every gastrointestinal epithelium (stomach, small- and large-intestine) has a unique mucin expression pattern, which may change in the case of malignancy [7]. There is evidence in adults that some of these changes in mucin expression happen very early in carcinogenesis. They may even precede the detectable morphological changes that are indicative of malignant transformation [9].

Changes in the levels of MUC1 and MUC2 proteins are associated with various malignancies in humans, as well as urothelial, intestinal, and gastric tumors [10]. MUC1 has barrier and cell signaling functions [11]. Overexpression or changes in glycosylation may result in carcinoma formation [12]. MUC2 protein is a secreted, gel forming protein. Its expression may decrease in colorectal carcinomas [13], and loss of its expression may predict recurrence or worse survival [14].

The aim of our study was to investigate histological changes and MUC1 and MUC2 protein levels and gene expression in the epithelium of the augmented urinary bladder following gastro-, ileo-, and colocytoplasty or bladder substitution.

Materials and methods

All investigations were performed with the approval of the university's local ethical committee and the National Ethical Committee in Hungary.

Between 1988 and 2013, 91 patients underwent urinary bladder augmentation and/or substitution at University of Pecs, Department of Paediatrics, Surgical Unit. We selected patients in whom augmentation had been performed at least 4 years previously, and who could come to control surveys regularly. Thus, 54 patients were recruited for the prospective study.

Indications for bladder augmentation and/or substitution augmentation were meningocele in 28 cases, extrophy–epispadias complex in 16, neurogenic bladder in six, pelvic trauma in one, posterior urethral valve in one, spinal cord tumor in one, and bladder rhabdomyosarcoma in one.

Of these 54 patients, eight underwent gastrocycloplasty, 22 ileocycloplasty, 17 colocytoplasty, and seven had bladder substitution with a colonic segment. Mean age was 12 years (4.3–20.9 years) at the time of surgery. Mean elapsed time was 9 years (4–21 years) from augmentation/substitution to the time of the first cystoscopy and biopsy.

Tissue samples were harvested during cystoscopy in general anesthesia in younger patients or in sedation with midazolam in older and cooperative patients. The augmented bladder was accessed through the urethra or through the continent urinary stoma if the urethra was not available. Wherever it was possible, 4–4 samples from randomly selected locations were taken from the native

bladder, from the gastrointestinal segment used for augmentation, and from the anastomotic line between these two segments. Half of the samples were fixed in formaldehyde and sent for routine (hematoxylin and eosin) histological investigation. Histological records from previous cystoscopies from the same patients were also accessed and included in the study.

The other half of the samples were immediately embedded into Optimal Cutting Temperature (OCT) medium and stored at -80°C .

Immunohistological double staining was performed at The Evanston Hospital (Northshore University Health-systems, Chicago, IL, USA). The embedded samples were sectioned at -25°C . Slides were fixed in 4% formaldehyde solution, blocked in glycine-PBS solution, washed in PBS, and incubated in PBST solution, then blocked in 5% goat serum for an hour. Primary antibodies against MUC1 (Santa Cruz, Vu4H5 mouse) and MUC2 (Sigma Aldrich: HPA006197, rabbit) proteins were diluted 1:100 in blocking buffer. Samples were incubated overnight with the antibodies at 4°C . On the following day, unbound primary antibodies were washed out and secondary antibodies conjugated with Alexa Fluor 488 (goat anti mouse for MUC1) and 594 (goat anti rabbit for MUC2). Afterwards unbound secondary antibodies were washed off in PBST. For nuclear staining, diaminophenylindol (DAPI) was used. Images were collected using a cooled CCD camera mounted on a Leica epifluorescence microscope, equipped with fluorescence filters that allowed the separate visualization of green, red, and blue epifluorescence, corresponding to MUC1, MUC2, and nuclei. Digitalized images were relayed to a computer and analyzed using IPLab software. Areas of measurement were selected, based on the appropriate morphological criteria corresponding to urothelium, and to gastric-, ileal-, or colonic epithelium (Fig. 1). To measure the absolute value of MUC1, we quantified the green integrated intensity within at least three regions of interest per image, and divided the values with the corresponding integrated intensity in the blue wavelength, that is we normalized the MUC1 signal to the number of participating cells in the region of interest. Red/blue fluorescence ratios were calculated likewise to evaluate MUC2. To calculate MUC2/MUC1 ratios, the red-green ratios were measured. Measurement results were evaluated with the help of a statistician.

Laser Capture Microdissection was performed on the neoplastic samples and on those samples that showed a statistically significant change in expression of MUC1 and MUC2. Altogether, samples from 14 patients were processed. Cells were gathered from the mucosa, and RNA was isolated with a Picopure Tm kit, then complementary DNA (cDNA) was created. Real-time PCR (RT PCR) (Rotorgene) was run with S18 as a housekeeping gene and with MUC1 and MUC2 primers.

Statistical analysis was done with the help of a statistician. ANOVA and least squares regression tests were used. A value of $p < 0.05$ was considered to be significant.

Results

Table 1 details the results of routine histology of the 54 patients. Metaplasia was found in three patients 8, 10, and

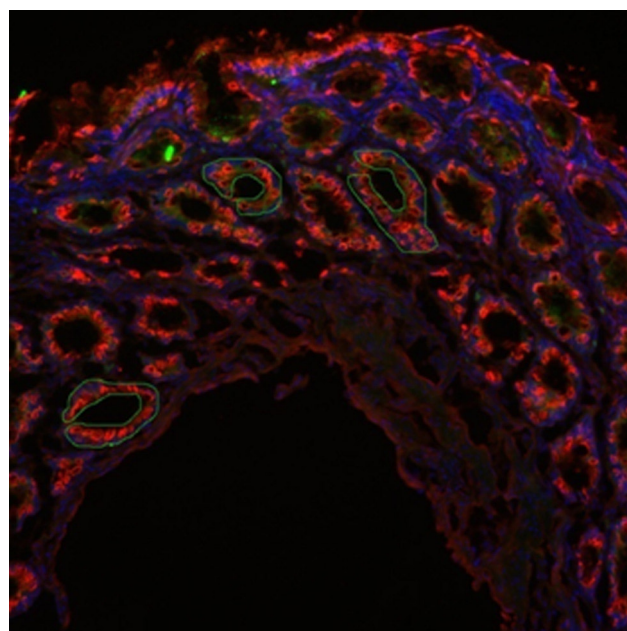


Figure 1 Immunofluorescently double stained colonic sample. The green line marks the area with the cells measured (10 $\times$ magnification). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

14 years after augmentation. One metaplasia was found in the colonic segment used for augmentation, one in the original bladder part (Fig. 2), and one in the anastomotic line between the bladder and the colonic segment. Dysplasia was observed altogether in six cases, in three patients during their follow-up. Five cases were detected 4 years after bladder augmentation and one after 6 years. Changes were located mainly at the anastomotic site and at the original bladder.

One in situ adenocarcinoma was found in a female patient 11 years after colocolostomy. During cystoscopy, the tumor was presented as a polypoid lesion on the mucosa of the colonic patch. Multiple samples were taken from the tumor and from the surrounding mucosa. The carcinoma showed an increased amount of glands with a relatively preserved structure with hematoxylin-eosin staining. There were no signs of invasion into the surrounding tissue.

No significant changes were found in either MUC1 or MUC2 protein levels in the tissues used for augmentation following gastrectomy, ileocolostomy, or bladder substitution with colon, or in the urothelium of these reservoirs.

The levels of MUC1 increased ($p < 0.001$) and MUC2 decreased ($p < 0.05$) significantly with time in the colonic mucosa following colocolostomy (resulting in a corresponding decrease in MUC2/MUC1 ratios). There were no significant changes in the mucin protein levels in the gastrectomy, ileocolostomy, and bladder substitution groups in the transposed gastrointestinal tissues as well as in the urothelial mucosae in all groups (gastro-, ileo-, colocolostomy, and bladder substitution with colon).

Real-time PCR showed that MUC1 gene expression gradually increased and MUC2 expression decreased with

Table 1 Results of human histological examinations in 54 patients, between 1988 and 2013.

Type of operation	Postoperative time																				
	4 years				6 years				8 years				10–12 years				14–16 years			18–20 years	
	N	I	M	D	N	I	M	D	N	I	M	D	N	I	M	CIS	N	I	M	N	I
Group A (ICP)																					
Original bladder	4	18	1	0	7	7	1	0	4	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Anastomosis	5	20	1	0	5	9	0	0	3	4	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
Small intestine	13	13	1	0	8	5	0	0	3	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Group B (CCP)																					
Original bladder	3	11	2	0	2	2	0	0	3	6	0	0	1	3	3	0	0	2	0	1	4
Anastomosis	2	3	0	1	1	2	0	1	1	7	2	0	0	5	1	1	0	1	0	2	3
Large intestine	5	7	0	0	2	2	0	0	3	9	0	0	1	6	1	0	0	3	1	3	4
Group C (GCP)																					
Original bladder	2	7	0	1	1	2	0	0	2	1	1	0	3	1	2	0	0	2	2	0	0
Anastomosis	0	6	1	1	1	2	0	0	2	1	1	0	1	2	2	0	0	2	1	0	0
Stomach	1	11	0	2	1	2	0	0	3	1	0	0	5	0	0	0	3	2	1	0	0
Group D (Substitution)																					
Large intestine	1	3	0	0	0	3	0	0	1	3	1	0	2	1	0	0	1	1	0	2	1

The numbers represent the number of normal (N), inflammatory (I), metaplastic (M), carcinoma in situ (CIS), and dysplastic (D) samples. ICP is for ileocystoplasty, GCP for gastrocystoplasty, and CCP for colocoloplasty, and substitution is for bladder substitution with large intestine.

time. In the patient where the polyp was presented, the older samples showed slightly decreased MUC2 gene expression and increased MUC1 gene expression. Tissue samples taken from the carcinoma and the surrounding tissue showed heavily increased MUC1 and decreased MUC2 protein levels (Fig. 3).

Discussion

The number of reports about tumors arising after urinary bladder augmentation or substitution is increasing [1–3,15]. Tumor formation is one of the most insidious

complications with many disputes to surveillance and treatment [2,3,15,16]. There are accepted options, which are currently in use for warning in case of bladder cancer in adults [16,17]. Because of the cancer risk after augmentation cystoplasty, regular cystoscopies are recommended [1–3,15]. However, an ideal, possibly non-invasive, cheap



Figure 2 Squamous cell metaplasia in the original bladder part following colocoloplasty 10 years after augmentation (10× magnification Hematoxylin-Eosine staining).

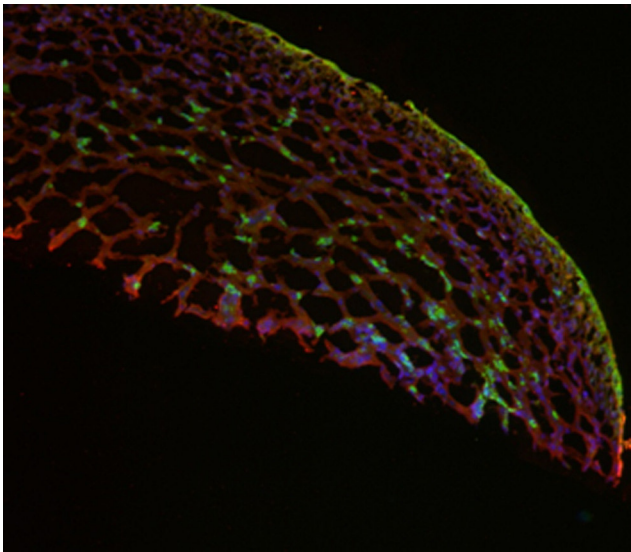


Figure 3 Immunofluorescent double staining of the in situ adenocarcinoma found in a female patient 11 years after colocoloplasty. Green staining indicates MUC1 protein and red staining indicates MUC2 protein. Nuclei are stained blue (10× magnification). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

method has not yet been established that is sensitive and specific enough to detect malignancy in the augmented/substituted bladder. In our study, we examined the histological changes occurring after bladder augmentation or substitution in children and adolescents. Our other objective was to define the role and possible use of MUC1 and MUC2 proteins and gene expressions as predictors of malignancy after augmentation.

Husmann reviewed malignancy arising after urinary bladder augmentation in children in the literature. He found that the risk of malignancy after colocolostomy and ileocolostomy is 1–3% [1]. In our patient material, only three metaplastic epithelia and one tumor were found. It is too early to make any statements about the risk of malignancy in our patients.

According to the literature, gastrectomy is a risk factor in itself for malignancy [1]. In our patient material, we found only one metaplasia afterwards and no macroscopically detectable tumor to date, which is somewhat in discordance with this statement.

Literature puts the risk of malignancy to increase to 1.5% yearly after enterocolostomy and 2.8% after gastrectomy [18]. In our follow-up we encountered one solid tumor 11 years after colocolostomy, and dysplasia in three patients (3.2%) in the first 6 years following augmentation, which is in accordance with this data.

N'Dow *et al.* examined the expression of various mucin genes in human tissue samples. They found a significant up-regulation of MUC1 in the ileal segments used for augmentation [8]. This is in discordance with our findings as we found no significant changes in our ileocolostomy group. They also detected MUC1 in the transposed ileal segments just as we did. Their findings about MUC2 are discordant with our study, as they found strong MUC2 expression in the transposed intestinal segments, whereas we found no significant changes in our ileal samples.

Lau *et al.* examined the expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in various tumor tissues using immunohistochemistry. They found that MUC1 immunoreactivity was present in 93% of bladder cancers, in 67% of gastric carcinomas, and in only 55% of colonic tumors. They also found that MUC2 expression was present mostly in tumors of the gastrointestinal tract and some rare, non-GI tumors [7]. We examined only MUC1 and MUC2 expressions in our study and we did not concentrate on expression patterns because of our limited cancer tissue material. However, in the samples of the tumor patient, an increased MUC1 protein level and a decreased MUC2 protein level were found, which is in accordance with their findings.

Lee *et al.* examined the expression of mucins and cytokeratins in various gastrointestinal tumors. They found distinct differences in mucin expression patterns between tumors of various intestinal tissues, which they proposed to use later on in histological diagnostics [19]. We could not establish a pattern in our study because of the relatively small amount of material in each group and because we examined only two markers.

Zhang *et al.* examined the expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in colorectal adenocarcinoma and small intestinal adenomas [20]. They found increased expression of MUC1 in both groups, which is somewhat in accordance with

our findings as MUC1 expression was strongest in the malignant samples.

It is well known that most colon cancers react with antibodies detecting MUC1 proteins to a greater degree than the corresponding normal tissue [21]. Our findings are in accordance with this, as we found an increase in MUC1 protein levels in our colonic samples. The expression pattern of mucins changes in malignancy [22]. Abnormal mucin expression is usually associated with tracheobronchial tumors and neoplasias of the gastrointestinal tract [22]. It perfectly matches with our findings, as we found a decrease in MUC2 expression in our samples.

The value of our research is the long-term follow up and the relatively high number of patients. Cystoscopy with biopsying of the augmented bladder is performed from the fourth postoperative year biannually. In case of any histologically significant change, these patients are followed-up yearly. It enables us to prospectively study histological changes after augmentation as well as gather more data about changes in MUC1 and MUC2 protein levels, which will hopefully enable more accurate pinpointing of increased risk for malignancy.

It is difficult to predict the time at which malignant changes occur because of their complexity and variability. In our experience, any change in mucin protein expression should be considered as a potential warning sign and patients should be monitored closely.

In our patient material, malignancy was detected in only one patient, relatively early, 11 years following augmentation. However, with the increase in follow-up time we are counting on further detections of malignancy.

What is new in our research is that our results show a significant change in MUC1 and MUC2 proteins and gene expression after colocolostomy. However, we did not detect any statistically significant changes after other forms of bladder augmentation or substitution. This may be because of the relatively small sample size (number of patients with gastrectomy and bladder substitution) and because of other, as yet unknown, factors after ileocolostomy.

These results suggest that MUC1 and MUC2 proteins may be good, promising markers for malignancy after (at least) colocolostomy. We are planning to develop a cheap, easy to use, non-invasive detection method, which can substitute cystoscopy in the long term (e.g. detection of cells collected from urine). For better understanding of tumor formation following bladder augmentation or substitution, further studies are required.

Conclusion

Detection of changes in MUC1 and MUC2 gene expressions in colonic tissue samples are promising markers for early detection of malignancy in patients with colocolostomy.

Conflict of interest

None.

Funding

This paper was supported by "PTE ÁOK-KA- 2013/28" (Research Fund for of University of Pécs, Medical School) and János Bolyai Research Scholarship of the Hungarian Academy of Sciences as well as the William J. Fulbright Scholarship.

Acknowledgment

The present scientific contribution is dedicated to the 650th anniversary of the founding of the University of Pécs, Hungary.

References

- [1] Husmann DA. Malignancy after gastrointestinal augmentation in childhood. *Ther Adv Urol* 2009;1:5–11.
- [2] Kispal Z, Balogh D, Erdei O, Kehl D, Juhasz Z, Vastyan AM, et al. Complications after bladder augmentation or substitution in children: a prospective study of 86 patients. *BJU Int* 2011;108(2):282–9.
- [3] Austin JC. Long-term risks of bladder augmentation in pediatric patients. *Curr Opin Urol* 2008;18:408–12.
- [4] Hamid R, Greenwell TJ, Nethercliffe JM, Freeman A, Venn NS, Woodhouse CRJ. Routine surveillance cystoscopy for patients with augmentation and substitution cystoplasty for benign urological conditions: is it necessary? *BJU Int* 2009;104:392–5.
- [5] Abdel-Rahim M, El-Bahnasawy M. Late uro-ileal cancer after incorporation of ileum into the urinary tract. *J Urol* 2002;167: 87–92.
- [6] Williamson SR, Lopez-Beltran A, MacLennan GT, Montironi R, Cheng L. Unique clinicopathologic and molecular characteristics of urinary bladder tumors in children and young adults. *Urol Oncol* 2013;31(4):414–26.
- [7] Lau SK, Weiss LM, Chu PG. Differential expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in carcinomas of various sites an Immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 2004;122:61–9.
- [8] N'Dow J, Pearson JP, Bennett MK, Nealand DE, Robson CN. Mucin gene expression in human urothelium and in intestinal segments transposed into the urinary tract. *J Urol* 2000;164: 1398–404.
- [9] Castro MA, Ferreira U, Martins MH, Stoppiglia RM, Netto NJR. Histological and histochemical changes of the intestinal mucosa at the urothelial-enteric anastomotic site. *Int Braz J Urol* 2006;32:222–7.
- [10] Debunne H, Ceelen W. Mucinous differentiation in colorectal cancer: molecular, histological and clinical aspects. *Acta Chir Belg* 2013;113(6):385–90.
- [11] Singh PK, Hollingsworth MA. Cell surface-associated mucins in signal transduction. *Trends Cell Biol* 2006;16(9):467–76.
- [12] Tolcher AW, Ochoa L, Hammond LA, Patnaik A, Edwards T, Takimoto C, et al. Cantuzumab mertansine, a maytansinoid immunoconjugate directed to the CanAg antigen: a phase I, pharmacokinetic, and biologic correlative study. *J Clin Oncol* 2003;21(2):211–22.
- [13] Byrd JC, Bresalier RS. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004;23(1–2): 77–99.
- [14] Elzagheid A, Emaetig F, Buhmeida A, Laato M, El-Faitori O, Syrjänen K, et al. Loss of MUC2 expression predicts disease recurrence and poor outcome in colorectal carcinoma. *Tumour Biol* 2013;34(2):621–8.
- [15] Husmann DA, Rathbun SR. Long-term follow up of enteric augmentations: the risk for malignancy. *J Pediatr Urol* 2008;4: 381–5.
- [16] Fradet Y. Screening for bladder cancer: the best opportunity to reduce mortality. *Can Urol Assoc J* 2009;3(6 Suppl. 4): 180–3.
- [17] Lau P, Chin JL, Pautler S, Razvi H, Izawa IJ. NMP22 is predictive of recurrence in high-risk superficial bladder cancer patients. *Can Urol Assoc J* 2009;3:454–8.
- [18] Higuchi TT, Fox JA, Husmann DA. Annual endoscopy and urine cytology for the surveillance of bladder tumors after enterocystoplasty for congenital bladder anomalies. *J Urol* 2011; 186:1791–5.
- [19] Lee MJ, Lee HS, Kim WH, Choi Y, Yang M. Expression of mucins and cytokeratins in primary carcinomas of the digestive system. *Mod Pathol* 2003;16:203–310.
- [20] Zhang MQ, Lin F, Hui P, Chen ZME, Ritter JH, Wang HL. Expression of mucins, SIMA, villin, and CDX2 in small-intestinal adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 2007;128:808–16.
- [21] Lesuffleur T, Zweibaum A, Real FX. Mucins in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues. *Crit Rev Oncol Hematol* 1994;17:153–80.
- [22] Devine PL, McKenzie IFC. Mucins: structure, function and association with malignancy. *Bioessays* 1992;14:619–25.



Histologic findings after gastrocystoplasty in rabbits

Peter Vajda^{a,*}, Andrew B. Pinter^a, Tamas Magyarlaki^b, Attila M. Vastyan^a,
Zsolt Juhasz^a, Zsolt Oberritter^a, Khaled Fathi^a

^aDepartment of Pediatrics, Surgical Unit, University of Pecs, H-7623 Pecs, Hungary

^bDepartment of Clinical Chemistry, University of Pecs, H-7623 Pecs, Hungary

Index words:

Gastrocystoplasty;
Rabbits;
Malignancy;
Long-term follow-up

Abstract

Purpose: The aim of this study was to investigate the long-term histologic changes after bladder augmentation with gastric segment in an animal subject.

Materials and Methods: Gastrocystoplasty was performed in 13 young, 3-month-old male rabbits. Open biopsies were taken from the native bladder and the gastric segment preoperatively and at 3, 6, and 12 months postoperatively. Sections were examined with H&E and periodic acid–Schiff (PAS) staining. Indirect immune peroxidase method was additionally applied to detect the carcinoembryonic antigen, the proliferative activity, and the gene for the tumor protein p53 in the epithelium.

Results: On the *native bladder*, at the 3-month follow-up, polyps, mucosal edema, submucosal fibrosis, and squamous cell metaplasia were detected, which did not change during the follow-up. On the *gastric segment*, at the 3-month follow-up, parietal cell hyperplasia and inflammatory mucosal overgrowth were detected; at the 6-month follow-up, inflammation or atrophy of the gastric mucosa and colonic-type metaplasia was found. These alterations remained unchanged during later course of follow-up. Neither dysplasia nor malignancy was observed during the 12-month follow-up.

Conclusions: The present study supports the clinical observations of low cancer risk after gastrocystoplasty and may indicate different effect of gastric secretion on uroepithelium and that of urine on gastric mucosa.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

Bladder augmentation with bowel (enterocystoplasty) or gastric segment (gastrocystoplasty) is a widely used method for increasing the urinary bladder capacity in children with urinary incontinence. There are numerous publications dealing with metabolic complications after cystoplasties but only a few reporting on the histologic changes. Nearly all authors performing these procedures and/or reporting their follow-up studies mention the risk of malignant transformation among the potential complica-

tions of both entero- and gastrocystoplasties [1,2]. To date, approximately 28 cases of tumor formation have been published in the literature—mainly in adults—after ileo- or colocystoplasty [3–7]. However, only 1 case of transitional cell carcinoma had been reported in a 73-year-old woman 14 years after gastrocystoplasty [7]. Clinically manifested malignancies have not been reported after entero- or gastrocystoplasty in children or adolescents during a medium-term (10-year) follow-up, however, there is uncertainty about the development of malignancy after gastrocystoplasty in humans and only a few animal experiments dealing with this question [8–11]. Therefore, it is warranted to investigate possible histologic changes in

* Corresponding author. Tel.: +36 72 535 900; fax: +36 72 535 971.
E-mail address: peter.vajda@aok.pte.hu (P. Vajda).

Table 1 Histologic findings of the urothelium after gastrocystoplasty in rabbits

Rabbit no.	Zero-biopsy	Three, 6, and 12 mo postoperatively
1	Normal	Edemic otherwise normal
2	Normal	Submucosal fibrosis
3	Normal	Edemic otherwise normal
4	Normal	Edemic otherwise normal
5	Normal	Edemic otherwise normal
6	Normal	Edemic otherwise normal
7	Normal	Submucosal fibrosis
8	Normal	Squamous cell metaplasia
9	Normal	Edemic otherwise normal
10	Normal	Squamous cell metaplasia
11	Normal	Submucosal fibrosis
12	Normal	Edemic otherwise normal
13	Normal	Squamous cell metaplasia

a standardized animal model after bladder augmentation with gastric segment.

1. Materials and methods

Conventional gastrocystoplasty was performed in 13 young male rabbits (2–2.25 kg) using a full-thickness gastric segment. We did not find any references in the literature about the gastrocystoplasty in rabbits; therefore, the following surgical technique was developed and applied. The animals were anesthetized intramuscularly (Ketamine 50 mg/kg with Fentanyl 0.025 mg). Penicillin 500,000 IU and Lidocain were given intramuscularly at the time of surgery. A full-thickness segment supplied by the left gastroepiploic artery was taken from the corpus of the stomach. This provided a segment for the augmentation with good blood supply. To ensure sufficient pedicle length, the spleen, which shared common blood supply with the pedicled left gastroepiploic artery, was mobilized. After closure of the stomach, the pedicled gastric segment together with the spleen was brought down into the lower abdomen and fixed to the retroperitoneum to avoid torsion of the pedicled artery and bowel obstruction. Finally, the cranial half of the bladder was resected, and the remaining caudal half was anastomosed to the gastric segment. Before the anastomosis between the gastric flap and the bladder, a transurethral catheter was introduced into the bladder. This catheter was left in place for 4 to 5 days. H₂ blockers were not given postoperatively.

Tissue samples, taken from both the native bladder and the gastric segment used for augmentation at the time of gastrocystoplasty, were considered as “zero-biopsy.” Further samples were always harvested from the same animals from the native bladder and from the gastric segment at 3, 6, and 12 months postoperatively via open procedure.

Two independent histopathologists evaluated the specimens. Sections (4 μ m) were examined after staining with H&E and periodic acid–Schiff (PAS). Indirect immune

peroxidase method was additionally applied to detect the carcinoembryonic antigen (CEA), the proliferative activity (MIB-1), and the gene for the tumor protein p53 in the epithelium using monoclonal antibodies. Gastric segments used for augmentation were investigated for *Helicobacter pylori* pre- and postoperatively.

2. Results

Results of biopsies of the urothelium and the gastric mucosa are detailed in [Tables 1 and 2](#). All intraoperative specimens (zero-biopsies) from the bladder and from the stomach segment showed normal histology. At 3 months postoperatively, edema of the bladder mucosa was found in 7 animals ([Fig. 1A](#)), submucosal fibrosis in 3 animals ([Fig. 1B](#)), and squamous cell metaplasia in 3 specimens

Table 2 Histologic findings of the gastric mucosa after gastrocystoplasty in rabbits

Rabbit no.	Zero-biopsy	Three mo postoperatively	Six and 12 mo postoperatively
1	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth	Inflammatory mucosal overgrowth
2	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth	Inflammatory mucosal overgrowth
3	Normal	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth
4	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth	Atrophy
5	Normal	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth
6	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth	Inflammatory mucosal overgrowth
7	Normal	Parietal cell hyperplasia	Atrophy
8	Normal	Parietal cell hyperplasia	Colonic-type metaplasia
9	Normal	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth
10	Normal	Parietal cell hyperplasia	Atrophy
11	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth	Atrophy
12	Normal	Normal	Inflammatory mucosal overgrowth
13	Normal	Parietal cell hyperplasia	Colonic-type metaplasia



Fig. 1 Histology of bladder mucosa at 3, 6, and 12 months postoperatively. A, Edema (H&E; original magnification $\times 40$). B, Submucosal fibrosis (picrosirius collagen staining; original magnification $\times 100$). C, squamous metaplasia; note the isolated foci of squamous epithelium beneath the surface urothelium (H&E; original magnification $\times 40$).

(Fig. 1C). Histology of the urothelium provided the same results at 6 and 12 months postoperatively. At 3 months postoperatively, no changes were detected in the gastric-segment biopsies in 4 rabbits, parietal cell hyperplasia was found in 4 (Fig. 2A), and inflammatory mucosal overgrowth (ie, catarrhal gastritis) in 5 (Fig. 2B) specimens. Inflammatory mucosal overgrowth was also detected in 7 animals in biopsies taken at 6 months postoperatively. Atrophy of the gastric mucosa was found in 4 (Fig. 3A) and colonic-type metaplasia in 2 (Fig. 3B) specimens. The histology of gastric mucosa provided the same results at the end of the 12-month follow-up.

Immunohistochemistry with CEA, MIB-1, and p53 staining revealed normal expression both in the gastric mucosa and the urothelium during 12 months follow-up. No dysplasia or other histologic changes characteristic of premalignant alterations were observed in the native bladder or in the gastric segment during the 12-month follow-up. All pre- and postoperative specimens were *Helicobacter pylori*-negative. Bladder perforation or stones were not observed.

3. Discussion

Buson et al [8] detected hyperplastic and metaplastic histologic changes in rats after gastrocystoplasty during 11-month follow-up. Little et al [9] showed papillomas and

squamous adenocarcinoma in rats 23 to 27 months postoperatively. Malignancy in human beings after gastrocystoplasty has only been noted in a 73-year-old woman 14 years postoperatively [7]. Prospective histopathologic data describing the exact pattern of histologic changes after gastrocystoplasty are still lacking. Therefore, the present study was undertaken to provide data regarding the potential malignant transformation after gastrocystoplasty by obtaining biopsies from the native bladder and the gastric segment in an animal model during a 12-month follow-up. Besides the standard staining methods, biopsies were stained additionally with CEA, MIB-1, and p53 antibodies (indirect immune peroxidase methods) to detect relevant signs of premalignant changes. The life span on rabbits is 2 to 4 years. A follow-up period of 1 year in rabbits is equivalent to 15 to 20 years in human beings.

Microscopically detectable changes in the urothelium (edema, fibrosis, and metaplasia) were already seen at 3-month time point after gastrocystoplasty. The changes in the gastric mucosa (atrophy, inflammation, hyperplasia, and metaplasia) were detected only later, 6 to 12 months postoperatively. The reason of this difference remains unclear, and further investigations are needed. According to our animal study, we assume that the following histopathologic pattern occurs after the gastrocystoplasty in rabbits: normal urothelial mucosa might undergo squamous cell metaplasia through a transient edematic or fibrotic

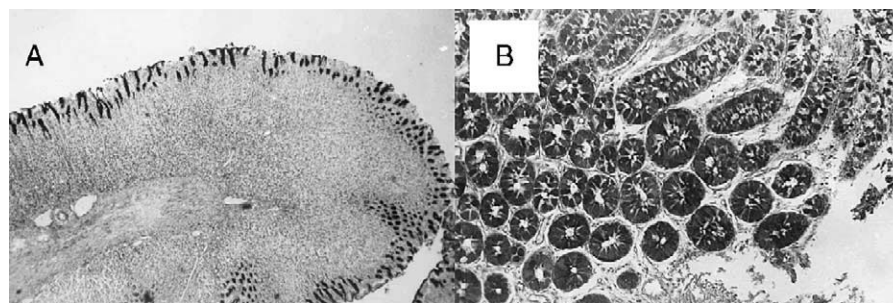


Fig. 2 Histology of gastric mucosa at 3 months postoperatively. A, Parietal cell hyperplasia (PAS; original magnification $\times 100$); thickened medium region of the proliferating parietal cells (PAS-negative glands) is seen beneath the narrowed surface mucous-producing cell layer (PAS-positive dark cells). B, Inflammatory mucosal overgrowth ("catarrhal gastritis") is demonstrated by the predominance of mucous-producing cells (PAS-positive dark cells) (PAS; original magnification $\times 100$).

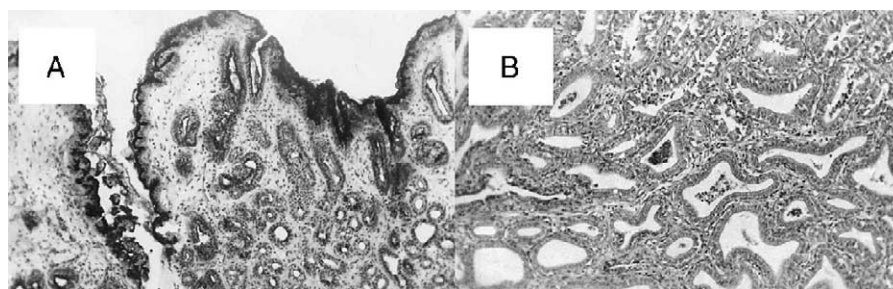


Fig. 3 Histology of gastric mucosa at 6 and 12 months postoperatively. A, Atrophy: tortuous, irregular, atrophied narrowed glands in the loose stroma of the epithelium (PAS; original magnification $\times 100$). B, Colonic-type metaplasia: irregular glands lose their PAS positivity (PAS; original magnification $\times 100$).

and inflammatory condition of the uroepithelium owing to gastric acid secretion. Normal gastric mucosa might be hyperplastic or might show colonic-type metaplasia through inflammatory mucosal overgrowth, which may be caused by continuous contamination by urine. The metaplasia might become dysplasia; however, we were not able to verify any pre-malignant change. The abovementioned histologic pattern is not in contradiction with the clinical predictions, but our study can support the time-dependent histologic changes only in the case of gastric mucosa.

Predisposing factors of tumor formation after enterocystoplasties are probably bowel mucous, bacteria, urinary stasis, pH changes, nitrosamines, and various growth factors [2,12-14]. However, the oncogenic role of the abovementioned predisposing factors has not been documented in patients with gastrocystoplasty yet. Campodonico et al [11] described in rats that the devascularization hindered in fusion of the 2 mucosae in the junctional area but significantly reduced papillary hyperplasia of the gastric mucosa. The permanent bacterial presence in the urine, often existing in patients with colcystoplasty, may be a significant risk factor for malignancy after enterocystoplasties, but it is less relevant in patients with gastrocystoplasty because of lower incidence of bacteriuria owing to the acid production of the gastric segment. The gastric pH in rabbits is approximately 5 [15]. Therefore, we did not administer H_2 blockers to rabbits after the operations. According to the investigation of Celayir et al [16], the presence of *Helicobacter pylori* may influence the histopathologic findings after gastrocystoplasty; however, we, as with Dimola and Caruso [17], were not able to find *Helicobacter pylori* in rabbits.

Neither the present animal study nor our earlier studies in human material were able to demonstrate changes for malignancy or premalignant alterations after gastrocystoplasty [18]. Close et al [10] found transitional cell hyperplasia and metaplasia but no malignancy or DNA abnormalities in rats using flow cytometry after gastrocystoplasty at 21 to 27 months of follow-up. We believe that cancer risk after cystoplasties, especially after gastrocystoplasty, is lower in the younger age than has been suggested in the literature. Therefore, there is no need for routine

histologic examination of the native bladder and the gastric segment in adolescents and young adults at the first 6 to 8 years after gastrocystoplasty. However, the risk of malignancy cannot be excluded later in adulthood. Longer follow-up and further molecular biologic studies are necessary to investigate this important question.

4. Conclusion

Histologic investigation of the native bladder and gastric segment used for gastrocystoplasty in young rabbits support the clinical observation of low cancer risk after gastrocystoplasty. The present study suggests that some detectable histologic changes can occur in the urothelium as early as 3 to 6 months after gastrocystoplasty in rabbits. However, these metaplastic changes appear only later in the gastric mucosa (6 to 12 months). The reason for this alteration remains unclear and may indicate that the gastric secretion on the urothelium has a stronger effect than the urine on the gastric mucosa. Long-term screening for malignancy is recommended by expansion of the investigations with molecular biologic methods to clarify the possible pattern, if any, of malignant transformation after the augmentation cystoplasties.

Acknowledgment

This study was supported by the Hungarian Scientific Research Foundation (OTKA 030402) from the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary. The authors thank Mr M Kaefer for his assistance in the preparation of the article.

References

- [1] Nurse DE, Mundy AR. Assessment of the malignant potential of cystoplasty. *Br J Urol* 1989;64:489-92.
- [2] Duel BP, Gonzalez R, Barthold JS. Alternative techniques for augmentation cystoplasty. *J Urol* 1998;159:998-1005.
- [3] Filmer RB, Spencer JR. Malignancies in bladder augmentations and intestinal conduits. *J Urol* 1990;143:671-8.

- [4] Gregoire M, Kantoff P, DeWolf WC. Synchronous adenocarcinoma and transitional cell carcinoma of the neobladder associated with augmentation: case report and review of the literature. *J Urol* 1993; 149:115-8.
- [5] Barrington JW, Fulford S, Griffiths D, et al. Tumors in bladder remnant after augmentation enterocystoplasty. *J Urol* 1997;157:482-5.
- [6] Nahas WC, Iizuka FH, Mazzucchi E, et al. Adenocarcinoma of an augmented bladder 25 years after ileocystoplasty and 6 years after renal transplantation. *J Urol* 1999;162:490-1.
- [7] Qiu H, Kordunskaya S, Yantiss RK. Transitional cell carcinoma arising in the gastric remnant following gastrocystoplasty: a case report and review of the literature. *Int J Surg Pathol* 2003;11:143-7.
- [8] Buson H, Diaz DC, Manivel JC, et al. The development of tumors in experimental gastroenterocystoplasty. *J Urol* 1993;150:730-3.
- [9] Little Jr JS, Klee LW, Hoover DM, et al. Long-term histopathological changes observed in rats subjected to augmentation cystoplasty. *J Urol* 1994;152:720-4.
- [10] Close CE, Tekgul S, Ganesan GS, et al. Flow cytometry analysis of proliferative lesions at the gastrocystoplasty anastomosis. *J Urol* 2003;169:365-8.
- [11] Campodonico F, Michelazzi A, Medica M, et al. Histological changes following two-step flap gastrocystoplasty in rats. *Urol Int* 2002;68: 49-53.
- [12] Cohen MS, Hilz ME, Davis CP, et al. Urinary carcinogen {nitro-amine} production in a rat animal model for ureterosigmoideostomy. *J Urol* 1987;138:449-52.
- [13] Creagh TA, Picramenos D, Smalley ET, et al. The source of urinary nitrosamines in patients with enterocystoplasties. *Br J Urol* 1997; 79:28-31.
- [14] Stoscheck CM, King Jr LE. Role of epidermal growth factor in carcinogenesis. *Cancer Res* 1986;46:1030-7.
- [15] Hillyer EV, Quesenberry KE. Ferrets, rabbits and rodents. *Clinical Medicine and Surgery*. New York: WB Saunders Co; 1997.
- [16] Celayir S, Goksel S, Unal T, et al. Helicobacter pylori infection in a child with gastric augmentation. *J Pediatr Surg* 1997;32:1757-8.
- [17] Dimola S, Caruso ML. Helicobacter pylori in animals affecting the human habitat through the food chain. *Anticancer Res* 1999;19: 3889-94.
- [18] Vajda P, Kaiser L, Magyarlaci T, et al. Histological findings after colo- and gastrocystoplasty. *J Urol* 2002;168:698-701.

Pécsi Tudományegyetem, Gyermekklinika, Gyermeksebészeti Osztály, Pécs
(igazgató: Soltész Gyula prof. dr.)

Új kísérletes modell kutyákban: a húgyhólyag gyomorral és vastagbéllel egyidejűleg történő megnagyobbítása – kompozit hólyag

Kispál Zoltán med., Vajda Péter dr., Vástyán Attila dr., Juhász Zsolt dr.,
Pintér András dr.

ÖSSZEFOGLALÁS: A szerzők állatkísérletes modellt dolgoztak ki a vastagbél egy szakaszával és gyomorszegmentummal egyidejűleg végzett húgyhólyag-megnagyobbításra. A műtéteket növekedésben lévő 6 hónapos beagle kutyákban végezték. Két állatban gyomorral, két kutyában vastagbéllel (kontrollcsoportok); 8 állatban gyomorral és vastagbéllel egyidejűleg történt a húgyhólyag megnagyobbítása (kompozit hólyag). A fenti állatkísérletes modell mellett megfigyelhető anyagcsere- és szövettani elváltozások összevethetőek a gyomorral vagy vastagbéllel történő húgyhólyag-megnagyobbítás után létrejövő elváltozásokkal, s alapjául szolgálhat további vizsgálatoknak.

NEW EXPERIMENTAL MODEL IN DOGS: URINARY BLADDER AUGMENTATION PERFORMED SIMULTANEOUSLY WITH GASTRIC- AND BOWEL SEGMENTS – COMPOSITE URINARY BLADDER

SUMMARY: An animal model was designed by the authors for augmenting the urinary bladder with gastric and bowel segment simultaneously. The operations were performed in 6 months old still developing beagle dogs. In two animals bladder augmentation was performed with a gastric flap only, in another two animals a large bowel segment was used. In eight dogs composite urinary reservoir was created using a gastric flap and a large bowel segment at the same time. Metabolic and histological changes of the established animal model in dogs can be compared with the changes that occur when either only a gastric or a bowel segment is used for bladder augmentation.

KEY WORDS: urinary incontinence, bladder augmentation, composite bladder, animal experiment

Vékony- vagy vastagbéllel végzett húgyhólyag-megnagyobbítás gyermekkorban leggyakrabban inkontinentia urinariae miatt történik. A gyomorral történő hólyag-megnagyobbítás indikációs területe a szövődmények gyakorisága miatt napjainkra beszűkült (17, 13). A nemzetközi irodalomban mindmáig nem alakult ki egyetértés arról, hogy a húgyhólyag megnagyobbítására vagy -pótlására, amely tápcsatorna szakasz a legalkalmasabb. A bizonytalanságot az okozza, hogy a műtétek bevezetését követő kezdeti lelkesedés után az utóbbi két évtizedben ismertté váltak azon – ese-

I. táblázat: A vékony- és vastagbéllel, valamint a gyomorszegmentummal történő hólyagmegnagyobbítás előnyei és szövődmények

Műtéti típus	Előnyök	Szövődmények
Vékonybél felhasználása: <i>Ileocisztoplasztika, illetve Hólyagpótlás ileummal (Kock-pouch)</i>	• Tágulékonysága a legnagyobb (ileum > colon) • Könnyen, kellő hosszúságban nyerhető • Jó vérellátású • Mucinképződés kisebb mértékű (colon > ileum) • Alacsonyabb, ritmikus kontraktilitás	• Heterotópiás nyálkahártya • Infekciójajlam magas • Kőképződésre hajlamosít • Metabolikus acidózis • Hypochloraemia, hyponatraemia • Bélobstrukcióra hajlamosít • B₁₂-vitamin-hiány (terminális ileum) • Epesav-felszívódás csökken • Vékonyabb izomréteg • Csont demineralizáció • Malignitás
Vastagbél felhasználása: <i>Kolocisztoplasztika, illetve Hólyagpótlás ileocecalis szegmetummal (Mainz I., Indiana-pouch)</i>	• Könnyen, kellő hosszúságban nyerhető • Jó vérellátású • Nagyobb kaliber miatt rövidebb szakasz is elegendő • Könnyen detubularisálható • Könnyebb uréter neoimplantatio • (colon > ileum)	• Heterotopias nyálkahártya • Mucinképződés (colon > ileum) • Infekciójajlam magas • Kőképződésre hajlamosít • Metabolikus acidózis • Hyperchloraemia, hypernatraemia • Hasmenés • B₁₂-vitamin-hiány (ileocecalis szegmentum) • Kifejezettebb kontraktilitás (colon > ileum) • Vékonyabb izomréteg • Csont demineralizáció • Malignitás
Gyomor felhasználása: <i>Gasztrocisztoplasztika</i>	• Minimális mucintermelődés • Nincs kőképződés • Csökkent infekció hajlam • Vastagabb izomréteg (gyomor > vastagbél > vékonybél) • Könnyű uréter neoimplantatio • Alacsonyabb, ritmikus kontraktilitás • Veseérintettség, rövid bél szindróma esetén is használható	• Heterotopias nyálkahártya • HDS • Hypergastrinaemia • Metabolikus alkalózis • Hypochloraemia, hypokalaemia • Spontán perforáció/ruptura • <i>Helicobacter pylori</i> infekció • Malignitás

tenként akár az életet is veszélyeztető – szövődmények, amelyek a húgyhólyagmegnagyobbításra vagy pótlására használt tápcsatorna-szakasz típusától függenek. A vékony- és vastagbéllel, illetve a gyomorszegmentummal történő hólyagmegnagyobbítás irodalomból jól ismert előnyeit és várható szövődményeit (4, 6, 7, 8, 9, 11, 12) táblázatban tüntettük fel (I. táblázat).

A gyomorral és béllel történő egyidejű hólyagmegnagyobbítás (kompozit hólyag) esetén a kedvezőtlen metabolikus elváltozások kiolthatják egymást, az ellentétes

anyagcserehatások semlegesíthetnek (2, 10). A kompozit hólyag alkalmazása esetén a szervezetben elvileg biztosítható a semleges vér- és vizelet pH-status, illetve az elektrolit-háztartás egyensúlya, amely különösen fontos a növekedésben lévő szervezet esetén. Gyermekekben béllel és gyomorral egyidejűleg történő hólyagmegnagyobbításról *Austin és mtsai.* számoltak be 7 eset kapcsán (10). Gyomorral vagy béllel történő állatkísérletes modellekről – elsősorban kutyákban és patkányokban – számos közleményt találunk (3, 5), de egyidejűleg gyomorral és béllel állatokban végzett húgyhólyag-megnagyobbításról az irodalomban nem találtunk közlést.

Célunk olyan állatkísérletes modell kidolgozása volt, amely alkalmas a gyomorral és vastagbélllel végzett húgyhólyag-megnagyobbító műtétek után kialakuló anyagcsere- és szövettani elváltozások vizsgálatára.

Anyag és módszer

Az állatkísérleteket a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Oktató és Kutató Intézetében, az Egyetemi Etikai Bizottság előzetes engedélyével végeztük. A műtétek 12 növekedésben lévő, hathónapos, átlagosan 10 kg-os nőtény beagle kutyákban történtek. Az állatokat három csoportra osztottuk: *A-csoport* – két kutyában a húgyhólyag-megnagyobbítás gyomorral történt (gasztrocisztoplasztika); *B-csoport* – két kutyában kirekesztett, detubularizált vastagbélllel végeztünk húgyhólyag-augmentációt (kolocisztoplasztika); *C-csoport* – nyolc állatban gyomorral és béllel egy ülésben történt a hólyagmegnagyobbítás (kompozit hólyag). Az A- és B-csoport állatai kontrollként szolgáltak.

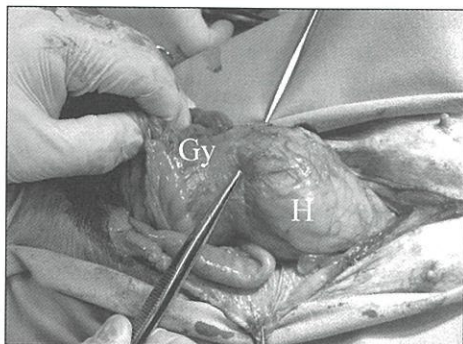
A húgyhólyag-megnagyobbító műtétek előtt az állatok 24 órán át nem kaptak táplálékot, folyadékot korlátlanul fogyaszthattak. A műtéteket megelőzően a kutyák parenteralis (im.) testsúlyra számított antibiotikumot (gentamycin és penicillin) kaptak. A gyomorral és kompozit lebennyel történő megnagyobbítás esetén H_2 -receptor-blokkolót (ranitidin) is adtunk. A műtétek előtt vér- és vizelet-mintavételre került sor. A műtétek thiopental indukciót követően intratrachealis narkózisban (halothan, N_2O) történtek. A narkózis bevezetése után per urethram (10 Ch-es *Foley*) hólyagkatéter behelyezése történt. A továbbiakban a műtétek technikai kivitelezését részletezzük.

A-csoport (gasztrocisztoplasztika)

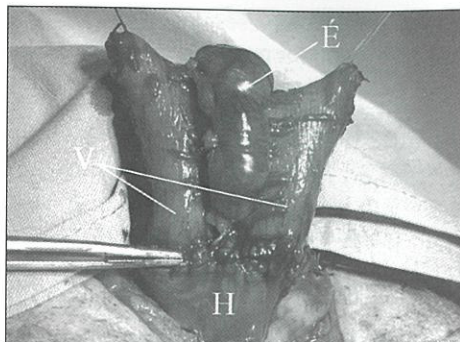
A műtéteket, korábban már közölt állatkísérleteinkhez hasonló módon (15), hosszú median laparotómiából végeztük. A gyomor corpusából egy kb. 7×7 cm-es kb. egyenlő oldalú háromszöget vágtunk ki, amelynek vérellátását az a. gastroepiploica sinistra biztosította. A gyomor folytonosságát kétrétegű varratsorral állítottuk helyre. Az érnyeles gyomorlebenyt intraperitonealisan vittük le az eredeti húgyhólyaghoz. A hólyag cranialis részét (a hólyag fele része) eltávolítottuk, majd a gyomorszegmentumot egyrétegű, tovafutó varratsorral anasztomizáltuk a visszamaradó caudalis hólyagrészhez (1. ábra). A műteti idő átlagosan 2,5 óra volt.

B-csoport (kolocisztoplasztika)

A műtéteket alsó median laparotómiából végeztük. A colon descendesből egy kb. 10-12 cm hosszú szakaszt izoláltunk érellátásának megtartásával. A vastagbél folytonosságát vég- a véghez anasztomózissal állítottuk helyre. Az izolált érnyeles vastagbél-szegmentumot antimesenterialis oldalán hosszanti irányban felhasítottuk, majd



1. ábra: Gyomorszegmentummal megnagyobbított hólyag 12 hónappal a műtétet követően. A csipeszek az anasztomózis vonalát mutatják (H eredeti hólyag, Gy gyomorszegmentum)



2. ábra: Vastagbéllel megnagyobbított hólyag az anasztomózis elkészítését követően. A csipesz az anasztomózis vonalát mutatja (H eredeti hólyag, V vastagbél-szegmentum, É a vastagbél-szegmentum érnyle)

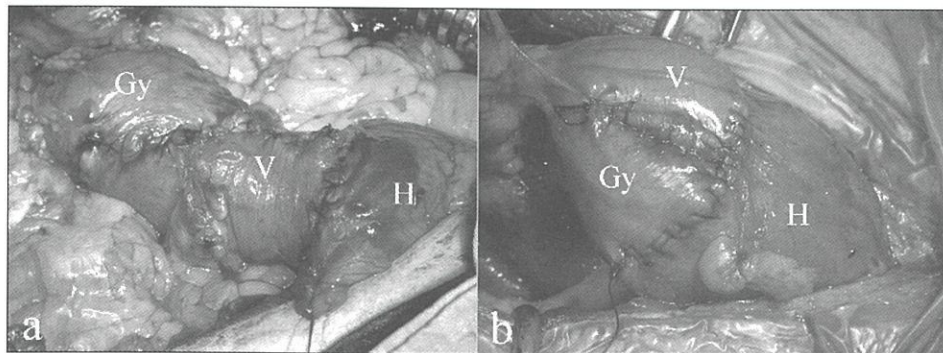
az így keletkezett téglalap alakú vastagbél szakaszt U-alakban, „sapkaszerűen” összevarrtuk (detubularizáció) és azt a visszamaradó eredeti (1/2) hólyagrészhez egyrétegű, továbbfutó varratsorral anasztomizáltuk (2. ábra). A műtéti idő átlagosan 2 óra volt.

C-csoport (kompozit hólyagképzés)

A műtéteket hosszú median laparotomiából végeztük. A gyomorból az A-csoportban, a vastagbélből a B-csoportban részletezett technikával izoláltunk gyomor-, illetve vastagbél-szegmentumokat. A húgyhólyag cranialis felét reszekáltuk, majd a ki-rekesztett gyomor- és vastagbél-szegmentumokat egy rétegben az eredeti egyharmad hólyagrészhez később részletezendő módon anasztomizáltuk. Így nagyjából megegyező nyálkahártya-felületű összetett vizeletrezervoárt (1/4 gyomor, 1/4 vastagbél és 1/2 eredeti hólyag) képeztünk ki. A műtéti idő átlagosan 3,5 óra volt. Kompozit hólyag kialakítására két műtétechnikai lehetőség kínálkozik:

1. először a bélszegmentumot gyűrű alakban varrjuk az eredeti 1/2 hólyagrészhez, majd a gyomorszegmentumot a bélrész tetejére varrjuk („emeletes” vagy „szendvics” hólyag) (3.a ábra).
2. Az izolált gyomor- és vastagbél-szegmentumokat először egymáshoz, majd az eredeti hólyagrészhez varrjuk. Így a gyomor- és a vastagbél-szegmentumok egymással és az eredeti hólyaggal is, mint „két fél sapka” érintkeznek (3.b ábra). Négy állapotban „szendvics”-, négy állapotban „sapkaszerűen” képeztük ki az összetett húgyhólyagot.

Mindhárom csoportban a vizeletelvezetést a megnagyobbított hólyagban suprapubicusan visszahagyott 20 Ch-es Pezzer- és transurethralis (Foley-) katéter biztosította. Az állatok a 7. posztóp. napig naponta parenterális (im.) fájdalomcsillapításban (Algopyrin), valamint antibiotikus (gentamycin és penicillin) kezelésben részesültek, amelyet a 7. nap után további egy hétig per os folytattunk (amoxicillin és clavulansav). Az A- és C-csoport állatai az 5. posztóp. napig parenterális (im.) H_2 -receptor-blokkolót (ranitidin) is kaptak. A kutyák a 3. posztóp. naptól pépes, az 5. posztóp. naptól szilárd ételt fogyaszthattak. A hólyagban visszahagyott transurethralis ka-



3. ábra: A gyomorszegmentummal és vastagbéllal egyidejűleg végzett húgyhólyag-megnagyobbítás lehetőségei. a: „Emeletes” vagy „szendvics” hólyag. b: „Sapka” hólyag (H eredeti hólyag, V vastagbél-segsegmentum, Gy gyomorszegmentum)

tétet a 7. posztóp. napon, a suprapubicus katétet a 14. posztóp. napon távolítottuk el.

Az állatokat 1 évig követtük nyomon. A nyomonkövetési időszak végén az állatokat túlaltattuk.

Eredmények

A közlemény tárgyát képező 12 állat (2 gasztrocisztoplasztika, 2 kolocisztoplasztika és 8 kompozit hólyag) a nyomonkövetési idő végéig túléltek. A korai posztoperatív szakban (7–14 nap), elsősorban a betanulási időszakban, 4 állatot veszítettünk el, főleg a nagyobb műtéti traumát jelentő kompozit hólyagképzést követően. A kutyák elpusztulásának oka részben az anesztézia, részben a műtéttechnikai problémák (anasztomózis-elégtelenség, utóvérzés) voltak.

A nyomonkövetési idő alatt a következő szövődményeket figyeltük meg az egyes csoportokban:

- *A-csoport*: gyomorral történt hólyagmegnagyobbítást követően makroszkópos haematuriat egy állatban észleltünk a műtétet követő 5. hónap végéig.
- *B-csoport*: vastagbéllal történt hólyagmegnagyobbítás után szövődményt nem észleltünk.
- *C-csoport*: kompozit hólyagképzést követően egy állatban észleltünk haematuriat a műtétet követő 3. hónap végéig.

Megbeszélés

A közleményben ismertetett állatkísérletes modell újszerűsége abban áll, hogy a hólyagmegnagyobbítás gyomorral és béllal egyidejűleg történt. Az így kialakított modell lehetőséget nyújt annak vizsgálatára, hogy különböző metabolikus tulajdonságokkal rendelkező tápcsatornaszakaszokkal (gyomor- és vastagbél-segsegmentum) együttesen végzett hólyagmegnagyobbítás esetén mérséklődnek-e (semlegesítődnek-e) a csak vastagbéllal vagy csak gyomorral végzett augmentáció kedvezőtlen anyagcsere és szövettani következményei.

Állatkísérletünkben azért használtuk a vastagbél-segsegmentumot kompozit lebeny kialakítására, mert gyermekkorban a colonszakasszal történő húgyhólyag-megna-

gyobbítás szövődményei az irodalomban ismertebbek, mint a vékonybél-szakasszal végzett műtétek. Továbbá korábbi közleményeinkben is ilyen irányú vizsgálatokról számoltunk be (14, 15, 16).

Kísérleteinkben az izolált gyomorszegmentum húgyhólyaghoz történő levitele – ellentétben az emberben történő műtéttel – könnyebb volt az artéria gastroepiploica sinistra segítségével kialakított érlebennyel és a szegmentum intraperitonealis levitelével.

A kompozit hólyag elkészítésénél részletezett „emeletes” vagy „szendvics” hólyagot egyszerűbb kialakítani mind a két fél „sapka” szerű hólyagot. Ez rövidebb műtéti idővel jár, de egyúttal ez a rezervoár szövődmények kialakulásának lehetőségét rejtje magában (anasztomózisok beszűkülése, az érnyelek megtöretése). A két fél „sapka” szerűen kialakított kompozit hólyag esetében a műtéti idő hosszabb, de az eredeti hólyaghoz jobban hasonlító vizeletrezervoárt sikerül kialakítani. A kezdeti 5-5,5 órás műtéti idő később 3 órára rövidült, amely az állat számára már jobban elviselhető műtéti megterhelést jelentett. A műtétet követő szövődmények száma és mértéke (5. posztóp. hónapig észlelt átmeneti haematuria) nem tekinthető jelentősnek. A véres vizeletürítés mindkét állatban, gyógyszeres beavatkozás (H_2 -receptor-blokkoló, protonpumpa-gátló) nélkül, spontán megszűnt.

Közleményünkben ismertetett állatkísérletes modell alkalmas a gyomorral és vastagbéllel együttesen végzett húgyhólyag-megnagyobbító műtéteket követő anyagcsere- és szövettani elváltozások tanulmányozására. Állatkísérleteink ilyen irányú eredményeiről a későbbiek során számolunk be.

Köszönetnyilvánítás

A közlemény szerzői köszönetüket fejezik ki a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Oktató és Kutató Intézet munkatársainak az állatkísérletek végzéséhez nyújtott segítségükért.

Az állatkísérletek az OTKA T046213 sz. pályázat támogatásával történtek.

Irodalom

1. Austin PF, et al. The gastrointestinal composite urinary reservoir in patients with myelomeningocele and exstrophy: long-term metabolic follow-up. J Urol 1999; 162: 1126–28.
2. Austin PF, et al. Multi-institutional experience with the gastrointestinal composite reservoir. J Urol 2001; 165: 2018–21.
3. Bajory Z, et al. Intravital microscopic assessment of pressure induced microcirculatory changes after enterocystoplasty in rats. J Urol 2001; 165: 1279–82.
4. Baydar DE, et al. Anaplastic signet ring cell carcinoma arising in gastrocystoplasty. Urology 2005; 65: 1226.
5. Castro-Diaz D, et al. The influence of urinary diversion on experimental gastrocystoplasty. J Urol 1992; 148: 571–74.
6. Celayir S, et al. Helicobacter pylori infection in a child with gastric augmentation. J Pediatr Surg 1997; 32: 1757–58.
7. Duel BP, et al. Alternative techniques for augmentation cystoplasty. J Urol 1998; 159: 998–1005.
8. Filmer RB, Spencer JR. Malignancies in bladder augmentations and intestinal conduits. J Urol 1990; 143: 671–78.
9. Gosalbez R Jr, et al. Metabolic complication of the use of stomach for urinary reconstruction. J Urol 1993; 150: 710–12.
10. McLaughlin KP, et al. Stomach in combination with other intestinal segments in pediatric lower urinary tract reconstruction. J Urol 1995; 154: 1162–68.

11. *Mills RD, Studer UE.* Metabolic consequences of continent urinary diversion. *J Urol* 1999; 161: 1057-66.
12. *Plawker MW, et al.* Hypergastrinemia, dysuria-hematuria and metabolic alkalosis: complications associated with gastrocystoplasty. *J Urol* 1995; 154: 546-49.
13. *Pajor L, Harsányi L, Kelemen Zs.* Gastro-cystoplasty, a wrong choice in an adult case. *Ann d' Urologie* 1995; 29: 261-262.
14. *Vajda P, et al.* Histological findings after colcystoplasty and gastrocystoplasty. *J Urol* 2002; 168: 698-701.
15. *Vajda P, et al.* Metabolic findings after colcystoplasty in children. *Urology* 2003; 62: 542-46.
16. *Vástyán A, et al.* Seromuscular gastrocystoplasty in dogs. *Urol Int* 2003; 71: 215-18.

Composite Urinary Reservoir in Dogs: Histological Findings

Zoltan Farkas Kispal,* Peter Vajda, Laszlo Kereskai, Csaba S. Jakab,
Attila M. Vastyan, Zsolt Juhasz and Andrew B. Pinter

From the Surgical Unit, Department of Pediatrics (ZFK, PV, AMV, ZJ, ABP) and Department of Pathology (LK), University of Pécs, Pécs and Faculty of Veterinary Science, Department of Pathology and Forensic Veterinary Medicine, Szent Istvan University (CSJ), Budapest, Hungary

Abbreviations and Acronyms

PCNA = proliferating cell nuclear
antigen

Submitted for publication May 17, 2011.

Study received university ethical committee
approval.

Supported by the János Bolyai Research
Scholarship of the Hungarian Academy of Sci-
ences.

* Correspondence: Surgical Unit, Department
of Pediatrics, Medical School, University of Pécs,
Hungary 7 Jozsef Attila St., Pécs, H-7623, Hun-
gary (telephone: +36-72-535-900; FAX: +36-72-
535-971; e-mail: zachary22@gmail.com).

Purpose: This animal study was designed to investigate whether the compos-
ite urinary reservoir might lessen the premalignant histological alterations
observed after bladder augmentation performed with a gastric segment or
large bowel.

Materials and Methods: Composite urinary reservoirs were created using
gastric and colonic segments simultaneously in 8, 3-month-old female beagle
dogs by augmenting half the native bladder. Two dogs with gastrocystoplasty
and 2 with colocystoplasty served as controls. Biopsies were taken from the
native bladder, and the gastric and colonic segments at augmentation, and
endoscopically 4 and 8 months postoperatively. The dogs were sacrificed and
open biopsied 12 months postoperatively. Tissue specimens were examined
with routine hematoxylin and eosin, reaction and immunohistological staining
for PCNA.

Results: At the creation of composite reservoir and gastrocoloplasty or colo-
cystoplasty all specimens showed normal histology. At 12 months postopera-
tively dysplasia was found in 1 gastric segment, 2 native bladders and 3
colonic segments in the composite reservoir group. There was a single carci-
noma in situ in 1 gastric segment in the composite reservoir group. In the
control groups 1 colonic segment and 1 native bladder dysplasia were detected
at the end of 12-month followup. There was an in situ carcinoma in 1 gastric
segment in the composite reservoir.

Conclusions: A composite reservoir did not decrease premalignant changes in
dogs during 12 months of followup. Laboratory investigations, molecular
studies and longer followup are needed to approach the question of early
malignant alterations after augmentation cystoplasty in animals and
patients.

Key Words: urinary bladder; urinary reservoirs, continent; transplants;
carcinoma; dogs

BLADDER augmentation and substitu-
tion with various gastrointestinal tract
segments are extensively used as con-
servative therapy for nontreatable
urinary incontinence. However, aug-
mentation cystoplasty is associated
with a large number of complications,
which can be divided into 2 main cat-
egories.

1) Metabolic and histological com-
plications include electrolyte and
acid-base alterations (alkalosis or
acidosis depending on the gastro-
intestinal segment used for augmen-
tation), disturbed bone metabolism,
impaired linear growth¹ and vita-
min deficiency. Malignant histologi-
cal alterations in the native bladder

and the gastro-intestinal segment used for augmentation might be explained by these metabolic changes.^{2,3}

2) Nonmetabolic, mainly surgical complications include bowel obstruction, stone formation, reservoir perforation, vesicourethral fistula after bladder neck closure, vesicoureteral reflux, stomal complications, hematuria-dysuria syndrome, decreased bladder capacity and compliance requiring re-augmentation, etc.^{3,4}

Malignancy in the gastrointestinal segments (small or large bowel, or gastric segment) used for augmentation or in the native bladder is considered one of the most severe complications. The origin of malignancy in the augmented bladder is not yet completely understood. Nitrosoamines, the direct toxic effect of urine on the intestinal epithelium and aberrant intercellular signal mechanisms might have a role.⁵ An increasing number of reports in the literature show tumors arising in a neobladder after bladder augmentation performed with various gastrointestinal segments. The risk of malignancy is increased about 7 to fifteenfold after these operations.²

According to Lockhart et al the opposing metabolic processes (absorption of the urine through the intestinal segment and acid secretion by the gastric segment) may neutralize the unwanted postoperative metabolic alterations after augmentation performed with a gastric and an intestinal segment simultaneously.⁶ We hypothesized that if these metabolic processes were neutralized or decreased, the milieu responsible for tumor formation might be lessened and/or be less harmful. Thus, in this animal study we investigated whether premalignant histological changes after the creation of composite reservoirs would differ from those after colocolostomy or gastrocystoplasty.

MATERIALS AND METHODS

Operations were done at the Department of Surgical Research and Techniques, University of Pécs, Hungary, with

the permission of the university ethical committee. Surgery was done on 15, 3-month-old 10 kg female beagle dogs. Three animals died in the early postoperative period and so only 12 were studied. The dogs were divided into 3 groups. In 8 dogs (group 1) augmentation was performed with a gastric and a colonic segment simultaneously. Two dogs underwent only gastrocystoplasty (group 2) and 2 were treated only with colocolostomy (group 3). Groups 2 and 3 served as controls.

Surgery was done with intratracheal anesthesia using a median laparotomy in all groups. The technical details of each augmentation type in the dogs were previously reported (fig. 1).⁷ We provide a brief description of each type of operation.

Group 1—Composite Reservoir

We isolated gastric and colonic segments as discussed for groups 2 and 3. The upper half of the native bladder was removed. An isolated gastric segment and an intestinal segment were anastomosed simultaneously to the remaining native bladder. Thus, a composite reservoir was created that was composed of the gastric flap in 1 quarter, the intestinal (colonic) flap in another quarter and the remaining part of the native bladder in 2 quarters.

Group 2—Conventional Gastrocystoplasty

A 7 cm triangular flap was isolated from the fundus (proximal part of the body), for which the blood supply was provided by the left gastroepiploic artery. This segment was brought intraperitoneally to the native bladder. The upper half of the native bladder was removed and the gastric segment was anastomosed to the remaining half with 1 layered running suture.

Group 3—Conventional Colocolostomy

A 10 to 12 cm segment of descending colon was isolated and opened on the antimesocolic side for detubularization to form a rectangular flap. The flap was folded and sutured into a U-shaped half sphere, which was anastomosed to the remaining part of the native bladder.

Urinary diversion was provided by a 20Ch suprapubic Pezzer catheter in all groups and a transurethral Foley catheter in the first 2 weeks postoperatively. The animals received antibiotics (amoxicillin/clavulanic acid and gentamicin) for 14 days. In group 1 with a composite reservoir and group 2 with gastrocystoplasty, in which

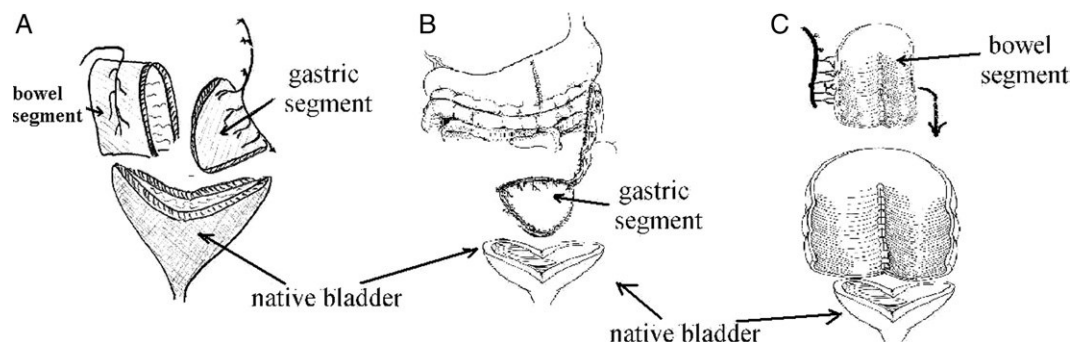


Figure 1. Surgical steps. A, composite reservoir with gastric and bowel segment. B, gastrocystoplasty. C, colocolostomy.

Histological findings in dogs with composite reservoir, gastrocystoplasty and colocoloplasty

Surgery type (dog No.)	4 Mos Postop	8 Mos Postop	12 Mos Postop
Composite reservoir:			
1	Normal morphology	Native bladder inflammation	Colonic segment chronic inflammation, in situ adenoma, osteoplastic metaplasia
2	Normal morphology	Normal morphology	Gastric segment inflammation, dysplasia PCNA 40%–45%
3	Normal morphology	Native bladder inflammation	Colonic segment inflammation
4	Colonic segment inflammation	Colonic segment inflammation	Colonic segment inflammation
5	Gastric segment ulceration	Normal morphology	Colonic segment inflammation, dysplasia
6	Normal morphology	Normal morphology	Colonic segment dysplasia, gastric segment chronic inflammation
7	Native bladder inflammation	Native bladder inflammation	Colonic segment dysplasia, native bladder chronic inflammation, PCNA 20%–25%
8	Normal morphology	Colonic segment inflammation	Gastric segment in situ Ca, PCNA 95%–100%
Gastrocystoplasty:			
9	Normal morphology	Native bladder inflammation	Native bladder inflammation, dysplasia
10	Normal morphology	Native bladder inflammation	Native bladder inflammation
Colocystoplasty:			
11	Normal morphology	Native bladder inflammation	Colonic segment inflammation, dysplasia PCNA 35%–40%
12	Normal morphology	Native bladder inflammation	Colonic segment inflammation

stomach was involved, ranitidine was also administered for 2 weeks.

Open biopsies were taken from the native bladder, and the gastric and colonic segments used for augmentation at augmentation and at the end of the 12-month followup after sacrifice. The same tissues were harvested for histology endoscopically at postoperative months 4 and 8.

Histological examination was done by 2 independent pathologists (LK and CSJ). All tissue samples were stained with hematoxylin and eosin, and periodic acid-Schiff for routine histological examination. Slides for the immunohistochemical reaction were deparaffinized in xylene and graded ethanol. Monoclonal mouse anti-human PCNA (PC10 clone, 1:200 dilution, incubated overnight at 4°C) was used to determine the cell proliferation rate. The PCNA index in normal tissue samples at operation (native bladder, stomach and intestine) was around 6% to 8%. PCNA positive cells were counted by 2 observers simultaneously with a 2-headed light microscope. In each specimen PCNA positive and negative nuclei (1,000 cells) in 8 to 10 representative high power fields were counted. Each immunoreactive nucleus was considered positive. Urinalysis was also done at histological evaluation.

RESULTS

The table lists the results. Biopsy was normal at baseline. All specimens from the native bladder, colon and stomach showed normal morphology at augmentation (fig. 2).

Group 1—Composite Reservoir

We detected 1 ulcer in the gastric part of a composite neobladder at 4 months in dog 5, which spontaneously resolved. Four months postoperatively the reservoirs in dogs 1 to 3, 6 and 8 showed normal histology. There was chronic inflammation in a composite reservoir in the native bladder part in dog 7 and in the colonic part in dog 4. At 8 months 5 animals had chronic inflammation in the reservoir, including in the native bladder part in dogs 1, 3 and 7, and in the colon segment in dogs 4 and 8. At 12 months there was chronic inflammation in the colonic segment in dogs 1, 3, 4 and 5, in the gastric segment in dogs 2 and 6, and in the native bladder part in dog 7 (fig. 3, A). Dysplasia was seen in the colonic part in dogs 1, 6 and 7, and in the gastric segment in dog 2 (fig. 3, B). In situ adenoma was found in 1 colonic segment in dog 1 (fig. 4, A). There

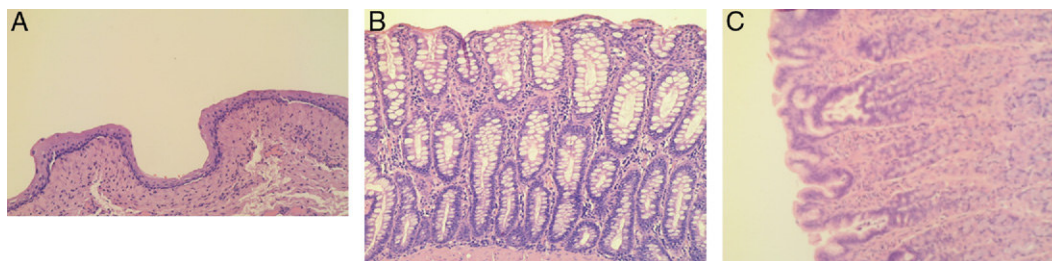


Figure 2. Normal organs in dogs at augmentation. A, bladder. B, colon. C, stomach. H & E, reduced from ×200.

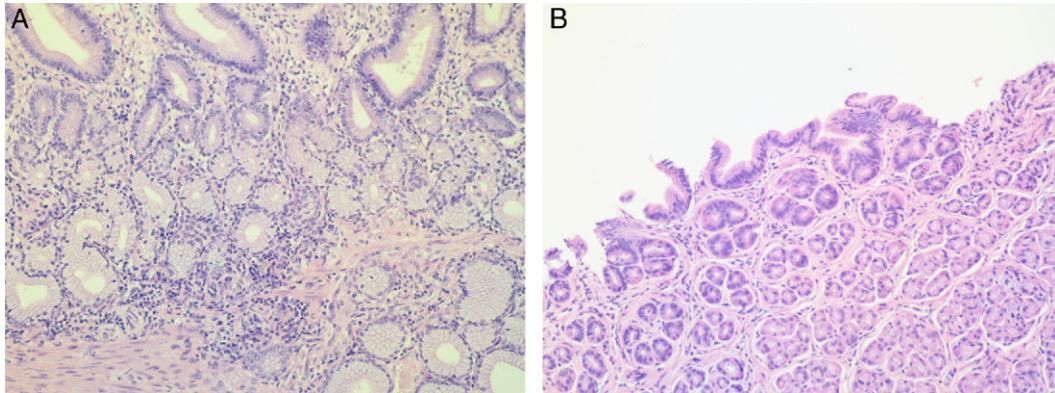


Figure 3. Results 12 months after composite reservoir creation. *A*, chronic urothelial inflammation. *B*, gastric mucosal dysplasia. H & E, reduced from $\times 400$.

was 1 in situ microcarcinoma in the gastric part of the composite reservoir in dog 8 (fig. 4, *B*). The mitotic index was 85% to 90%.

Group 2—Gastrocystoplasty

The 2 augmented bladders showed normal histology at 4 months (fig. 2, *B*). At 8 months chronic inflammation was observed in the native bladder part in each animal (fig. 3, *A*). At 12 months each augmented bladder showed inflammation in the native bladder part and dysplasia was also observed in that of dog 9. The mitotic index was 38% to 40%.

Group 3—Colocystoplasty

The 2 augmented bladders showed normal histology at 4 months (fig. 2). At 8 months chronic inflammation was observed in the native bladder part. At 12 months each augmented bladder showed inflammation (fig. 3, *A*). Dysplasia was also observed in 1 colonic segment in dog 11. The mitotic index was 35% to 40%.

Urinalysis revealed chronic bacteriuria (more than 10^5 bacteria per ml) in all dogs throughout followup.

DISCUSSION

Growing emphasis is placed on the detection of tumors appearing after bladder augmentation or substitution with a gastrointestinal segment. Tumors after augmentation cystoplasty usually present late, are highly aggressive, have a poor prognosis, often present incidentally and for the most part are not detected by regular screening. This suggests that current regular cystoscopic surveillance may not be sufficient or informative enough to detect these cancers early. Histological changes precede macroscopic morphological abnormalities in carcinogenesis. Thus, it is strongly assumed that detecting early histological changes in patients with augmentation cystoplasty may identify those at risk for tumor.⁸

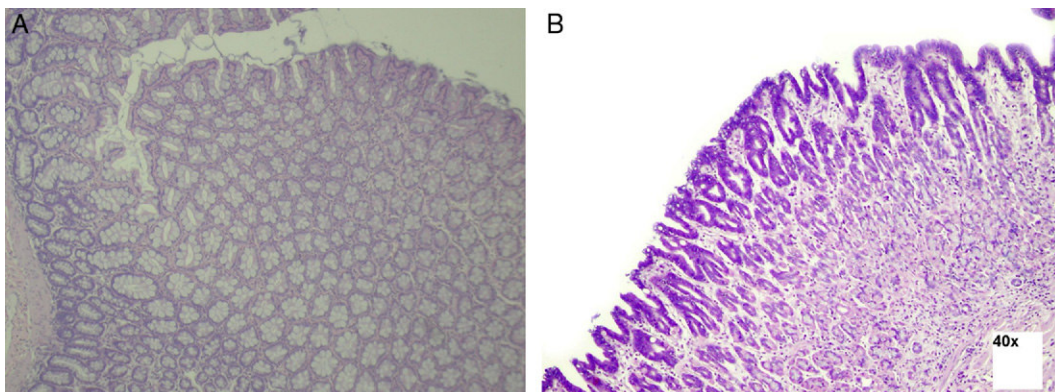


Figure 4. Results 12 months after composite reservoir creation. *A*, colonic mucosal adenoma. H & E, reduced from $\times 100$. *B*, gastric mucosal microcarcinoma. Periodic acid-Schiff, reduced from $\times 40$.

In our animal model we modeled and monitored histological changes that develop after creation of a composite urinary reservoir in dogs. We also determined whether different types of gastrointestinal tissue with different metabolic features would neutralize the metabolic side effects of each other that might be responsible for tumor formation. We chose female dogs since we needed an animal that was large enough for repeat histological samplings and female dogs could be catheterized more easily than males for followup investigations. The upper half of the native bladder was removed to model a low capacity (low compliance) bladder in children. The colonic segment was used for colocystoplasty and composite reservoirs since the most tumors arise after augmentation from the colonic segment.²

Gitlin et al also found chronic inflammation in dogs after the creation of composite reservoirs using ileum and the antral part of the stomach.⁵ However, the duration of the investigation was only 4 months.

To study the genesis of malignant tumors in humans longer followup (years) is needed since macroscopically detectable tumors usually appear many years after augmentation cystoplasty. In dogs with a shorter life expectancy of 12 to 14 years the time needed for carcinogenesis is probably much less. Still, longer followup would have detected further details and provided a progression of the changes found in our study.

Immunohistochemical staining for PCNA was used to determine the sample mitotic rate. PCNA is an auxiliary protein of DNA polymerase expressed in dividing cells during the G1 phase. PCNA increases in late G1, peaks in S-phase and remains high during G2 and M-phase due to its long half-life.⁹

Most animal experiments dealing with augmentation cystoplasty and tumor formation have been done on rats. Klee et al reported histopathological changes in a gastric segment of rats that underwent gastrocystoplasty and followed the animals for 16 to 18 months.¹⁰ No malignancy was observed but papillomatous tumors developed in 5 of the 15 rats that survived in the long term. Glandular atrophy was noted in areas of the gastric mucosal transplant in almost half of the animals.

Burgu et al reported similar results in a recent study in rats.¹¹ They created gastro-ileal reservoirs and followed them for 6 months. No macroscopic malignant alterations were noted but followup was shorter than ours and they used ileum while we used colon for the composite reservoir. They also detected premalignant changes (metaplasia) in the ileal and gastric patches. They stated that using a

gastro-ileal segment did not decrease histological changes after augmentation cystoplasty at a short-term followup of 6 months.

Buson et al examined the risk of carcinogenesis for different types of augmentations and investigated the possible role of infection in the origin of malignant changes in rats.¹² Multifocal or superficial transitional metaplasia was found in 65% of gastrocystoplasties, 50% of sigmoid cystoplasties and 55.5% of ileocystoplasties. They noted acute inflammation of the gastrointestinal segments but we saw only chronic inflammation. They reported no adenocarcinoma or transitional cell carcinoma in rats in their study. They found only papillary lesions while we found an adenoma and a micro-invasive carcinoma after composite reservoir creation, and dysplasia in all 3 groups in dogs with longer followup. In our cohort we could not ultimately rule out bacteriuria exclusively as the cause of the histological changes since it was ubiquitous.

The question arises as to what benefit our study has for humans. There are relevant differences between humans and dogs. There is an ever growing number of reports on neoplasms developing many years after bladder augmentation.^{3,4} McLaughlin et al created gastro-ileal reservoirs in humans.¹³ On cystoscopy they found no ulceration, malignancy or inflammation while we noted chronic inflammation in our dog reservoirs from postoperative month 4 and thereafter.

According to our experimental model we believe that the creation of a composite bladder puts more strain on the body, such as longer operative time, major surgical trauma, the possibility of a large number of early perforations, anastomotic leakage, adhesions, etc, as well as late postoperative complications without well-defined advantages to the patient.

CONCLUSIONS

A composite reservoir did not decrease premalignant changes in dogs. In addition, creating a composite urinary reservoir may not be beneficial for the patient. Longer followup, detailed laboratory investigations, which are in progress in the same animal cohort, and molecular studies are needed to approach the question of malignancy after augmentation cystoplasty, including the composite bladder, in animals and in humans.

ACKNOWLEDGMENTS

Dr. Juda Jona assisted with manuscript preparation.

REFERENCES

1. Cantürk F, Tander B, Basoglu T et al: Bladder exstrophy: effects on bone age, bone mineral density, growth, and metabolism. *Bone* 2005; **36**: 69.
2. Husmann DA: Malignancy after gastrointestinal augmentation in childhood. *Therap Adv Urol* 2009; **1**: 5.
3. Austin JC: Long-term risks of bladder augmentation in pediatric patients. *Curr Opin Urol* 2008; **18**: 408.
4. Kispal Z, Balogh D, Erdei O et al: Complication after bladder augmentation or substitution in children: a prospective study of 86 patients. *BJU Int* 2010; **108**: 282.
5. Gitlin JS, Wu XR, Sun T et al: New concepts of histological changes in experimental augmentation cystoplasty: insights into the development of neoplastic transformation at the enterovesical and gastrovesical anastomosis. *J Urol* 1999; **162**: 1096.
6. Lockhart JL, Davies R, Persky L et al: Acid-base changes following urinary tract reconstruction for continent diversion and orthotopic bladder replacement. *J Urol* 1994; **152**: 338.
7. Kispal Z, Vajda P, Vastyán AM et al: Bladder augmentation with gastric and bowel segment—composite urinary reservoir (experimental model). *Magyar Urol* 2006; **18**: 230.
8. Appanna TC, Doak SH, Jenkins SA et al: Comparative genomic hybridization (CGH) of augmentation cystoplasties. *Int J Urol* 2007; **14**: 539.
9. Bravo R, Frank R, Blundell PA et al: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature* 1987; **326**: 515.
10. Klee LW, Hoover DM, Mitchell ME et al: Long term effects of gastrocystoplasty in rats. *J Urol* 1990; **144**: 1283.
11. Burgu B, Gökçe MI, Aydogdu O et al: Combining gastric and ileal segments, does it overcome segment-related complications? An experimental study on rats. *Urol Res* 2010; **39**: 39.
12. Buson H, Diaz DC, Manivel JC et al: The development of tumors in experimental gastroenterocystoplasty. *J Urol* 1993; **150**: 730.
13. McLaughlin KP, Rink RC, Adams MC et al: Stomach in combination with other intestinal segments in pediatric lower urinary tract reconstruction. *J Urol* 1995; **154**: 1162.

MUC1- és 2-fehérje expressziójának változása kutyákban gyomorral és vastagbéllel egyidejűleg megnagyobbított húgyhólyagban

Kispál Zoltán dr.¹, Jilling Tamás dr.², Vástyán Attila dr.¹, Pintér András dr.¹, Vajda Péter dr.¹

¹ Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Gyermekklinika, Sebészeti osztály. Pécs (Igazgató: Molnár Dénes dr.)

² Northshore University Healthsystem, The Evanston Hospital, USA

LEVELEZŐ SZERZŐ:

Dr. Kispál Zoltán

Cím: 7623 Pécs, József Attila u. 7.

E-mail: zachary22@gmail.com

Célkitűzés: A tápcsatorna valamely szakaszával végzett húgyhólyag-megnagyobbítás potenciálisan legveszélyesebb szövődménye a tumorok kialakulása a rezervoárban. A gastrointestinalis malignus nyálkahártya-elváltozásai esetén a mucin gének expressziójának változásai már a tumorigenezis korai szakaszában kimutathatók. Ezért állatkísérletes modellben vizsgáltuk a MUC1- és 2-gének expresszióját a húgyhólyag-megnagyobbításhoz használt vastagbél- és gyomor-segumentumokban.

Módszer: Tizenkét fiatal nőstény beagle kutyában végeztünk húgyhólyag-megnagyobbítást. Két-két állatban csak gyomorral vagy csak vastagbéllel, nyolc kutyában gyomorral és vastagbéllel egyszerre és egyidejűleg történt a húgyhólyag megnagyobbítása. A műtétkor, majd a műtétek elvégzését követően 4 és 8 hónappal, illetve a nyomonkövetési idő végén (12 hónap) szövettani mintavétel történt a húgyhólyag-megnagyobbításra használt vastagbél- és gyomorsegumentumokból. A szövettani mintákat kettős (MUC1 és 2 ellenes antitestek) immunfestéssel vizsgáltuk.

Eredmények: A vastagbél minták MUC1-szintje szignifikánsan csökkent ($p=0,0001$), a gyomorminták MUC2-szintje kisebb mértékben, de még szignifikánsan csökkent ($p=0,03$) a 12 hónapos nyomonkövetés során.

Következtetés: A MUC1- és 2-fehérje expressziójának vizsgálatával a húgyhólyag-megnagyobbító műtétet követően kialakuló malignitás korábban felismerhetővé válhat.

KULCSSZAVAK: KUTYÁK, TUMOR, HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBITÁS, MUC1, MUC2

A tápcsatorna különböző szakaszaival végzett húgyhólyag-megnagyobbítás (augmentáció) a konzervatív kezeléssel (antikolinerg terápia, intermittáló tiszta hólyagkatéterezés, medencefenéktorna) nem kezelhető vizeletinkontinencia terápiás lehetősége (1, 2, 3). Ezen kontinencia-javító sebészeti beavatkozásnak számos szövődménye lehet (4). A szövődmények két fő csoportra oszthatóak:

- I. Metabolikus szövődmények és szövettani elváltozások metabolikus alkalózis/acidózis (attól függően, hogy a műtét béllel vagy gyomorral történt), osteopenia, elektrolit-zavarok, vitaminhiányok, tumorképződés
- II. Nem metabolikus, sebészeti szövődmények: bél-elzáródás, kőképződés, az augmentált hólyag perforációja, stb (2, 4).

A húgyhólyag-megnagyobbító és -pótló műtétek után fellépő tumorképződés potenciálisan az egyik leg súlyo-

sabb, legnehezebben megelőzhető és gyakran csak később felismert szövődmény. A nemzetközi irodalomban általánosan elfogadott a tápcsatorna valamely szakaszával megnagyobbított húgyhólyag rendszeres, akár évenkénti vizsgálata szövettani mintavétel céljából (3). Kompozit (gyomor- és bélszegmentummal egyszerre megnagyobbított) hólyagban ezen metabolikus hatások (sósav-szekréció a gyomorrészből és felszívódás a bélrészben át) kiolthatják, gyengíthetik egymást, ami a tumorképződésre is hatással lehet (5).

A MUC-gének termékei, a mucinok (MUC), a sejtek differenciálódásának jellemző fehérjéi (markerei). Jelenleg már 20 féle mucin-fehérje és az ezeket kódoló MUC-gén ismert. A legtöbb nyálkahártyának jól meghatározott, az adott nyálkahártyára jellemző mucin-mintázata van. A húgyhólyag fő mucinja a MUC1, a vékony- és vastagbélben általában MUC2-fehérje észlelhető, de kis mértékben a MUC1 is megtalálható a nyálkahártyáján. A gyo-



morban döntően MUC1 és MUC5a található (6). Ha az adott nyálkahártyán malignus elváltozás lép fel, akkor a nyálkahártya mucin-mintázata megváltozhat. Ezt a jelenséget először a colon carcinoma esetén írták le (7). A mucin-exszpresszió megváltozása a tumorképződés folyamatában igen korán végbemegy, a makroszkóposan észlelhető elváltozásokat is megelőzi (8).

Vizsgálatunk célja a gyomorral és a vastagbéllel egyidejűleg megnagyobbított húgyhólyag (ún. összetett, vagy kompozit húgyhólyag) különböző nyálkahártyáinak MUC1 és 2-fehérje expressziójának vizsgálata volt, amelyet az általunk korábban kidolgozott és ismertetett kutyamodellben vizsgáltunk (9).

Módszerek

A műtéteket 12, 3 hónapos nőtény beagle kutyában a Pécsi Tudományegyetem Állatkísérletes Etikai bizottságának előzetes engedélyével végeztük. A műtétek és az állatok nyomonkövetése a PTE, Sebészeti Oktató és Kutató Intézetében történtek.

Intratrachealis narcosisban, laparotomia során két-két kutyában csak gyomorral (gastrocystoplastica, A-csoport), illetve csak vastagbéllel (colocystoplastica, B-csoport), további 8 állatban gyomorral és vastagbéllel egyidejűleg (kompozit hólyag, C-csoport) történt a hólyag-megnagyobbítás. A módszert egy korábbi közleményünkben részletesen ismertettük (9). Az alábbiakban röviden összefoglaljuk a beavatkozás lényegét:

A-csoport (gastrocystoplastica): egy kb. 7 cm-es, háromszög alakú lebenyt izoláltunk a gyomor fundusából, amelynek vérellátását az a. gastroepiploica sinistra biztosította. A gyomorszegmentumot intraperitonealisan a hólyaghoz lehúztuk és a hólyag felső felének eltávolítása után a hólyag megmaradó feléhez varrtuk (1. a ábra).

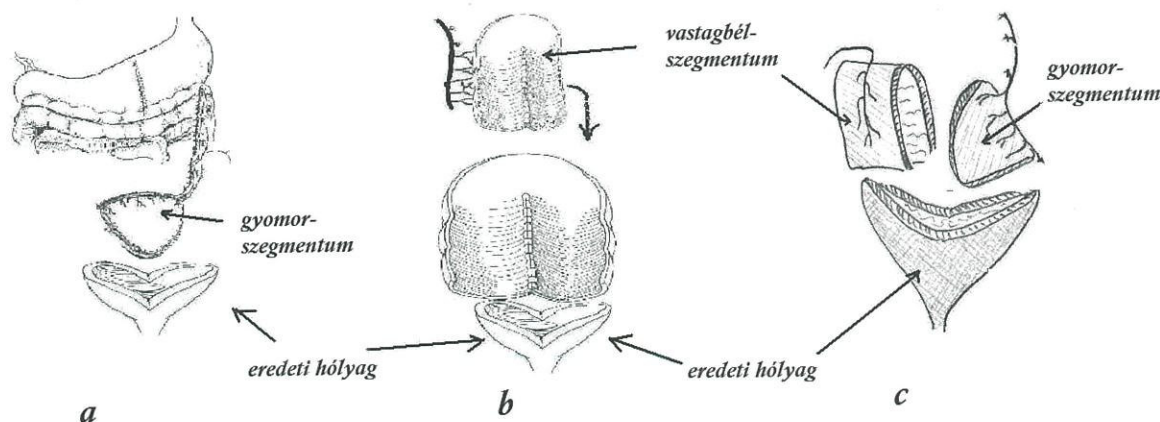
B-csoport (colocystoplastica): a colon descendens 10-12 cm-es szakaszának izolálása után annak antimesenterialis oldalát felhasítottuk és az így kialakított négyszög alakú vastagbél lebenyt „U” alakban félgömbbé alakítva összevarrtuk és az eredeti hólyag visszamaradó részéhez varrtuk (1. b ábra).

C-csoport (kompozit hólyag): kompozit hólyag esetén a fent ismertetett módon készítettük elő a gyomor-, illetve vastagbél-szegmentumokat. A hólyag felső részének eltávolítása után a tápcsatorna-szegmentumokat a hólyag maradék részéhez varrtuk. Így egy olyan összetett (kompozit) hólyag képződött, amelynek egy-egy negyedét gyomor- és vastagbél-szegmentum, a maradék két negyedét pedig az eredeti hólyag adta (1. c ábra).

A műtétet követő első két hétben mindhárom csoportban a vizeletelvezetést szuprapubikusan visszahagyott 20 Ch-s Pezzer-katéter, valamint egy transzurethralis Foley-katéter biztosította. Az állatok a perioperatív időszakban (14 napon át) im. antibiotikumot (amoxicillin/klavulánsav és gentamycin) kaptak, az A- és C-csoportban (gastrocystoplastica és kompozit hólyag) ranitidint is.

A húgyhólyag megnagyobbításakor, valamint a 12 hónapos nyomonkövetés végén az állatok túlaltatását követően szövettani mintavétel történt a hólyagmegnagyobbításra felhasznált tápcsatorna-szakaszokból (gyomor és vastagbél). A műtétet követően 4 és 8 hónappal altatásban végzett hólyagtükrözéssel mintákat nyertünk.

A minták immunhisztokémiai feldolgozása az Egyesült Államokban történt (Northshore University Healthsystem, The Evanston Hospital, Evanston, Illinois, USA). A mintákat beágyazást követően -80°C -on tároltuk. Cryostatban $7\text{ }\mu\text{m}$ -es metszeteket készítettünk, majd 4%-os formalinban történt fixálást követően az aldehidblokkolás glicines foszfát pufferolt sóoldatban történt (glicin-PBS). Foszfát pufferolt sóoldattal (Phosphate Buffered Saline/PBS) végzett mosás, majd foszfát pufferolt Tweenes sóoldattal (PBST) történő félórás inkubáció után az antigénblokkolást 5%-os kecskeszérummal végeztük. A vizsgálati anyagokat ezt követően elsődleges monoklonális egér MUC1 elleni antitesttel (Invitrogen) és poliklonális nyúl MUC2 elleni antitesttel (Invitrogen) 4°C -on egy éjszakán át inkubáltuk. Másnap ismételt PBST-tel történő átmosás után a mintákat Alexa Fluor 488-cal konjugált egér elleni (zöld) és az Alexa Fluor 594-gyel konjugált nyúl elleni (piros) másodlagos antitestekkel kezeltük. Végezetül Diammino-fenilindolt (DAPI) és fedőanyagot (Invitrogen Slowfade Gold With DAPI) használtunk a magok megfestésére.



1. ábra: A hólyagmegnagyobbítás folyamata vázlatosan: a) Hólyagmegnagyobbítás gyomorszegmentummal (gastrocystoplastica) b) hólyagmegnagyobbítás bélszegmentummal (colocystoplastica), c) kompozit rezervoár létrehozása gyomor- és bélszegmentummal



A megfestett mintákat fluoreszcens mikroszkópia során zöld, piros és kék fénnel világítottuk át. Azokon a helyeken, ahol a MUC1-fehérje található, ott a zöld fénnel történt átvilágítás során intenzív zöld fluoreszcenciát észleltünk. Azokon a helyeken, ahol a MUC2-fehérje van, ott intenzív piros fluoreszcenciát észleltünk piros fénnel való átvilágításakor. A sejtmagokat kékre festettük és kék fénnel világítottuk át. A megfestett mintákról készült képeket hűtött Charged Coupled Device (CCD) kamerával nyertük. A mikroszkóphoz csatlakoztatott szoftver (IPLab 4.08) segítségével a zöld (MUC1), piros (MUC2), valamint a kék (sejtmagok) színek intenzitását mértük és az így nyert adatokat statisztikus segítségével értékeltük. A $p < 0,05$ változásokat tekintettük szignifikánsnak (2. ábra).

Eredmények

Az 1. táblázat tartalmazza a MUC1- és 2-fehérje expressziójának változásait a vizsgálati időszak alatt.

A statisztikai elemzés a vastagbélminták MUC1 expressziójában szignifikáns csökkenést mutatott mind a kompozit- (C-csoport), mind a colocytoplastica (B-csoport) műtéteket követően 4, 8 és 12 hónappal ($p < 0,0001$). A bélminták MUC2 expressziójában szignifikáns változást nem észleltünk.

A gastrocystoplastican (A-csoport) és kompozit húgyhólyagképzésen átesett állatokban (C-csoport) a MUC2 expressziója kevésbé markánsan, de szignifikánsan csökkent ($p = 0,03$). Ugyanakkor a MUC1 expressziójában gastrocystoplasticat követően nem találtunk számottevő eltérést.

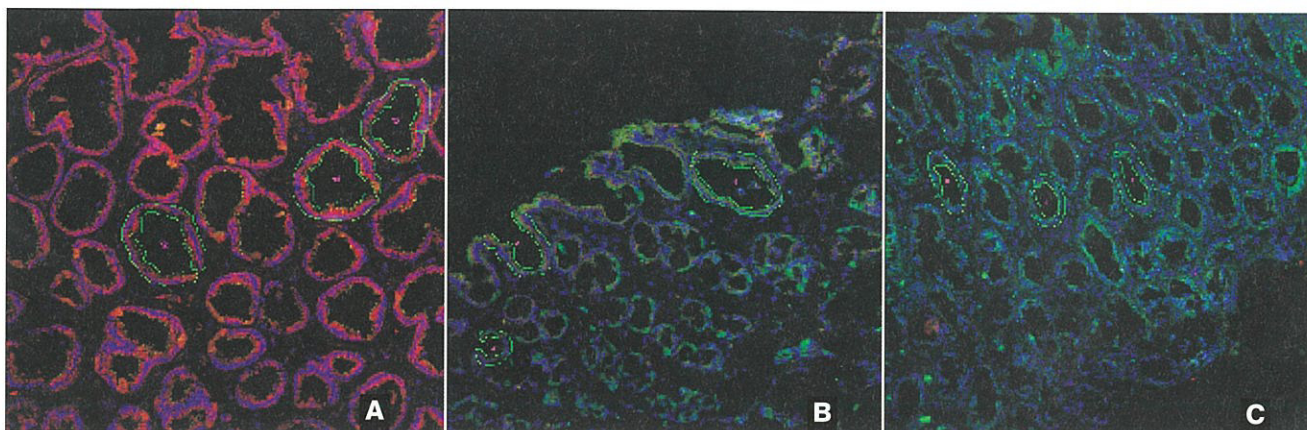
A nyomonkövetés során két tumort találtunk a kutyákban, mindkettőt a kompozit csoportban. Az egyik tumor a gyomor-szegmentumban jelentkezett 12 hónap után. Ez a tumor szövettanilag in situ carcinomának bizonyult. A másik tumort szintén 12 hónap után észleltük a kompozit hólyag vastagbél-szegmentumában, amely tumor in situ adenomának bizonyult.

Megbeszélés

Vizeletdiverzió után kialakuló rosszindulatú daganatról először 1929-ben számoltak be (10). Ezt követően a húgyhólyag-megnagyobbítás után fellépő tumorok kialakulásának modellezésére számos vizsgálat történt. Little és munkatársai Long-Evans patkányokban végeztek hólyagmagnagyobbítást gyomorral, ileummal vagy colon descendenssel. A kísérlet végén a túlélő állatok leölésekor az augmentáción átesett hólyagban hiperplastikus, metaplasztikus vagy proliferatív elváltozásokat találtak, döntően az anasztomózis vonalában (11). Kompozit hólyagban a különböző szövetek elváltozásai egyszerre tanulmányozhatóak. Mi a 12 hónapos nyomonkövetés során a legtöbb hólyagban krónikus gyuladást, két kutyában in situ carcinomát észleltünk (közlés alatt).

N'Dow és munkatársai mucin-gének (MUC1-7) kifejeződését vizsgálták emberi szövetmintákban (12). Ők humán vizsgálatokban a MUC1 jelentős up-regulációját észlelték az augmentációra használt ileum szegmentumokban. Ez a mi eredményeinkkel csak fenntartással vethető össze, mivel mi kutyákban végeztünk vizsgálatainkat, míg N'Dow és munkatársai emberekben. Másrészt mi emberi MUC-fehérje ellenes antitesteket használtunk kutyában, aminek lehet, hogy kisebb az affinitása a nem emberi eredetű fehérjékre. Emellett elképzelhető az is, hogy kutyában más a kifejeződési minta.

Lee és munkatársai mucinok és citokeratinok kifejeződését vizsgálták emésztőrendszeri tumorokban. Különböző daganatokban más és más mucinkifejeződési mintázatot találtak, amikről úgy gondolták, hogy később hasznosak lehetnek szövettani diagnózis szempontjából (13). Ezen eredmények megegyeznek az általunk is észlelt változásokkal, vagyis a MUC2-kifejeződésben igen szignifikáns csökkenés észlelhető gastrocystoplastica és kompozit hólyag esetében.



2. ábra: Mucin-gén változások a kutyabél-nyálkahártyán

A: Normális kutyabél-nyálkahártya, MUC2 túlsúlyos (több piros festődés, kevesebb zöld)

B: Csökkent MUC2-expresszió (több zöld festődés, kevesebb piros)

C: Erősen csökkent MUC2-expresszió (túlnyomóan zöld festődés, minimális mennyiségű piros)

1. táblázat: A MUC1- és 2-fehérjeszintek változása a szövettani mintákban az idő függvényében

Szövet típusa	Zero	4 hónap	8 hónap	12 hónap
Gyomor	MUC1	MUC1 ↓	MUC1 ↓	MUC1 ↓
Gastrocystoplastica (A-csoport) és kompozit hólyag (C-csoport)	MUC2	MUC2* ↓↓	MUC2* ↓	MUC2* ↓↓
Vastagbél	MUC1	MUC1* ↓	MUC1* ↓↓	MUC1* ↓↓↓
Colocystoplastica (B-csoport) és kompozit hólyag (C-csoport)	MUC2	MUC2 ↓	MUC2 ↓	MUC2 ↓

Magyarázat: csökkenés: ↓ * szignifikáns változás. A nyílak száma a szignifikancia erősségét jelzi

Ismert, hogy emberben a legtöbb vastagbélrák jobban reagál a MUC1 elleni antitestekkel, mint az azonos egészséges szövet (14). Ugyanakkor az általunk észlelt MUC1-fehérje génexpressziójának csökkenése ennek ellentmond, ez talán faji különbséggel magyarázható.

fehérjeexpressziójának vizsgálata alkalmas a megnagyobbított hólyagban makroszkóposan kialakuló, de makroszkóposan még nem észlelhető tumorok kimutatására. Ezen markerek humán, molekuláris szintű vizsgálatát munkacsoportunk jelenleg is végzi.

Következtetés

Kutyákban a vizeletinkontinencia miatt végzett hólyagaugmentációt követően a MUC1 és a MUC2

A TANULMÁNY A PTE ÁOK KUTATÁSI ALAP 2010/12-ES ELNYERT PÁLYÁZATÁNAK, VALAMINT A BÓLYAI JÁNOS KUTATÁSI ÖSZTÖNDÍJ ANYAGI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

Summary

Changes in MUC1 and MUC2 Protein Expressions in Dogs' Bladders Following Augmentation Cystoplasty Performed With a Gastric and an Intestinal Segment Simultaneously

Z. Kispal et al. University of Pécs, Department of Pediatrics, Surgical Unit, Northshore University Healthsystem, The Evanston Hospital, USA

Aim: The formation of malignancy in the neobladder after urinary bladder augmentation with various gastrointestinal segments is one of the potentially more dangerous complications. The alterations in the expression of mucin genes can be detected in the early stadium of premalignant changes in the alimentary tract's mucosa. We investigated the expression of the genes MUC1 and 2 in colonic and gastric samples used for urinary bladder augmentation in an animal experimental model.

Methods: Bladder augmentation was performed in 12 3-month-old beagle dogs. In 2-2 dogs only colocystoplasty or gastrocystoplasty was performed. In 8 dogs the bladder was augmented with a gastric and a colonic segments simultaneously. Tissue samples were

harvested from the gastric and colonic segments used for augmentation at the time of the operation, then in the 4th and 8th postoperative months and at the end of followup (12 months postoperatively). Histological samples were examined with double immune staining.

Results: MUC1 level of the colonic samples decreased significantly ($p=0.0001$), MUC2 level of the gastric samples showed a lesser but still significant decrease ($p=0.03$) following surgery.

Conclusion: Examination of MUC1 and 2 protein expression might be helpful in the early detection of malignancy following bladder augmentation or substitution.

Keywords: dogs, tumor, bladder-augmentation, MUC1, MUC2



Irodalom

1. PINTÉR A. A NEUROGÉN HÓLYAG KÖRISMÉZÉSE ÉS KEZELÉSE GYERMEKEKBEN (ÉS FELNŐTTEKBEN). MAGYAR UROLÓGIA 1998; 1: 19–28.
2. DEFOOR WR, HESHMAT S, MINEVICH E, ET AL. LONG-TERM OUTCOMES OF THE NEOBLADDER IN PEDIATRIC CONTINENT URINARY RECONSTRUCTION. J UROL 2009; 181: 2689–2693; (DISCUSSION 2693–2694.)
3. HUSMANN DA. MALIGNANCY AFTER GASTROINTESTINAL AUGMENTATION IN CHILDHOOD. THERAPEUTIC ADVANCES IN UROLOGY 2009; 5: 1.
4. KISPÁL Z, BALOGH D, ERDEI O, ET AL. COMPLICATIONS AFTER BLADDER AUGMENTATION OR SUBSTITUTION IN CHILDREN: A PROSPECTIVE STUDY OF 86 PATIENTS. BJU INT 2010 NOV. 11. DOI: 10.1111/J.1464-410X.2010.09862.X. (EPUB AHEAD OF PRINT)
5. AUSTIN PF, DELEARY G, HOMSY YL, ET AL. LONG-TERM METABOLIC ADVANTAGES OF A GASTROINTESTINAL COMPOSITE URINARY RESERVOIR. J UROL 1997; 158: 1704–1707.
6. JIA Y, PERSSON C, HOU L, ZHENG Z, ET AL. A COMPREHENSIVE ANALYSIS OF COMMON GENETIC VARIATION IN MUC1, MUC5AC, MUC6 GENES AND RISK OF STOMACH CANCER. CANCER CAUSES CONTROL DOI 10.1007/s10552-009-9463-3
7. KIM YS. MUCIN GLYCOPROTEINS IN GASTROINTESTINAL MALIGNANCIES AND METASTASIS. EUR J GASTRO-ENTEROLOGY 1993; 5: 219–225.
8. CASTRO MA, FERREIRA U, MARTINS MH, ET AL. HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES OF THE INTESTINAL MUCOSA AT THE UROTHELIAL-ENTERIC ANASTOMOTIC SITE. INT BRAZ J UROL 2006; 32: 222–227.
9. KISPÁL Z, VAJDA P, VÁSTYÁN A, ET AL. A HÜGYHÓLYAG GYOMORRAL ÉS BÉLLEL TÖRTÉNŐ EGYIDEJŰ MEGNAGYOBBITÁSA – KOMPOZIT HÓLYAG (ÁLLATKÍSÉRLETES MODELL). MAGYAR UROLÓGIA 2006; 18: 230–364.
10. HAMMER E. CANCER DU COLON SIGMOÏDE DIX ANS APRES IMPLANTATION DES URETERS D'UNE VESSIE EXSTROPIQUE. J UROL NEPHROL (PARIS) 1929; 28: 260E3.
11. LITTLE JS SR, KLEE LW, HOOVER DM, ET AL. LONG-TERM HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OBSERVED IN RATS SUBJECTED TO AUGMENTATION CYSTOPLASTY. J UROL 1994; 152: 720–724.
12. N'DOW J, PEARSON JP, BENNETT MK, ET AL. MUCIN GENE EXPRESSION IN HUMAN UROTHELIUM AND IN INTESTINAL SEGMENTS TRANSPOSED INTO THE URINARY TRACT. J UROL 2000; 164: 1398–1404.
13. LEE MJ, LEE HS, KIM WH, ET AL. EXPRESSION OF MUCINS AND CYTOKERATINS IN PRIMARY CARCINOMAS OF THE DIGESTIVE SYSTEM. MOD PATHOL 2003; 16: 403–410.
14. LESUFFLEUR T, ZWEIBAUM A, REAL XF. MUCINS IN NORMAL AND NEOPLASTIC HUMAN GASTROINTESTINAL TISSUES. CRITICAL REVIEWS IN ONCOLOGY/HEMATOLOGY 1994; 17: 153–180.



A Magyar Gyermekegyógyászati és Intenzív Terápiás Társaság XIII. Kongresszusa és Továbbképző Tanfolyama Hévíz, 2012. április 27–28.

A tudományos ülés helyszíne:

a hévízi gyógyfürdő kórház Díszterme 8380 Hévíz, Dr. Schulhof Vilmos sétány 1.

Általános információk:

Zala Megyei Kórház Csecsemő- és Gyermekosztály, 8900 Zalaegerszeg, Zrínyi Miklós u. 1.
Tel.: 06-92/507-510 Mobil: 06-30/698-0471 (munkaidőben); Fax: 06-92/507-500/1369
E-mail: zmkgyermek@gmail.com

Szervezők: Zala Megyei Kórház Gyermekosztály, Koraszülöttmentő és Gyermekintenzív Alapítvány és MGAIIT

A Szervező Bizottság vezetője: Dr. Gárdos László

A Tudományos Ülés fő témakörei:

- neonatológiai utóképek • gyermekintenzív terápia határterületei – pró és kontra
- hypothermiás kezelés gyermekgyógyászat határterülete – pró és kontra
- koraszülöttek anesztéziája

Fontosabb időpontok összefoglalása

Előadás, poszter összefoglalók leadásának határideje: 2012. 03. 15.

Jelentkezési határidő: 2012. 03. 15.

Kedvezményes díj befizetésének határideje: 2012. 03.15.

A részletes program a Tudományos Ülés előtt 2 héttel a www.koraszulottalapitvany.hu honlapon olvasható!



Patkánymodell ileocystoplasticát követő nyálkahártya-változások vizsgálatára

Levelezési cím:
Dr. Kardos Dániel
7623 Pécs, József Attila u. 7.
E-mail: kardos.daniel@pte.hu;
danielj.kardos@gmail.com

Kardos Dániel dr.¹, Váradi Bianka dr.¹, Kispál Zoltán dr.²,
Kereskai László dr.³, Pintér András dr.¹, Vajda Péter dr.¹

¹Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika, Sebészeti Osztály, Pécs (igazgató: Decsi Tamás dr.)

²Department of Paediatric and Adolescent Surgery-Medical University of Graz (intézetvezető: Holger Till MD)

³Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Patológiai Intézet, Pécs (intézetvezető: Tornóczki Tamás dr.)

ÖSSZEFOGLALÁS

Bevezetés: A gyermekkorban végzett húgyhólyag-megnagyobbítás (augmentáció) műtéttel összefüggésbe hozható szövdményei közül a malignus elfajulás a legkevésbé ismert. Emberben a tumorgenezis – számos ok miatt – csak nehezen vizsgálható. A szövettani változások tanulmányozására a patkány az egyik legalkalmasabb állatmodell. A szerzők egy erre a célra kidolgozott patkánymodell segítségével vizsgálták hosszútávon az ileocystoplasticát követő szövettani elváltozásokat.

Anyag és módszerek: A szerzők 45 fiatal (3-5 hónapos), hím Wistar-patkányban végeztek műtétet (30 ileocystoplastica, 15 álműtét). Az állatokat 12, 18 és 24 hónapig követték nyomon. Az augmentált hólyag preparátumokat HE festett metszeteken vizsgálták.

Eredmények: A ileocystoplasticán átesett állatok 60%-a (18/30) élte túl a tervezett nyomonkövetési időt. Az elhullások okai többek között érnél-elégtelenség, urethra elzáródás, mechanikus ileus, anasztomózis-elégtelenség és infekció voltak. Tizenkét hónappal a műtét után két patkányban hólyagkővet, egyben közülük laphám-metapláziát találtak. Huszonnégy hónappal az augmentáció után egy állatban polypusos elváltozást, két állatban a béllyálkahártya-hipertrófiás megvastagodását figyelték meg, amelyek szövettanilag hipertrófiás urotheliumnak és urotheliális karcinómának bizonyultak. Általános megfigyelés volt, hogy az idővel arányosan az ileum nyálkahártyáját egyre nagyobb mértékben váltotta fel urothelium. Az áloperált csoportban elhullás, makro-, vagy mikroszkópos elváltozás nem volt megfigyelhető.

Következtetések: A megfigyelt szövettani változások alapján idővel a vékonybél hámlójának urotheliális transzformációja következik be, amelyben mind a vizelet konstans jelenléte, mind az urothelium közelsége egyaránt szerepet játszhat.

KULCSSZAVAK

ILEOCYSTOPLASTICA, PATKÁNY, ÁLLATKÍSÉRLETES MODELL, METAPLASIA

Alterations of the ileal mucosa after ilocystoplasty – animal model in rats

SUMMARY

Objective: To date, little is known about the long-term malignant transformations related to urinary bladder augmentation. Histological investigations of tumour genesis after ileocystoplasty in humans are difficult. Rats are commonly used models for this purpose. Based on the results of the literature, the authors adopted a rat model, in which the long-term kinetics of tumour genesis can be explored.

Materials and methods: Forty-five young, male Wistar rats were operated on (30 ileocystoplasty and 15 sham-operation). The animals were followed-up for 112, 18 and 24 months, then the bladder, after which the bladder was harvested. Histological examination of the native bladder mucosa, the mucosa of the ileal segment and the anastomotic line was undertaken.

Results: In the ileocystoplasty group 60% (18/30) of the animals, in the sham-operated group all of the animals survived the planned follow-up period. Among others the main complications were the failure of the vascular pedicle, urethral obstruction, ileus and anastomotic leakage. In 2 rats bladder stones developed after 12 months. In one of them squamous cell metaplasia was found. In 1 rat a polypoid-like overgrowth and in 2 rats hypertrophic overgrowth of the ileal mucosa were observed after 24 months. Microscopically these alterations were represented as hypertrophic urothelium and urothelial carcinoma. Generally we observed, that the columnar epithelium was replaced by urothelial cells progressively by time. In the 15 sham-operated animals, no complications were found.

Conclusion: According to our findings there are inductive factors, such as the constant presence of urine and the proximity of the urothelium, which might play role in the transformation of the ileal epithelium.

KEYWORDS

ILEOCYSTOPLASTY, RAT, ANIMAL EXPERIMENT, METAPLASIA

A húgyhólyag megnagyobbítása (augmentáció) gyermekkorban leggyakrabban veleszületett fejlődési rendellenességek (meningomyelocele, extrophia vesicae), ritkábban szerzett okok (tumor, trauma, iatrogenia) következtében létrejövő vizeletinkontinencia miatt történik. Az augmentációra napjainkban leginkább vékonybél (ileum) szegmentumot használnak fel (ileocystoplastica). A húgyhólyag megnagyobbítását követően – a szövödmények megelőzése céljából – élethosszig tartó nyomkövetésre van szükség (1). Ritka, de talán a legjelentősebb hosszútávon jelentkező szövödmény a megnagyobbított húgyhólyagban kialakuló malignitás. A tumor kialakulásának esélye a normál populációhoz képest évtizedenként kb. 1,5%-al nő a béllal megnagyobbított húgyhólyagban (2, 3). Az augmentációt követő premalignus és malignus folyamatok korai felismerése mindmáig megoldatlan kérdés. Ennek fő oka, hogy a megelőzési céllal klinikánkon is végzett cisztoszkópos vizsgálatok és mintavételek érzékenysége alacsony. További okok, hogy a beavatkozások költségesek és a betegek számára megterhelőek (4). Az állatkísérletes vizsgálatok ezért lehetőséget adnak az augmentált hólyagban létrejövő szövettani változások korai és részletesebb megismerésére.

Az elmúlt 25 évben, számos közlemény jelent meg patkányokban végzett ileocystoplasticáról (5–15). A hisztopatológiai vizsgálatok döntően tranzicionális sejtis karcinómát és laplham-metapláziát igazoltak (6, 7). A kutatócsoportok többsége azt is megfigyelte, hogy a hólyag megnagyobbítására használt ileum nyálkahártyáján urothelium jelenik meg, hasonlóan a mucosa-fosztott béllal történő hólyagmegnagyobbítást (seromuscularis enterocystoplastica) követő urothelizációhoz (8). Ezt a jelenséget egyes szerzők az urothelium bélhámra történő „rákúszásának”, migrációjának, mások a hyperplasticus urothelium bélhámra borulásának tulajdonítják (5, 7). Nem ismert, hogy ez milyen módon és milyen mintázatot követve jön létre (7, 9, 10). A közleményekben az állatok nyomkövetési ideje az egy évet többnyire nem éri el és a szerzők nem az urothelizációra helyezik a hangsúlyt (7, 9). A legelterjedtebben használt laboratóriumi állatban, a patkányban, a hólyag-augmentációt követően, az állatok 2-2,5 éves életciklusa alatt, nagy valószínűséggel alakulhatnak ki tumorok. A szövettani feldolgozás technikailag könnyű és K.O. mutáns állatok is elérhetők szubmikroszkópos elváltozások vizsgálatára.

A szerzők korábbi klinikai és állatkísérletes vizsgálataik során már találtak arra utaló molekuláris változásokat, hogy a megnagyobbításra használt vékonybél hámjának megváltozik az expressziós mintázata, amely analógiája lehet a patkányban megfigyelt szövettani jelenségeknek (16).

Célunk olyan patkánymodell létrehozása volt, amely alkalmas a vékonybéllel végzett húgyhólyag-megnagyobbítást követő urothelizációs jelenség hosszú távú vizsgálatára.

Anyag és módszer

Az állatkísérletek a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Állatkísérletes Laboratóriumának műtőjében, állatkísérleti engedély (BA02/2000-15/2012) birtokában zajlot-

tak. Vizsgálatunkat 45, 3-5 hónapos, 200-400 g súlyú, hím Wistar-patkányban végeztük (30 ileocystoplastica, 15 álműtét). A műtétek előtt az állatok 24 óráig csak folyadékot fogyaszthattak. Az altatás intraperitonealis diazepammal (Seduxen, D: 10 mg/kg) és ketaminnal (Calypsol, D: 50 mg/kg) történt. A két szert egymás után 10 perccel adtuk be. Minden műtétet perioperatív, három napig folytatott, intramuscularisan adott antibiotikum (cefuroxim – Zinacef, D: 50 mg/kg) védelemben végeztünk. A műtéteket hagyományos és mikrosebészeti eszközökkel, a bél-bél- és bél-hólyag-anasztomózis elkészítését 3,5-szeres lupe nagyítás alatt végeztük.

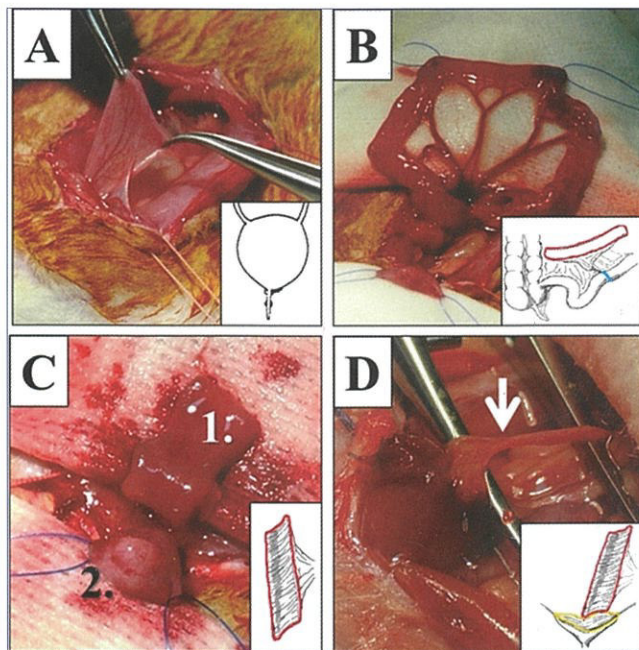
1.) Ileocystoplastica – 30 patkányban

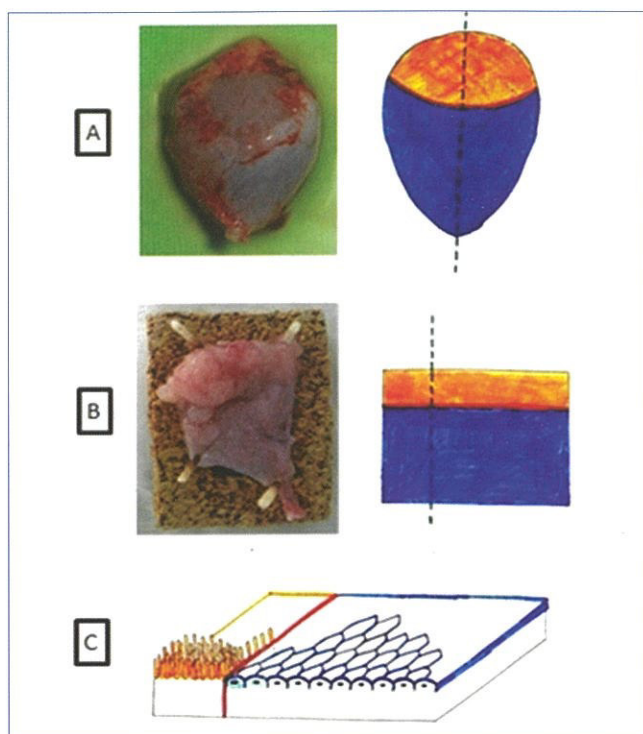
Az augmentációs technika részleteit a *Burgu és munkatársai* által kidolgozott módszer leírása és a szerzővel történt többszöri személyes egyeztetés szolgáltatta (14).

Az állat borotválását és lemosását követő median laparotomia után felkerestük a húgyhólyagot, amelybe tartóóltéseket helyeztünk (1. A ábra).

A vékonybélben egy megfelelő hosszúságú érnyéllel rendelkező, kb. 15 mm hosszúságú szegmenst kerestünk fel (1. B ábra). Ezt követően a kiválasztott vékonybélszakaszhoz tartozó érnyelet óvatosan sceletizáltuk, majd a bélszegmenst orális és aborális végén átvágva iktattuk ki a béltraktusból. Az ileum folyamatoságát a szabad bélvégek end-to-end anasztomózisával, egyrétegű csomós öltésekkel állítottuk helyre, amelyhez 6/0-ás sodrott, felszívódó fonalat használtunk. A kirekesztett ileumszakaszt anti-mesenterialis felhasítottuk (detubulari-

1. ÁBRA: ILEUMMAL VÉGZETT HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁS EGYES LÉPÉSEI PATKÁNYBAN. A: HÚGYHÓLYAG FELKERESÉSE ÉS IDENTIKIFÁLÁSA; B: 12-15 MM HOSSZÚ ILEUM SZEGMENS KIVÁLASZTÁSA; C: DETUBULARIZÁLT ILEUM (1.) ÉS A NATÍV HÚGYHÓLYAG (2.); D: AZ AUGMENTÁLT HÚGYHÓLYAG AZ ILEUM SZEGMENS ÉRNYELÉVEL (FEHÉR NYÍL)





2. ÁBRA: ILEUMMAL VÉGZETT HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁST KÖVETŐ FELDOLGOZÁS LÉPÉSEI PATKÁNYBAN.

A: EGYBEN ELTÁVOLÍTOTT HÚGYHÓLYAG; B: KITERÍTETT FÉL HÚGYHÓLYAG: JÓL LÁTSZIK A NATÍV HÓLYAG – KÉK – ÉS AZ ILEUM – SÁRGA – KÖZÖTTI ANASZTOMÓZIS VONAL – PIROS; C: A SZÖVETTANI FELDOLGOZÁS SÍKJA

záltuk) és nyálkahártyáját fiziológiás sóval mechanikusan tisztítottuk. Ezt követően a húgyhólyagot median-sagittális síkban megnyitottuk. A húgyhólyagot, valamint az augmentációra előkészített és 90 fokkal elforgatott ileum szegmentumot egyrétegű, felszívódó, tovaftató varratsorral egyesítettük. Ehhez az ugyancsak 6/0-ás felszívódó fonalat használtuk. Előbb a húgyhólyag hátsó falán, majd az elülsőn készítettük el az anasztomózist (1.C, D ábra).

A műtét alatt a szervek kiszáradásának és az állat hypothermiájának megelőzése céljából többször testmeleg fiziológiás sóot csepegtettünk a hasúri szervekre. A vékonybél-szegmentummal megnagyobbított húgyhólyag létrehozása után a hasüreget meleg fiziológiás sóoldattal átöblítettük és a hasfalat két rétegben, tovaftató varratsorral, 3/0-ás felszívódó fonalat használva zártuk.

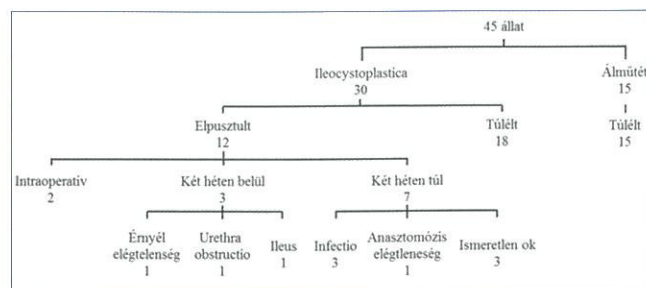
A beavatkozások után az állatok 24 órán át csak folyadékot kaptak. Fájdalomcsillapítás céljából az állatok vizébe egy héten át ketoprofent kevertünk.

A műteti idő átlagosan 60 perc (45–90 perc) volt.

Az állatokat 12 (A-csoport), 18 (B-csoport) és 24 (C-csoport) hónap után dolgoztuk fel.

II.) Álműtét – 15 patkányban

Ebben a csoportban augmentációra nem került sor, csupán a húgyhólyag megnyitása (sectio alta) és bezárása történt 6/0-



1. TÁBLÁZAT: PATKÁNYOKBAN VÉKONYBÉLLEL VÉGZETT HÚGYHÓLYAG-MEGNAGYOBBÍTÁST KÖVETŐ MŰTÉTI SZÖVŐDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

ás felszívódó, tovaftató varratsorral. Minden más tekintetben az ileocystoplasticánál leírtak szerint jártunk el. Mindegyik állatot 24 hónap után dolgoztuk fel (D-csoport).

Feldolgozás

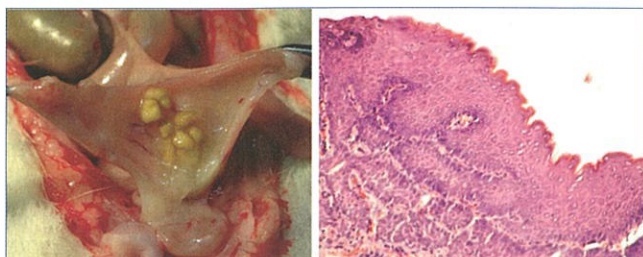
A műtét után a patkányokat az állattartási előírásoknak megfelelő körülmények között, a PTE ÁOK Állatházában tartottuk. A szöveti iszkémiás károsodás megelőzésére és a fájdalom minimalizálására, a megnagyobbított (és a kontroll) húgyhólyagok eltávolítását a műteti beavatkozásnál ismertetett altásban végeztük. Median laparotomiát követően a hólyagon a hólyagnyakig preparáltunk, ahol azt átvágtuk. Ezt követően került sor az uréterek és végül az érnyél átvágására. A húgyhólyagot median-sagittálisan kettémetszettük, így kiterített „két fél” húgyhólyagot kaptunk, melyen jól láthatóak voltak a különböző típusú nyálkahártyák és a köztük lévő anasztomózis vonal. Makroszkóposan, illetve lupe alatt történő átvizsgálás után a megnagyobbított húgyhólyagot parafa lapon kiterítve 6%-os puffert formalinban fixáltuk. Az orientáció a minták feldolgozása során kulcsfontosságú volt. A kiterített helyzet lehetővé tette, hogy később egy metszeten vizsgálható legyen mind a hólyagmegnagyobbításra használt vékonybél, mind az anasztomózis, mind az eredeti hólyag nyálkahártyája (2. ábra). Az állatokat intrakardiális kálium-klorid adásával termináltuk. Az áloperált csoport feldolgozása is a fent ismertetett módon történt.

A formalin fixált mintákat paraffinba ágyaztuk, majd az anasztomózis vonalra merőlegesen, 5 µm-os metszeteket készítettünk. A preparátumokat hematoxinil-eozinnal festettük. A minták elemzéséhez független patológus segítségét is igénybe vettük.

Eredmények

I.) Ileocystoplastica

A 30 húgyhólyag megnagyobbításán átesett állatból összesen 18 állat (60%) élte túl a tervezett utánkövetési időt. Az elhútlások idejét és okait táblázatban foglaltuk össze (1. táblázat). A túlélő 18 állatban minden esetben nyákos vizelettel kitöltött húgyhólyagot találtunk. A supravescalis húgyutak makroszkó-



3. ÁBRA: HÓLYAGKÖVEK PATKÁNYBAN VÉGZETT ILEOCYSTOPLASTICÁT KÖVETŐEN 12 HÓNAPPAL AZ AUGMENTÁLT HÚGYHÓLYAGBAN (BAL). LAPHÁM METAPLASIA(HE, 10X) AZ EREDETI HÓLYAG TERÜLETÉRŐL, UGYAN ABBÓL A PREPARÁTUMBÓL (JOB)

posan megtekintve kórosat nem mutattak. A további makro- és mikroszkópos megfigyeléseinket az alábbiakban csoportonként részletezzük.

A-csoport (12 hónap)

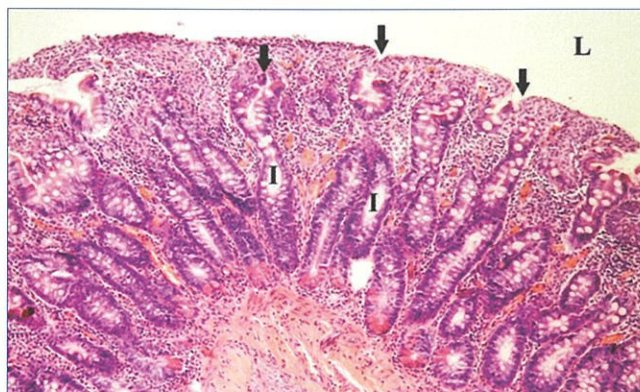
Két patkányban hólyagköveket találtunk a hólyagban. Az egyik állat esetén a hólyagkő mellett a natív hólyag területén laphám-metaplázia alakult ki (3. ábra). Minden mintában megfigyelhető volt az urothelium megvastagodása és több sejtrétegűvé válása az anasztomózis vonalhoz közeledve. Az anasztomózis vonalban, illetve az ezzel szomszédos területeken lévő bélbolyhokon, a bélhámot felváltva, urothelium volt megfigyelhető. Az augmentáció helyétől távolodva, az urothelium már csak helyenként, a bolyhok csúcsi részén volt látható. Ezen heterogén villusok alatt a crypták hosszúsága is rövidülni látszott, fordított arányban csökkenve az anasztomózistól mért távolsággal. Az ileum „új” hámja morfológiailag normális urothelium képét mutatta.

B-csoport (18 hónap)

A nyákon túl más makroszkópos elváltozást nem észleltünk. Mikroszkóposan vizsgálva a mintákat, az „A” csoportban tapasztaltnál hasonló változásokat észleltünk, de nagyobb kiterjedésben. Az anasztomózistól távolabbi területeken is észlelhető volt az urothelium térfoglalása, illetve a villusok hossz tengelye mentén is egyre mélyebbre hatolva foglalta el a bélhám helyét. Feltűnő volt továbbá, hogy a bélhámot felváltó átmeneti hám egyre jobban mutatta a hyperplasia jeleit (4. ábra).

C-csoport (24 hónap)

Egy állatban a hólyag–bél-anasztomózis vonalban polyposus elváltozást észleltünk, amely szövettanilag hyperplasiás urotheliumnak bizonyult (5. ábra). Két másik állatban az ileum nyálkahártyája hipertrófiásan megvastagodott. Ezek mikroszkóposan tranzicionális sejtes karcinómának feleltek meg (6. ábra). Minden mintában megfigyelhető volt, hogy a megnagyobbításra használt ileumon a bélbolyhok szinte teljesen eltűntek, helyüket a crypták fölött egyneműen hiperplastikus urothelium borította. Az anasztomózis vonal szomszédságá-



4. ÁBRA: AZ ILEUM NYÁLKAHÁRTYÁJA PATKÁNYBAN VÉGZETT ILEOCYSTOPLASTICÁT KÖVETŐEN 18 HÓNAPPAL AZ ANASZTOMÓZIS VONALHOZ KÖZEL (HE, 10X). A BÉLBOLYHOK GYAKORLATILAG ELTŰNTEK, A LUMEN (L) FELÉ AZ ILEUM COLUMNARIS HÁMJÁT (I) HYPERPLASTICUS UROTHELIUM (FEKETE NYILAK) VÁLTJA FEL

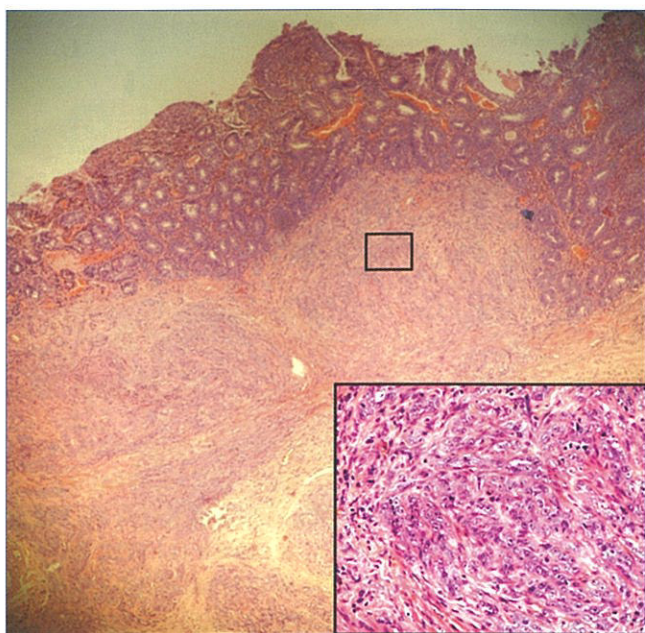
ban néhol a crypták sziluettjei ábrázolódtak, amelyeket urothel sejtek által alkotott fészkek béleltek ki. Egyedül ebben a csoportban észleltük krónikus gyulladás jeleit.

II.) Álműtét

A 15 áloperáción átesett állat mindegyike túlélte az utánkövetési periódust (24 hónap). Egy esetben, a varratvonalban egy apró diverticulumot észleltünk. Más makroszkópos vagy mikroszkópos elváltozást nem találtunk.

5. ÁBRA: POLYPOSUS ELVÁLTOZÁS A HÚGYHÓLYAG-ILEUM ANASZTOMÓZIS VONALÁBAN PATKÁNYBAN ILEUMMAL VÉGZETT HÚGYHÓLYAG MEGNAGYOBBÍTÁST KÖVETŐEN 24 HÓNAPPAL





6. ÁBRA: UROTHELIALIS KARCINÓMA PATKÁNYBAN VÉGZETT ILEOCYSTOPLASTICÁT KÖVETŐEN 24 HÓNAPPAL (HE, 6×). INSERT: DYSPLASTICUS SEJTEK A SUBMUCOSABAN (HE, 60×)

Megbeszélés

Az állatok hosszú távú (12, 18, 24 hó) túlélése (60%) tekintében modellünk az irodalmi adatokkal megegyező (44-87%) volt (5-7, 9, 11-13).

A két altatással kapcsolatos intraopertaív, anaeszteziológiai szövődemény a műtét betanulási időszakában történt. Az intraabdominálisan futó érnél miatt kialakuló ileus megelőzésére egyes szerzők az érnél retroperitoneális rögzítését javasolják (5). Ilyen szövődeményt mi nem tapasztaltunk. Egy esetben a mechanikus ileus okozója a vékonybél end-to-end anasztomózisának szűkülete volt. Az irodalmi adatok alapján az anasztomózis-elégtelenség az egyik leggyakoribb korai szövődemény. Eseteinkben 1 patkánynál alakult ki ilyen komplikáció (6, 11). A *Bajory és munkatársai* által vizsgált augmentátum keringési zavar okozta hólyagrupturát hosszú távon modellünkben nem észleltük (15). Az infekció hátterében közvetlen okot nem találtunk.

Hosszú távú nyomonkövetés esetén számolnunk kell az idősebb állatok öregkori elgyengülése okozta elhullással is. Kísérletünkben a műtéteket fiatal patkányokon végeztük, ezért az öregedéssel összefüggésbe hozható elhullások aránya elhanyagolható.

A leölt állatok feldolgozásakor észlelt makroszkópos elváltozások megegyeztek az irodalmi adatokkal. A hólyagkövesség, a nagyfokú nyákképződés, a hiperplastikus, polyposus elváltozások jól ismert jelenségek (7, 8, 11, 14). A felső húgyutak károsodása is potenciális szövődemények forrása lehet, de makroszkóposan ezt egy állatban sem észleltük (8, 11).

A más munkacsoportok által megfigyelt papillaris benignus elváltozások, laphám-metaplázia és tranzicionális sejtes karcinóma a mi kísérletünk során is kialakultak.

Az irodalomban megjelent közlemények többségében a nyomonkövetési idő nem haladja meg az egy évet, ezért kevesebb a megfigyelt malignus transzformáció. Rosszindulatú elváltozást mi is csak a 24 hónap után leölt állatokban láttunk. Valószínűleg két éves nyomonkövetés szükséges ahhoz, hogy patkányban kialakuló malignus tumor patogenezt vizsgálni tudjuk (6, 7).

Az irodalomban fellelhető állatkísérletes modellekben szinte kivétel nélkül megfigyelték a bélhám „urothelizációját”. Mind a mai napig nincs egységes ismeret arról, hogy ez a jelenség milyen mechanizmussal jön létre. Először *Guan és munkatársai* említik az urothelizáció jelenségét, amelyet az urotheliumnak a bél nyálkahártyájára való rákúszásaként értelmeznek, miközben megfigyelésük szerint a bélhám intakt marad (5). Mások az eredeti húgyhólyag urothel sejteinek bélhámra történő fokozatos migrációját feltételezték a jelenség hátterében (8, 14). Kísérletünk eredményei leginkább *Little és munkatársai* eredményeihez hasonlóak, akik egyetlenként, szintén két éves nyomonkövetés után vizsgálták a patkányokat. Ők is megfigyelték, hogy idővel az ileum villusai ellapulnak, a crypták rövidülnek és egyre inkább urothelium jelenik meg a bél columnaris epitheliának helyén. Ezen szerzők a látott képet a bélhám metapláziájának vélték (7).

A folyamat feltárása érdekében a szövettani mintavétel és feldolgozás során törekedtünk arra, hogy a húgyhólyag és a vékonybél hámrát folyamatában lehessen vizsgálni, különös tekintettel az anasztomózis területére. Összegzőképpen elmondható, hogy az ileum nyálkahártyáját az anasztomózis vonaltól kiindulva idővel egyre nagyobb területen borította urothelium. Ez mind az ileum szegmens felszíni területe, mind a bolyhok magassága mentén megfigyelhető volt. A látott mintázat két induktív faktort valószínűsít: az urothelium közelségét és a vizelet folyamatos hatását. Az urothelium az anasztomózis vonaltól távolodva egyre csökkenő mértékben volt jelen az ileum nyálkahártyáján, vagyis az átmeneti hám szomszédsága fontos szerepet játszhat a tapasztalt jelenség kialakulásában. A vizelet bélhámot transzformáló hatására enged következtetni az a megfigyelés, hogy az urothelizáció a bélbolyhok csúcsán kezdődik. Itt a legkifejezettebb, és innen terjed egyre mélyebbre, fokozatosan csökkenő mértékben, egészen a cryptákig. Vagyis minél hosszabb ideig érintkezik az adott bélszegmentum a vizelettel, annál inkább átalakulnak a hengerhámsejtek urothel sejtekké.

Következtetések

Vizsgálataink alapján a vékonybél nyálkahártyáján megjelenő urotheliumot a vékonybél-nyálkahártya olyan metaplasztikus elváltozásának tartjuk, ami jól meghatározott mintázatot követve, egyfajta alkalmazkodási folyamat részeként jön létre. A hám átalakulása közben létrejött mutációk tehetők felelőssé a malignus tumorok fokozott kockázatáért. A metaplasztikus hám eredetének tisztázására további immunhisztokémiai vizsgálatokat végzünk, amelynek eredményeiről későbbi közleményben kívánunk beszámolni.

Amennyiben sikerül bebizonyítani a feltételezett folyamatot, az alapvető információt szolgáltathat a bélszegmenttel történő húgyhólyag-megnagyobbítást követő malignus elváltozások megismerésében.

Támogatás

Az állatkísérletek a PTE-AOK-KA-2013/28 pályázat támogatásával történtek.

Köszönetnyilvánítás

A közlemény szerzői köszönetüket fejezik ki Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Állatkísérle-

tes Labor dolgozóinak az állatkísérletek végzésében nyújtott segítségükért.

Köszönet illeti a Pécsi Tudományegyetem Anatómiai és Patológiai Intézetének munkatársait is, akik a szövettani mintavétel és feldolgozás metodikájában nyújtottak segítséget. A szerzők hálójukat fejezik ki továbbá dr. Berk Burgu-nak (Ankara, Törökország) a műtét technikai részleteinek kidolgozásában nyújtott támogatásáért.

Jelen tudományos közleményt a szerzők a Pécsi Tudományegyetem alapításának 650. évfordulója emlékének szentelik.

Irodalom

1. Kispal Z, Balogh D, Erdei O, et al. Complications after bladder augmentáció or substitution in children: a prospective study of 86 patients. *BJU Int* 2011; 108: 282–289.
2. Husmann DA. Malignancy after gastrointestinal augmentáció in childhood. *Ther Adv Urol* 2009; 1: 5–11.
3. Higuchi TT, Granberg CF, Fox JA, et al. Augmentáció cystoplasty and risk of neoplasia: fact, fiction and controversy. *J Urol* 2010; 184: 2492–2496.
4. Higuchi TT, Fox JA, Husmann DA. Annual endoscopy and urine cytology for the surveillance of bladder tumors after enterocystoplasty for congenital bladder anomalies. *J Urol* 2011; 186: 1791–1795.
5. Guan ZC, Ricard G, Charest-Boule L, et al. Augmentáció cystoplasty in rats: development of an animal model. *J Urol* 1990; 144: 461–465; discussion 474.
6. Spencer JR, Steckel J, May M, et al. Histological and bacteriological findings in long-term ileocystoplasty and colcystoplasty in the rat. *J Urol* 1993; 150: 1321–1325.
7. Little JS, Jr, Klee LW, Hoover DM, et al. Long-term histopathological changes observed in rats subjected to augmentáció cystoplasty. *J Urol* 1994; 152: 720–724.
8. Arena S, Arena F, Fazzari C et al. Ileocystoplasty in rats: metabolic, renal and enteropatch changes in a mid- and long-term follow-up. *Urol Int* 2011; 87: 87–93.
9. Makiura Y, Okada Y, Tomoyoshi T, et al. Morphological analysis of ileal grafting following ileocystoplasty in the rat: a kinetic and ultrastructural study of the intestinal epithelium. *Int J Urol* 1994; 1: 143–150.
10. Miyake H, Hara S, Eto H, et al. Global analysis of gene expression profiles in ileum in a rat bladder augmentáció model using cDNA microarrays. *Int J Urol* 2004; 11: 1009–1012.
11. Yamataka A, Wang K, Kato Y et al. Long-term outcome of bladder augmentáció using living-related partial bladder transplantation in rats. *Pediatr Res* 2005; 57: 738–743.
12. Nakano Y, Fujisawa M, Matsui T, et al. The significance of the difference in bacterial adherence between bladder and ileum using rat ileal augmented bladder. *J Urol* 1999; 162: 243–247.
13. Buson H, Diaz DC, Manivel JC, et al. The development of tumors in experimental gastroenterocystoplasty. *J Urol* 1993; 150: 730–733.
14. Burgu B, Gokce MI, Aydogdu O, et al. Combining gastric and ileal segments, does it overcome segment-related complications? An experimental study on rats. *Urol Res* 2011; 39: 39–44.
15. Bajory Z, Szabó A, Pajor L, et al. A bélhólyagruptura mikrokeringési okának modellezése állatkísérletben. *Magyar Urológia* 1999; 11: 385–391.
16. Kispal ZF, Kardos D, Jilling T, et al. Long-term histological and mucin alterations in the neobladder mucosa following urinary bladder augmentáció or substitution with gastrointestinal segment. *J Pediatr Urol* 2015; 11: 349.e341–346.

MEGHÍVÓ

Az urethra sebészete monotémás továbbképző tudományos ülés, 2016. április 15.

HEIM PÁL GYERMEKKÓRHÁZ, G ÉPÜLET CZINNER TEREM (1089 BUDAPEST ÜLLŐI ÚT 86.)

Tisztelt Kollégák!

Nagy örömünkre szolgál, hogy a Magyar Urológus Társaság jeles képviselőivel karöltve olyan egynapos rendezvényt szervezhettünk, amelyre szándékunk szerint nagy jelentőséggel kerül sor. Jelentőségét nemcsak a téma, jelesül a felnőttkorra sok esetben messze-menőleg kiható veleszületett és szerzett húgycső rendellenességek adják, de főleg az a lehetőség, hogy most, talán első ízben a két határterületi szakma képviselői, felnőtt urológusok és gyermeksebészek, illetve gyermekuroológusok közös rendezvényen találkozhatnak. Mindkét oldal számos információval és tanulással szolgálhat, amelyeket nyilvánvalóan érdemes közösen megvitatni, és ennek mentén a betegek érdekében együttműködni.

Esetismertetés bejelentési határidő: 2016. március 15.

Jelentkezési határidő: 2016. április 1.

Részletes információ: sarkozy@freemail.hu

vagy a <http://www.heimpalkorhaz.hu/sebeszet/letoltesek/Urethra2016.html> weboldalon.

Szíves érdeklődésükre számítva, baráti üdvözléssel, a szervezők:

Dr. Sárközy Sándor
elnök, Magyar Gyermeksebész Társaság

Dr. Kiss András Pál
orvosigazgató, gyermekuroológus, Heim Pál Gyermekkórház

A therapeutic method for failed bladder augmentation in children: re-augmentation

PETER VAJDA, CENK S.N. BUYUKUNAL*, YUNUS SOYLET*, NUR DANISMED*, ZSOLT JUHASZ and ANDREW B. PINTER

*Department of Paediatrics, Surgical Unit, Faculty of Medicine, University of Pecs, Hungary and *Department of Paediatric Urology, Cerrahpasa Medical Faculty, University of Istanbul, Turkey*

Accepted for publication 14 December 2005

OBJECTIVE

To investigate the causes leading to the deterioration of previously successful bladder augmentation and to evaluate the efficacy of re-augmentation.

PATIENTS AND METHODS

Between 1988 and 2004, 136 bladder augmentations were performed in two paediatric urological units in Hungary and Turkey. Re-augmentation was necessary in two patients after colcystoplasty and in three after gastrocystoplasty. A secondary augmentation was not required in any patients after ileocystoplasty. The clinical data of these five patients were evaluated.

RESULTS

On the basis of the clinical signs and urodynamic studies, re-augmentation was performed 2–7 years after the initial augmentation cystoplasties. Anticholinergic therapy given before re-augmentation did not improve bladder capacity, intravesical pressure and/or bladder compliance. An ileal or sigmoid segment was used for the secondary augmentation. After re-augmentation, all five patients became continent, and showed marked improvement in their urodynamic parameters at a mean (range) follow-up of 6.8 (2–10) years.

CONCLUSION

A decreased bladder capacity and/or compliance and increased bladder pressure

after successful augmentation cystoplasty might be the result of: (i) impairment of the blood supply to the large bowel or gastric segment used for augmentation; or (ii) bowel mass contractions. Ileocystoplasty seems to be the 'first-line' of choice for primary augmentation. Re-augmentation with a bowel segment is a suitable treatment if conservative treatment fails. Regular urodynamic investigations are needed for early detection of malfunction of the augmented bladder, and advising therapy.

KEYWORDS

urinary incontinence, bladder augmentation, urodynamics, intestines, stomach

INTRODUCTION

In some cases, augmenting a previously successfully augmented urinary bladder (re-augmentation or secondary augmentation) is ultimately required with an additional piece of the gastrointestinal tract. There are few data on the reasons for failure and subsequent therapy in children [1,2]. We identified five patients who had poor results after a primary bladder augmentation, and who required re-augmentation. The present study investigated the causes of the deterioration of the previously successful bladder augmentation, and evaluated the efficacy of re-augmentation.

PATIENTS AND METHODS

Between 1988 and 2004, 136 bladder augmentations were performed with various gastrointestinal segments in two paediatric urological units in two countries

(Table 1). From these patients we identified two with colcystoplasty and three with gastrocystoplasty who required re-augmentation. For the secondary augmentation, the ileum was used in four patients (two with gastrocystoplasty and two with colcystoplasty) and sigmoid colon was used in one (gastrocystoplasty). No re-augmentation was necessary in patients who had a primary ileocystoplasty. The clinical data, including urodynamic studies, of these five patients were investigated and evaluated retrospectively. Fisher's exact test was used to determine whether there was a significant difference in the re-augmentation rate between the type of gastrointestinal segments used for primary augmentation, with $P < 0.05$ considered to indicate significance.

RESULTS

The relevant clinical data of the re-augmented patients are shown in Table 2. The mean

(range) age of the patients at primary augmentation was 9.8 (4–21) years. Two of the patients had had a colcystoplasty using a de-tubularized 15–20 cm long colonic segment, and three had had a conventional gastrocystoplasty. The mean interval between the primary and secondary augmentations was 4.2 (2–7) years. All five patients used clean intermittent catheterization after augmentation cystoplasty, and they were followed regularly; the mean follow-up after re-augmentation was 6.8 (2–10) years.

All five patients were continent after their initial cystoplasty, and incontinence developed at 0.5–2 years after the successful primary augmentation. Urinary dribbling was detected 1–1.5 h after catheterization, depending on the degree of decreased bladder capacity and/or compliance. Oral anticholinergic therapy (oxybutynin), which was introduced in all patients at the appearance of urinary dribbling, produced no improvement. As well as the oral therapy, oxybutynin was

administered locally into the augmented urinary bladder in patients 1 and 3.

Apart from the clinical complaints, there were persistent UTIs in both of the patients who had cololecystoplasty, which required prolonged antibiotic therapy. No significant

UTIs were detected at follow-up in the three patients who had gastrocystoplasty. There were no other complications in the re-augmentation patients, i.e. no metabolic disturbances, stone formation, haematuria-dysuria syndrome, perforation, *Helicobacter pylori* infection, or histological abnormalities.

Regular urodynamic evaluations confirmed decreased capacity and/or compliance in four of the patients after the primary augmentation (Table 2). In the fifth patient, significant mass bowel contractions developed (Fig. 1a). Failure to respond to conservative treatment (oxybutynin and chemotherapy), the urodynamic parameters provided the indication for re-augmentation in all five patients.

In addition to re-augmentation, patients 2 and 4 had a Mitrofanoff stoma and bladder neck reconstruction (Pippi Salle) respectively. Oral and local administration of anticholinergic therapy was not necessary after re-augmentation, and all five patients became continent again. After

Type of segment used	Number of patients (%)	TABLE 1 <i>The gastrointestinal segments used for primary augmentation.</i>
Ileal	56 (41.2)	
Colonic	50 (36.0)	
Gastric	29 (21.4)	
Composite (one stage ileo-gastrocystoplasty)	1 (0.7)	
Total	136 (100)	

TABLE 2 *The clinical data and results of the urodynamic studies of the five re-augmented patients*

Variable	Patient				
	1	2	3	4	5
Clinical data					
Underlying diagnosis	MMC	BE	MMC	BE	BE
Primary augmentation:					
Date	1988	1990	1992	1994	1998
Age	21	4	10	7	7
Gastrointestinal segment used	Colonic	Gastric	Gastric	Gastric	Colonic
Re-augmentation:					
Date	1993	1997	1995	1996	2002
Gastrointestinal segment used	Ileum	Ileum	Colon	Ileum	Ileum
Indication	Low capacity and compliance	Low capacity and compliance	Low capacity and compliance	Low capacity and compliance	Mass contractions
CIC	AWS	AWS	PU	PU	AWS
Follow-up, years	10	7	8	7	2
Urodynamic studies					
Before primary augmentation:					
Bladder capacity, mL	130	30	110	60	52
Maximum bladder pressure, cmH ₂ O	50	NA	71	NA	32
Compliance, mL/cmH ₂ O	8	NA	6	3.3	3
After primary augmentation:					
Bladder capacity, mL	250	60	263	220	300
Maximum bladder pressure, cmH ₂ O	48	NA	44	NA	35
Compliance, mL/cmH ₂ O	15	NA	16	NA	24
Time between augmentations, years	5	7	3	2	4
Before re-augmentation:					
Bladder capacity, mL	180	155	200	200	350
Maximum bladder pressure, cmH ₂ O	51	40	20	25	84
Compliance, mL/cmH ₂ O	11	11.5	9	8	27
After re-augmentation:					
Bladder capacity, mL	370	500	484	300	420
Maximum bladder pressure, cmH ₂ O	45	NA	20	NA	20
Compliance, mL/cmH ₂ O	16	NA	20	NA	42

BE, bladder exstrophy; MMC, meningomyelocele; CIC, clean intermittent catheterization; AWS, abdominal wall stoma/Mitrofanoff; PU, per urethram

re-augmentation there was a marked improvement in urodynamic parameters during 6.8 (2–10) years of follow-up (Table 2 and Fig. 1b).

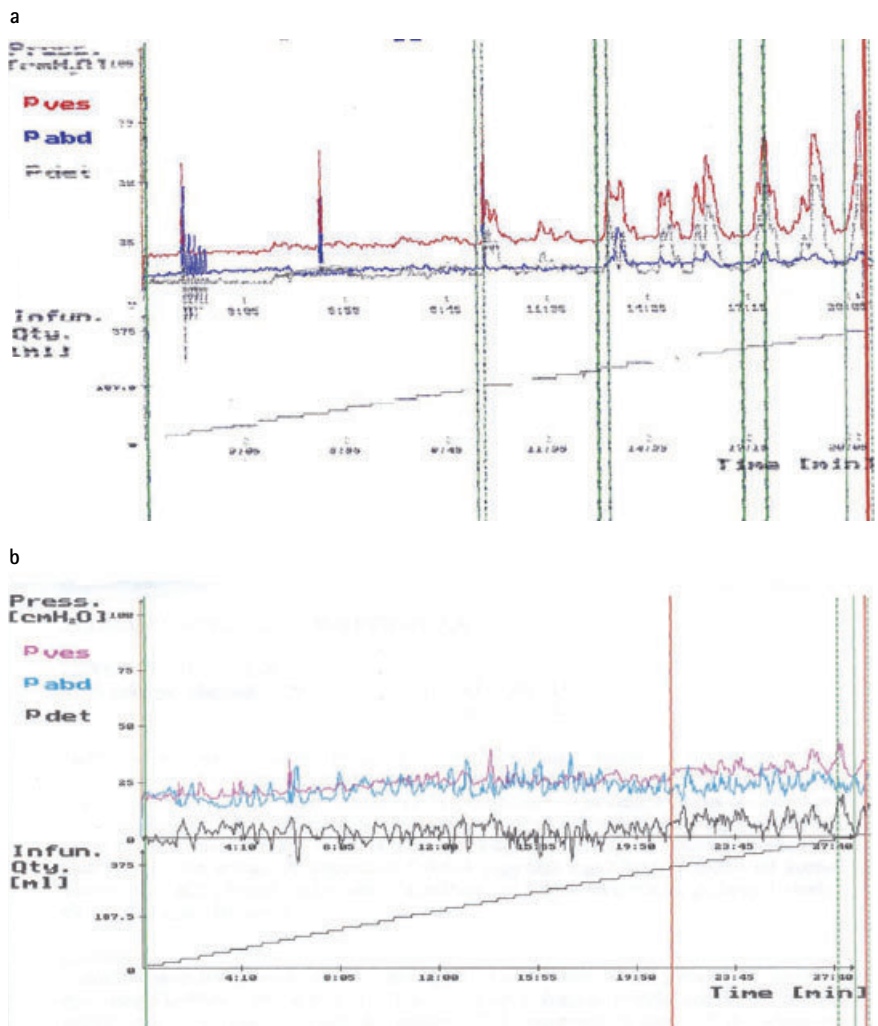
There was no significant difference in the re-augmentation rate between the ileocystoplasty (none of 56) and colocolocystoplasty (two of 50; $P=0.2$), but there was a clear advantage of using the ileum (none of 56) rather than the stomach for augmentation (three of 29; $P=0.03$).

DISCUSSION

Despite the many complications encountered in patients with augmentation cystoplasty [3,4], few studies have dealt with the reasons for failure of bladder augmentation and its subsequent treatment in children [1,2]. Pope *et al.* [1] reported a 5.9% overall re-augmentation rate for 323 patients with augmentation cystoplasty. In the present study, using stomach, ileum and colon for augmentation cystoplasty, we had a lower re-augmentation rate (3.7%). The re-augmentation rate in large paediatric series after gastrocystoplasty is 9–10% [1,5] and the rate in the present study is similar (10.3%). However, the need for re-augmentation after colocolocystoplasty is 2–13%, depending on which (proximal or distal) part of the colon is used for augmentation [1]. In the present study, when the proximal part of the colon was used for primary augmentation, only 4% of patients needed a re-augmentation.

We cannot explain the impairment of a previously successful bladder augmentation in patients 1, 2 and 4. Probably there was shrinkage of the gastrointestinal segment used for augmentation; this might result from a late impairment of the blood supply to the large bowel or gastric segment [6]. In the present study, we found an inadequate blood supply to the gastric segment used for augmentation at the time of re-augmentation only in patient 3. Interestingly, the bladder capacity worsened only 6 months after gastrocystoplasty. The anticholinergic therapy, which was introduced in all patients at the time of detecting urinary dribbling, might have had a delayed effect in decreasing the capacity of the augmented bladders. Apart from impairment of blood supply, other unrecognized causes might have played a role in the deterioration of urinary continence achieved by the primary augmentation.

FIG. 1. Urodynamic studies of patient no. 5 show: a, bowel mass contractions after colocolocystoplasty before re-augmentation; and b, the disappearance of mass contractions 1 year after re-augmentation.



In patient 5 (colocolocystoplasty), achieving a sufficient bladder capacity after the primary augmentation was prevented because of bowel mass contractions which did not respond to anticholinergic therapy (Fig. 1). These contractions were seen despite detubularization of the colonic segment, thus re-augmentation was indicated. Pope *et al.* [1] also showed that 19 of 323 patients who had a bladder augmentation had clinically significant problems because of the marked contractile activity of the augmented bladder. Despite detubularization, we regularly observed mass contractions after augmentation cystoplasties (mainly after colocolocystoplasties), but most of the patients responded well to anticholinergic drugs, and this did not result in worsening of urinary continence [7]. There were

also low amplitude (but not mass), periodical contractions in patients after gastrocystoplasty; they produced only a small pressure rise in the augmented bladder and never indicated re-augmentation. Further study is needed to clarify the reason for these low- and high-amplitude (mass) contractions.

Reconstruction of the lower urinary tract using a gastrointestinal segment is a valuable treatment in paediatric urology. Any segment of the gastrointestinal tract, stomach, small or large bowel, can be used successfully to augment the urinary bladder, and there is no evidence-based agreement about which type of gastrointestinal segment has the best long-term results after augmentation cystoplasty [8]. Pope *et al.* [1] noted a re-augmentation

rate of only 1.4% in 145 patients with ileocystoplasty. Re-augmentation has not been necessary after ileocystoplasty in our institutions to date. However, in the present study there was no significant difference in the re-augmentation rate between ileocystoplasties and colcystoplasties, but there was a significant advantage of using ileum rather than stomach. We therefore support using the ileum as the 'first-line' segment of choice for primary augmentation, and for secondary augmentation on the rare occasions when this is required. Using the stomach for bladder augmentation has now been abandoned because of the relatively high complication and failure (re-augmentation) rate.

The type of gastrointestinal segment used for primary augmentation or re-augmentation is not an evidence-based decision. According to McLaughlin *et al.* [5], Austin *et al.* [9] and the present data, re-augmentation with ileum might be advocated after unsuccessful gastrocystoplasty. Further prospective studies are needed to investigate the long-term metabolic and morphological consequences of augmentation cystoplasties and to identify reasons for failed long-term effectiveness. The simultaneous use of various gastrointestinal segments (composite reservoir) for primary augmentation might be a future therapeutic option [5,9].

We think that re-augmentation is an effective therapeutic method in children with unsuccessful bladder augmentation. Regular and life-long follow-up are necessary for early detection of malfunction of the augmented bladder and for formulating guidelines for re-augmentation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Assoc Prof Haluk Emir for his efforts in preparing data on urodynamic and following the patients, and Mr H Dagash for his assistance in

the preparation of the article. This study was supported by the Hungarian Scientific Research Foundation (OTKA T046213) from the Hungarian Academy of Sciences, Hungary.

CONFLICT OF INTEREST

None declared. Source of funding: Hungarian Scientific Research Foundation (OTKA T046213); P. Vajda and A.B. Pinter.

REFERENCES

- 1 Pope JC 4th, Keating MA, Casale AJ, Rink RC. Augmenting the augmented bladder: treatment of the contractile bowel segment. *J Urol* 1998; **160**: 854–7
- 2 El-Ghoneimi A, Muller C, Guys JM, Coquet M, Monfort G. Functional outcome and specific complications of gastrocystoplasty for failed bladder exstrophy closure. *J Urol* 1998; **160**: 1186–9
- 3 Belman AB, King RL, Kramer AS. *Clinical Pediatric Urology*, 1st edn, Chapt. 16. London: Martin Dunitz, 2002: 455–90
- 4 Duel BP, Gonzalez R, Barthold JS. Alternative techniques for augmentation cystoplasty. *J Urol* 1998; **159**: 998–1005
- 5 McLaughlin KP, Rink RC, Adams MC, Keating MA. Stomach in combination with other intestinal segments in pediatric lower urinary tract reconstruction. *J Urol* 1995; **154**: 1162–8
- 6 Humke J, Lampel A, Roth S. Pouch shrinkage from mesenteric thrombosis in orthotopic bladder substitution. *J Urol* 2001; **165**: 1999–2000
- 7 Juhasz Z, Jainsch M, Hock A, Farkas A, Pinter A. The role and value of urodynamics in the follow-up of children with surgical bladder augmentation and substitution. *Orv Hetil* 2000; **141**: 1561–5
- 8 Mitchell ME. Bladder augmentation in children: where have we been and where are we going? *BJU Int* 2003; **92** (Suppl. 1): 29–34

- 9 Austin PF, Lockhart JL, Bissada NK, Hutcheson JC, Snyder HM, Rink RC. Multi-institutional experience with the gastrointestinal composite reservoir. *J Urol* 2001; **165**: 2018–21

Correspondence to: Peter Vajda, Jozsef A. u. 7., Pecs, H-7623, Hungary.
e-mail: peter.vajda@aok.pte.hu

EDITORIAL COMMENT

This is a nice review of many bladder augmentations in children done at two institutions. To their credit the authors had a low secondary augmentation rate. Their data support the findings from our series and others, that ileum has the lowest failure rate, and that both colon and stomach are much more likely to require a re-augmentation. Other factors that might lead to secondary augmentation besides the type of bowel include failure to reconfigure the original bowel segment, failure to add a large enough bowel segment initially, increased urine volumes, and the complications that accompany gastric augmentation such as haematuria-dysuria and metabolic alkalosis. Increases in urine production may be due either to progressive renal tubular insufficiency or accelerated somatic growth out of proportion to the growth of bladder volume. Finally, the need for secondary augmentation may develop solely from changing the expectations of the patient and family. We have seen several families who are delighted to have a totally incontinent child become socially dry with surgery, but who later becomes dissatisfied with wearing a pad, even if the original indication for augmentation was to preserve renal function and incontinence was purely of secondary concern. At present, reconfigured ileum has emerged as the best available material for augmentation cystoplasty. The authors' report contributes to this conclusion.

ANTHONY J. CASALE,
Professor of Urology, Indiana University, USA



Does the Type of Bladder Augmentation Influence the Resolution of Pre-Existing Vesicoureteral Reflux? Urodynamic Studies

Z. Juhasz, R. Somogyi, P. Vajda,* Z. Oberritter, K. Fathi, and A.B. Pinter

Department of Paediatrics, Surgical Unit, Faculty of Medicine, University of Pécs, Hungary

Aims: The type of bladder augmentation on pre-existing vesicoureteral reflux (VUR) was assessed. The effects of urodynamic changes on the resolution of VUR following augmentation cystoplasty performed with various gastrointestinal segments were examined. It was queried whether elimination of high-pressure bladder is sufficient to resolve pre-existing reflux. **Methods:** A retrospective record review of patients who underwent bladder augmentation between 1987 and 2004. Patients were divided into two groups. Group I included patients who had a simultaneous augmentation and ureteral reimplantation. Group II included patients with reflux in whom only a bladder augmentation was performed. Pre- and post-augmentation urodynamic results were compared in both groups. The outcome of VUR and the role of various gastrointestinal (GI) segments on the resolution of VUR were studied. **Results:** Sixty-three patients underwent bladder augmentation during the study period. Twenty-six of them had VUR before augmentation. There were 10 patients in Group I and 16 patients in Group II. In Group I, VUR ceased in all patients, while in group II, VUR resolved in 14 patients and persisted in two patients. Small and large bowel segments used for augmentation had no effect on the resolution of VUR but the results of gastrocystoplasties were less favorable. Urodynamically there was no significant difference between the various augmentation cystoplasties. **Conclusions:** Bladder augmentation alone without simultaneous antireflux repair is usually sufficient for the resolution of pre-existing reflux. The various GI segments used for augmentation have no effect on urodynamic results and the resolution of VUR. *Neurourol. Urodynam.* 27:412–416, 2008. © 2007 Wiley-Liss, Inc.

Key words: augmentation cystoplasty; bladder dysfunction; urodynamics; vesico-ureteral reflux

INTRODUCTION

Vesicoureteral reflux (VUR) associated with bladder dysfunction (small capacity, poor compliance, and high intravesical pressure) is considered to be secondary reflux. The primary management of bladder dysfunction and secondary VUR is conservative treatment including clean intermittent catheterization (CIC) and anticholinergic agents. Bladder augmentation is necessary in only 15% of cases.^{1–3} In these patients secondary VUR can be resolved by the increase in bladder capacity and compliance and the decrease in high intravesical pressure achieved by bladder augmentation. There is no uniform concept and practice in the literature as to whether reimplantation of the refluxing ureters is necessary during augmentation cystoplasty in children with dysfunctional bladder, or whether augmentation alone is sufficient for the treatment of secondary VUR.^{4–9}

In this study the urodynamic alterations in patients with bladder augmentation and the effects on VUR detected prior to augmentation were investigated. The urodynamic changes in regard to the various gastrointestinal (GI) segments used for augmentation were also compared.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective record of patients who underwent bladder augmentation between 1987 and 2004 was reviewed. Pre- and post-augmentation urodynamic results were compared in both groups. The outcome of VUR and the role of various GI segments on the resolution of VUR were studied. Patients were divided into two groups. Group I included patients who had a simultaneous augmentation and ureteral reimplantation. Group II included patients with reflux in whom only a

bladder augmentation was performed. During the first part of the study all high grade VURs were reimplanted. However, during the second part of the study reimplantation of the refluxing ureter was performed only in selected cases, such as grade V VUR with very laterally located and/or wide ureteral orifices, independent of whether the pre-augmentation intravesical pressure was high or not.

Pre-augmentation urodynamics was performed in all patients. Conventional Dynamic Perfusion Cystometry was performed using a double or triple lumen transurethral catheter with simultaneous abdominal (rectal) pressure measurement on the water column pressure scale, occasionally supplemented with perineal EMG. The bladder capacity [$C = 30 \text{ ml} + (\text{age/years} \times 30 \text{ ml})$], the bladder compliance (20–25 ml/H₂O cm), and maximum bladder pressure were measured. The bladder was filled with saline by slow flow (10% of the calculated bladder capacity—max. 30 ml/min). The Student *t*-test was used, significance: $P < 0.05$.

Pre- and post augmentation urodynamic results were compared in both groups focusing on the fate of the VUR that is disappeared, persisted, upgraded, or downgraded. At the same time the effect of various GI segments used for the augmentation of the VUR was also examined.

No conflict of interest reported by the author(s).

Dirk De Ridder led the review process.

Grant sponsor: Hungarian Scientific Research Foundation; Grant number: OTKA TO46213.

*Correspondence to: P. Vajda, MD, PhD, Department of Paediatrics, Surgical Unit, Faculty of Medicine, University of Pécs, 7 Jozsef Attila str, Pécs, H-7623, Hungary.

E-mail: peter.vajda@aok.pte.hu

Received 18 July 2007; Accepted 10 September 2007

Published online 5 November 2007 in Wiley InterScience

(www.interscience.wiley.com)

DOI 10.1002/nau.20529

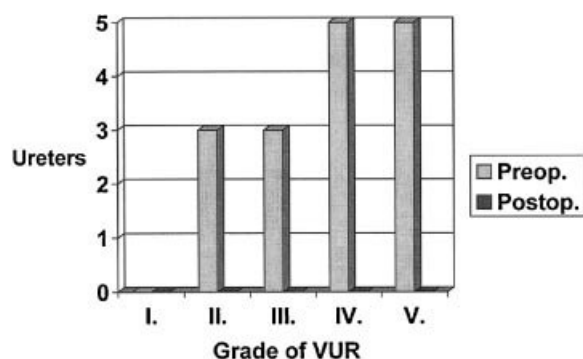


Fig. 1. Patients with bladder augmentation and ureter reimplantation (Group I) according to grade of VUR.

As a protocol, all patients were followed up at 3, 6, 12 months postoperatively and annually thereafter. Urodynamic studies were part of the regular follow up. Laboratory and radiological (ultrasound, voiding cysto-urethrography (VCUG), DMSA scan and DEXA scan) investigations were also performed and these results have been published in previous publications.^{10,11}

RESULTS

Sixty-three patients were operated on during the study period. Sixty-five percent of patients (41 pts) required a concomitant continent abdominal stoma for CIC. VUR was demonstrated in 26 patients (33 ureters) by preoperative (pre-augmentation) VCUG.

Group I: Ten patients (16 ureters) underwent bladder augmentation and simultaneous ureter reimplantation. In this group there were six meningomyelocele patients (MMC), and four non-neurogenic patients (two bladder exstrophy pts, one epispadias pt, and one other). The mean age at operation was 11.6 years (range 7–17). Colon, stomach, and small bowel were used in five, three, and two patients, respectively. The mean follow up was 5 years (range 1–13).

Group II: Sixteen patients (17 ureters) underwent only augmentation without simultaneous ureter reimplantation. In this group there were eight MMC, and eight non-neurogenic patients (five bladder exstrophy pts, one anorectal malformation pt, and two others). The mean age at operation was 10.9 years (range 4–17). Colon, gastric segment, and small intestines were used in seven, six, and three patients, respectively. In group II one patient underwent re-augmentation with colon segment 3 years following gastrocystoplasty due to deterioration of continence, bladder capacity, and compliance. The mean follow up was 6.2 years (range 1–13).

In group I, nine patients (14 ureters) underwent ureter reimplantation and one patient received bilateral subureteric Teflon injection (STING). The VUR was of high grade (III–V) in 13 ureters (81.3%) and low grade (II) in three ureters (18.7%)

(Fig. 1). The VUR disappeared following augmentation in all patients with a mean follow up of 11 months (range 3–72). There was no correlation between the time of disappearance of reflux and its grade. Two patients (12.5%) had recurrent VUR. One patient with gastrocystoplasty had a successful bilateral STING (grade II VUR) before the augmentation, and she presented with unilateral grade III VUR 3 years post-augmentation. Following 2 years of oxybutynin treatment VUR disappeared. Another patient without pre-augmentation VUR with ileocystoplasty showed unilateral grade III VUR at 6 months post-augmentation on cystography, which resolved spontaneously at 1 year follow up. In group I the mean functional bladder capacity was 166.1 ml (range 24–440) preoperatively and 446.1 ml (range 385–480) postoperatively ($P=0.01$). The mean preoperative bladder compliance improved after augmentation from 5.7 ml/H₂O cm (range 1.3–16) to 43.7 ml/H₂O cm (range 10.6–89) postoperatively ($P=0.01$). The average maximal bladder pressure under filling was decreased from 57.4 H₂O cm (range 28–134) to 28.7 H₂O cm (range 16–60) after the augmentation ($P=0.021$). The bladder capacity, compliance improvement, reduction of bladder pressure, and cessation of VUR were not influenced by the type of GI segment used for augmentation. Only the gastrocystoplasty patients did not show significant urodynamic changes (Table I). No difference was detected between the urodynamic results and the disappearance of VUR in neurogenic and non-neurogenic patients.

There were 16 patients with 17 refluxing ureters in group II, 8 ureters (47%) of high grade VUR (III–V) and 9 ureters (53%) of low grade VUR (II) (Fig. 2). VUR disappeared following augmentation in 14 patients (15 ureters –88.3%), with a mean follow up of 13.6 months (range 3–108). No relationship between the duration of time for disappearance of VUR and the grade of reflux was found. Nevertheless in two patients (2 ureters–11.7%) the VUR persisted. In one patient the grade II reflux upgraded to grade IV following gastrocystoplasty and required ureter reimplantation 4 years after the augmentation. In another patient, following colcystoplasty with preoperative unilateral grade III reflux, VUR remained unchanged during the follow up, however, clinically and radiologically, the patient proved to be stable with good renal function. She is waiting for Deflux injection. In addition two other patients, in whom VUR disappeared following augmentation, presented with recurrent VUR, which resolved spontaneously during follow up. The mean bladder capacity increased in all patients in group II from 131.6 ml (range 20–300) pre-augmentation to 446.8 ml (range 290–510) post-augmentation ($P=0.001$). The mean bladder compliance improved, 4.3 ml/H₂O (range 2–9.2) preoperatively and 40.2 ml/H₂O (range 13.3–72) postoperatively ($P=0.001$). The average maximal bladder pressure decreased from 57.4 H₂O cm (range 28–134) to 26.9 H₂O cm (range 12–43) postoperatively ($P=0.003$). The improvement of bladder capacity and compliance, the reduction of bladder pressure, and cessation of VUR were not influenced by the type of GI segment used for augmentation (Table II). No difference was

TABLE I. Pre- and Post-Augmentation Urodynamic Results of Patients With Augmentation and Simultaneous Ureter Reimplantation

	Compliance			Capacity			Pressure		
	Pre-op.	Post-op.	Sign. $P < 0.05$	Pre-op.	Post-op.	Sign. $P < 0.05$	Pre-op.	Post-op.	Sign. $P < 0.05$
Colocysto-plasty 5 pts	5.5	53.5	0.001	122.8	448.2	0.001	47.75	26.4	0.004
Gastrocysto-plasty 3 pts	8.3	23.5	0.28	324	456.6	0.3	59	39	0.48
Ileocysto-plasty 2 pts	2.15	49.8	0.001	37.5	425	0.001	37.5	19	0.011
Total 10 pts	5.7	43.7	0.01	166.1	446.1	0.01	51.5	28.7	0.021

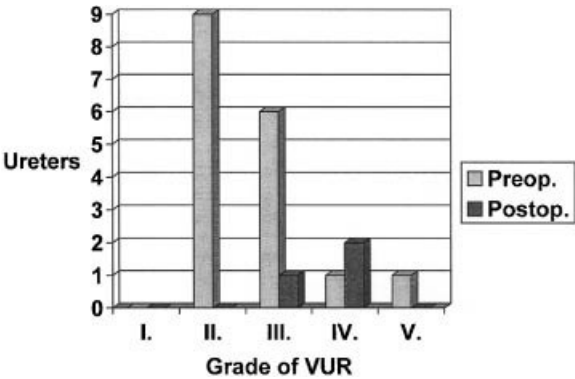


Fig. 2. Patients with bladder augmentation without ureter reimplantation (Group II) according to grade of VUR.

discovered between the urodynamic results and the disappearance of VUR of neurogenic and non-neurogenic origin. Comparing the groups I and II urodynamically (bladder capacity, bladder compliance, maximal bladder pressure) only the ileocystoplasty patients showed a significant difference in maximal bladder pressure (Table III). However, there was no significant difference between the two groups in the period of time for disappearance of VUR following augmentation ($P = 0.168$).

DISCUSSION

VUR associated with dysfunctional bladder can be managed conservatively (CIC and anticholinergic drugs) by decreasing intravesical pressure and improving bladder capacity and compliance.¹²⁻¹⁴ It is known that in bladder dysfunction, episodes of recurrent urinary tract infections and renal damage also decrease with the resolution of VUR.^{4,6-8,15} Agarwal et al. reported disappearance of VUR in 63% of neuropathic patients managed by conservative therapy.¹³ However, in cases where conservative treatment is not effective and reflux persists, the bladder remains non-compliant with high intravesical pressure and poor compliance and signs of upper urinary tract deterioration and urine incontinence are present, bladder augmentation is indicated.⁴⁻⁹ By transforming the bladder into a high capacity, high compliance, and low pressure reservoir, VUR can resolve without ureteral reimplantation.^{4-7,9} There is no agreement among the authors in the literature whether augmentation cystoplasty alone is sufficient in the resolution of pre-existing VUR or whether simultaneous ureter reimplantation or endoscopic antireflux therapy are necessary at the time of augmentation.^{4-9,16} Soylet et al. reported a series of 38 augmented neuropathic bladders associated with VUR. Ureter reimplantation was not performed in 15 patients (13 ileocystoplasty, 2 gastrocystoplasty) but was done in 23 other patients (16 ileocystoplasty, 4 cololecystoplasty, 3 gastrocystoplasty). VUR resolved in 97% (28/29

refluxing ureters) of patients without reimplantation and disappeared in 93% (38/41 refluxing ureters) with reimplantation. Interestingly, in this study all of the higher grade refluxes resolved following augmentation, but some of the lower grade VUR persisted.⁴ Lopez et al. reported 16 cases (11 ileocystoplasty, 3 cololecystoplasty, 2 ureterocystoplasty). In their material 87.5% of high refluxes and 100% of low refluxes resolved after augmentation.⁷ Nasrallah and Aliabadi also reported 92% of VUR resolution in 14 patients, post-colocystoplasty.⁹ In our study 41% (26/63) of the patients scheduled for augmentation presented with VUR. In group I following simultaneous antireflux repair VUR disappeared in all cases. In the two cases of recurrent VUR, the cause of recurrence in one patient was the increased intravesical pressure which was probably the result of intense gastric segment contraction. This VUR resolved by anticholinergic therapy. In the second patient the temporarily recurrent VUR was attributed to infection and it ceased following elimination of the infection. In group II (no antireflux repair at augmentation) VUR persisted in two patients following augmentation. One patient's (gastrocystoplasty) initial low grade unilateral VUR upgraded (from grade II to grade IV) and became bilateral which suggested the possibility of an augmentation failure (poor compliance, high intravesical pressure). An antireflux operation was performed in this patient in combination with later anticholinergic therapy; however, re-augmentation is also being considered because of persistently high intravesical pressure. In the other patient (cololecystoplasty) VUR (grade III) persisted despite good urodynamic results. This patient is awaiting antireflux surgery. There were two further cases of temporarily recurrent reflux in group II, which are assumed to be induced by infection and both ceased following elimination of infection. The majority of VUR in group I (81.3%) was of high grade, which was the reason for choosing ureter reimplantation simultaneously with augmentation, mainly in the first part of this study. All VUR ceased in this group. In group II only 47% of VUR were of high grade and 53% were low grade VUR. There was no difference in the disappearance rate between high and low grade refluxes (87% vs. 86%). Comparing the resolution and persistence of reflux in the two groups of patients and considering the pertinent literature^{4-7,9} some practical conclusions can be drawn but still a few unanswered questions remain. In cases of successful bladder augmentation (low intravesical pressure, good bladder capacity, and compliance) pre-existing grade II-IV refluxes will probably resolve without simultaneous antireflux plasty. In grade V reflux still there is a chance for resolution of reflux without antireflux plasty but probably less than in patients with lower grade reflux. On the basis of this material the chance of recurrence of reflux is higher in those augmented patients, in whom the pre-existing reflux resolved following augmentation without antireflux plasty than in those in whom simultaneous antireflux plasty was performed.

TABLE II. Pre- and Post-Augmentation Urodynamic Results of Patients With Augmentation Without Ureter Reimplantation

	Compliance			Capacity			Pressure		
	Pre-op.	Post-op.	Sign. $P < 0.05$	Pre-op.	Post-op.	Sign. $P < 0.05$	Pre-op.	Post-op.	Sign. $P < 0.05$
Colocysto-plasty 6 pts	3.25	39.85	0.001	76.74	448	0.001	64.5	25.57	0.045
Gastrocysto-plasty 7 pts	4.2	38.83	0.002	178.6	464	0.001	61	27.8	0.012
Ileocysto-plasty 3 pts	6	49.7	0.009	165.3	408.3	0.001	40.66	28	0.001
Total 16 pts	4.32	40.2	0.001	131.56	446.8	0.001	57.38	26.87	0.003

TABLE III. Post-Augmentation Urodynamic Results, Comparing Patients With VUR With and Without Ureter Reimplantation

	Compliance			Capacity			Pressure		
	Reimplantation	No reimplantation	Sign. <i>P</i> < 0.05	Reimplantation	No reimplantation	Sign. <i>P</i> < 0.05	Reimplantation	No reimplantation	Sign. <i>P</i> < 0.05
Colocysto-plasty 11 pts	53.48	39.85	0.563	448.2	448	0.461	26.4	25.57	0.39
Gastrocysto-plasty 10 pts	23.53	38.83	0.204	456.6	464	0.544	39	27.8	0.382
Ileocysto-plasty 5 pts	49.75	49.7	0.413	425	408.3	0.28	19	28	0.002
Total 26 pts	43.75	40.2	0.721	446.1	446.8	0.67	28.7	26.87	0.28

Surprisingly it was not possible to document any relationship between the persistence and recurrence of reflux and the grade of reflux. Soylet et al. made similar observations.⁴

No data were found in the literature regarding the role of the type of GI segment used for augmentation on the resolution of VUR. In this study, patients with the same low intravesical pressure achieved good capacity and compliance in both groups using different segments of GI tract. Obviously larger numbers of patients in all three types of bladder augmentation would have provided more convincing results. Statistically there were no differences between the three groups of bladder augmentations (gastrocystoplasty, colocy-stoplasty, ileocystoplasty); however, the clinical results in patients with gastrocystoplasty were less favorable than in the other two groups of augmentations. Patients following gastrocystoplasty had higher bladder contractions; in some cases they required anticholinergic therapy or re-augmenta-tion in one patient. These less favorable results can be explained by the disturbed blood supply of the gastric segment brought down retroperitoneally to the bladder caused by the late partial occlusion of the pedicle of the gastric flap. In terms of urodynamic studies only the ileocystoplasty patients showed a statistically significant difference in maximal filling pressure between Groups I and II, but there was no effect on the disappearance of VUR.

Neurogenic and non-neurogenic bladders are of different entities. The morphology and innervation of the ureter-ovesical junction, which play important roles in the appear-ance and disappearance of VUR, are different; however no difference was found between the urodynamic results and the disappearance of VUR in these patients following augmentations performed with various types of GI segments.

Neither this study nor the pertinent literature^{4-7,9} can answer the question as to whether one should perform an antireflux plasty simultaneously with bladder augmentation in the case of pre-existing reflux or not. In the first instance, by performing an unnecessary ureter reimplantation with its potential complications one will decrease the risk of persistence or recurrence of reflux. In the second case, by leaving the refluxing ureter unimplanted, probably unneces-sary surgery can be avoided but at the same time the risk of a technically difficult antireflux surgery is imposed on the previously augmented patient.

CONCLUSIONS

Bladder augmentation alone without simultaneous antire-flux plasty is usually sufficient for the resolution of pre-existing reflux. There is no difference between the disappear-ance rates of high and low grade VUR. Post-augmentation recurrent VUR, which is usually caused by urinary tract infection and/or increased intravesical pressure, can be successfully cured by antibiotic and anticholinergic therapy. The various GI segments (stomach, small, and large bowel) used for augmentation have no statistical effect on the resolution of VUR and urodynamic results. However, the results for gastrocystoplasty patients are less favorable than following bladder augmentation performed either with small or large bowels. Further prospective studies on more patients are necessary to make recommendations about the conserva-tive or surgical care of pre-existing reflux in patients requiring bladder augmentation.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Prof. Ricardo Gonzalez for reviewing the paper. This study was supported by the

Hungarian Scientific Research Foundation (OTKA TO46213) from the Hungarian Academy of Sciences.

REFERENCES

- Mitchell ME. Bladder augmentation in children: Where have we been and where are we going? *Br J Urol* 2003;92:29–34.
- Farkas A, Pinter A, Vajda P, Juhasz Z, Vastyan A, Oberritter Z. Intermediate results of surgical bladder augmentation in children (in Hungarian). *Orv Hetil* 2001;142:1617–21.
- Rink RC. Bladder augmentation. Options, outcomes, future. *Urol Clin North Am* 1999;26:111–23.
- Soylet Y, Emir H, Ilce Z, Yesildag E, Buyukunal SN, Danismend N. Quo Vadis? Ureteric reimplantation or ignoring reflux during augmentation cystoplasty. *Br J Urol* 2004;94:379–80.
- Castellan M, Damiani H, Fadil Iturralde J, Sanchez Mazzaferri F, Yunes J. Treatment of vesicoureteral reflux in patients with neurogenic bladder. Should the ureter be reimplanted in patients treated with augmentation cystoplasty? *Arch Esp Urol* 2003;56:1013–16.
- Simforoosh N, Tabibi A, Basiri A, Noorbala MH, Danesh AD, Ijadi A. Is ureteral reimplantation necessary during augmentation cystoplasty in patients with neurogenic bladder and vesicoureteral reflux? *J Urol* 2002;168:1439–41.
- Lopez Pereira P, Martinez Urrutia MJ, Lobato Romera R, Jaureguizar E. Should we treat vesicoureteral reflux in patients who simultaneously undergo bladder augmentation for neuropathic bladder? *J Urol* 2001;165:2259–61.
- Morioka A, Miyano T, Ando K, Yamataka T, Lane GJ. Management of vesicoureteral reflux secondary to neurogenic bladder. *Pediatr Surg Int* 1998;13:584–6.
- Nasrallah PF, Aliabadi HA. Bladder augmentation in patients with neurogenic bladder and vesicoureteral reflux. *J Urol* 1991;146:563–66.
- Vajda P, Kaiser L, Magyarlaki T, Farkas A, Vastyan AM, Pinter AB. Histological findings after colcystoplasty and gastrocystoplasty. *J Urol* 2002;168:698–701.
- Vajda P, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyan AM, Oberritter Z. Metabolic findings after colcystoplasty in children. *Urology* 2003;62:542–6.
- Ulman I, Avanoğlu A, Erikci V, Gokdemir A. Is resolution of vesicoureteric reflux by conservative management predictable in patients with myelodysplasia? *Eur Urol* 1998;34:226–9.
- Agarwal SK, Khoury AE, Abramson RP, Churchill BM, Argiropoulos G, McLorie GA. Outcome analysis of vesicoureteral reflux in children with myelodysplasia. *J Urol* 1997;157:980–2.
- Flood HD, Ritchey ML, Bloom DA, Huang C, McGuire EJ. Outcome of reflux in children with myelodysplasia managed by bladder pressure monitoring. *J Urol* 1994;152:1574–7.
- Steyaert H, Gebran S, Moscovici J, Juskiewinski S. Decisional criteria in the management of vesico-ureteral reflux in children with congenital neurogenic bladder. *Prog Urol* 1996;6:76–80.
- Granata C, Buffa P, Di Rovasenda E, Mattioli G, Scarsi PL, Podesta E, Doderio P, Jasonni V. Treatment of vesicoureteral reflux in children with neuropathic bladder: A comparison of surgical and endoscopic correction. *J Pediatr Surg* 1999;34:1836–8.

Quality of life: urinary bladder augmentation or substitution in children

Peter Vajda · Zoltan Kispal · Imre Lenart ·
Andrew Farkas · Attila M. Vastyan ·
Andrew B. Pinter

Accepted: 10 December 2008 / Published online: 8 January 2009
© Springer-Verlag 2008

Abstract

Purpose Bladder augmentation and substitution has been assumed to improve health-related quality of life in patients with urinary incontinence. This study was performed to elicit an evidence base for or against the above hypothesis. **Methods** Between 1988 and 2006, 67 bladder augmentations and 7 bladder substitutions were performed at our institute. Inclusion criteria for the cross-sectional study were a postoperative period of more than 1 year and an age of at least 10 years at the time of operation. A multimodality treatment-specific questionnaire (comprising 38 questions) was designed and sent to 61 patients. Quality of life was investigated in all patients and between the groups of patients with meningocele (Group A) versus bladder exstrophy (Group B), patients, who are catheterizing themselves via urethra (Group C) versus stoma (Group D) and patients who are using (Group E) versus not using wheelchair (Group F) following the surgery. For the statistical analysis Students *t* test, Wilcoxon signed rank test and correlation analysis were used.

Results A significant overall improvement was found in patients quality of life following this surgery ($P < 0.05$). Ninety percent of patients would prefer again bladder augmentation or substitution to their previous state. Patients with meningocele are changing pads or diapers more

frequently than exstrophy patients because of their bowel problems postoperatively. Quality of life improved better in patients performing CIC via stoma than in patients who perform it via their native urethra ($P < 0.05$). Outcomes were independent of patients age and of the post-augmentation time to assessment ($P < 0.05$).

Conclusions Bladder augmentation or substitution significantly improved the health-related quality of life in children and young adolescents taking part in the study. The authors are planning a prospective long-term follow-up of the patients (longitudinal study) to validate the results.

Keywords Urinary bladder · Urinary diversion · Quality of life · Children

Introduction

Partial or total urinary incontinence in children is one of those life-long defects which can cause serious difficulties in social life (attending school, learning a trade, self-sufficiency). Nearly 80% of urinary incontinence in childhood is due to dysfunctional voiding or congenital malformations, such as meningocele, sacral agenesis, bladder exstrophy or epispadias. The remaining 20% is made up of acquired disturbances such as trauma and iatrogenic damage of the urinary bladder innervations.

In case of a low bladder capacity, high bladder pressure or low compliance, after conservative treatment has failed, the available therapy is urinary bladder augmentation (or substitution) with gastric or bowel segment, augmentation like auto-augmentation or nowadays, tissue engineering techniques. These procedures have numerous, well-known advantages as well as complications. These vary depending on the type of gastro-intestinal segment used [1–3]. Due to

P. Vajda (✉) · Z. Kispal · A. Farkas · A. M. Vastyan ·
A. B. Pinter
Surgical Unit, Department of Paediatrics, Medical School,
University of Pecs, 7 Jozsef Attila Street, 7623 Pecs, Hungary
e-mail: peter.vajda@aok.pte.hu

I. Lenart
Department of Sociology, Faculty of Humanities,
University of Pecs, Pecs, Hungary

the risks of metabolic disturbances and other potential complications, patients need long and continuous follow-up and care [4–9].

Recently, there has been a strong demand for investigation of not only the conventional outcomes of various surgical interventions, but also for analysis of how the therapy applied may influence patients quality of life. The needs for such evidence-based studies are particularly important for interventions performed in childhood. These interventions will probably determine the course of patients life and those of their families for decades.

The quality of life research is becoming a more mature area of research today. The WHO definition of health [10] contains an important supplement, added in 2001 [11]. Based on this supplement, health is described by somatic indicators. This definition also relates to how a person feels physically and psychically; how he/she copes with everyday life and with other people. Health-related quality of life (HRQoL) is a part of the overall quality of life. This analyses a person's everyday life from a multi-dimensional concept embracing the components of physical, mental, emotional, and social well-being, as perceived by the individual and others [12]. For assessing the HRQoL, several types of questionnaire exist such as generic, disease-specific, treatment specific or utility and individualised measures [12, 13].

Such quality of life studies are performed mostly on adults. Studying HRQoL in children is more difficult because it needs different criteria from those applicable to adults [12, 14–16]. Questionnaires exist for urinary incontinence in children with spinal cord injury or neurological damage, as noted in a review by Avery et al. [17]. Surprisingly, there is no publication in the literature showing how to investigate HRQoL in children and adolescents or in young adults following bladder augmentation or substitution. Due to the lack of treatment-specific and validated treatment-specific HRQoL questionnaire for children following urinary bladder augmentation or substitution, a questionnaire has been designed by the authors.

Materials and methods

Patients

Between 1988 and 2006, 67 urinary bladder augmentations and 7 bladder substitutions were performed at the authors' institute. Since the inclusion criteria were a postoperative period of more than 1 year and an age of at least 10 years at the time of operation, altogether 61 patients were included in the cross-sectional study. Patients were divided into the

following groups: Group A, patients with meningocele; Group B, patients with bladder exstrophy; Group C, patients who are catheterizing themselves via urethra; Group D, patients who are catheterizing themselves via abdominal stoma (Mitrofanoff); Group E, patients using wheelchair and Group F, patients not using wheelchair.

Survey instrument and method

A treatment-specific questionnaire ("[Appendix](#)") consisting of 38 questions was designed with the assistance of paediatric surgeons, nurses, paediatric psychologist, a sociologist and a statistician taking part in the management of these patients. Together with this questionnaire, a letter detailing how to answer the questionnaire and an "unmarked" envelope for the return of the completed questionnaire was posted to the patients and their parents (caretakers). The completion of the questionnaire was voluntary and anonymous, and it had to be carried out at the patients' homes, away from the hospital. The patients were asked to complete the questionnaire independently without the help of their parents or caretakers.

The questionnaire is in two parts: the first section is related to the state before surgery and the second section is related to the state at follow-up 1–19 years later. Each of the sections is divided into one part dealing with the somatic (health) condition and a second part on questions related to the individuals way of life. The questions concerning the somatic (health) conditions dealt with the urinary and faecal continence and movement. The way of life questions, asked about the patients' psychic and social well-being, fitting into the community and self-reliance before ("[Appendix](#)" questions A) and following surgery ("[Appendix](#)" questions B). Answers had to be given on a four-point scale on a value from "0" to "3". In this scale, a higher score denotes better somatic status and/or way of life of patients (HRQoL). If on this four-point scale (0-1-2-3) the "3" did not mean the better/best and the "0" the worse/worst condition of the patient (for example in question A101, "Did you have any urinary dripping before the operation?" where "0" is no dripping; "3" is intensive, permanent dripping); we reversed the answers during statistical analysis. In case of yes/no answer we calculated with "0" and "1" where the "0" means the less favourable, the "1" means the favourable situation.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with the assistance of a statistician (I.L.) by using the following mathematical formula:

$$\text{Component} = \frac{\text{Sum of the values of the answers of the component's questions}}{\text{Available maximum sum of the values of the answers of the component's questions}} \times 10$$

where the answers regarding the somatic conditions and way of life pre- and postoperatively, were inverted the values from the four-point scale into a 10-point scale components (Fig. 1). Four components were created: component 1, health before the surgery (summarize the questions A101, A102, A103, A106, A107 and A108); component 2, health following the surgery (summarize the questions B101, B102, B103, B106, B107 and B108); component 3, way of life before the surgery (summarize the questions A21, A22, A23, A24, A25, A26) and component 4, way of life following the surgery (summarize the questions B21, B22, B23, B24, B25, B28 and B29).

Using the statistical formula above also compared our variables between our established six groups: (1) Patients with meningomyelocele (Group A) versus patients with exstrophy (Group B); (2) patients are catheterizing through urethra (Group C) versus patients catheterizing through stoma (Group D); (3) patients are using (Group E) versus patients not using a wheelchair (Group F).

Answers were analysed separately in general and in the groups mentioned above. Questions related to intimate relationship (questions B26, B27) were investigated between women and men postoperatively, only, if the patients were over 18 (12 females and 18 males).

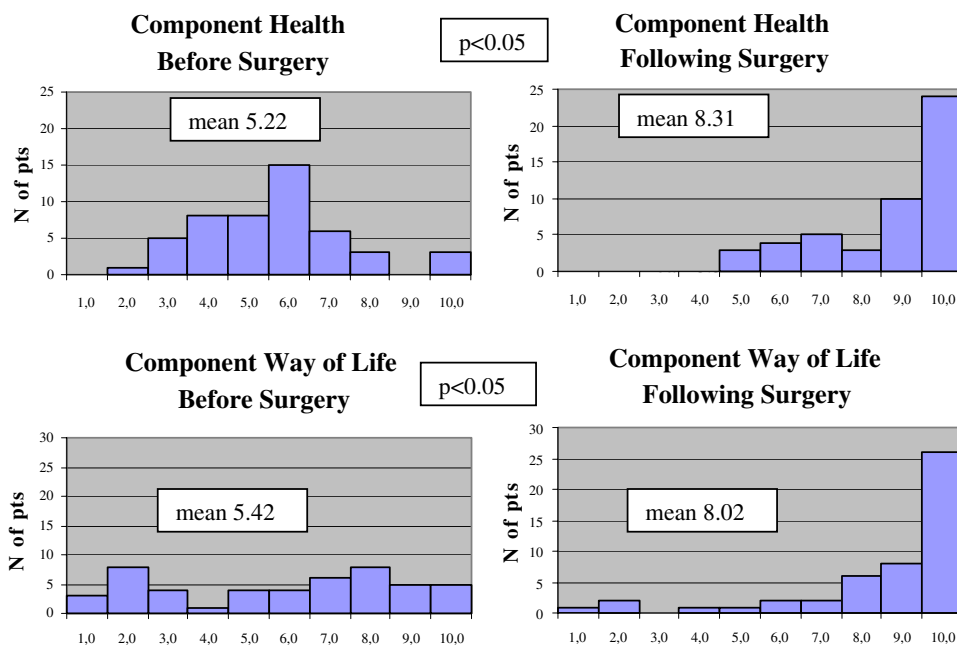
For the statistical analysis, we used Students *t* test, Wilcoxon signed rank test and correlation (bivariate) analysis, done by statistical software (SPSS 11.0, Chicago, IL). The selected level of significance was 0.05.

Results

In 54 patients, urinary bladder augmentation (26 cololecystoplasty, 18 gastrocystoplasty and 10 ileocystoplasty), and in 7 patients bladder substitution with large bowel was performed. The median age of the patients at the time of bladder augmentation or substitution was 14.2 (ranging from 10 to 22) years. The average time between the operation and the study was 8.9 (ranging from 1 to 19) years. All the 61 patients are on clean intermittent catheterization (CIC).

Fifty-one out of the 61 questionnaires (82%) were completed and returned. Two of these could not be evaluated since some questions were not answered; therefore, 49 questionnaires were processed. Out of these 49 patients, cololecystoplasty in 21, gastrocystoplasty in 14, ileocystoplasty in 9 and in the remaining 5 patients bladder substitution was the investigated procedure. The sex ratio was nearly 2–3 (20 female and 29 male). Thirty-one (out of 49) patients were operated because of neuropathic bladder caused by

Fig. 1 Columns of bar charts representing the patients' health condition and way of life satisfaction (HRQoL) are inverted into a 10 point scale before and following surgery. The means given to the components health and way of life increased significantly following operation ($P < 0.05$)



meningomyelocele (Group A). The remaining 18/49 patients suffered from bladder exstrophy (Group B). Twenty-one patients (out of 49) are using his or her original urethra for CIC (Group C). Continent catheterizable abdominal wall stoma was created in 28/49 patients usually simultaneously with the augmentation (Group D). None of our patients has an artificial sphincter. Seven patients are using wheelchair (Group E) and 42 out of 49 are not (Group F).

On analysis of the findings, it was statistically confirmed that the answers were independent from two variables; the time elapsed since the operation and the age of the patients. These variables had no influence on the given answers with the correlation analysis ($P = 0.001$).

Overall evaluation of HRQoL

In the evaluated 49 patients, the preoperative somatic (health) component rose from 5.22 to 8.31 postoperative somatic (health) component ($P < 0.05$). The preoperative component of way of life rose from 5.42 to 8.02 postoperative component of way of life ($P < 0.05$). The average change of the components was at the probability of 95% 2.65–3.54 and 1.71–3.48 in order. The outcome with more robust Wilcoxon test resulted in the same; the rise of the components was significant in each of the cases ($P < 0.05$) (Fig. 1).

Detailed evaluation of specific questions in all patients ($N = 49$)

Question B112 In reply to the question as to whether the patient would undertake the operation again, 44 (90%) answered positively (choosing “3”), only 5 (10%) stated that they did not know (4%, choosing “1” or “2”), or would not undertake it again (6%, choosing “0”) (Fig. 2). The 44 patients who declared that they would undertake the operation again judged their condition as better compared

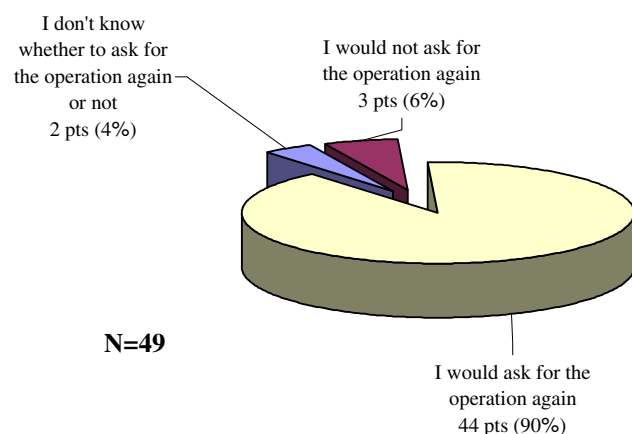


Fig. 2 The pie chart represents the distribution of answers given by patients to the question B112 (If you have to decide now about augmenting your bladder would you take the operation again?)

to those who would not do so ($P = 0.012$). Those patients who were unsure about having the operation again (10%) would have liked more information about the surgery and their latter life from the doctors and from those who were responsible for their preoperative care.

Question B24 Most patients answered positively to the question as to whether their life had become easier after the operation. Thirty-seven percent of them reported major improvement (choosing “3”), 53% reported some improvement (choosing “2”), and only 10% reported no change (choosing “1”). None of the patients reported that their life had become harder following augmentation or substitution (choosing “0”).

Questions A23 and B21 Before the operation, 49% of the patients had a problem with fitting into society, whilst, following the operation, this figure decreased to 12%. Way-of-life difficulties decreased significantly following the operation ($P < 0.05$).

Questions B26, B27 Female patients reported better intimate relationship in comparison with male patients postoperatively, but this was not statistically significant.

Questions A104, A105 and B104, B105 Patients who were able to catheterize themselves preoperatively did not change the frequency of CIC postoperatively; however, the catheterizable abdominal wall stoma decreased the need of the parents or caretaker's help for CIC.

Questions B110 and B111 Patients were satisfied with their postoperative follow-up (regular clinical examinations and lab investigations).

Evaluation of grouped patients

1. Group A ($N = 31$) versus B ($N = 18$): quality of life improved in the same extent in patients with meningomyelocele and bladder exstrophy following the surgery.
Question 106 and 107: patients with meningomyelocele are changing pads or diapers more frequently than exstrophy patients ($P < 0.05$). No other significant difference was found between patients of Group A and B.
2. Group C ($N = 21$) versus D ($N = 28$): the somatic (health) component rose with 2.28 (Group C) and 3.67 (Group D), the component of way of life rose with 1.72 and 2.86 postoperatively. The average change of the components resulted in a better improvement in health-related quality of life in patients performing CIC via stoma postoperatively ($P < 0.05$). No other significant alteration was found in the answers between the patients of Group C and D.
3. Group E ($N = 7$) versus F ($N = 42$): the somatic (health) component rose with 3.70 (Group E) and 3.00 (Group F) which was non significant alteration ($P = 0.218$). The component of way of life deteriorated

with 0.39 in patients using wheelchair postoperatively, but rose in patients without wheelchair with 2.85 postoperatively. This latter change was significant ($P < 0.05$). No other significant alteration was found in the answers between the patients of Group E and F.

Discussion

Long-term follow-up studies should focus not only on basic survival, but also on quality of life of the patients. Based on such follow-up, health carers can modify or correct their treatment protocols.

For investigation of HRQoL, a treatment-specific questionnaire is of great importance. It is hard to design a questionnaire for children due to their growing age. This may be the reason why we could not find a questionnaire for bladder augmented (or substituted) children in the literature. While designing such a treatment-specific questionnaire, it should be taken into consideration that a child augmented at about 10 years of age will evaluate his or her preoperative physical and mental status differently at about 18 years of age postoperatively. We believe that after 10 years of age the patients are already able to assess the quality of their life following surgery. For these reasons, we recruited specialists—taking part in the management of these patients—from various fields such as paediatricians, paediatric surgeons/urologists, psychologist, sociologist and statistician to assist in designing a treatment-specific questionnaire. To minimize possible mistakes in preparation of this questionnaire, test samples were sent to five patients before completing the final version.

According to our results, bladder augmentation or substitution significantly improved the quality of life of patients taking part in the study. The positive effect of the operation is also reinforced by the fact that those who had urinary incontinence before the operation had a strong inclination that they were willing to proceed to the operation again. Patients felt that the various forms of inconvenience associated with urinary incontinence (the constant need to wear and change diapers, sanitary pads) ceased or relevantly decreased postoperatively. This made them self-confident and found that, their state of health weakened them much less in their everyday life.

Questions may be raised regarding the ten patients who did not respond our questionnaire. If they are less satisfied with their quality of life, it can negatively influence the favourable results of this study. Nine of these patients irregularly attended the follow-up visits. Based on our medical reports, their physical functions, symptoms, global judgments of health, psychological and social well-being was not different comparing to those patients who responded our questionnaire.

We dare to say that the analysis of the established groups is the most interesting part of our work. The reason why the patients with meningocele are changing pads or diapers more frequently postoperatively than exstrophy patients is probably their bowel problems. However, the surgery provides urinary continence, the bowel incontinence remains in many cases. There might be several reasons why the HRQoL of patients living with a urinary stoma improved better, but mainly abdominal stoma is usually easier access to catheterize than a urethra. We cannot answer why the way of life after surgery deteriorates in patients who are using a wheelchair. It may not only be necessarily related to the operation.

We were able to find only a few publications dealing with the same question of augmentation. MacNeily et al. [18] were not able to demonstrate superior HRQoL in 36 spina bifida patients (5–20 years of age) following bladder augmentation over 52 non-operated spina bifida controls, which is in contradiction with our results. However, MacNeily used disease-specific questionnaire. Catti et al. [19] used non-validated quality of life questionnaire for 23 adult women (19–41 years of age) born with bladder and cloacal exstrophy, but only 7 of these 23 underwent urinary bladder augmentation. They found that exstrophy women may have a normal social and professional life, and the same reproductive aspirations as their peers. It should be emphasised that our questionnaire was treatment-specific and not disease-specific and that we considered the surgical intervention as a basis of study. Therefore, patients with myelomeningocele and bladder exstrophy were also included in our study. The evaluation of the results of this study will be more impressive following a similar analysis of HRQoL of parents or caretakers.

A comparison of our results with data of the literature could not be done because we were not able to find similar investigation of HRQoL in children and adolescents with urinary bladder augmentation or substitution. Because of this lack of a treatment-specific and validated utility HRQoL questionnaire for this population to date, the authors designed such a questionnaire. We dare to say the main limitation of our study is that the quality of life before the surgery was assessed by the participant after the fact and this may limit the validity of the results. Therefore, we are planning a prospective long-term follow-up (longitudinal) study of the patients; in which, we are planning to attempt at item reduction, assessment of face validity, construct validity, or the test-re-test reliability of our instrument to validate our data.

Acknowledgments This study was supported by the Hungarian Scientific Research Foundation (OTKA T046213) from the Hungarian Academy of Sciences, Hungary. The authors thank Professor Daniel G. Young and Fariborz Bagheri for their assistance in the preparation of the article.

Appendix

Your gender: female / male

How old were you at the time of bladder augmentation (or substitution)?years

How old are you now?.....years

A.) Questions concerning the period BEFORE SURGERY

1.) Questions related to somatic (health) condition:

- A101. Did you have any urinary dripping before the operation? **0 - 1 - 2 - 3**
A102. Could you urinate on your own without a catheter or manoeuvre before the operation? **YES (0) – NO (1)**
A103. Did you use a catheter for emptying your bladder? **YES (0) – NO (1)**
A104. If yes, how often did you have to perform catheterisation? *Every.....hours*
A105. Who performed catheterisation? *I did / parents' or caretaker's help*
A106. Did you have to use diapers because of urinary dripping? **YES (0) – NO (1)**
A107. Did you have to use diapers because of faecal soiling? **YES (0) – NO (1)**
A108. Did you attend some kind of orthopaedics therapy before the operation? **YES (0) – NO (1)**

2.) Questions related to way of life:

- A21. Did you find making friends easy before the operation? **0 - 1 - 2 - 3**
A22. Did your illness hinder you in fitting into kindergarten, school and community? **0 - 1 - 2 - 3**
A23. If yes, how much did it hinder you? **0 - 1 - 2 - 3**
A24. Did you have friends before the operation? **YES (0) – NO (1)**
A25. Did you have a girlfriend/boyfriend before the operation? **YES (0) – NO (1)**
A26. How did you feel at all before you were operated on? **0 - 1 - 2 - 3**

B.) Questions concerning the period FOLLOWING SURGERY

1.) Questions related to somatic (health) condition:

- B101. How much are you satisfied with your present health? **0 - 1 - 2 - 3**
B102. Do you have presently day-time urinary dripping? **0 - 1 - 2 - 3**
B103. Do you have presently night-time urinary dripping? **0 - 1 - 2 - 3**
B104. How often do you catheterise yourself? *Everyhours*
B105. Who performs catheterisation? *I do / parents' or caretaker's help*
B106. Do you use sanitary pads? **0 - 1 - 2 - 3**
B107. Do you use diapers? **0 - 1 - 2 - 3**
B108. Do you attend any orthopaedic therapy currently? **YES (0) – NO (1)**
B109. Were you informed for the possible complications after the operation? **YES (0) – NO (1)**
B110. Do you find the care system at our unit adequate? **YES (0) – NO (1)**
B111. Would you like to have more help from the workers in the unit? **YES (0) – NO (1)**
B112. If you have to decide now about augmenting your bladder would you take the op. again? **0 - 1 - 2 - 3**

2.) Questions related to way of life:

- B21. Does your present state hinder you in fitting into the community? **0 - 1 - 2 - 3**
B22. Do you find making friends easier now than before the operation? **0 - 1 - 2 - 3**
B23. Do you have friends? **YES (0) – NO (1)**
B24. Did your life become easier after the operation? **0 - 1 - 2 - 3**
B25. Do you have a girlfriend/boyfriend after the operation? **YES (0) – NO (1)**
B26. Does your present state hinder you in establishing an intimate relationship? * **YES (0) – NO (1) ***
B27. If yes, how much does it hinder you? * **0 - 1 - 2 - 3 ***
B28. How do you feel in general after the operation? **0 - 1 - 2 - 3**
B29. Considering your present life, do you think that the operation was successful? **0 - 1 - 2 - 3**

* if you are under 18 years or you do not want to establish a relationship yet, please do not answer for the question

References

1. Plawker MW, Rabinowitz SS, Etwaru DJ, Glassberg KI (1995) Hypergastrinemia, dysuria-hematuria and metabolic alkalosis: complications associated with gastrocystoplasty. *J Urol* 154(2Pt1):546–549. doi:[10.1016/S0022-5347\(01\)67107-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)67107-6)
2. Celayir S, Goksel S, Unal T, Buyukunal SN (1997) *Helicobacter pylori* infection in a child with gastric augmentation. *J Pediatr Surg* 32(12):1757–1758. doi:[10.1016/S0022-3468\(97\)90527-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(97)90527-3)
3. Duel BP, Gonzalez R, Barthold JS (1998) Alternative techniques for augmentation cystoplasty. *J Urol* 159(3):998–1005. doi:[10.1016/S0022-5347\(01\)63820-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)63820-5)
4. Filmer RB, Spencer JR (1990) Malignancies in bladder augmentations and intestinal conduits. *J Urol* 143(4):671–678
5. Gosalbez R Jr, Woodard JR, Broecker BH, Warshaw B (1993) Metabolic complication of the use of stomach for urinary reconstruction. *J Urol* 150(2Pt2):710–712
6. Mills RD, Studer UE (1999) Metabolic consequences of continent urinary diversion. *J Urol* 161(4):1057–1066. doi:[10.1016/S0022-5347\(01\)61590-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)61590-8)
7. Vajda P, Kaiser L, Magyarlaki T, Farkas A, Vastyan AM, Pinter AB (2002) Histological findings after colcystoplasty and gastrocystoplasty. *J Urol* 168(2):698–701. doi:[10.1016/S0022-5347\(05\)64727-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)64727-1)
8. Vajda P, Pinter AB, Harangi F, Farkas A, Vastyan AM, Oberitter ZS (2003) Metabolic findings after colcystoplasty in children. *Urology* 62(3):542–546. doi:[10.1016/S0090-4295\(03\)00580-6](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(03)00580-6)
9. Baydar DE, Allan RW, Castellan M, Labbie A, Epstein JI (2005) Anaplastic signet ring cell carcinoma arising in gastrocystoplasty. *Urology* 65(6):1226
10. World Health Organization (1947) Constitution. WHO Chronicle 1. World Health Organisation, Geneva
11. Ravens-Sieberer U, Gosh A, Abel T, Auquier P, Bellach BM, Dür W, European Kidscreen group et al (2001) Quality of life in children and adolescents: a European public health perspective. *Soc Prev Med* 46(5):294–302. doi:[10.1007/BF01321080](https://doi.org/10.1007/BF01321080)
12. Browne JP (1999) Health-related quality of life studies in urology: conceptual and methodological considerations. *World J Urol* 17(4):193–198. doi:[10.1007/s003450050132](https://doi.org/10.1007/s003450050132)
13. Herdman M, Rajmil L, Ravens-Sieberer U, Bullinger M, Power M, Alonso J, European Kidscreen group (2002) Expert consensus in the development of a European health-related quality of life measure for children and adolescents: a Delphi study. *Acta Paediatr* 91(12):1385–1390
14. Ravens-Sieberer U, Bullinger M (1998) Assessing health-related quality of life in chronically ill children with the German KINDL: first psychometric and content analytical results. *Qual Life Res* 7(5):399–407. doi:[10.1023/A:1008853819715](https://doi.org/10.1023/A:1008853819715)
15. Eiser C, Morse R (2001) A review of measures of quality of life for children with chronic illness. *Arch Dis Child* 84(3):205–211. doi:[10.1136/adc.84.3.205](https://doi.org/10.1136/adc.84.3.205)
16. Rajmil L, Herdman M, Fernandez de Sanmamed MJ, Detmar S, Bruil J, Ravens-Sieberer U, European Kidscreen group et al (2004) Generic health-related quality of life instruments in children and adolescents: a qualitative analysis of content. *J Adolesc Health* 34(1):37–45. doi:[10.1016/S1054-139X\(03\)00249-0](https://doi.org/10.1016/S1054-139X(03)00249-0)
17. Avery KN, Bosch JL, Gotoh M, Naughton M, Jackson S, Radley SC et al (2007) Questionnaires to assess urinary and anal incontinence: review and recommendation. *J Urol* 177(1):39–49. doi:[10.1016/j.juro.2006.08.075](https://doi.org/10.1016/j.juro.2006.08.075)
18. MacNeily AE, Morrell J, Secord S (2005) Lower urinary tract reconstruction for spina bifida—does it improve health related quality of life? *J Urol* 174(4Pt2):1637–1643. doi:[10.1097/01.ju.0000177730.12867.00](https://doi.org/10.1097/01.ju.0000177730.12867.00)
19. Catti M, Paccalin C, Rudrigoz R, Mouriquand P (2006) Quality of life for adult women born with bladder and cloacal exstrophy: a long-term follow-up. *J Pediatr Urol* 2(1):16–22. doi:[10.1016/j.jpuro.2005.07.002](https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2005.07.002)



The local microbiome after pediatric bladder augmentation: intestinal segments and the native urinary bladder host similar mucosal microbiota

^aDepartment of Pediatric and Adolescent Surgery, Medical University of Graz, Auenbruggerplatz 34, 8036 Graz, Austria

^bDepartment of Pediatrics, Surgical Division, University of Pecs, József A Str 7, 7623 Pecs, Hungary

^cCenter for Medical Research, Core Facility Molecular Biology, Medical University of Graz, Stiftingtalstraße 24, 8036 Graz, Austria

^dDepartment of Internal Medicine, Joint Facilities, Medical University of Graz, Stiftingtalstraße 24, 8036 Graz, Austria

^eBioTechMed, Mozartgasse 12/II, 8010 Graz, Austria

* Corresponding author. Department of Pediatric and Adolescent Surgery, Medical University of Graz, Auenbruggerplatz 34, 8036 Graz, Austria. Tel.: +43 316 385 13762; fax: +43 316 385 13775.

georg.singer@medunigraz.at (G. Singer)

Keywords

Bladder augmentation; Colocystoplasty; Ileocystoplasty; Intestinal segments; Microbiome; Urinary tract

Received 14 May 2018

Accepted 26 July 2018

Available online 8 August 2018

Z.F. Kispal ^a, P. Vajda ^b, D. Kardos ^b, I. Klymiuk ^c, C. Moissl-Eichinger ^{d,e}, C. Castellani ^a, G. Singer ^{a,*}, H. Till ^a

Summary

Introduction

Next-generation sequencing (NGS) techniques have provided novel insights into the microbiome of the urinary bladder (UB). In children after bladder augmentation using either ileum (ileocystoplasty, ICP) or colon (colocystoplasty, CCP), the fate of the mucosal microbiome introduced into the urinary tract remains unknown.

Objective

The aim was to compare the mucosal microbiome of the native UB vs the augmented intestinal segment (IS) using NGS.

Study design

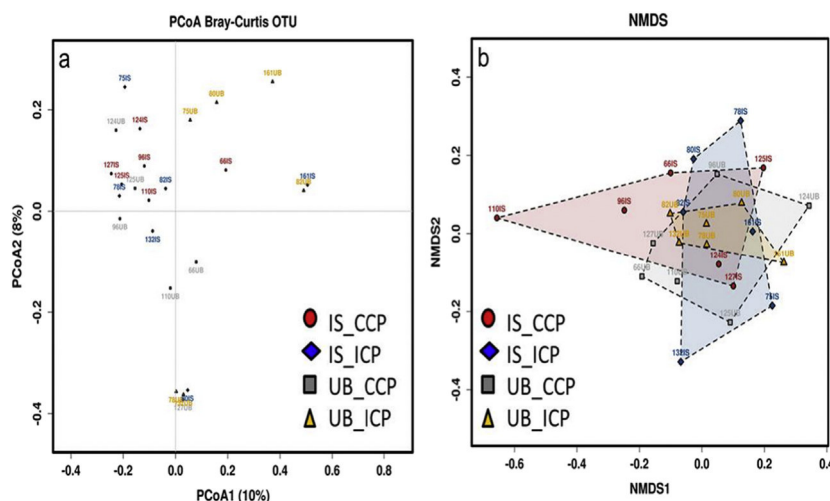
Twelve children after bladder augmentation (ICP $n = 6$, CCP $n = 6$) were included. Biopsies were taken during routine postoperative cystoscopy from the native UB and the IS. Specimens underwent whole-genome DNA extraction, 16S rRNA gene amplification, NGS, and Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) data analysis. Downstream statistical data analyses were performed in Calypso.

Results

Patients' median age at the time of surgery was 11 years (6–17 years), and the median interval between augmentation and sampling was 7 years (4–13 years). α -Diversity (Shannon diversity index) was not significantly different between IS vs UB, ICP vs CCP, and male vs female. No general differences in the overall bacterial pattern (β -diversity) were found between IS, UB, ICP, and CCP groups. The groups overlapped in principal coordinate analysis (PCoA) and non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis (Figure). Age at sampling had a statistically significant influence on β -diversity at the genus level. *Corynebacterium*, *Pseudoxanthomonas*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium*, and *Micrococcus* were the most dominating taxa detected over all samples. There was an obvious dominance of the genus *Corynebacterium* in the samples taken from the UB and IS in both ICP and CCP patients. Limitations of this study include the relatively small number of patients.

Conclusion

After bladder augmentation, the native UB and augmented ISs (ICP and CCP) host similar microbiota despite their distinct differences of originating mucosal anatomy.



Summary Figure On OTU Level, the IS and UB sample groups overlap in both ICP and CCP classification in PCoA (left panel) and NMDS (right panel).

<https://doi.org/10.1016/j.jpuirol.2018.07.028>

1477-5131/© 2018 Journal of Pediatric Urology Company. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

The objective of bladder augmentation is to create a low-pressure storage reservoir of sufficient capacity to preserve upper urinary tract function and establish urinary continence when maximal medical therapy is unsuccessful [1]. Several techniques, including ileocystoplasty (ICP) or colocolocystoplasty (CCP), have been described. However, it is well known that bladder augmentation can be associated with a variety of long-term complications, including excessive mucus production, electrolyte imbalances, metabolic acidosis, somatic growth retardation, vitamin B12 deficiency, and the formation of bladder calculi [2]. Histological changes and tumor formation in the augmented bladder are the most severe postoperative complications [3]. Furthermore, recurrent urinary tract infections (UTIs) represent a significant problem [2].

Next-generation sequencing (NGS) techniques have provided novel insights into the microbiome of the urinary bladder (UB) [4], which until now has been suspected to be sterile [5]. However, there is a growing body of evidence suggesting that even the healthy urinary tract harbors a variety of microbial species, termed the urinary microbiome [6]. Furthermore, disruptions of the microbiome of the UB have been demonstrated in urological disorders such as urgency urinary incontinence, overactive bladder, and urolithiasis [6,7].

Before bladder augmentation, the intestinal segments (ISs) host a dense and complex microbial ecosystem serving numerous immunological, metabolic, and defensive functions. Augmentation of the native UB with ISs exposes this alimentary microbiota to a completely different microenvironment. At present, however, little is known about the fate of the intestinal mucosal microbiome after bladder augmentation. The aim of the present long-term postoperative observational study was therefore to intra-individually compare the local bacterial microbiome of the native UB and the IS in children after bladder augmentation.

Patients and methods

Patients and study setup

After approval of the local ethics committee (5011-0/2010-1018Eku), 12 patients treated with bladder augmentation at the institution were included in the study. Six of these patients (3 female and 3 male) underwent ICP and six patients (3 female and 3 male) underwent CCP. Perioperatively, patients received antibiotic prophylaxis with metronidazole, cefuroxime, and gentamycin. Before bladder augmentation, sonography, cystomanometry, and cystography were performed. Additionally, laboratory investigations as well as 24-hour urine analysis were carried out.

The postoperative protocol involved bladder irrigations every second day with physiologic saline solution. A rigorous follow-up protocol was applied with regular visits in the first 3, 6, and 12 months, followed by visits performed yearly and later every 2 years. During these visits, sonography, cystomanometry, voiding cystourethrography, and laboratory and urine analysis were performed. The

antibiotic regime was then adapted according to antibiograms of urinary cultures.

Informed consent was obtained from the patients and/or parents or legal guardians before study inclusion. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

All of the study patients underwent routine cystoscopies with biopsies in 2-year intervals after bladder augmentation from the fourth postoperative year on. These were only performed after ruling out UTI by culture. Biopsies were taken under general anesthesia from the native UB and the IS used for augmentation under sterile conditions. From each patient, two samples were taken from the UB and two from the IS. Two samples (1 UB and 1 IS) were sent for routine histological examination. One sample from each region (1 UB and 1 IS) was immediately embedded in the operation theater using OCT compound (BioOptica, Milan, Italy), frozen, and stored at -80°C until further processing.

Total DNA isolation, 16S rRNA gene library preparation, and sequencing

The latest available samples (1 UB and 1 IS) were retrieved in sterile 1.5-mL Eppendorf tubes and spun in a centrifuge, and OCT was removed using a pipette. The biopsy was transferred to a MagNA Lyser Green Bead tube (Roche, Mannheim, Germany) and homogenized in 500 μL of bacterial lysis buffer from the MagNA Pure LC DNA Isolation Kit III (Bacteria, Fungi) (Roche, Mannheim, Germany) four times at 6500 rpm for 30 s. Samples were incubated with 25 μL of lysozyme (100 mg/mL) at 37°C for 30 min and 43.4 μL Proteinase K (20 mg/mL) overnight for enzymatic digestion. DNA purification was performed according to the manufacturer's instructions with the MagNA Pure DNA isolation kit III (Bacteria, Fungi) on a MagNA Pure LC 2.0 Instrument (Roche, Mannheim, Germany) with 100 μL elution volume according to the manufacturer's instructions. For negative controls, empty tubes were run with each isolation batch. Target-specific polymerase chain reaction (PCR) amplification with 5 μL total DNA and target-specific primers 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and 357R (5'-CTGCTGCCTYCCGTA-3') was performed with the FastStart High Fidelity PCR system (Sigma, Germany) for 33 amplification cycles according to the supplier's instructions in 25 μL triplicate reactions. After pooling the triplicates, normalization, indexing, and library preparation were performed as described by Klymiuk et al. [8]. The final library for NGS was quantified using the QuantiFluor ONE dsDNA dye on a Quantus Fluorometer (Promega, Mannheim, Germany), and quality was checked on an Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) using a high-sensitivity DNA chip. The final pool was diluted to 4 nm, and the library was run at 6 pM with 20% PhiX with v3 600 cycles chemistry on a MiSeq Desktop Sequencer (Illumina, Eindhoven, The Netherlands). FastQ files were used for data analysis.

Data analysis

A total of 9,649,860 raw reads were processed for data analysis. The compressed data were counted, and reads

Table 1 Metadata of the 12 patients included.

Patient ID	Method	Gender	Age at augmentation	Age at sampling	Antibiotics at sampling
110	CCP	m	7	19	S
124	CCP	m	7	19	Am
125	CCP	m	7	20	S
127	CCP	f	11	23	Ce
66	CCP	f	17	27	S
96	CCP	f	11	23	S
132	ICP	m	16	20	Ce
161	ICP	m	14	18	S
75	ICP	f	6	10	Ce
78	ICP	f	13	17	Am
80	ICP	f	11	15	Ce
82	ICP	m	10	14	M

CCP = colcystoplasty; ICP = ileocystoplasty; m = male; f = female; S = sumetrolim; Am = amoxicillin; Ce = cefuroxime; M = methenamine.

were joined using ea-utils, version 1.1.2 [9] with standard setting, followed by multiple split libraries from the Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME 2.0) software [10]. During this step, sequencing reads were filtered according to standard settings. Adapter sequences were removed from the reads, and the detected chimeras were eliminated from the data set by UCHIME method in QIIME [11]. Remaining reads were degapped, deuniqued, and split into single fasta files per sample for further analysis in QIIME 2.0 [10]. After adding QIIME labels, reads were clustered into operational taxonomic units (OTUs) with a sequence similarity of 97% using UCLUST clustering method [12] in the open reference workflow, and sequences were mapped to the Greengenes database [13]. OTUs with less than six sequence reads, unclassified reads, and chloroplast reads were removed. All OTUs found in the negative controls (isolation control and non-template PCR control) were also removed from analysis. Downstream statistical analysis (principal coordinate analysis [PCoA]) was performed in Calypso, version 8.18 [14]. All FastQ raw data may be accessed through the study accession number PRJEB24640 at the European Nucleotide Archive.

Results

Patient data

The patients median age at the time of surgery was 11 years (range, 6–17 years) and was not significantly different between the two methods used (median ICP, 12 years [range, 6–16 years] vs median CCP, 9 years [range, 7–17 years]; $P = 0.589$). The patients' details are shown in Table 1. None of the included patients had an acute bladder infection at the time of sampling. Antibiotics at sampling as listed in Table 1 were given according to the resistance pattern of the last UTI.

The median interval between augmentation and sampling was 7 years (range, 4–13 years) for all included patients. Patients after ICP (all samples 4 years after augmentation) had a significantly shorter period between

augmentation and sampling than patients after CCP (median, 12 years; range, 10–13 years) ($P = 0.002$).

Bacterial pattern examination on OTU and genus level

The 16S rRNA gene amplicon-based bacterial analysis resulted in a mean number of 101,824 reads per sample (range, 1,117–349,873; standard deviation, 89,681.623 reads). From the complete OTU list with 1,467 OTUs, 589 bacterial OTUs were used for further analysis after application of the filtering steps described in the Methods section. The subsequent genus level analysis revealed 263 microbial genera that were again cleaned from genera with less than six sequence reads, unassigned reads, and chloroplast hits and all genera that were also found in any of the negative controls ending up with 153 bacterial genera.

α -Diversity: the effect of augmentation, tissue, and gender on Shannon diversity index

The microbial richness of the samples (12 patients, 2 samples each) ranged from 6 to 215 OTUs and 3 to 62 genera per sample. To analyze potential differences between augmentation method (ICP vs CCP), tissue (IS vs UB), and gender of the samples' α -diversity, Shannon diversity index values were used. However, no statistically significant differences were found for the comparison of IS vs UB samples (neither in the ICP nor the CCP group) ($P = 0.164$). Furthermore, α -diversity was not significantly different in the comparisons of the pooled samples IS vs UB ($P = 0.112$), CCP vs ICP ($P = 0.204$), and male vs female ($P = 0.16$). It shall be noted that sample 78 IS with only 200 reads was removed from all α -diversity calculations.

β -Diversity: the effect of augmentation on the microbial pattern

Adonis comparison on Bray–Curtis dissimilarity indices revealed no significant influence of the UB and the IS grouping on the overall bacterial pattern on OTU ($P = 0.53$)

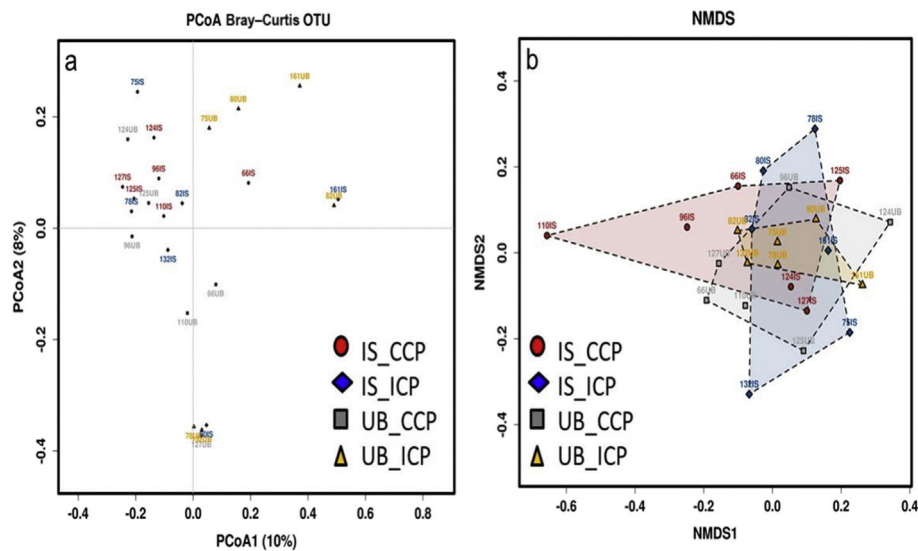


Fig. 1 On OTU level, the IS and UB sample groups overlap in principal coordinate analysis (PCoA) in both, ICP and CCP, classification ($P = 0.22$). Consistently, non-metric multidimensional scaling (NMDS) on OTU level did not result in statistically significant difference between the analyzed groups. CCP, colcystoplasty; ICP, ileocystoplasty; IS, intestinal segment; OTU, operational taxonomic unit; UB, urinary bladder.

and genus level ($P = 0.38$), respectively. Both the groups overlapped in PCoA and non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis (Fig. 1). Therefore, the overall microbiome was considered similar in biopsies taken from the UB and the IS.

The differences in β -diversity (Bray–Curtis and redundancy analysis) regarding the parameters gender, age of the patients at the time of augmentation, age at sampling, and tissue used are shown in Table 2. Most notably, age at sampling had a statistically significant influence on β -diversity at the genus level. Moreover, comparison of the IS vs the UB groups revealed no statistically significant differences (Table 2).

Genus and OTU pattern between the sample groups

To examine and visualize the most abundant genera for comparison between the IS and UB samples, bubble chart (Fig. 2) and bar chart (Supplementary Fig. S1) analyses were performed. In the UB group, the genera *Corynebacterium*, *Pseudoxanthomonas* (only dominant in 1 of 12

samples), *Flavobacterium*, and *Micrococcus* turned out to be the most abundant genera. In the IS group, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Nocardioidaceae*, and *Leucobacter* were the four most abundant taxa. Considering the reads detected over all samples regardless of the group, *Corynebacterium*, *Pseudoxanthomonas*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium*, and *Micrococcus* were the most dominating taxa again. The obvious differences of the microbial pattern between the IS and UB sample within single patients (e.g., patient 75, 80, 110, 124, and 161) (Fig. 2 and Supplementary Fig. S1), however, were not statistically significant.

Linear discriminant analysis effect size

Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis over all hierarchical levels was performed to find taxa with statistically significant differences between the UB and IS groups. The analysis revealed *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Thermus*, and *Leucobacter* being significantly different in their relative abundances between the UB and the IS sample groups considering only the 100 most abundant taxa of all samples analyzed ($P < 0.05$) (Supplementary Fig. S2). Nevertheless, as the total-sum scaling (TSS)—normalized abundance of *Staphylococcus*, *Thermus*, and *Leucobacter* was below one percent (Fig. 3A), these taxa were not considered biologically relevant for further analysis.

Corynebacterium

There was an obvious dominance of the genus *Corynebacterium* sp. in the samples taken from the UB and IS in both ICP and CCP patients. Nevertheless, analysis of the relative abundance of the genus *Corynebacterium* in IS vs UB and CCP vs ICP, as well as in the comparison of all four groups,

	Bray–Curtis		RDA	
	OTU	Genus	OTU	Genus
Gender	0.26	0.099	0.035	0.099
Age at augmentation	0.017	0.17	0.09	0.17
Age at sampling	0.13	0.037	0.221	0.037
IS_CCP/IS_ICP/UB_CCP/UB_ICP	0.22	0.21	0.046	0.21
UB vs IS	0.53	0.38	0.107	0.38

Statistically significant values are given in bold.

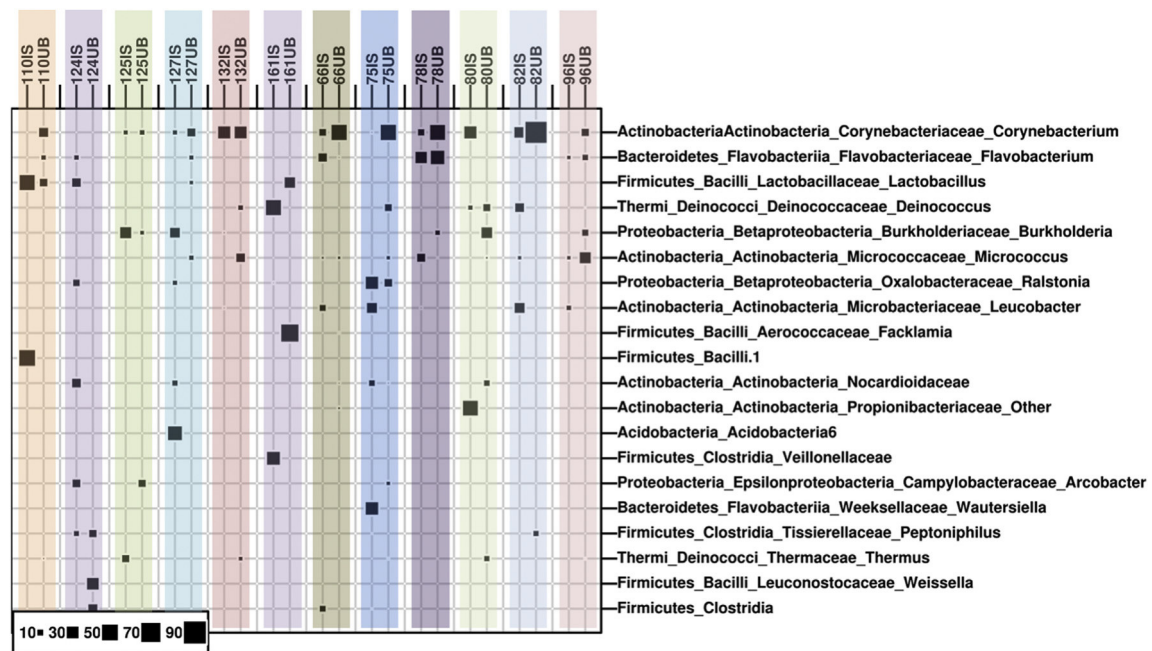


Fig. 2 Bubble plot for quantitative representation of the 50 most abundant taxa that differ between not only patients but also IS and UB samples within one patient. Each row represents an OTU, and each column, a patient. Squares indicate the TSS-normalized relative abundances. IS, intestinal segment; OTU, operational taxonomic unit; UB, urinary bladder.

did not result in statistically significant changes (Fig. 3B–D). The representative read of the *Corynebacterium* OTU was aligned against 16S rRNA databases (Green genes [13], silva [15], rdp [16]) but did not reveal species-level classification.

Discussion

In the present study, the microbiome of the UB of patients after bladder augmentation was examined with NGS-based 16S rRNA gene techniques for the first time. The most important finding was that the bacterial pattern did not statistically significantly differ between the native UB and the ISs introduced into the urinary tract.

The composition of the intestinal microbiome along the different sections of the intestinal tract differs considerably [17]. Environmental factors such as pH, dietary substrates, digestive enzymes, intestinal gases, bacterial fermentation, etc., have a direct impact on the luminal microbial diversity. Furthermore, the luminal microbiome differs from the mucosal microbiome even at the same site within the intestinal tract [17]. This difference may be largely influenced by the mucus itself, which is produced by goblet cells and serves as a rich source of energy for a subset of colonizing intestinal microbes [18]. Finally, the mucus layer serves as an important physical barrier limiting a direct contact between commensal intestinal microbes and the underlying epithelial cells [19]. In summary, each portion of the intestinal tract offers a unique microenvironment of luminal and mucosal factors for the distinct colonization with gastrointestinal microbes. This phenomenon is called the niche concept.

After bladder augmentation, the mucosal part of the ‘intestinal niche’ is introduced into the urinary tract [1]. Thus, the question arises whether or not the intestinal mucosa invites colonization of the native UB with gut microbes and be therefore responsible for the long-term complications after bladder augmentation. Additionally, it was unknown whether the local microbiome of the ISs remains different from the microbiome of the native urine bladder. In the present study, therefore, the local bacterial pattern from the original UB vs the introduced IS was intraindividually compared, and the finding that these two host similar bacterial microbiota despite the distinct differences of origin was described. It may consequently be speculated that the ‘niche concept’ mainly depends on microenvironmental factors such as liquid components, pH, or dietary substrates. It can be hypothesized that transferring the ISs from the environment of the gut to the urinary tract exposes the mucosa to a completely different environment and subsequently allows adaptation to an indigenous urinary microbial colonization, explaining the lack of differences between the microbiome of the ISs and the native UB found in the present study. One of the strengths of this study is the long-term observation period. A median time of 7 years between bladder augmentation and sampling seems long enough to observe any significant changes of the local microbiome. On the other hand, a momentary description of the local microbiome is presented. Future studies could concentrate on a longitudinal examination of the bladder microbiome and the introduced ISs, ideally also assessing the microbiome of the introduced ISs as well as the UB before introduction in the urinary tract.

Until now, data describing the mucosal microbiome of the urinary tract in patients who have undergone bladder

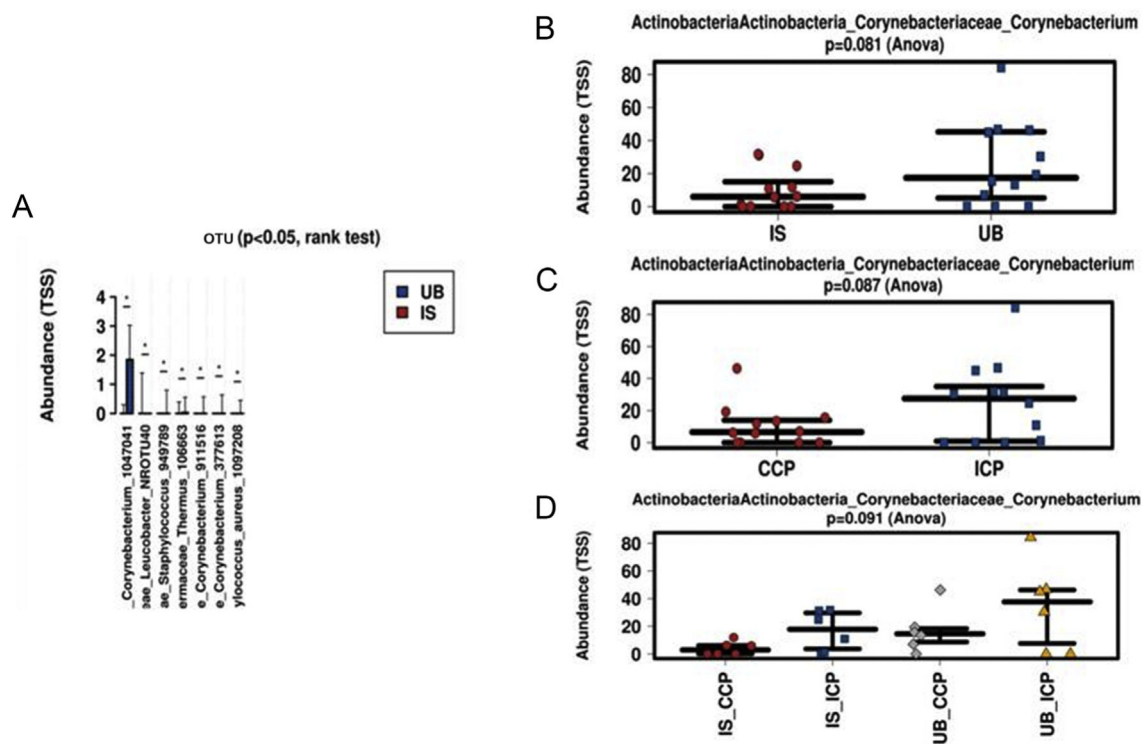


Fig. 3 (A) TSS-normalized relative abundance of taxa significantly altered during LEfSe analysis. Abundance calculation on OTU level by total-sum normalization revealed a statistically non-significant trend of increased *Corynebacterium* abundance (B) in the UB segment compared to the IS and (C) in ICP compared to CCP samples. (D) Additionally, UB_ICP samples showed an increased relative abundance of *Corynebacterium*. CCP, colcystoplasty; ICP, ileocystoplasty; IS, intestinal segment; OTU, operational taxonomic unit; UB, urinary bladder.

augmentation were not available. The literature regarding the specific species causing UTIs after bladder augmentation does not emphasize an overwhelming diversity of gastrointestinal bacteria based on culture-dependent approaches [20]. The NGS-based microbiome data derived from mucosal biopsies with low bacterial diversity seem in accordance with these clinical observations. Data in the literature about the differences of the male and the female urinary microbiome [21] confirm the study results identifying a trend toward difference on genus level between male and female patients (compare Table 2).

The striking presence of *Corynebacterium* in all samples without statistical significance comparing the UB and the IS group corresponds to already published reports on the presence of this bacterium in the human urinary tract [22–25]. Moreover, *Corynebacterium* has been shown to cause UTIs in patients with underlying urological diseases and stone formation [26,27]. Both are well-established complications of bladder augmentation [2]. Therefore, potential therapeutic approaches to decrease the abundance of *Corynebacterium* after bladder augmentation using, for instance, probiotics and their clinical benefits are subject for future studies.

Additionally, non-significant trends in the microbial differences between UB and IS need to be evaluated in a larger sample cohort. Accordingly, other genera found in the samples of this study correspond to published results on the human bladder microbiome [24]. A further question arising is whether or not the local microbiome plays any

role in histological and mucin alterations, particularly in premalignant or malignant transformation [28]. To answer this question, the authors are planning to correlate the microbial changes with the histological alterations in a larger prospective and multicenter study. Furthermore, characterization of especially the viral colonization pattern might be interesting in future projects because of the potential tumor formation in the augmented bladder.

Future studies will also have to address the influence of diet/nutrition on the bladder microbiome. Regarding the function of the urinary tract, colonization with various bacteria such as *Corynebacterium*, *Oligella*, *Staphylococcus*, and *Actinomyces* has been shown to be associated with urge urinary incontinence [6]. As there are presently no data regarding associations between the microbiome and the function of the urinary tract in patients after bladder augmentation, this issue will have to be addressed in future prospective studies.

One limitation of the present study is the small number of patients examined and its retrospective design. Additionally, it may be of interest to compare the microbiome between different regimes of antibiotic prophylaxis, but the number of patients included in this examination is too low to answer this question. Nevertheless, the study data provide the first deep insight into the bacterial microbiome of the UB of pediatric patients after bladder augmentation, a relatively uncommonly performed procedure, and make the first sequence data of patients after bladder augmentation available.

In conclusion, after bladder augmentation, the native UB and the augmented segments (both ICP and CCP) host similar bacterial microbiota despite their distinct differences of their originating mucosal anatomy.

Author statements

Ethical approval

This study was approved by the local ethics committee (5011-0/2010-1018EKU).

Competing interests

None declared.

Funding

None declared.

References

- [1] Kisku S, Sen S, Karl S, Mathai J, Thomas RJ, Barla R. Bladder calculi in the augmented bladder: a follow-up study of 160 children and adolescents. *J Pediatr Urol* 2015;11:66.e1–6.
- [2] van den Heijkant M, Haider N, Taylor C, Subramaniam R. Efficacy of bladder irrigation and surveillance program in prevention of urinary tract infections and bladder calculi in children with an ileocystoplasty and bladder neck repair. *Pediatr Surg Int* 2011;27:781–5.
- [3] Kispal Z, Balogh D, Erdei O, Kehl D, Juhasz Z, Vastyan AM, et al. Complications after bladder augmentation or substitution in children: a prospective study of 86 patients. *BJU Int* 2011;108:282–9.
- [4] Gottschick C, Deng ZL, Vital M, Masur C, Abels C, Pieper DH, et al. The urinary microbiota of men and women and its changes in women during bacterial vaginosis and antibiotic treatment. *Microbiome* 2017;5:99.
- [5] Brubaker L, Wolfe AJ. The new world of the urinary microbiota in women. *Am J Obstet Gynecol* 2015;213:644–9.
- [6] Gerber D, Forster CS, Hsieh M. The role of the genitourinary microbiome in pediatric urology: a review. *Curr Urol Rep* 2018;19:13.
- [7] Karstens L, Asquith M, Davin S, Stauffer P, Fair D, Gregory WT, et al. Does the urinary microbiome play a role in urgency urinary incontinence and its severity? *Front Cell Infect Microbiol* 2016;6:78.
- [8] Klymiuk I, Bambach I, Patra V, Trajanoski S, Wolf P. 16S based microbiome analysis from healthy subjects' skin swabs stored for different storage periods reveal phylum to genus level changes. *Front Microbiol* 2016;7:2012.
- [9] Aronesty E. Comparison of sequencing utility programs. *Open Bioinf J* 2013;7:1–8.
- [10] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods* 2010;7:335–6.
- [11] Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 2011;27:2194–200.
- [12] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 2010;26:2460–1.
- [13] DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N, Rojas M, Brodie EL, Keller K, et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol* 2006;72:5069–72.
- [14] Zakrzewski M, Proietti C, Ellis JJ, Hasan S, Brion MJ, Berger B, et al. Calypso: a user-friendly web-server for mining and visualizing microbiome-environment interactions. *Bioinformatics* 2017;33:782–3.
- [15] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 2013;41:D590–6.
- [16] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:5261–7.
- [17] Haange SB, Oberbach A, Schlichting N, Hugenholtz F, Smidt H, von Bergen M, et al. Metaproteome analysis and molecular genetics of rat intestinal microbiota reveals section and localization resolved species distribution and enzymatic functionalities. *J Proteome Res* 2012;11:5406–17.
- [18] Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc* 2003;62:67–72.
- [19] Vaishnava S, Yamamoto M, Severson KM, Ruhn KA, Yu X, Koren O, et al. The antibacterial lectin RegIIIgamma promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. *Science* 2011;334:255–8.
- [20] Wullt B, Holst E, Steven K, Carstensen J, Pedersen J, Gustafsson E, et al. Microbial flora in ileal and colonic neobladders. *Eur Urol* 2004;45:233–9.
- [21] Kogan MI, Naboka YL, Ibishev KS, Gudima IA, Naber KG. Human urine is not sterile — shift of paradigm. *Urol Int* 2015;94:445–52.
- [22] Curtiss N, Balachandran A, Krska L, Peppiatt-Wildman C, Wildman S, Duckett J. A case controlled study examining the bladder microbiome in women with overactive bladder (OAB) and healthy controls. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2017;214:31–5.
- [23] Greninger AL, Streithorst J, Chiu CY, Miller S. First complete genome sequence of *Corynebacterium riegliei*. *Genome Announc* 2017;5.
- [24] Thomas-White K, Brady M, Wolfe AJ, Mueller ER. The bladder is not sterile: history and current discoveries on the urinary microbiome. *Curr Bladd Dysfunct Repo* 2016;11:18–24.
- [25] Thomas-White KJ, Kliethermes S, Rickey L, Lukacz ES, Richter HE, Moalli P, et al. Evaluation of the urinary microbiota of women with uncomplicated stress urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol* 2017;216: 55 e1– e16.
- [26] Vedel G, Toussaint G, Riegel P, Fouilladieu JL, Billoet A, Poyart C. *Corynebacterium pseudogenitalium* urinary tract infection. *Emerg Infect Dis* 2006;12:355–6.
- [27] Soriano F, Tauch A. Microbiological and clinical features of *Corynebacterium urealyticum*: urinary tract stones and genomics as the Rosetta Stone. *Clin Microbiol Infect* 2008;14: 632–43.
- [28] Kispal ZF, Kardos D, Jilling T, Kereskai L, Isaacs M, Balogh DL, et al. Long-term histological and mucin alterations in the neobladder mucosa following urinary bladder augmentation or substitution with gastrointestinal segment. *J Pediatr Urol* 2015;11:349 e1–6.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2018.07.028>.