Actas Urológicas Españolas

www.elsevier.es/acuro

Artículo especial

Células madre y medicina regenerativa en urología, 1.^a parte: generalidades, riñón, teste e incontinencia

T. Pastor-Navarro*, L.M. Moratalla-Charcos, L. Bermell-Marco,
M. Beamud-Cortés, J.M. Osca-García y M. Gil-Salom

Servicio de Urología, Hospital Universitario Doctor Peset, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 17 de diciembre de 2009

Aceptado el 8 de marzo de 2010

On-line el 22 de abril de 2010

Palabras clave:

Células madre

Terapia celular

Medicina regenerativa

Ingeniería tisular

Urología

Riñón

Testículo

Incontinencia urinaria

R E S U M E N

Introducción: Los progresos alcanzados en los últimos años en el estudio de las células madre y la ingeniería tisular demuestran que probablemente se trate de unos de los campos de la investigación más prometedores para el futuro. Gran parte de las enfermedades urológicas podrían beneficiarse del desarrollo de disciplinas como la medicina regenerativa, pues en la actualidad ya se han conseguido resultados esperanzadores en esta materia.

Material y métodos: Realizamos una búsqueda electrónica mediante la base de datos Pubmed, tanto de artículos originales como de revisiones, utilizando los criterios de búsqueda «stem cells urology», «kidney stem cells», «testis stem cells», «urinary sphincter», «cell therapy urology», «tissue engineering urology» y «regenerative medicine urology».

Resultados: Hemos revisado un total de 33 trabajos publicados hasta enero de 2010, intentando resumir los hallazgos más relevantes de los últimos años y su aplicación clínica, así como el punto en el que nos encontramos hoy en día.

Conclusión: La terapia celular y la medicina regenerativa se están imponiendo como uno de los campos de investigación urológica más en auge en los últimos años. Sin embargo, queda aún mucho por investigar para que todos los rápidos avances de la investigación básica puedan ser trasladados a la clínica.

© 2009 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Stem cells and regenerative medicine in urology, part 1: General concepts, kidney, testis and urinary incontinence

A B S T R A C T

Keywords:

Stem cells

Cell therapy

Regenerative medicine

Tissue engineering

Urology

Introduction: Progress in stem cell study and tissue engineering reached during the last times proves that this may be one of the most promising research fields in the future. Most urological diseases could profit from the development of disciplines such as regenerative medicine as, up to now, there have been encouraging results in this subject.

Material and methods: We performed an electronic research through the Pubmed database, of both original and review publications, with the following search criteria: "stem cells

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: tpastorn@yahoo.es (T. Pastor-Navarro).

Kidney
Testis
Urinary incontinence

urology", "kidney stem cells", "testis stem cells", "urinary sphincter", "cell therapy urology", "tissue engineering urology" y "regenerative medicine urology".

Results: We reviewed 33 articles published up to January 2010, trying to summarize the most relevant findings within the last years, the clinical applications and the point we have come to this day.

Conclusion: Cell therapy and regenerative medicine are showing themselves to be one of the most promising fields within urological basic investigation in the last years. However, there is much work to be done yet, to make the advances reached in basic research be applicable to the clinic.

© 2009 AEU. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La medicina regenerativa y la terapia celular se basan en el conocimiento de las células madre y sus posibles usos con la finalidad de regenerar órganos o tejidos dañados, y así poder tratar de forma efectiva enfermedades para las que hasta la fecha no exista una terapia satisfactoria. En los últimos años, el conocimiento en este campo ha crecido de forma espectacular y muchos grupos han dedicado sus esfuerzos a abrir numerosas líneas de investigación, de tal forma que cada vez adquiere una importancia mayor en todas las especialidades. Si bien algunas doctrinas por diversas razones han tomado la delantera en este aspecto los urólogos han topado con una serie de dificultades que han entorpecido en cierta medida el progreso de la investigación, como por ejemplo que hasta la fecha no se han podido identificar y aislar las células madre uroteliales, renales ni prostáticas en el ser humano o la complejidad anatómica y fisiológica de órganos urológicos como el riñón o el testículo. No obstante, en los últimos meses estamos viendo grandes avances en la medicina regenerativa aplicada a la Urología, de tal manera que parece estar recuperándose ese retraso que se había adquirido. El estudio de las células madre es hoy en día uno de los puntos clave de investigación en nuestra disciplina, no sólo por lo que a la medicina regenerativa se refiere, sino además porque el mejor conocimiento de dichas células puede esclarecer muchas dudas acerca de los procesos celulares y moleculares de la carcinogénesis, que cada vez tienden a relacionarse más con las células progenitoras de los tejidos. El objetivo de esta revisión ha sido hacer un resumen de los conceptos generales de medicina regenerativa, terapia celular e ingeniería tisular, así como una recopilación lo más completa posible de los hallazgos más relevantes y los últimos trabajos publicados sobre riñón, testículo y esfínter uretral, para poder conocer un poco mejor los avances realizados en este campo, desde los inicios hasta nuestros días.

Material y métodos

Realizamos una búsqueda electrónica en la base de datos Pubmed, tanto de artículos originales como de revisiones, utilizando los criterios de búsqueda «stem cells urology», «kidney stem cells», «testis stem cells», «urinary sphincter», «cell therapy urology», «tissue engineering urology» y «regenerative medicine urology». Hemos hecho una revisión

de 33 trabajos publicados hasta enero de 2010 sobre conceptos generales en terapia celular y medicina regenerativa así como publicaciones centradas en el estudio del esfínter uretral, el riñón y el testículo. Excluimos los trabajos cuya metodología fuera incorrecta o que no trataran directamente sobre medicina regenerativa, terapia celular o ingeniería tisular en Urología.

Células madre: conceptos generales

Las células madre se definen por dos características fundamentales: la capacidad de multiplicarse de manera casi indefinida y la capacidad de generar líneas celulares maduras. A diferencia de las células maduras de un organismo adulto, las células madre poseen plasticidad, esto es, son capaces de generar células diferenciadas, en algunos casos incluso más allá de los límites del propio tejido en que se encuentran. La capacidad de una célula de diferenciarse en distintos tipos celulares se conoce como potencialidad. Las células madre totipotentes son las células del cigoto, que pueden dar lugar a tejidos tanto embrionarios como extraembrionarios (células germinales, placenta). Las células pluripotentes son las células descendientes de las anteriores, descritas inicialmente en el embrión de cuatro a seis días hasta la fase de blastocisto y que pueden originar las tres capas embrionarias, y, por lo tanto, derivados de éstas, todos los tejidos del organismo, incluido el gonadal. Las células madre multipotentes se han podido aislar de numerosos tejidos del organismo adulto. Hasta hace poco se creía que sólo pueden producir células de una estirpe cercana a la suya, si bien en los últimos años se han publicado numerosos estudios en los que se pone de manifiesto la posibilidad, por ejemplo, de transdiferenciación de células madre multipotentes mesenquimales de tejido adiposo, cordón umbilical o médula ósea en células con fenotipo mesodérmico¹, ectodérmico (neural)² y endodérmico, entre otros, células madre de islotes pancreáticos en células de fenotipo mesenquimal, células madre de médula ósea o folículo piloso en células uroteliales^{3,4}. Recientemente, un estudio de los investigadores Fanyi Zeng y col del Institute of Medical Genetics de la Shanghai Jiao Tong University publicado en Nature produjo 37 líneas celulares iPS (*induced pluripotent stem cells*) procedentes de fibroblastos de ratón (líneas MEF [*mouse embryonic fibroblasts*]) por el método de transformación con cuatro genes de Yamanaka. Mediante esta técnica con sus líneas de células de iPS los investigadores lograron producir 27 ratones vivos procedentes enteramente

de células iPS cuya primera generación tiene ahora más de 9 meses de edad. Refieren que han producido, también, más de 200 ratones iPS de segunda generación y 100 descendientes de tercera generación, que parecen normales y saludables⁵.

Células madre embrionarias y adultas

Clásicamente, existen dos fuentes para la obtención de células madre. Las células madre embrionarias se obtienen de la disgregación de un embrión en estado de mórula a blastocisto, generalmente (aunque, debido a los problemas éticos que esto genera, se han diseñado técnicas de obtención de células madre sin destruir los embriones, como la desarrollada recientemente en el Centro de Investigaciones Príncipe Felipe de Valencia con la línea celular humana VAL-10B, obtenida a partir de blastómera única manteniendo la viabilidad embrionaria⁶). Se trata, por lo tanto, de células totipotentes en la mayoría de los casos. Las células madre adultas son células indiferenciadas, multipotentes (aunque algunas se están empezando a evaluar como pluripotentes), aisladas de un tejido adulto, placenta o cordón umbilical. Existen también en el organismo adulto células pluripotentes, pero en un número muy inferior a las multipotentes. Por ejemplo, en la médula ósea una de cada 10.000 células tiene capacidad multipotente, mientras que sólo una de cada 1.000.000 es pluripotente.

Medicina regenerativa y terapia celular

La medicina regenerativa se basa en el conocimiento de las células madre y sus posibles usos, con la finalidad de reparar, regenerar o sustituir órganos o tejidos dañados, y así tratar enfermedades consideradas incurables hasta la fecha, utilizando la ingeniería tisular y el trasplante de células, tejidos u órganos. El primer ejemplo de terapia celular lo tenemos en el trasplante de progenitores de médula ósea para el tratamiento de enfermedades hematológicas, como aplasia medular o leucemia. Asimismo, se está estudiando el posible uso clínico de la terapia celular en muchas patologías, entre otras, la diabetes mellitus, en enfermedades neurológicas, como Parkinson, Alzheimer o esclerosis múltiple, en regeneración de tejido miocárdico tras infarto, en fístulas crónicas en enfermedad inflamatoria intestinal⁷, en incontinencia urinaria⁸, en tumores varios, etc. Hasta la fecha, la médula ósea y la grasa humana se han erigido como las fuentes más potentes de células madre adultas, siendo la última, con diferencia, la que proporciona un acceso más sencillo y menos agresivo para el paciente. En principio, la terapia celular se ha centrado en el trasplante de células autólogas para obviar los fenómenos de rechazo; sin embargo, sabemos que una purificación máxima de las células madre adultas nos lleva al mismo estado aun siendo heterólogas, como es el caso del trasplante de médula ósea.

Breve cronología

1963: se demuestra la presencia de células madre con capacidad autorregenerativa en la médula ósea de ratones.

1968: primer trasplante de médula ósea exitoso entre dos hermanos para el tratamiento de la inmunodeficiencia combinada severa.

1978: descubrimiento de la existencia de células madre hematopoyéticas en sangre de cordón umbilical humano.

1981: aislamiento de células madre embrionarias de ratón.

1984: primeros cultivos de células madre procedentes de teratocarcinomas.

1985: obtención de una piel bioartificial sobre una matriz bidimensional de colágeno.

1987-8: primeros cultivos exitosos de células madre adultas.

1992: cultivo in vitro de células madre neuronales como neuroesferas.

1997: primera evidencia directa de la existencia de células madre cancerígenas tras demostrarse que células madre hematopoyéticas pueden ser el origen de la leucemia.

1998: primera línea de células madre embrionarias humanas. Primeros cultivos con células germinales.

Década del 2000: múltiples publicaciones sobre plasticidad en células madre adultas y ensayos clínicos sobre terapia celular con este tipo de células.

Medicina regenerativa en Urología

Hasta la fecha, la Urología se encuentra algo retrasada con respecto a otras materias en cuanto a investigación sobre células madre. Por ejemplo, mientras que en otros órganos o tejidos desde hace años se conocen con exactitud las características y la localización de sus células madre⁹, e incluso se han logrado cultivar, expandir y hasta diferenciar¹⁰, en el riñón, la próstata y la vía urinaria aún no ha sido posible el aislamiento y la caracterización morfológica y bioquímica de estas¹¹⁻¹³. En el caso del urotelio puede ser debido a que es un epitelio mal conocido: se han encontrado muy pocos marcadores bioquímicos de diferenciación, no se conocen los mecanismos reguladores del crecimiento, etc. En el caso del testículo, la máxima dificultad viene a la hora de lograr diferenciar el tejido en células germinales funcionales capaces de entrar en meiosis y producir gametos, debido también en gran parte a la importancia que tiene el medio que las rodea a la hora de influir en dicha diferenciación. En cuanto al riñón, sabemos que posee una estructura muy compleja, con 26 tipos de células terminalmente diferenciadas, derivadas de 4 tipos celulares originados en el mesodermo intermedio durante el desarrollo embrionario y dispuestas en los compartimentos vascular, intersticial, glomerular y tubular¹⁴. Se ha demostrado recientemente la presencia de células progenitoras epiteliales renales que podrían dar una explicación a la regresión que ocurre con algunas lesiones renales¹³.

También hay que comentar que se han obtenido buenos resultados con células madre de origen embrionario, incluso llegando a conseguir su diferenciación, como, por ejemplo, el grupo de Oottamasathien, de Nashville, que logró obtener células de aspecto urotelial a partir de células madre embrionarias de ratón¹⁵, o el grupo de Kerkis, que pudo diferenciar células embrionarias de ratón a células espermáticas y ovocitos¹⁶. Sin embargo, debido a las

dificultades éticas que esto conlleva cuando se trata de aplicarlo a seres humanos, los científicos están centrando cada vez más sus esfuerzos en el estudio de las células madre adultas, lo cual está dando sus frutos de forma muy rápida. Así, un trabajo recientemente publicado por un grupo norteamericano demuestra que ha sido posible la transdiferenciación de células madre humanas aisladas de líquido amniótico (de estirpe mesenquimal) a células epiteliales de riñón embrionario, mediante inyección de éstas en embriones de ratón¹⁷, aprovechando de esta manera el carácter pluripotente de dichas células, cercano al de las células embrionarias y obviando las barreras éticas y legales que supone el uso de éstas últimas.

Tejido esfinteriano: células madre para el tratamiento de la incontinencia urinaria

El grupo de Gregory S. Jack realizó inyecciones de células madre de estirpe mesenquimal marcadas, aisladas a partir de tejido adiposo de mujeres a las que se practicó una liposucción, en uretra y pared vesical de ocho ratas atímicas y en pared vesical de seis ratones. Utilizando como control un grupo de ocho ratas a las que se inyectó solamente la solución salina utilizada para los cultivos se comprobó que las células iban dispersándose por el tejido y adquiriendo características tanto morfológicas como bioquímicas de músculo liso, sobreviviendo en el tejido más allá de 12 semanas¹⁸ (fig. 1).

El grupo de Strasser, de la Universidad de Innsbruck publicó en agosto de 2007 un trabajo en el que comparan la eficacia de la inyección intrauretral de células madre mesenquimales (fibroblastos y mioblastos) frente al colágeno. Así, con 12 meses de seguimiento tras inyección submucosa de fibroblastos y de mioblastos en esfínter estriado, todo ello guiado ecográficamente, obtienen resultados estadísticamente significativos en todos los parámetros analizados (calidad de vida, score de incontinencia, grosor del esfínter estriado, etc.) comparados con los obtenidos tras inyección intrauretral de colágeno guiada por cistoscopia¹⁹. Posteriormente a este estudio se han publicado varios trabajos con resultados similares²⁰.

Figura 1 – Células madre mesenquimales derivadas de lipoaspirado en cultivo.

Un grupo iraní presentó un trabajo con niños afectados de extrofia vesical y mala respuesta a cirugía de reconstrucción vesical a los que se practicó biopsia muscular con posterior inyección intrauretral de las células cultivadas, demostrándose al poco tiempo una gran mejoría en la incontinencia de los pacientes así como en su capacidad vesical²¹.

Tejido renal: estructuras capaces de excretar un fluido similar a orina

Extrayendo fibroblastos cutáneos de toro e inyectándolos mediante transferencia nuclear en el espacio perivitelino de ovocitos anucleados se crearon blastocistos que fueron implantados en huéspedes preparadas previamente para la implantación. En la semana 12 se obtuvieron las células renales y se cultivaron y expandieron in vitro. Se formaron unos moldes que consistían en 3 membranas cilíndricas de policarbonato revestidas de colágeno, cuyas partes finales estaban unidas a un catéter que desembocaba en un reservorio colector. Estos moldes se poblaron de las células obtenidas y se trasplantaron al espacio subcutáneo de los mismos animales. Al cabo de 12 semanas se extirparon los moldes y se realizó un estudio bioquímico del líquido que producían y un estudio histológico de los tejidos. El estudio bioquímico demostró que el tejido tenía capacidad de filtración, reabsorción y secreción. El análisis histológico mostró un tejido organizado y bien vascularizado con glomerulos y túbulos que se continuaban claramente con las membranas de policarbonato, con estudios inmunohistoquímicos y por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) positivos para proteínas y RNA específicos de células renales^{22,23}.

Tejido gonadal: tratamiento de la infertilidad

En 1994, un grupo de la Universidad de Pennsylvania dirigido por Ralph Brinster describe por primera vez un trasplante exitoso de células madre de teste de ratón. Tras aislar e inyectar dichas células en los túbulos seminíferos de ratones huésped (estirpe mutante que no presentaba espermatogénesis) demostraron la producción de espermatozoides maduros en los huéspedes²⁴.

Desde entonces se han producido grandes avances en este campo, y existen cada vez más grupos que están obteniendo resultados esperanzadores al respecto²⁵. A nivel experimental se ha trabajado principalmente con roedores. En 2002 Van Pelt consiguió líneas celulares a partir de espermatogonias de rata²⁶. En 2006 el grupo de Nayernia, de Göttingen, consiguió transdiferenciar células madre embrionarias de ratón a espermatogonias, produciendo a partir de estas gametos funcionales. Transferidos mediante inyección intracitoplasmática (ICSI) a oocitos consiguió embarazos a término produciendo ratones sanos²⁷. Numerosos grupos están tratando de perfeccionar estas técnicas inicialmente descritas para el cultivo de células madre germinales de roedor^{28,29}. Otros, como los de Lue o Yazawa, han podido aproximarse a la transdiferenciación de células madre de médula ósea en células germinales. Así, tomando como huéspedes ocho

ratones tratados con busulfán (quimioterápico que elimina la espermatogénesis e induce infertilidad) y otros ocho mutantes homocigotos para el receptor de c-kit (que no producen células germinales), se inyectaron células madre de médula ósea de ratones productores de una proteína fluorescente verde en el intersticio testicular y túbulos seminíferos de estos huéspedes. Al cabo de 10 a 12 semanas y mediante la localización al microscopio gracias a la proteína verde fluorescente, se comprobó que las células madre sobrevivían en los testículos de los ratones huésped, mostrando algunas de ellas, dentro de los túbulos seminíferos, aspecto similar a células de Sertoli (incluso expresaban el receptor de FSH). En el intersticio se encontraron también células vivas que expresaban P450scc (marcador de célula de Leydig). Sólo en los túbulos seminíferos de los ratones tratados con busulfán se hallaron células con aspecto similar a espermatogonias o espermatoцитos y que expresaban VASA (marcador de célula germinal), no siendo así en los ratones c-kit. En cualquier caso, la concentración de estas células en los testes de los ratones tratados con busulfán fue mucho mayor que en los otros ratones^{30,31} (fig. 2).

En el ser humano, Skutella aisló y caracterizó en 2008 líneas de células madre germinales obtenidas de biopsias de teste humano, encontrando en ellas características muy similares a las células madre embrionarias. Tras implantarlas en ratones inmunodeficientes observó la alta tasa de producción de teratomas, así como la capacidad que presentaban para diferenciarse en células pluripotentes derivadas de las tres capas embrionarias³². Esto podría suponer una considerable fuente de células madre que no conllevaría el dilema ético que supone el aislamiento de células embrionarias. Falta, sin embargo, hallar la manera de minimizar la tasa de producción de teratomas.

Figura 2 – Inyección de células madre de médula ósea en teste de ratón.

En nuestro país, el grupo de Carlos Simón de Valencia también está realizando grandes avances en la diferenciación de células madre humanas a células germinales³³.

Conclusión

La investigación clínica es una doctrina que no debe limitarse a hallar la manera de detener el progreso de ciertas enfermedades. También debe aspirar a poder reparar el daño sufrido por los órganos y los sistemas durante estos procesos, y a recuperar plenamente su función. Así, la terapia celular y la medicina regenerativa se están imponiendo como unos de los campos de investigación más en auge en los últimos años.

Realizar trasplantes renales a partir de riñones producidos mediante ingeniería tisular, evitando así el rechazo y la necesidad de tratamiento inmunosupresor, o hacer funcionales las espermatogonias obtenidas a partir de células madre de diferentes orígenes con el fin de tratar la infertilidad, son objetivos que, aunque hasta hoy parecen utópicos, pueden convertirse en una realidad a largo plazo. Sin embargo, existen aún importantes limitaciones técnicas a franquear, como, entre otras, el hallar matrices o medios de cultivo cada vez más adecuados para el desarrollo de células funcionales, como proponen por ejemplo los grupos de Brinster o Nayernia en el campo de la infertilidad.

Es por ello que, ante un campo tan prometedor como el de las células madre, creemos que los urólogos debemos aunar esfuerzos para poder obtener resultados lo más pronto posible.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Muraki K, Hirose M, Kotobuki N, Kato Y, Machida H, Takakura Y, et al. Technical report: Assessment of viability and osteogenic ability of human mesenchymal stem cells after being stored in suspension for clinical transplantation. *Tissue Eng.* 2006;12:1711-9.
2. Hou SY, Zhang HY, Quan DP, Liu XL, Zhu JK. Tissue-engineered peripheral nerve grafting by differentiated bone marrow stromal cells. *Neuroscience.* 2006;140:101-10.
3. Anumanthan G, Makari JH, Honea L, Thomas JC, Wills ML, Bhowmick NA, et al. Directed differentiation of bone marrow derived mesenchymal stem cells into bladder urothelium. *J Urol.* 2008;180:1778-83.
4. Drewa T, Joachimiak R, Kaznica A, Wisniewska-Skopinska J, Sionkowska A, Sir J, et al. Comparison of growth of the follicle and mesenchymal stem cells to urothelial cells and fibroblasts on collagen scaffold. *Polim Med.* 2008;38:33-42.
5. Zhao XY, Li W, Lv Z, Liu L, Tong M, Hai T, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature.* 2009;461:86-90.
6. Póo ME, Aguilar C, Gómez E, Sánchez E, Medrano JV, Riboldi M, et al. Optimizing the derivation of HESC lines from single blastomere in human feeders. *International Society for Stem Cell Research 7th Annual Meeting; 2009 Jul 8-11; Barcelona,*

- Spain. Poster # 743. Disponible en: http://www.isscr.org/meetings/2009_meeting.cfm.
7. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum*. 2005;48:1416-23.
8. Jack GS, Almeida FG, Zhang R, Alfonso ZC, Zuk PA, Rodríguez LV. Processed lipoaspirate cells for tissue engineering of the lower urinary tract: Implications for the treatment of stress urinary incontinence and bladder reconstruction. *J Urol*. 2005;174:2041-5.
9. Cervelló I, Martínez-Conejero JA, Horcajadas JA, Pellicer A, Simón C. Identification, characterization and co-localization of label-retaining cell population in mouse endometrium with typical undifferentiated markers. *Hum Reprod*. 2007;22:45-51.
10. Jackson L, Jones DR, Scotting P, Sottile V. Adult mesenchymal stem cells: Differentiation potential and therapeutic applications. *J Postgrad Med*. 2007;53:121-7.
11. Atata A. Advances in tissue and organ replacement. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2008;3:21-31.
12. Takao T, Tsujimura A. Prostate stem cells: The niche and cell markers. *Int J Urol*. 2008;15:289-94.
13. Romagnani P, Kalluri R. Possible mechanisms of kidney repair. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2009;2:3.
14. Prósper F, Gavira JJ, Herreros J, Rábago G, Luquin R, Moreno J, et al. Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre. *An Sist Sanit Navar*. 2006 Suppl 2:219-234.
15. Oottamasathien S, Wang Y, Williams K, Franco OE, Wills ML, Thomas JC, et al. Directed differentiation of embryonic stem cells into bladder tissue. *Dev Biol*. 2007;304:556-66.
16. Kerkis A, Fonseca SA, Serafim RC, Lavagnoli TM, Abdelmassih S, Abdelmassih R, et al. In vitro differentiation of male mouse embryonic stem cells into both presumptive sperm cells and oocytes. *Cloning Stem Cells*. 2007;9:535-48.
17. Perin L, Giuliani S, Jin D, Sedrakyan S, Carraro G, Habibian R, et al. Renal differentiation of amniotic fluid stem cells. *Cell Prolif*. 2007;40:936-48.
18. Jack GS, Almeida FG, Zhang R, Alfonso ZC, Zuk PA, Rodríguez LV. Processed lipoaspirate cells for tissue engineering of the lower urinary tract: Implications for the treatment of stress urinary incontinence and bladder reconstruction. *J Urol*. 2005;174:2041-5.
19. Strasser H, Marksteiner R, Magreiter E, Mitterberger M, Pinggera GM, Frauscher F, et al. Transurethral ultrasonography-guided injection of adult autologous stem cells versus transurethral endoscopic injection of collagen in treatment of urinary incontinence. *World J Urol*. 2007;25:385-92.
20. Yamamoto T, Gotoh M, Hattori R, Toriyama K, Kamei Y, Iwaguro H, et al. Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells for the treatment of stress urinary incontinence in patients undergoing radical prostatectomy: Report of two initial cases. *Int J Urol*. 2010 17(1):75-82.
21. Kajbafzadeh AM, Elmi A, Payabvash S, Salmasi AH, Saeedi P, Mohamadkhani A, et al. Transurethral autologous myoblast injection for treatment of urinary incontinence in children with classic bladder exstrophy. *J Urol*. 2008;180:1098-105.
22. Koh CJ, Atala A. Tissue engineering, stem cells, and cloning: Opportunities for regenerative medicine. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:1113-25.
23. Amiel GE, Yoo JJ, Atala A. Renal therapy using tissue-engineered constructs and gene delivery. *World J Urol*. 2000;18:71-9.
24. Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:11298-302.
25. Marques-Mari AI, Lacham-Kaplan O, Medrano JV, Pellicer A, Simón C. Differentiation of germ cells and gametes from stem cells. *Hum Reprod Update*. 2009;15:379-90.
26. Van Pelt AM, Roepers-Gajadien HL, Gademan IS, Creemers LB, De Rooij DG, Van Dissel-Emiliani FM. Establishment of cell lines with rat spermatogonial stem cell characteristics. *Endocrinology*. 2002;143:1845-50.
27. Nayernia K, Nolte J, Michelmann HW, Lee JH, Rathack K, Drusenheimer N, et al. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Dev Cell*. 2006;11:125-32.
28. Kubota H, Brinster RL. Culture of rodent spermatogonial stem cells, male germline stem cells of the postnatal animal. *Methods Cell Biol*. 2008;86:59-84.
29. Guan K, Wolf F, Becker A, Engel W, Nayernia K, Hasenfuss G. Isolation and cultivation of stem cells from adult mouse testes. *Nat Protoc*. 2009;4:143-54.
30. Lue Y, Erkkila K, Liu PY, Ma K, Wang C, Hikim AS, et al. Fate of bone marrow stem cells transplanted into the testis: Potential implication for men with testicular failure. *Am J Pathol*. 2007;170:899-908.
31. Yazawa T, Mizutani T, Yamada K, Kawata H, Sekiguchi T, Yoshino M, et al. Differentiation of adult stem cells derived from bone marrow stroma into Leydig or adrenocortical cells. *Endocrinology*. 2006;147:4104-11.
32. Conrad S, Renninger M, Hennenlotter J, Wiesner T, Just L, Bonin M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult human testis. *Nature*. 2008;456:344-9.
33. Marques-Mari AI, Lacham-Kaplan O, Medrano JV, Pellicer A, Simón C. Differentiation of germ cells and gametes from stem cells. *Hum Reprod Update*. 2009;15:379-90.