

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Бутнару Денис Викторович

**Место тканевой инженерии в хирургическом лечении
стриктур уретры у мужчин**

3.1.13. Урология и андрология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН
Глыбочко Петр Витальевич

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ: СТРИКТУРЫ УРЕТРЫ: МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ТРЕНД.....	12
1.1.Стриктуры уретры – эволюция хирургических методик	12
1.1.1. Определение стриктур мочеиспускательного канала и их эпидемиология в мире и России	12
1.1.2. Этиология стриктур уретры в зависимости от социоэкономического статуса	13
1.1.3. Методы лечения стриктур уретры	14
1.1.3.1. Эндоскопическое лечение	15
1.1.3.2. Анастомотическая уретропластика	17
1.1.3.3. Увеличивающая, заместительная и анастомотическая увеличивающая уретропластика	19
1.2. Междисциплинарный тренд в биомедицине и реконструктивной урогенитальной хирургии	25
1.2.1. Определение междисциплинарных исследований	25
1.2.2. Тканевая инженерия в реконструктивно-пластической хирургии как пример междисциплинарного подхода	27
1.2.3. Тканевая инженерия мочеиспускательного канала	29
ГЛАВА 2. ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ УРЕТРЫ.....	52
2.1. Материалы и методы.....	52
2.1.1. Выделение клеток буккального эпителия и ее характеристика.....	52
2.1.2. Формирование и характеристика сфероидов из клеток буккального эпителия	54
2.1.3. Децеллюляризация артерии.....	55
2.1.4. Формирование гибридной матрицы.....	55
2.1.5. Формирование конструкта для имплантации и его характеристика	57

2.1.6.	Установление биосовместимости и функциональности конструкта <i>in vivo</i>	58
2.1.7.	Клиническое испытание.....	59
2.2.	Анализ результатов	62
2.2.1.	Результаты экспериментальных исследований.....	62
2.2.1.1.	Характеристика монослойной и трехмерной культуры клеток буккального эпителия.....	62
2.2.1.2.	Характеризация матриц и формирование конструктов на их основе.....	72
2.2.2.	Результаты доклинических исследований.....	77
2.2.3.	Результаты клинических исследований.....	84
ГЛАВА 3. ПЛАСТИКА МОЧЕИСПУСКАТЕЛЬНОГО КАНАЛА МУЖЧИН: КЛАССИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ И НОВЫЕ ТРЕНДЫ.....		90
3.1.	Материалы и методы.....	90
3.1.1.	Клиническая характеристика пациентов с различными стриктурами уретры	90
3.1.2.	Классические и дополнительные методы обследования	94
3.1.3.	Типы оперативных вмешательств.....	103
3.1.3.1.	Анастомотическая уретропластика.....	103
3.1.3.2.	Анастомотическая уретропластика без пересечения спонгиозного тела.....	124
3.1.3.3.	Уретро-простатический анастомоз.....	130
3.1.3.4.	Промежностная уретростомия.....	140
3.1.3.5.	Вентральная буккальная уретропластика.....	164
3.1.3.6.	Дорсальная буккальная уретропластика.....	182
3.1.3.7.	Дорсальная буккальная уретропластика – единый промежностный доступ по Кулкарни-Барбали.....	196
3.1.3.8.	Восстановление уретры с помощью кожно-фасциального лоскута крайней плоти и слизистой оболочки ротовой полости.....	210
3.1.4.	Статистическая обработка материала.....	223

3.2. Анализ эффективности операций.....	224
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	242
ВЫВОДЫ.....	245
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	247
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	250
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	252

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Стриктуры уретры относятся к сложным урологическим проблемам и наиболее характерны для мужчин. Их распространенность трудно оценить в виду сложности сбора материала для проведения статистического анализа, однако Santucci с соавт. установили [180], что стриктуры мочеиспускательного канала встречались у 0,6% в 1,5 млн. случаях в период с 1992 по 2000 г. в США. В России в настоящее время отсутствуют подобные исследования, и весьма ориентировочно можно судить исходя из данных по заболеваниям мочеполовой системы. Например, согласно «Российскому статистическому ежегоднику» [20], в период с 2000 по 2017 гг. отмечается рост заболеваемости заболеваниями мочеполовой системы на 19% (с 37,6 случаев на 1000 человек до 44,8).

В развитых странах наибольшее распространение имеют ятрогенные стриктуры уретры [39; 76]. Расширенный анализ, проведенный Lazzeri с соавт. [127], показал, что в популяции из 2302 мужчин, проходивших лечение в крупном европейском клиническом центре с 1978 по 2014 гг., большинство пациентов (38%) страдали от идиопатической стриктуры мочеиспускательного канала, 14% – травматической, 11% – ятрогенной катетерной, 10% – эндоскопической, 17% – постгипоспадийной. Следует отметить, что этиология сужения уретры не влияла значительно на результаты дальнейшего лечения. Тем не менее, в связи с ростом использования эндоскопических методов диагностики и частоты проведения хирургических операций с трансуретральным доступом прогнозируется значительный прирост в частоте встречаемости стриктур мочеиспускательного канала, что требует разработки новых подходов к их лечению, особенно в тяжелых случаях (протяженность более 4 см, предшествующее хирургическое лечение и т.д.).

Степень научной разработанности темы

Одним из перспективных активно разрабатываемых подходов является применение решений, разработанных в рамках тканевой инженерии – конструкций, эквивалентов тканей и органов, которые позволяют восстановить морфологические и функциональные характеристики тканей в месте повреждения или патологических изменений. Ранее для этих целей в уретропластике использовались исключительно бесклеточные структуры или донорский или аутологичный материал в виде лоскутов и/или трансплантатов. Несмотря на успешные результаты в случае протяженных стриктур мочеиспускательного канала поиск альтернативных вариантов остается актуальным, так как разнообразие материалов и тканей (слизистая оболочка щеки, кожа крайней плоти и т.д.), которые можно использовать для восстановления зоны повреждения, не позволяет избежать полностью связанных с ними сложностей (ограниченная площадь участков забора материала, морбидность т.д.). Однако к настоящему времени выполнено ограниченное количество клинических исследований с применением тканеинженерных конструкторов с целью восстановления проходимости уретры, которые в основном включали небольшое количество пациентов. В связи с этим необходимо проведение дальнейших испытаний для установления особенностей применения различных конструкторов и выявления оптимальных показаний для проведения операции с их использованием.

Цель работы

Цель работы – улучшить результаты хирургического лечения пациентов со стриктурами уретры.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Установить возможность создания и применения персонализированных тканеинженерных решений;
2. Разработать алгоритм выбора оперативного метода для оптимизации результатов хирургического лечения пациентов со стриктурами уретры;

3. Проанализировать эффективность широкого спектра хирургических техник (анастомотических, увеличивающих, заместительных, комбинированных) при стриктурах уретры различной этиологии, протяжённости, локализации, а также в зависимости от анамнеза пациента;
4. Определить оптимальные оперативные пособия в зависимости от этиологии, локализации и протяжённости стриктуры уретры, предшествовавшего лечения и соматического статуса пациента;
5. Разработать принцип формирования эквивалента стенки уретры;
6. Определить биосовместимость и эффективность разработанных тканеинженерных конструктов на животных;
7. Клинически апробировать разработанные подходы к созданию эквивалента стенки уретры.

Научная новизна работы

Впервые разработаны эквиваленты стенки уретры на основе децеллюляризованной артерии/клеток буккального эпителия и гибридной матрицы/клеточных сфероидов, показана их биосовместимость и эффективность на модели стриктуры мочеиспускательного канала у кроликов. Впервые предложен подход к формированию многослойной эпителиальной выстилки с применением клеточных сфероидов. Впервые проведены две операции по заместительной уретропластике с использованием эквивалентов уретры на основе децеллюляризованной артерии/клеток буккального эпителия и гибридной матрицы/клеточных сфероидов. Впервые предложен алгоритм выбора метода оперативного лечения при стриктурах уретры, включающий 10 различных хирургических техник и учитывающий протяжённость и локализацию стриктуры, анамнестические данные пациента, предшествовавшее лечение.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработан дизайн биоэквивалента уретры, который имел многослойную эпителиальную выстилку благодаря применению клеточных сфероидов при заселении матриц и был успешно клинически апробирован. Сформированный

конструкт обладал биосовместимостью и потенциально может быть использован с целью восстановления других тканей, например мочевого пузыря или кишечника. Сформулированные практические рекомендации на основе полученного опыта применения у пациентов могут лечь в основу масштабируемой технологии формирования биоэквивалента уретры для применения в клинической практике.

Методология и методы исследования

Выделение клеток, получение материала и его характеристика, формирование тканеинженерных конструкций для уретропластики были выполнены на базе Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), операции на животных – Центрального вивария ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Выводы настоящей работы сформулированы на основании результатов анализа 3 выборок пациентов: 1019 пациентов со стриктурами уретры, прооперированные в Сеченовском Университете (Москва, Россия), 1242 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, прооперированные в Тосканском хирургическом центре (Ареццо, Италия), и 136 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, подвергшихся внутренней уретротомии в Центре реконструктивной уретральной хирургии (Ареццо, Италия).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Применение междисциплинарного подхода позволяет разрабатывать биомедицинские решения в реконструктивной пластике уретры, способные расширить арсенал хирурга и подобрать оптимальную стратегию лечения пациента при стриктуре уретры;
2. Дорсальная уретропластика может применяться при большей части стриктур пенильного и луковичного отделов уретры, а также при субтотальных и тотальных стриктурах с эффективностью 81% при сроке наблюдения 60 месяцев;

3. Предложенный алгоритм позволяет обосновано определить оптимальную хирургическую технику при стриктурах уретры различной этиологии, локализации, протяжённости, а также с учётом предшествовавшего лечения и соматического статуса пациента;
4. Материал на основе децеллюляризованной артерии и гибридная матрица показали низкую иммуногенность и относительно долгий период полный резорбции (до 90 дней) в модели подкожной имплантации у крыс;
5. Разработанные биоэквиваленты уретры на основе децеллюляризованной артерии и гибридной матрицы деградировали в течение оптимального периода времени, обеспечивающего формирование de novo уроэпителиальной выстилки мочеиспускательного канала;
6. Предложенная стратегия для хирургического лечения стриктур позволяет формировать биосовместимые пациентоспецифичные импланты, которые способны восстанавливать морфо-функциональные свойства стенки и диаметр просвета уретры.

Степень достоверности

Полученные результаты и научные положения диссертации основаны на обобщении опыта проведения хирургических операций по пластике мочеиспускательного канала, анализе и систематизации данных клинического материала и включают разработку инновационного способа лечения стриктур уретры с применением междисциплинарного подхода.

Апробация результатов

Основные положения работы доложены на заседании Московского общества урологов (Москва, 2013), пленарном заседании Российского общества урологов (Москва, 2013), Конгрессе Российского общества урологов (Санкт-Петербург, 2015; Уфа, 2016; Екатеринбург, 2017; Ростов-на-Дону, 2021), медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2015), Всероссийской конференции «Репродуктивное здоровье мужчин и женщин» (Москва, 2016),

заседании Американской урологической ассоциации (Сан-Диего, 2016), Сеченовском международном биомедицинском саммите (Москва, 2017), Biofabrication (Пекин, 2017), Международной конференции по тканевой инженерии и регенеративной медицине (Сингапур, 2017), Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2017), Научно-практическая конференция с международным участием и живой хирургией «Реконструктивная урогенитальная хирургия» (Москва, 2017), Международной конференции «Biomarker Research in Clinical Medicine» (Париж, 2018), Мировом конгрессе Международного общества по тканевой инженерии и регенеративной медицине (Киото, 2018), Конгрессе Общества урологов и нефрологов Республики Молдова (Кишинев, 2019), Мастер-класс с международным участием и живой хирургией «Высокие технологии в урологии и реконструктивная урогенитальная хирургия» (Москва, 2019). Выполнение работ по диссертационному исследованию было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения №075-15-2021-596.

Внедрение результатов в практику

Результаты работы внедрены в работу урологического отделения №1 Клиники урологии им. Р.М. Фронштейна УКБ№2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Фрагменты работы включены в лекционный материал для курсантов, ординаторов и аспирантов Института урологии и репродуктивного здоровья человека и Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Автор самостоятельно сформулировал цель и задачи исследования, разработал дизайн экспериментов, провел обследование большинства пациентов со стриктурой уретры, выполнил оперативные вмешательства у животных и большинства пациентов, выполнил статистический анализ полученных результатов и подготовил материалы диссертационного исследования для печати в виде статей.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.13. Урология и андрология.

Публикации

По результатам диссертационного исследования, автором опубликовано 41 научная работа, в том числе 31 работа в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации для опубликовании основных результатов на соискание учёной степени доктора медицинских наук, из них 28 работ в научных изданиях, индексируемых в международной базе данных SCOPUS, получено 2 патента РФ на изобретение.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 281 листах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 32 отечественных и 204 иностранных источников. Работа содержит 12 таблиц, 159 рисунков.

Глава 1. СТРИКТУРЫ УРЕТРЫ: МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ТРЕНД

1.1. Стриктуры уретры – эволюция хирургических методик

1.1.1. Определение стриктур мочеиспускательного канала и их эпидемиология в мире и России

В настоящее время не достигнут консенсус по вопросу использования единой универсальной эпидемиологической и анатомической номенклатуры стенозов, стриктур и травм мочеиспускательного канала. Совместными усилиями Société Internationale d'Urologie (SIU) и International Consultation on Urological Diseases (ICUD) Latini с соавторами [185] провели анализ литературных данных с 1980 по 2010 гг. и предложили использовать стандартизованную классификацию в контексте реконструктивной хирургии уретры. Так, понятие «передняя уретра» включает в себя такие анатомические структуры, как отверстие, ладьевидная ямка, пенильная и луковичная уретры; в свою очередь, луковичная уретра окружена бульбоспонгиозной мышцей губчатого тела и покрыта бульбокавернозной мышцей. В соответствии с разработанными рекомендациями под терминами «стриктура уретры (мочеиспускательного канала)» или «стриктурная болезнь» предлагается понимать «сужение просвета мочеиспускательного канала, окруженного спонгиозным телом, возникающее в результате фиброза и рубцевания слизистой оболочки и прилегающих тканей», то есть анатомически относящимися к переднему отделу уретры (головчатый, пенильный и луковичный отделы). Сужения заднего отдела мочеиспускательного канала (простатический и мембранозный отделы и шейка мочевого пузыря) было предложено обозначить термином «стенозы». В представленной работе использование терминов согласовано с указанными рекомендациями.

Стриктуры мочеиспускательного канала являются заболеванием, наиболее характерным для мужчин и относящимся к сложным урологическим проблемам. Установление их распространенности может иметь лишь приблизительный

характер. Так, было показано [180], что в США в период с 1992 по 2000 г. в 1,5 млн. случаев стриктура была выявлена у 0,6%. В последующей публикации [200] было выявлено, что встречаемость сужений мочеиспускательного канала с 1991 по 2001 гг. снизилась с 1,4% до 0,9%. Распространенность этого заболевания в России сложно оценить и в рамках статистического анализа может быть ориентировочно отражена в данных по заболеваниям мочеполовой системы. Например, согласно «Российскому статистическому ежегоднику» [20], в период с 2000 по 2017 гг. отмечается рост заболеваемости заболеваниями мочеполовой системы на 19% (с 37,6 случаев на 1000 человек до 44,8); при этом пиковое значение характерно для показателя 2010 г. – 47,6 случаев на 1000 человек. Однако стоит помнить, что эти данные включают такие гораздо более распространённые заболевания, как цистит, мочекаменная болезнь, простатит и др. Согласно результатам итальянской группы урологов [76], при ретроспективном исследовании данных 1439 пациентов было выявлено, что у большинства пациентов (92,2%) были выявлены сужения переднего отдела уретры, из них 30,5% – пенильного и 46,9% – луковичного.

1.1.2. Этиология стриктур уретры

в зависимости от социоэкономического статуса

Основными этиологическими факторами развития стриктурной болезни являются любые процессы, связанные с травматизацией слизистой оболочки и других тканей мочеиспускательного канала. Так, сужение мочеиспускательного канала может быть следствием трансуретральных вмешательств, травм, инфекций, передающихся половым путем, или склероатрофического лихена, а также иметь невыясненные причины [16; 29; 30; 53; 78; 178].

В развитых странах наибольшее распространение имеют ятрогенные стриктуры уретры [24; 39; 76], которые согласно [10], могут быть классифицированы следующим образом: эндоскопические, катетерные, постгипоспадийные, постлучевые и химические. По их распространенности

Palminteri и соавторы [76] выявили, что 16,3% являлись следствием катетеризации, 12,2% лечения гипоспадии и 9,1% трансуретрального хирургического лечения. Однако расширенный анализ, проведенный Lazzeri с соавторами [127], показал, что в популяции из 2302 мужчин, проходивших лечение в крупном европейском клиническом центре с 1978 по 2014 гг., выявил, что большинство пациентов (38%) страдали от идиопатической стриктуры мочеиспускательного канала, 14% – травматической, 11% – ятрогенной катетерной, 10% – эндоскопической, 17% – постгипоспадийной. Следует отметить, что этиология сужения уретры не влияла значительно на результаты дальнейшего лечения.

Травматизация промежности, особенно переломы костей таза, является основной причиной развития стеноза уретры у населения развивающихся стран и в большей степени приводит к возникновению сужений именно в заднем отделе мочеиспускательного канала. Так, проведенный географический анализ [39] позволил выявить, что основной причиной развития патологий уретры в Индии является травма (36%), предположительно связанная с высоким числом дорожно-транспортных происшествий из-за быстрого роста численности населения [113]. Это непосредственно связано с локальными особенностями, так как согласно данным [188] в Бразилии, как и в развитых странах, большинство стриктур (43,4%) являются последствием трансуретральных вмешательств.

1.1.3. Методы лечения стриктур уретры

Метод лечения стриктуры уретры определяется рядом факторов, а именно ее локализацией, протяженностью, коморбидными заболеваниями, ранее перенесенными хирургическими вмешательствами и опытом хирурга, и может быть одним из следующих: бужирование, оптическая уретротомия, стентирование, промежностная уретростомия, анастомотическая, увеличивающая, заместительная и анастомотическая увеличивающая уретропластика [15; 21; 25; 193]

1.1.3.1. Эндоскопическое лечение

Эндоскопическое лечение сужений мочеиспускательного канала является наиболее простым способом из-за минимального необходимого набора ресурсов для его проведения, низкой смертности, минимальной инвазивности по сравнению с реконструктивным, что нашло отражение в результатах опросов в Европе, показавших, что в большинстве случаев урологи проводили лечение стриктуры переднего отдела уретры с помощью бужирования (56–93%) и прямой внутренней оптической уретротомии (ВОУТ) (66–97%) [141–143]. Кроме того, большинство урологов (58–77%) не выполняют уретропластику на регулярной основе [141–143].

Бужирование уретры осуществляется путем последовательного проведения бужей с увеличивающимся диаметром вдоль мочеиспускательного канала, в результате которого рубцовое кольцо в месте сужения растягивается. Этот метод лечения показан пациентам, имеющим тяжелые коморбидные состояния или отказавшимся от оперативного вмешательства, и характеризуется высокой частотой рецидивов и вероятностью развития спонгиоза.

Оптическая уретротомия выполняется рассечением «холодным» ножом или лазером рубцовой ткани под эндоскопическим контролем. Заживление рассеченной стриктуры происходит благодаря эпителизации. Использование этого метода связано с высокой вероятностью повторного возникновения стриктур, требующих хирургического вмешательства; при дополнительном самостоятельном бужировании мочеиспускательного канала возможно увеличение длительности безрецидивного периода. Как правило, оптическая уретротомия сопровождается дренированием мочевого пузыря в течение первых 1 и 2 суток, и увеличение срока не способствует снижению вероятности рецидива. Этот метод может быть применен для лечения стриктур луковичного отдела мочеиспускательного канала до 2 см длиной, не возникших в результате травмы и не подвергавшихся ранее оперативному лечению [28].

Для длительного обеспечения проходимости мочеиспускательного канала важно, чтобы происходила ре-эпителизация поврежденного участка перед формированием контрактуры [214], что ведет к тому, что процент безрецидивного периода у пациентов после эндоскопического лечения составляет около 70% у определенной группы пациентов (первичная стриктура луковичного отдела, <1 см) [162] в сравнении с 90–95% после первичного анастомоза [136].

Согласно рекомендациям ICUD ВОУТ или бужирование показаны как терапия первой линии при коротких (<1–2 см) стриктурах луковичного отдела в зависимости от ресурсных возможностей [184]. Повторное эндоскопическое лечение может быть предложено при неосложненных стриктурах при рецидиве, случившемся не раньше, чем через 3 месяца после первичного вмешательства. Однако, следует отметить, что повторное проведение ВОУТ или бужирования (более 2 раз) нежелательно, так как вероятность рецидива значительно увеличивается при повторе эндоскопической процедуры [91]. Следовательно, такие минимально инвазивные процедуры, как прерывистая катетеризация и повторные ВОУТ или бужирование, могут быть использованы как паллиативное вмешательство только у пациентов, у которых отсутствуют в дальнейшем другие возможные варианты хирургических операций [184].

Различные модификации (в частности, с применением лазерного излучения) не приводят к значительному улучшению успешности исхода процедуры. Для снижения риска рецидива при эндоскопическом лечении было предложено последующее сопровождение с антифибротическими агентами. Однако в настоящее время оно имеет лишь экспериментальный характер, и необходимы результаты отдаленных испытаний [79]. Применение уретральных стентов (UroLume™ или Memokath™) не рекомендуется из-за высокого риска таких осложнений (до 55%), как его обструкция, миграция, рецидив стриктуры, а также необходимость эксплантации с последующей реконструкцией уретры [147; 230].

1.1.3.2. Анастомотическая уретропластика

Анастомотическая уретропластика заключается в иссечении суженного участка мочеиспускательного канала, спатуляции его концов и последующем их анастомозировании и является оптимальным методом лечения коротких стриктур уретры (Рисунок 1.1). Высокая эффективность такого хирургического вмешательства показана при невоспалительных стриктурах бульбарного отдела уретры (82–98%).

При анализе результатов анастомотической уретропластики Varbagli и др. [136] выявил, что в большинстве случаев (90,8%) операция проходила успешно. Кроме того, было показано [176], что при проведении различных уретропластик анастоматическая была выполнена в 1/3 случаев, при этом первичная – в 88% случаях, а повторная – 12%. При повторных операциях около половины пациентов подвергались вторичной анастомотической после различных типов первичной уретропластики, а другая половина – повторной анастомотической. Повторная анастомотическая уретропластика луковичного отдела мочеиспускательного канала имела высокие показатели успешности, сравнимые с первичной и вторичной при схожей средней протяженности стриктуры.

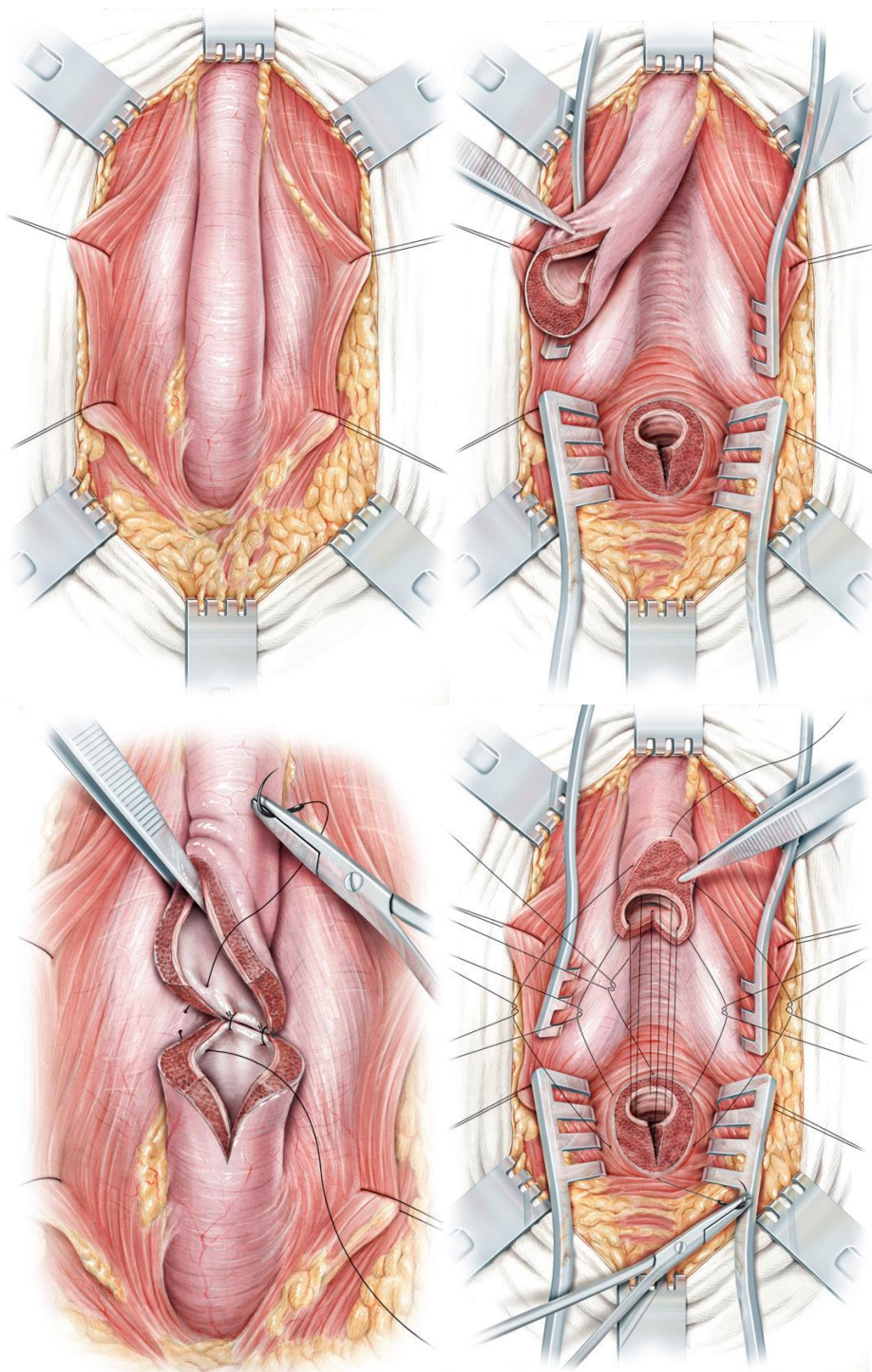


Рисунок 1.1 – Этапы выполнения анастомотической уретропластики [152]: в неосложненных случаях, когда объективно возможно соединить два конца луковичной уретры вместе без натяжения, может быть выполнен спатулированный анастомоз; при более проксимальном луковичном анастомозе легче наложить 8 швов, соединяющих 2 конца один к одному и натягивающих их наподобие парашюта с последующим последовательным завязыванием каждого из них

1.1.3.3. Увеличивающая, заместительная и анастомотическая увеличивающая уретропластика

Одним из наиболее развивающихся видов хирургических операций по восстановлению проходимости уретры являются увеличивающая, заместительная и анастоматическая увеличивающая уретропластики, показанные при протяженных сужениях мочеиспускательного канала (более 2 см – луковичного и более 1 см – пенильного отделов) и заключающиеся в рассечении пораженного участка и его частичной или полной замене или расширении дополнительным фрагментом ткани или материала (Рисунок 1.2). Основное различие между этими техниками заключается в том, что при увеличивающей уретропластике (augmented) увеличение просвета мочеиспускательного канала происходит за счет заплатки из лоскута или трансплантата, а при заместительной (substitution) – за счет формируемой из них трубки (тубулы), при анастоматической увеличивающей – за счет заплатки и анастомоза.

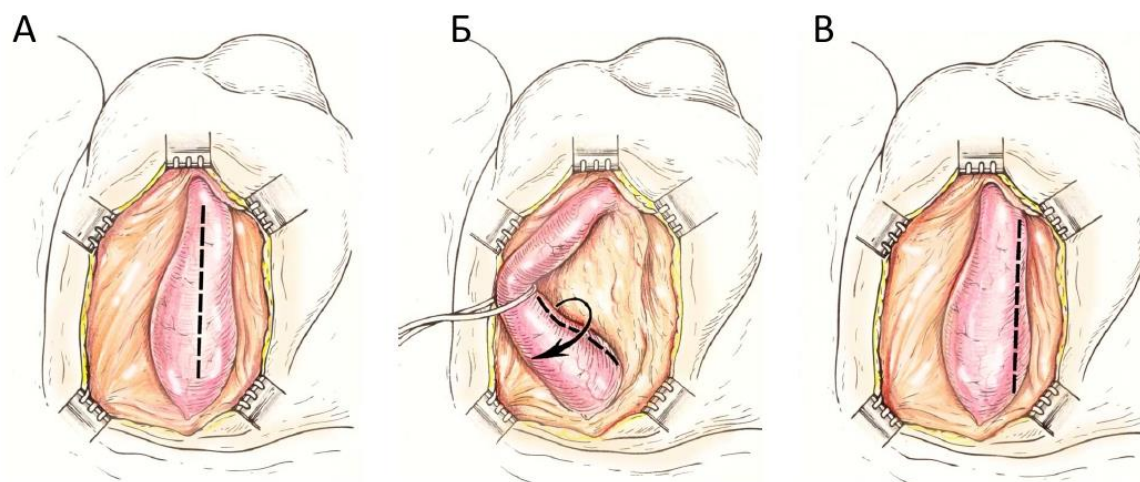


Рисунок 1.2 – Подходы к пластике мочеиспускательного канала:
А – вентральный; Б – дорсальный; В – латеральный [144]

В качестве материала для проведения операции могут быть использованы фрагменты слизистой оболочки ротовой полости, мочевого пузыря, кишечника, ретроаурикулярной кожи, крайней плоти, кожи мошонки и полового члена и т.д., у которых кровоток может быть сохранен (лоскут (flap)) или отсутствовать

(трансплантат (graft)). Так, эти виды уретропластик подразумевают забор донорского материала, который затем вшивается в рассеченный участок уретры и должен превышать длину стриктуры уретры (на около 1–2 см), что необходимо для анастомозирования со здоровыми тканями для предотвращения рецидива. В среднем размеры используемых фрагментов ткани составляют не менее 4 см (2 см – длина стриктуры и по 1 см в проксимальном и дистальном направлении); соответственно, при более протяженных сужениях мочеиспускательного канала их размеры должны быть больше, что повышает вероятность осложнений в донорской зоне и ведет к дефициту тканей. Для успешного проведения операции они, как правило, должны иметь толстый слой слизистой оболочки и тонкий слой подслизистой, не абсорбировать воду, не иметь волосяного покрова и располагаться в легком доступе.

Буккальная уретропластика является одним из приоритетных видов уретропластики. Впервые использование слизистой оболочки щеки для восстановления просвета мочеиспускательного канала было предложено в 1884 году профессором Сапежко Кириллом Михайловичем [197]. Широкое распространение именно этого вида операции обусловлено, в первую очередь, особенностями ткани, а именно буккальная слизистая оболочка представляет собой постоянно контактирующую с влажной средой сквамозную аваскулярную эпителиальную ткань, которая не имеет волосяных фолликул, выносива к механическому (компрессия, растяжение, сдвигание) и термическому воздействию, достаточно резистентна к инфекции и способствует формированию кровеносных сосудов *de novo* [163]. При буккальной уретропластике суженный участок мочеиспускательного канала мобилизуется и частично или полностью заменяется фрагментом слизистой оболочки щеки.

В настоящее время разработано несколько основных техник проведения уретропластики, которые будут рассмотрены далее. Однако до сих не существует достаточного количества данных о преимуществах той или иной техники, и, соответственно, «золотой стандарт» не определен [63; 216].

В 1996 году Varbagli с соавторами [94] впервые предложил одноэтапную методику увеличения просвета мочеиспускательного канала при дорсальном рассечении ткани, а в 1998 году [56] показал ее эффективность с использованием фрагмента слизистой оболочки щеки при хирургическом лечении стриктуры луковичного отдела (Рисунок 1.3). Согласно разработанной методике, уретра полностью мобилизуется со стороны пещеристых тел и поворачивается на 180 градусов, а зона сужения рассекается вдоль дорсальной поверхности. Фрагмент кожи или слизистой оболочки фиксируется к белочной оболочке с помощью узловых швов. Левый край слизистой оболочки рассеченной уретры пришивается к левой стороне фрагмента. Затем мочеиспускательный канал поворачивают в исходную позицию, а правый край фиксируют к правой стороне трансплантата. После завершения зона имплантации полностью закрывается уретральной пластинкой.

В 2006 году Varbagli с соавторами [66] представил модификацию этой операции с использованием фибринового клея. Уретра также мобилизуется со стороны пещеристых тел и рассекается по дорсальной стороне, но фрагмент буккальной слизистой оболочки накладывается на пещеристые тела с использованием 2 мл фибринового клея и фиксируется двумя узловыми швами с подлежащей белочной оболочкой. Уретра возвращается в исходное положение, и дополнительно вводится фибриновый клей на всем ее протяжении.

В 2001 году Asora с соавторами [95] описал методику проведения операции без мобилизации мочеиспускательного канала, что снижает вероятность повреждения артерий, обеспечивающих кровоснабжение тканей (Рисунок 1.3). Согласно приведенному описанию, уретра рассекается по вентральной, затем по дорсальной поверхности; через дорсальный разрез выделяется площадка над белочной оболочкой кавернозных тел, и фиксируется фрагмент буккальной слизистой оболочки или пенильной кожи за счет анастомозирования с краями разреза; ушивание происходит по вентральной поверхности. Использование этой методики позволяет выполнять хирургические операции при стриктурах всего переднего отдела уретры, включая и пенильный, и бульбарный отделы.

Затем в 2009 году Kulkarni с соавторами [157] предложил методику односторонней уретропластики, когда после мобилизации мочеиспускательного канала рассекаются ткани только с одной – латеральной – стороны с последующим замещением дефекта трансплантатом, что позволяет сохранить латеральное кровоснабжение по противоположной стороне (Рисунок 1.3).

Позже, в 2011 году, Palminteri и соавторы [220] представили новую двухэтапную технику уретропластики, способную обеспечить адекватное увеличение просвета мочеиспускательного канала с сохранением уретральной пластины и предотвращением развития постоперационных эректильных осложнений (Рисунок 1.3). Согласно описанию, уретра открывается с вентральной стороны, надрезается в середине с дорсальной для формирования доступа над белочной оболочкой, куда фиксируется фрагмент донорской ткани, а затем происходит фиксирование с вентральной стороны. Успешность проведенных операций была определена как нормальное протекание процесса мочеиспускания, а отсутствие сексуальной дисфункции – при проведении валидированного анкетирования.

Особого внимания заслуживают техники, описанные [64; 103] для терапии сложных случаев стриктур передней уретры (Рисунок 1.4, 1.5). Для выполнения такого типа увеличивающей уретропластики используется дистальный периферический кожно-фасциальный лоскут любой длины (оптимально не более 5 см), который отличается относительно легкой доступностью, хорошей васкуляризацией и эластичностью. Несмотря на то, что лоскут может быть тубулирован для замещения дефекта на всем протяжении уретры, предпочтение отдается именно вентральной увеличивающей уретропластике при сохранении части уретральной пластины. Такое восстановление отличается большей успешностью и сниженным риском возникновения рецидива (13 vs. 58%) [145].

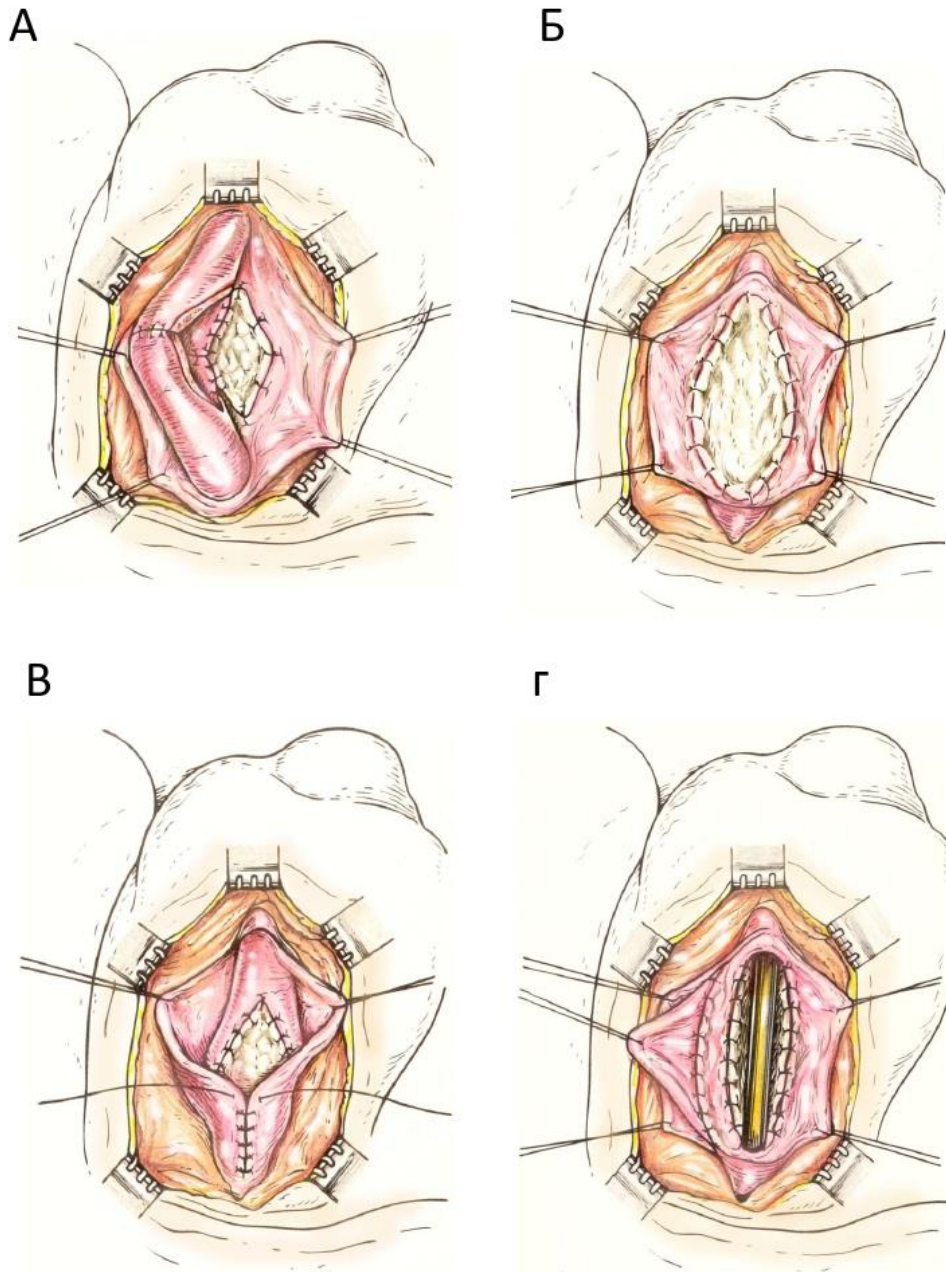


Рисунок 1.3 – Увеличивающая уретропластика:
 А – дорсальная увеличивающая анастоматическая уретропластика;
 Б – техника Asopa;
 В – вентральная увеличивающая уретропластика (пещеристые тела
 частично закрыты); Г – техника Palminteri [144]

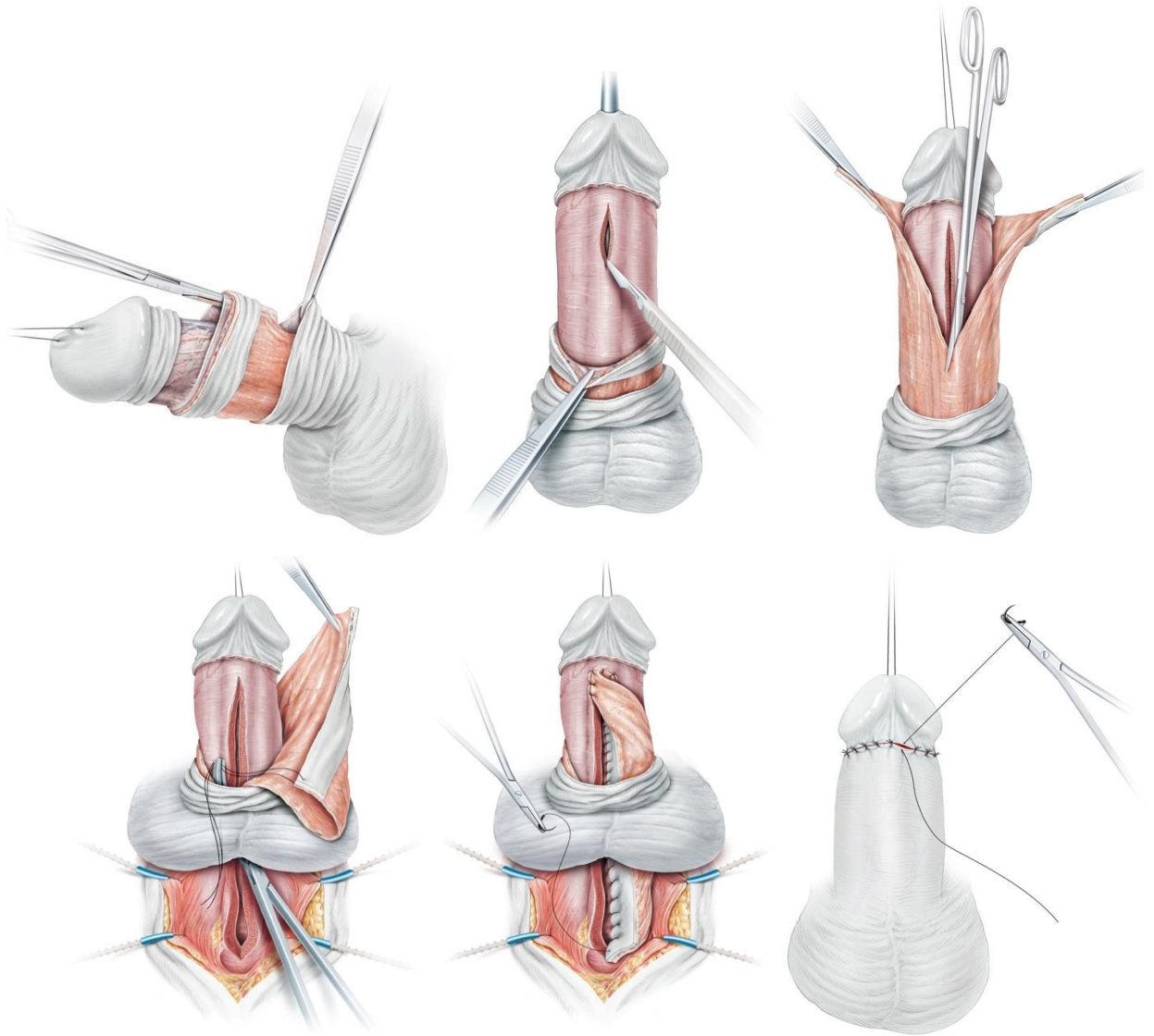


Рисунок 1.4 – Этапы выполнения увеличивающей уретропластики согласно технике, описанной [64]

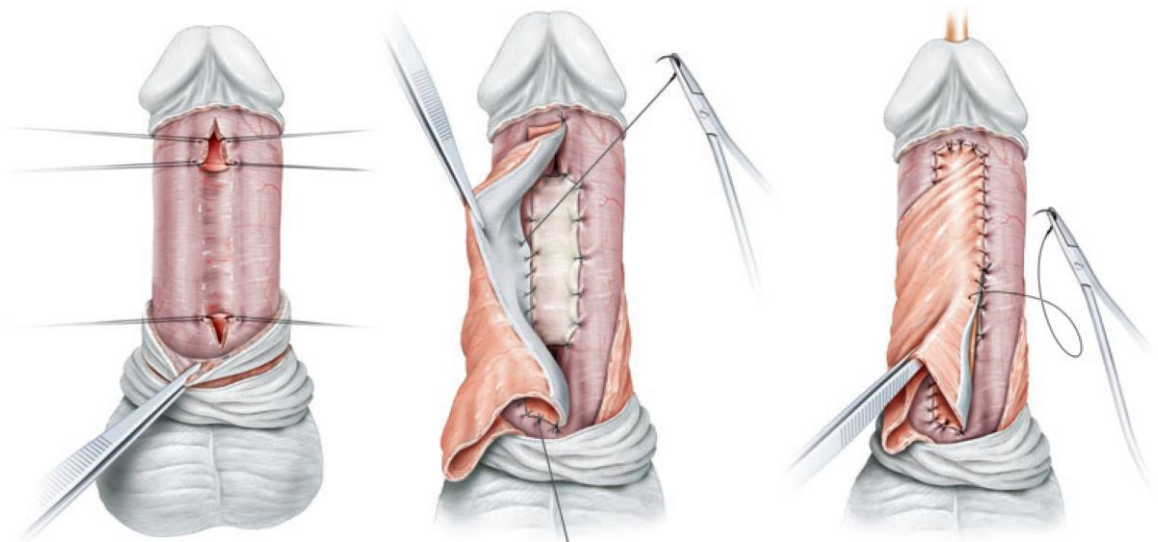


Рисунок 1.5 – Этапы выполнения увеличивающей уретропластики согласно технике, описанной [103]

1.2. Междисциплинарный тренд в биомедицине и реконструктивной урогенитальной хирургии

1.2.1. Определение междисциплинарных исследований

Рубеж XX и XXI веков характеризуется сильными изменениями в области научного познания, характеризующимися не просто расширением фактических данных о мире и живых системах, а, самое главное, переосмыслением пути развития науки и взаимодействия между отдельными ее областями. На смену дисциплинарной организации науки и интенсификации узкой специализации происходит активное формирование междисциплинарного понимания целостности знания. Несмотря на то, что существуют различные определения понятия «междисциплинарности», можно выделить два главных подхода. Первый подход является наиболее распространенным и подразумевает под междисциплинарностью взаимодействие нескольких научных дисциплин, характеризующихся предметностью, наличием собственного понятийного аппарата и методическими и методологическими особенностями. Второй подход понимает под междисциплинарностью возникновение новых направлений, которые не укладываются в рамки существующих дисциплин, то есть объекты, изучения которых являются новыми, ранее неизвестными. В частности, в 2018 году вышла публикация Atala и Johnson, заявляющая о начале становления новой медицинской дисциплины «регенология» на стыке регенеративной медицины, терапии и хирургии без привязанности к конкретным органам человека и их системам [129]. В дальнейшем нами будет использован именно первый подход к определению значения понятия «междисциплинарность».

Отличительной особенностью междисциплинарных исследований является возможность всестороннего изучения объекта для решения конкретных научных проблем. Так, объединение результатов и их совместная интерпретация специалистами из разных областей позволяет разрабатывать новые нетривиальные концепции, способные значительно расширить и углубить

научное знание и выйти за рамки норм и традиций какой-то определенной дисциплины. Применение междисциплинарного подхода особенно необходимо в исследовании сложных объектов, характеризующихся масштабностью, чрезмерной для одной научной дисциплины. Кроме того, одним из важных преимуществ междисциплинарности является формирование интегративной методологической основы проведения исследования. Так, инструментарий разных дисциплин объединяется, что позволяет получить новое знание об объекте. Следует отметить, что такие исследования характеризуются именно ориентированностью на решение определенной масштабной научной проблемы, требующей участия специалистов разных научных дисциплин, но при этом не происходит слияния областей, только взаимное обогащение.

Тем не менее, применение междисциплинарного подхода связано с двумя основными трудностями: коммуникативной и экспертной. Каждая научная дисциплина имеет собственный понятийный аппарат, сложившийся в течение длительного времени и характеризующийся однозначностью используемых терминов. Однако при проведении междисциплинарных работ исследователи сталкиваются с проблемой не столько банального незнания понятий другой дисциплины, сколько многозначности терминов, в худшем варианте их омонимичности, что требует установление единой терминологии на начальных этапах. Решение этой трудности требует значительных усилий со стороны научного коллектива для согласования единого понятийного аппарата. Но на практике эта необходимость либо игнорируется вовсе, либо ей уделяется незначительное внимание, что в результате приводит к невозможности интерпретации результатов и точности разрабатываемых концепций. Кроме того, проведение внешней и внутренней экспертизы междисциплинарных исследований более затруднительно, чем монодисциплинарных, так как она часто осуществляется специалистами из конкретных областей, которые могут не владеть понятийным аппаратом и методологическим инструментарием, что приводит к непониманию и неверному толкованию.

1.2.2. Тканевая инженерия в реконструктивно-пластической хирургии как пример междисциплинарного подхода

Междисциплинарный подход может быть реализован для достижения результатов по многим направлениям научного знания, в том числе с целью разработки новых способов терапии различных заболеваний. Так, частным примером его реализации может быть применение тканевой инженерии в реконструктивной хирургии.

Впервые термин «тканевая инженерия» был введен на первом заседании Национального научного фонда США (NSF) в 1988, и его определение звучало следующим образом: «application of the principles and methods of engineering and life sciences toward fundamental understanding of structure-function relationship in normal and pathological mammalian tissues and the development of biological substitutes for the repair or regeneration of tissue or organ function (применение подходов и методов инженерии и наук о жизни для фундаментального понимания структурно-функционального взаимодействия в здоровых и патологически измененных тканях млекопитающих и разработки биологических заменителей для восстановления функциональности тканей или органов или их регенерации)» [186]. Позже, в 1993, определение было уточнено как «an interdisciplinary field that applies the principles of engineering and life sciences toward the development of biological substitutes that restore, maintain or improve tissue or organ function (междисциплинарное направление, использующее подходы инженерии и наук о жизни для разработки биологических заменителей для восстановления, поддержания и улучшения функций тканей или органов)» [132].

Парадигма тканевой инженерии строится вокруг трех базовых элементов: клетки, материалы (биоматериалы) и биологически активные молекулы –, которые с применением различных инженерных методов (трехмерная печать, лазерные аддитивные, текстильные, сверхкритические флюидные технологии и др.) структурируются для достижения морфофункциональных характеристик определенной ткани или органа [14]. Именно клеточная составляющая является

ключевым параметром, определяющим отличие тканевой инженерии от понятия «направленная регенерация ткани», подразумевающим формирование скаффолда (каркасной структуры) с определенным дизайном для стимулирования регенерации в месте имплантации за счет клеток хозяина [27; 192]. В качестве клеток могут быть использованы мультипотентные стромальные, прогениторные или дифференцированные клетки как аллогенного, так и аутологичного происхождения.

Непосредственное применение разработанных в рамках тканевой инженерии решений – конструкций, эквивалентов тканей и органов – позволяет достигнуть основных задач реконструктивной хирургии, а именно восстановление морфологических и функциональных характеристик в месте повреждения или патологических изменений [8]. Ранее эти задачи реконструктивно-пластической хирургии, в частности уретропластики, выполнялись исключительно за счет использования бесклеточных структур или донорского или аутологичного материала в форме лоскутов. Но несмотря на успешные результаты, описанные выше, в случае протяженных стриктур уретры поиск альтернативных вариантов чрезвычайно актуален, так разнообразие материалов и тканей, которые потенциально можно использовать для восстановления поврежденной зоны (слизистая оболочка щеки и мочевого пузыря, кожа крайней плоти, полового члена, позадишная кожа и т.д. [163; 165]), не способно полностью избежать связанных с ними ограничений. Так, тканевая инженерия предоставляет высокотехнологичный продукт – биоэквивалент –, полученный с использованием инженерных и биологических методов и подходов, который предназначен для восстановления функциональности ткани или органа при его имплантации с помощью реконструктивных хирургических методик. Таким образом, разработка новых эффективных решений в реконструктивно-пластической хирургии выходит за рамки монодисциплинарного подхода и неразрывно связана с развитием тканевой инженерии и междисциплинарных компетенций у врача-хирурга [5].

1.2.3. Тканевая инженерия мочеиспускательного канала

Тканевая инженерия уретры подразумевает формирование конструкта, который имеет морфологическое сходство с тканью мочеиспускательного канала и при его имплантации способен выполнять ее основные функциональные характеристики [19; 112]. Такой конструкт может иметь как простую, так и сложную структуру и представлять собой трубу или лоскут, а для его формирования могут быть использованы различные методы и подходы из разнообразных типов клеток и материалов (Таблица 1.1) [3].

Таблица 1.1 – Разнообразие биоэквивалентов уретры

Клеточный компонент	Биоматериал	Дополнительные факторы	Форма	Способ формирования	Ссылка
Кератиноциты и миоциты языка	Фиброин шелка, покрытый бактериальной целлюлозой	–	Тубула	Фиброин был лиофильно высушен и сокультивировался с <i>Glucanacetobacter xylinus</i> для покрытия тонким слоем бактериальной целлюлозы	[41]
Гладкомышечные клетки мочевого пузыря	Полиуретан-мочевина, покрытые коллагеном	–	Тубула	С помощью электроспиннинга формировалась пленка, которая затем погружалась в раствор коллагена	[191]
Гладкомышечные клетки мочевого пузыря	Полиуретан	–	Тубула	Электроспиннинг	[84]
Уротелиальные клетки, гладкомышечные клетки	Полилактид, желатин	–	Тубула	Электроспиннинг	[209]
Стромальные клетки жировой ткани, уротелиальные клетки	Желатин, альгинат	–	Лоскут	Трехмерная биопечать	[99]

Продолжение Таблицы 1.1

Эпителиальные клетки слизистой оболочки щеки, стромальные клетки жировой ткани, фибробласты	–	Наночастицы суперпарамагнитного оксида железа	Тубула	Технология клеточных пластов	[106]
Мезенхимные стволовые клетки костного мозга, эпителиальные прогениторные клетки	Амниотическая мембрана	–	Трасплантат	Рецеллюляризация	[69]
Фибробласты	Полилактид-ко-капролактон	ICG-001	Трасплантат	Коаксиальный электроспиннинг	[98]
Стромальные клетки жировой ткани	Полилактид, полилактид-ко-капролактон, полилактид-ко-гликолид	–	Трасплантат	Термически индуцированная фазовая сепарация, лиофилизация	[122]
Уротелиальные клетки, гладкомышечные клетки, секретирующие LL37	Бесклеточный матрикс мочевого пузыря	–	Тубула	Рецеллюляризация	[40]

Клеточный компонент

В качестве клеточного компонента тканеинженерного конструкта уретры отдается предпочтение аутологичным клеткам, включая такие типы, как уротелиальные, гладкомышечные, эпителиальные прогениторные, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки.

Прогениторные клетки (клетки-предшественники) локализуются во многих органах и тканях и отвечают за поддержание гомеостаза в ткани и ее восстановление при повреждении или старении [57]. Они имеют ограниченную способность к самообновлению и, как правило, олиго- или унипотентны, то есть могут дифференцироваться в один или всего несколько типов клеток. Так как мочеиспускательный канал на всем протяжении выстлан эпителием (уротелием в простатическом отделе и многослойным или псевдомногослойным эпителием в мембранозном и пенильном отделах), широкое внимание с точки зрения формирования эквивалента уретры получили эпителиальные прогениторные клетки из различных источников.

Одни из них – уротелиальные клетки, которые используются как в реконструкции мочевого пузыря, так и уретры. Первоначально, эти клетки выделяли при биопсии из стенки мочевого пузыря, а затем культивировали и заселяли одиночно или совместно с другими типами клеток для улучшения приживания имплантата и его закрепления [72; 107]. Однако для минимизации травматичности подготовительных процедур разработаны методики по их выделению из мочи или смывов мочевого пузыря [125; 232]. Несмотря на низкий уровень обновления ткани в физиологических условиях, уротелиальные клетки обладают высоким регенеративным потенциалом в ответ на повреждение [61]. Установлено, что *in vitro* они имеют высокую, но ограниченную пролиферативную активность и через несколько пассажей достигают репликативного старения [116]. В статье Chamorro с соавторами (2016) приводится детальная характеристика репликативного потенциала человеческих уротелиальных клеток, культивируемых в условиях *in vitro*, на основании анализа экспрессии генов и пролиферативной способности по времени удвоения

популяции и ее эффективности с использованием теста на колонеобразование и иммуноцитохимического окрашивания [42]. Было обнаружено увеличение экспрессии маркеров старения (связанная со старением β -галактозидазы (SA β -gal) и p16) в культуре клеток восьмого пассажа [116]. Предположительно, что клетки, экспрессирующие цитокератин 5 и 14, лучше поддерживают характеристики уротелиальной ткани [131].

Другими источниками эпителиальных прогениторных клеток являются слизистая оболочка ротовой полости и кожа крайней плоти [210]. В частности, в исследовании с использованием модели на кроликах проводили коррективное пенильное отдела мочеиспускательного канала протяженностью 1,5 см с помощью децеллюляризованного матрикса, заселенного пенильными эпидермальными клетками [228]. Было отмечено отсутствие возникновения стриктур и фистул на протяжении 6 месяцев после имплантации. Однако гистологическое исследование зоны имплантации показало, что клетки сохраняли эпидермальную морфологию и место соединения имплантата и нативных тканей было четко различимо, что свидетельствует о неполной интеграции. К настоящему моменту не установлено, как быстро такие клетки способны ремоделироваться в уротелий. Применение пенильных эпидермальных клеток ограничено необходимостью использования биопсийных образцов крайней плоти, что может привести к осложнениям и деформациям тканей в месте забора. Кроме того, биопсийный материал невозможно получить в случаях, когда крайняя плоть была ранее обрезана или поражена патологическим процессом (например, облитерирующим ксеротическим баланитом).

Наибольший интерес с точки зрения инженерии мочеиспускательного канала представляют клетки, выделяемые из эпителия щеки и языка, так как они формируют толстый многослойный эпителий, могут быть относительно легко изолированы, устойчивы к влажной среде и инфекциям благодаря экспрессии β -дефензина и интерлейкина-8 (ИЛ-8) [51]. В частности, было показано, что конструктор на основе децеллюляризованного матрикса мочевого пузыря, заселенного аутологичными эпителиальными клетками ротовой полости, успешно

приживлялся в модели вентрального повреждения уретры у кролика [223]. В течение полугода после имплантации ни у одного животного не развивалось осложнений или стриктур, а шов в месте соединения не идентифицировался при макроскопическом осмотре. Гистологический анализ показал наличие многослойного плоского эпителия и четкой границы между имплантатом и нативными тканями и отсутствие воспалительной инфильтрации, что говорит о неполной интеграции конструкта.

Последние работы в этом направлении связаны с совместным культивированием эпителиальных клеток ротовой полости с другими типами клеток для улучшения процесса приживления и предотвращения развития фиброза. Например, в работе Bhargava с соавторами (2004) эквивалент уретры, сформированный путем заселения децеллюляризованной дермы совместной культурой фибробластов и кератиноцитов ротовой полости, показал высокую механическую прочность и обладал требуемыми биологическими свойствами [205]. Включение фибробластов в состав конструкта предположительно дает следующие преимущества: синтез факторов роста, улучшающих пролиферацию эпителиальных клеток, и низкая вероятность формирования шрама, вероятно, благодаря их фетальному фенотипу, способствующая предотвращению контракции трансплантата и рецидива стриктуры в постоперационном периоде [187]. В другом исследовании [173] была показана эффективность децеллюляризованного матрикса губчатого тела свиньи, заселенного кератиноцитами слизистой оболочки языка и гладкомышечными клетками, и установлено, что использование гладкомышечных клеток усиливало рост эпителиального слоя, стимулируя васкуляризацию за счет экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и соответствующего тирозин-киназного рецептора [105] и способствуя инфильтрации собственных клеток. Кроме того, были разработаны пост-транскрипционные методики подавления экспрессии тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP1), отвечающего за синтез коллагена I типа и формирование шрама [183; 203]. Так, в одном из исследований авторы трансфецировали фибробласты из ротовой полости с помощью малых

интерферирующих РНК (миРНК), направленных на транскрипцию РНК TIMP1, с последующим сокультивированием с эпителиальными клетками и заселением в матрикс из подслизистой оболочки тонкого кишечника [225]. При его имплантации гистологическое исследование спустя 6 месяцев показало снижение депонирования коллагена и увеличение количества гладкомышечных волокон по сравнению с контролем. Кроме того, конструкт, сформированный с использованием трансфицированных клеток, обеспечивал лучшую васкуляризацию и эпителизацию имплантата.

Мультипотентные стромальные клетки представляют значительный интерес для формирования тканевых эквивалентов в реконструктивно-пластической хирургии мочеиспускательного канала благодаря таким свойствам, как самообновление и плюрипотентность [149], особенно в случаях, когда забор прогениторных клеток невозможен или не рекомендован (эктопия мочевого пузыря, уротелиальные злокачественные новообразования и др.) [88; 212]. Несколько исследований показало возможность дифференцировки эмбриональных стволовых клеток в уротелиальные [46; 93; 101; 233], однако их использование в настоящее время затруднено по этическим аспектам и вопросам к их безопасности (в частности, при трансплантации наличие недифференцированных клеток в готовом конструкте может явиться причиной развития тератом или усиленной пролиферации прогениторных клеток) [189]. Но, даже несмотря на эти ограничения, стромальные клетки взрослого являются более адекватной альтернативой благодаря проангиогенным, антифибротическим и иммуномодулирующим свойствам и способности, теоретически, дифференцироваться в любой тип клеток, если имеется соответствующее микроокружение [90].

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) могут быть выделены из различных источников, включая костный мозг, жировую ткань, печень, кровь и др. [22; 221]. Установлено, что МСК костного мозга могут дифференцироваться и в уротелий, и гладкомышечные клетки мочевого пузыря как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* [90; 92]. Например, Tian с соавторами [90] разработали протоколы на

основе совместной культуры и кондиционированной среды для дифференцировки человеческих МСК костного мозга в клетки, подобные уротелиальным и гладкомышечным. Кроме того, они выявили несколько критических факторов роста в среде, способствующих дифференцировке в определенном направлении: в гладкомышечные – фактор роста гепатоцитов (HGF), тромбоцитарный фактор роста – гомодимерный полипептид цепи В (PDGFB), трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); в уротелиальные – эпидермальный фактор роста (EGF), PDGFB, TGF $\beta 1$ и VEGF. Однако использование этого типа МСК связано с необходимостью проведения пункции костного мозга, что ограничивает их клиническое применение в виду болезненности процедуры и возможных серьезных осложнений, вызванных ею. МСК, выделенные из жировой ткани, напротив, могут быть с легкостью выделены в больших количествах при липоаспирации, и их способность дифференцировки в различные типы клеток широко изучается [49]. Показано, что они могут дифференцироваться в уротелиальные клетки как в условиях *in vitro* при помощи совместного культивирования или подходящей индукционной среды, так и *in vivo* при имплантации ксенографта [89; 102; 153; 175; 195]. Например, Wang с соавторами [175] успешно использовал полилактидный скаффолд, заселенный аллогенными МСК жировой ткани, в модели дефекта уретры у кролика. Через 6 недель в постоперационном периоде было выявлено, что у животных, которым имплантировали такой конструкт, формировался нормальный многослойный уротелий с толстым мышечным подслизистым слоем по сравнению с контрольными животными. В другой работе [102] дифференцированные *in vitro* МСК жировой ткани в эпителиальные клетки инокулировали на децеллюляризованный матрикс мочевого пузыря для восстановления 2 см дефекта мочеиспускательного канала у кроликов. По сравнению с контрольными группами, где использовался незаселенный скаффолд и скаффолд с недифференцированными МСК, животные в экспериментальной группе имели хорошие функциональные результаты при исследованиях *in vivo* (диаметр

просвета, постоперационные осложнения и т.д.) и *ex vivo* (фиброзирование ткани, формирование многослойного эпителия и т.д.).

Кроме того, стволовые клетки могут выделены из мочи. Характеризация МСК мочи показала, что они имеют достаточно длинные теломеры, активно транслируют теломеразу, способны дифференцироваться в различные типы клеток и экспрессируют различные маркеры МСК [120; 151]. Соответственно, они могут успешно применены в формировании эквивалентов уретры. В частности, Wu с соавторами [120] успешно дифференцировали МСК мочи в уротелиальные и гладкомышечные клетки с использованием определенной среды и факторов роста (для уротелиальных – смесь бессывороточной среды для кератиноцитов и среды для эмбриональных фибробластов с добавлением EGF; а для гладкомышечных – смесь DMEM и среды для эмбриональных фибробластов с добавлением TGF β 1 и PDGFB). Затем проводили заселение трехмерного пористого скаффолда на основе подслизистой оболочки тонкого кишечника полученными клеточными популяциями. Дифференцировка МСК была подтверждена в условиях *in vivo* при имплантации бестимусным мышам с использованием иммуногистохимического окрашивания на специфические уротелиальные (уроплакин-III и AE1/AE3) и гладкомышечные (гладкомышечный α -актин, десмин и миозин) маркеры. Гистологический и иммуногистологический анализ показал, что сформированные конструкторы были схожи с контрольными образцами, полученными путем заселения скаффолда на основе подслизистой оболочки тонкого кишечника уротелиальными и гладкомышечными клетками, выделенными из нативных тканей мочеиспускательного канала, и имплантированными аналогичным образом. Кроме того, было выявлено, что динамическое культивирование сформированного эквивалента обеспечивало лучшую миграцию клеток внутрь материала и формирование многослойной слизистой оболочки, схожей с нативной уретрой [224].

Так, МСК из жировой ткани и мочи представляют наибольший интерес для реконструкции мочеиспускательного канала благодаря малой инвазивности процедуры забора и показанным успешным результатам *in vivo*. В работе Kang

с соавторами [45] было проведено сравнение этих двух культур клеток при их заборе у одних и тех же пациентов и показаны их свойства стволовости, включая пролиферативную способность и дифференцировочный потенциал. По сравнению с МСК из жировой ткани клетки из мочи имели высокую пролиферативную активность и колонеобразующий потенциал, сильную экспрессию маркеров стволовых клеток (CD44, SSEA4 и CD73) и ингибирование иммунной системы. Кроме того, МСК мочи лучше дифференцировались в миогенном, нейрогенном и эндотелиальном направлении в отличие от МСК жировой ткани, более подверженных развитию в адипоциты, хондроциты и остециты.

Скаффолд

Скаффолды – специальные поддерживающие каркасные структуры, выступающие в качестве субстрата для прикрепления клеток и улучшающие регенерацию ткани в месте имплантации. Они обеспечивают благоприятное микроокружение для колонизации клеток, а также механическую прочность всего конструкта для замещения утраченного фрагмента ткани до формирования новой и полной его деградации в течение времени [17]. Кроме того, они должны не быть иммуногенными, токсичными и не вызывать реакцию на инородное тело (либо степень выраженности этих свойств должна быть низкой) [74; 111]. При заселении скаффолдов клетками либо за счет предварительного инокулирования или непосредственной миграции из близлежащих тканей они должны регулировать их поведение и направлять дифференцировку согласно гистологической архитектуре уретры – уротелий или уротелиоподобный многослойный или/и псевдомногослойный призматический эпителий на поверхности просвета и фиброзномышечный слой в стенке мочеиспускательного канала [211]. Для этого клеткам необходим комплекс специфических сигналов, который обеспечивается биофизическими, биомеханическими и структурными свойствами скаффолдов. Так, выбор биоматериала для формирования каркаса является одним из ключевых моментов при создании эквивалента уретры. В

настоящее время все используемые в реконструкции уретры скаффолды можно разделить на два типа: биологические и синтетические.

Первая группа представлена как бесклеточными матрицами, полученными при децеллюляризации различных тканей, так и структурами на основе натуральных материалов (коллаген, эластин и др.) [2; 18; 211]. Для восстановления уретры в основном используются такие децеллюляризованные ткани, как подслизистая оболочка тонкого кишечника и бесклеточный матрикс мочевого пузыря свиньи [172]. Преимуществом таких материалов является сохранение естественной гистологической структуры и состава, включая коллагены, эластин, ламинины и другие факторы роста и биологически активные соединения [161; 174]. Однако их широкое распространение существенно ограничено в виду относительно низкой эффективности при использовании без клеток и высокой стоимостью по сравнению с аутологичными тканями [97; 140]. Остаточные фрагменты ДНК были обнаружены в большинстве коммерчески доступных материалов и могут быть триггером развития воспалительной реакции *in vivo* [54; 167]. Но в других работах было показано, что эти фрагменты ДНК в целом достаточно короткие (<300 н.п. в длину), чтобы стать существенным ограничением в имплантации таких скаффолдов [115]. Кроме того, они могут претерпевать нежелательные изменения при стерилизации, в частности, терять механическую прочность после гамма-облучения или менять пористость при обработке сверхкритическим диоксидом углерода, что может в целом негативно отражаться на возможности использования скаффолда [190].

В дополнение к децеллюляризованным материалам скаффолды могут быть изготовлены из различных натуральных полимеров так, чтобы их форма и состав повторяли внеклеточный матрикс (ВКМ) мочеиспускательного канала. Одним из наиболее широко распространенных материалов является коллаген [73; 100; 124], но также применяются альгинат, шелк и др. [44; 86]. В таком случае дизайн скаффолда, что включает выбор субстрата, пористости, топографии поверхности, приобретает первостепенное значение для достижения структурной прочности сформированного конструкта без снижения выживаемости клеток [12; 168; 199].

Но до настоящего времени не найдено оптимального решения для формирования эквивалента уретры.

Размер пор имеет критическое значение для проникновения и адгезии клеток. Так, по размеру пор скаффолды могут быть классифицированы следующим образом: носители (<15 мкм), губки (>15 мкм), когна (матрицы с большим межволоконным пространством) (>200 мкм) [87]. Большой диаметр пор облегчает проникновение клеток и, соответственно, их рост внутри скаффолда; но, с другой стороны, формирование эпителиального слоя на его поверхности затруднено. Так, исходя из упомянутой выше классификации, для реконструкции уретры следует отдать предпочтение мелкопористым и губчатым скаффолдам, так как они способны обеспечить достаточный уровень внутреннего клеточного заселения и покрытия поверхности.

В нескольких работах была исследована возможность использования для восстановления мочеиспускательного канала матриц на основе амниотической мембраны человека, состоящей из единичного слоя эпителиальных клеток, толстой базальной мембраны и аваскулярной стромы [128; 226]. Амниотическая мембрана может быть использована как с эпителием, так и без него [171]; строма также может быть применена отдельно в качестве «заплатки». Преимуществом этого материала в инженерии уретры является наличие множества факторов роста, включая EGF и трансформирующий фактор роста- α (TGF α) и TGF β , частично обеспечивающих благоприятные биологические свойства (низкая иммуногенность, снижение фиброза и усиление эпителизации) [48]. В частности, Jerman с соавторами [128] показал возможность применения конструкторов на основе матриц из амниотической мембраны и уротелиальных клеток. При 3-недельном культивировании уротелиальные клетки покрыли всю поверхность скаффолдов, но формирование многослойного уротелия происходило только на образцах из стромы. Кроме того, эти конструкторы имели молекулярные (экспрессия уроплакинов и окклюдина) и ультраструктурные свойства (хорошо развитые плотные контакты, микрогребень и др.), сравнимые с нативным высокодифференцированным уротелием. Wang с соавторами [226] также успешно сформировали эквивалент на основе уротелиальных клеток и

амниотической мембраны и использовали его для вентральной коррекции дефекта мочеиспускательного канала у кроликов. Результаты показали, что сформированный конструкт обладал более низкой иммуногенностью (низкое количество CD4⁺ и CD8⁺ клеток) и более высокой биосовместимостью, чем незаселенная амниотическая мембрана.

В качестве альтернативы описанным выше материалам выступают синтетические, обладающие более низкой стоимостью, большей доступностью и вызывающие меньше этических трудностей [108]. Они могут отличаться по диаметру пор, структуре и способности резорбироваться *in vivo*. Скаффолды на их основе могут быть изготовлены различными способами, включая трехмерную печать, выщелачивание, текстильные подходы и др. [59]. Каркасы для создания эквивалентов уретры, как правило, формируются из биodeградируемых материалов таких, как полилактид (полимолочная кислота, PLA), полилакто-ко-гликолид (полилакто-ко-гликолевая кислота, PLGA), поли-L-лактид-ко-ε-капролактон (PLCL) и полигликолевая кислота (PGA), и большинство из них разрешены FDA к применению в хирургии [70; 126]. Главными преимуществами синтетических полимеров являются улучшенная адаптивность и постоянство и относительно низкие затраты на получение по сравнению с натуральными. Например, такие свойства скаффолда, как пористость и прочность на разрыв, могут относительно легко контролироваться и моделироваться в зависимости от назначения готового продукта. Дегградация синтетических полимеров в большинстве случаев происходит за счет гидролиза, а не ферментативного расщепления. Однако быстрая резорбция и высвобождение промежуточных метаболитов может привести к снижению локального pH, что, вероятно, является причиной развития фиброза и стеноза вокруг имплантата [196]. Так, для улучшения прикрепления клеток и снижения реакции на инородное тело распространённой стратегией является добавление натуральных материалов (коллаген, ламинин и др.) или факторов роста к синтетическим [52; 77]. В частности, Zhang с соавторами (2015) оценил антифибротическое действие скаффолда из коллагена и PCL, импрегнированного ингибитором сигнального

пути WNT ICG-001, в условиях *in vitro* и *in vivo* [52]. При его имплантации для коррекции вентрального дефекта уретры у кроликов было установлено, что высвобождение ингибитора способствовало отсутствию осложнений (фистул и/или стриктур) и формированию многослойного эпителия, снижению депонированию коллагена и увеличению количества гладкомышечных клеток в подслизистом слое. В работе других исследователей была установлена возможность применения наноструктур диоксида титана в восстановлении мочеиспускательного канала [58]. Материалы на основе титана широко распространены в ортопедии и стоматологии благодаря их прочности на разрыв, гибкости, отсутствию токсичности и отторжения [235], но их использование в урологии началось только в последнее десятилетие [47; 58]. Например, Imani с соавторами (2016) культивировал уротелиальные клетки на различных скаффолдах на основе титана (нанотрубки, нанопровода и наносферы) в течение 3 недель [58]. Было установлено, что уротелиальные клетки пролиферировали и формировали многослойный эпителий на наносферах и нанопроводах также, как на контрольной пористой мембране. Кроме того, поверхностные клетки на нанопроводах имели апикальную поляризацию, как и в контроле.

Факторы роста и другие биологически активные соединения

Однако эффективность восстановления мочеиспускательного канала может быть дополнительно улучшена за счет факторов роста и других биологически активных соединений. Скаффолды на основе децеллюляризованных тканей состоят из ВКМ, и даже после процессирования они сохраняют уникальный тканеспецифичный состав, включающий факторы роста (фактор роста фибробластов 2 (FGF2), TGF β и VEGF) [114]. Компоненты ВКМ и факторы роста также могут быть добавлены извне к синтетическим и натуральным материалам при изготовлении скаффолдов или синтезироваться инокулированными клетками [71; 231].

Факторы роста влияют на различные ключевые процессы в тканевой регенерации. Например, сигнальные молекулы могут оказывать паракринный

эффект на окружающие ткани в месте имплантации, усиливая миграцию клеток и ремоделирование конструкта, а также стимулировать формирование функциональной сосудистой сети для адекватного обеспечения питательными веществами, необходимыми для успешного приживления [234]. Было выявлено, что МСК костного мозга активно синтезируют различные ферменты и факторы роста, участвующих в ангиогенезе, включая матриксные металлопротеиназы, VEGF и обогащенный цистеином ангиогенный индуктор 61 (CYR61) [182]. Существует большое количество подходов по иммобилизации факторов роста (в частности, EGF [43], основного фактора роста фибробластов (bFGF) [62], фактора роста нервов (NGF) [154]) в составе скаффолда, выбор которых зависит от требуемых свойств, включая финальную концентрацию и скорость высвобождения. Jia с соавторами [229] исследовал эффективность скаффолда на основе коллагена, связанного с VEGF, в коррекции протяженного дефекта уретры у собак. Спустя 6 месяцев после операции просвет уретры в месте имплантации матрицы с высвобождением VEGF был значительно шире, чем у контрольных животных. Кроме того, в экспериментальной группе отмечалось снижение фиброза и усиление васкуляризации. Тем не менее, другие параметры скаффолда и его эффекты не были также хороши, как у нативной уретры, что подтвердило необходимость оптимизации, в частности путем инокулирования клетками. Кроме того, в модели частичной цистектомии у крыс Chen с соавторами [62] показал, что бесклеточный матрикс на основе мочевого пузыря с пришитым bFGF стимулировал рост уротелиальных и гладкомышечных клеток, что вело к улучшению регенерации и интеграции имплантата.

В дополнение к факторам роста могут быть использованы малые молекулы для улучшения приживления конструктов, например, метилурацила [9] или за счет предотвращения фиброзирование ткани через модулирование сигнального пути TGF β [52]. TGF β и его сигнальный путь WNT- β -катенин играют важную роль в процессах фиброза за счет высвобождения профибротических факторов роста, трансформации эпителиальных клеток, активации и пролиферации миофибробластов [75; 156]. Кроме того, у пациентов со стриктурой уретры

установлена сверхэкспрессия TGF β [81; 202], что дает основание предположить, что подавление сигнального пути TGF β –WNT– β -катенин позволил избежать рестеноза после уретропластики.

Особое внимание стоит уделить таким технологиям формирования эквивалента уретры, как трехмерная биопечать и клеточные пласты.

Трехмерная биопечать – один из самых быстро развивающихся подходов в регенеративной медицине [35; 36]. Биопринтеры позволяют достигать высокого разрешения в позиционировании клеток и биоматериала для точного воспроизведения архитектоники ткани. Ранее с использованием биопринтинга были успешно сформированы эквиваленты различных тканей: кожи, хряща, мочевого пузыря и т.д. [60; 80; 83; 133]. Первым, кто показал применимость трехмерной биопечати в формировании мочеиспускательного канала, был Zhang с соавторами [37]. Группа ученых напечатала фрагмент уретры с использованием трех типов чернил: синтетический полимер и гидрогелевые системы с уротелиальными клетками или гладкомышечными клетками. Хотя сформированный эквивалент имел схожие с нативной тканью механические свойства, использование технологии ограничено малыми масштабами конструкта, выбором доступных биочернил, сложностью воспроизведения микро- и макроархитектуры ткани [34], что требует дополнительных исследований для решения урологических задач.

Технология клеточных пластов за последние 10 лет стала достаточно часто применяться в регенеративной медицине, включая восстановление органов и тканей мочеполовой системы [181; 194; 213]. Она заключается в формировании клеточного конструкта без дополнительного использования каркасного материала. После забора материала и процессирования клетки культивируются на поверхности культурального пластика, покрытого термочувствительным полимером, в частности поли-N-изопропилакриламид (PNIPAM). При 37°C этот полимер представляет собой плотную гидрофобную пленку, способствующую прикреплению и пролиферации клеток [222]. Когда температура опускается ниже критической точки раствора, он набухает и становится гидрофильным, что

приводит к спонтанному откреплению клеточного слоя без ферментативной обработки. Так, клетки отделяются вместе с вновь синтезированным ВКМ без потери ростовых факторов и молекул клеточной адгезии [82; 146].

Доклинические испытания

Согласно проведенному анализу литературных данных (Таблица 1.2) было выявлено, что в качестве основной животной модели для установления эффективности эквивалентов мочеиспускательного канала используются кролики. Одним из наиболее распространенных материалов, применяемых в качестве скаффолда, является бесклеточный матрикс мочевого пузыря. При формировании эквивалентов для доклинических испытаний использовались как монокультуры, так и совместные культуры. В первом случае, как правило, матрицы заселяли эпителиальными клетками, но также встречаются конструкции, сформированные с использованием гладкомышечных клеток мочевого пузыря, МСК из костного мозга и жировой ткани. Во втором случае применение нескольких культур клеток позволяло добиться большей схожести с гистологической структурой нативной ткани. Для покрытия внутренней поверхности в основном использовались кератиноциты ротовой полости или уротелиальные клетки мочевого пузыря, а внешней – гладкомышечные клетки или фибробласты. Было выявлено, что заселение скаффолда как монокультурой, так и совместной культурой клеток обеспечивало более высокую эффективность уретропластики, чем в контрольных группах без клеток.

Клинические испытания

К настоящему времени проведено несколько клинических испытаний тканеинженерных конструкций для восстановления мочеиспускательного канала, как правило, включающих лишь небольшое количество пациентов (Таблица 1.3). Систематический обзор позволил выявить, что общий уровень их доказательности достаточно низкий из-за их сильной гетерогенности по критериям выбора пациентов, использованным хирургическим техникам, дизайну

исследования и периоду наблюдения [210]. Было проведено только одно рандомизированное клиническое исследование [130], в котором сравнили использование фрагмента слизистой оболочки щеки и бесклеточного матрикса мочевого пузыря для коррекции стриктур переднего отдела уретры. Было выявлено, что децеллюляризованная ткань обеспечивала наилучшие результаты при применении у пациентов, ранее подвергавшихся лишь небольшому количеству трансуретральных вмешательств (или отсутствуют в анамнезе), без спонгиоза и со здоровой слизистой оболочкой мочеиспускательного канала. Однако необходимо проведение дальнейших клинических испытаний для установления особенностей применения других материалов (включая при их заселении клетками) и выявления оптимальных показаний для проведения операции с их использованием. В 2017 году Ram-Liebig с соавторами [177] представил результаты многоцентрового проспективного обсервационного исследования применения промышленного тканеинженерного конструкта слизистой оболочки щеки, разрешенного на территории Германии (MukoCell), у 99 пациентов-мужчин с рецидивом стриктуры уретры (средняя протяженность 3,8 см). Отсутствие рецидива отмечалось у 67,3% пациентов через 12 месяцев после операции и у 58,2% пациентов через 24 месяца. Эти результаты сопоставимы с результатами повторного формирования стриктуры при буккальной уретропластики (20–30%) [139]. Так, MukoCell стал одним из редких примеров успешной клинической трансляции достижений тканевой инженерии. Хотя указанный показатель эффективности ниже, чем в одноцентровых экспериментах с опытным хирургом, это исследование может быть более репрезентативным в отношении реальной эффективности [65; 134]. Однако, когда показатели эффективности были стратифицированы по количеству предыдущих вмешательств, у пациентов, имевших лишь единичную уретротомию или уретропластику в анамнезе, была выявлена 83,3% проходимость мочеиспускательного канала через 2 года после лечения с MukoCell, что коррелирует с результатами одноцентровых исследований в крупных медицинских организациях. Кроме того, лишь один пациент испытал дискомфорт

в месте забора материала для выделения клеток. Таким образом, MikoCell может стать приемлемой альтернативой для снижения морбидности в донорской зоне в избранных группах пациентов.

В течение последних 5 лет было представлено несколько перспективных, но пока предварительных техник, демонстрирующих высокую эффективность применения новых подходов в уретропластике [50; 55]. В частности, Pellegrini с соавторами [150] на совещании Американской урологической ассоциации (AUA) 2018 года представил результаты по безопасности и применимости конструкта на основе аутологичных стволовых клеток слизистой оболочки ротовой полости в лечении гипоспадии у пациентов, подвергшихся неудачной хирургической коррекции. В связи с ростом интереса и количества исследований по тканевой инженерии возникает необходимость разработки в ближайшем будущем ясного и четкого механизма регулирования тканевых эквивалентов.

Таблица 1.2 – Доклинические испытания биоэквивалентов мочеиспускательного канала

Ссылка	Скаффолд	Тип клеток	Модель	Кол-во животных	Протяжённость дефекта (мм)	Форма	Наблюдение (месяцы)	Полная эпителизация (недели)	ГМ слой (месяцы)	Осложнения	Показатель эффективности (%)	
Эквиваленты, сформированные с использованием одного типа клеток												
[107]	БММП	УКМП	Кролики (М)	БММП – 12 БММП+УКМП – 12	10	Т	6	Нет 4	Нет 1	12 ² 0	0 100	
[119]	БМПТ	КМ-МСК	Кролики (М)	БМПТ – 24 БМПТ+КМ-МСК – 24	–	Л (Н)	6	Нет 2	1 1	1 ² 1 ²	88 100	
[223]	БММП	КРП	Кролики (М)	БММП – 12 БММП+КРП – 12	20	Л (ВН)	6	Нет 4	–	4 ³ 0	0 100	
[138]	БММП	ЭККП	Кролики (М)	3	15	Т	12	2	–	0	100	
[166]	АК	МК	Кролики (М)	9	15	Т	6	4	1	0	100	
[236]	ФМ	МСК-ЖТ	Кролики (М)	БММП – 12 ФМ+МСК-ЖТ–12	–	Л	1,5	Да	Да	Фистула	77 85	
[124]	ТКВП	ГМКМП	Кролики (М)	ТКВП – 8 ТКВП + ГМКМП – 8	10	Т	3	4 4	1 1	7 ²	25 50	
[217]	БММП	МК	Кролики (М)	БММП – 9 БММП+МК – 9	15	Т	6	4 4	1 1	–	0 100	
[104]	ЭФМ	УКМП	Собаки (Ж)	9	30	Л (ДН)	6	4	ОК ¹	0	100	
[102]	БММП	ЭпиМСК-ЖТ / МСК-ЖТ	Кролики (М)	БММП – 12 БММП+МСК-ЖТ– 12 БММП+ЭпиМСК-ЖТ–12	20	Л (ВН)	6	Нет Нет 4	Нет Да Да	0 1 ² 0	0 0 92	
[226]	ДАМ	ЭКУ	Кролики (М)	ДАМ – 6 ДАМ+ЭКУ – 6	10	Л (ВН)	3	? 2	? 3	–	66 100	
[67]	БМСА	МСК ЖТ	Собаки (М)	БМСА – 6 БМСА+МСК ЖТ - 6	30	Т	3	Нет 4	3 1	2 ² 0	17 100	
Эквиваленты, сформированные с использованием нескольких типов клеток												
[173]	БМПТ	КРП	Кролики (М)	БМПТ – 6 БМПТ+КРП – 6 БМПТ+КРП+ГМК – 6	15	Л (ВН)	6	4 ⁴	Нет	0	33	
ГМК		4						1 ⁵				67
УКМП		4						2 ⁶				100

Продолжение Таблицы 1.2

[164]	БММП	УКМП	Кролики (М)	БММП – 6 БММП+УКМП+ГМКМП –9	30	Т	6	4	6 ⁵	6 ²	0
ГМКМП		4						6 ⁶	0	100	
[219]	КМ	КРП	Собаки (М)	Без имплантата – 10 КМ+КРП+ГМКРП – 10	20	Т	3	Нет	Нет	10 ²	0
ГМКРП		12 ⁹						12 ⁹	3 ²	70	
[68]	БММП	УКМП	Собаки (М)	БММП – 6 БММП+УКМП+ГМКМП –15	60	Т	12	4	Нет	6 ²	0
ГМКМП		4						1	1 ⁷	100	
[227]	БММП	КРП	Кролики (М)	БММП – 9 БМПТ+КРП – 9 БМПТ+КРП+ТФ – 9	20	Л (ВН)	6	4 ¹²	–	0	0
TGFβ1		4							100		
миРНК ТФ		4							100		
[208]	ФМ	КРП	Собаки (Ж)	ФМ – 5 ФМ+КРП+ФРП – 5	50 ¹⁰	Л (Н)	6	24 ^{8,11}	ОК ¹	0	0
ФРП		24 ⁸							100		
[40]	БММП	ЭПК/ LL37 ТЭПК	Кролики (М)	БММП – 2 БММП+ LL37 ТЭПК – 4 БММП+ ЭПК – 4	–	Т	2	8	2	0	100
ГМК											
УКМП											

Примечание. 1. Мышечный слой не был разрушен в исследовании; 2. Фистула; 3. Двое кроликов умерло от инфекции мочевыводящих путей; двое имели фистулы; 4. Клеточный слой не восстановился полностью спустя 6 месяцев; 5. Неорганизованные пучки мышечных волокон; 6. Организованные пучки мышечных волокон; 7. Острая задержка мочи спустя 3 недели после удаления стента, связанная с раздражением мочевого пузыря; 8. Промежуточные результаты не представлены; 9. Клетки положительно окрашивались антителами против десмина; 10. Был сформирован дефект только слизистой оболочки; 11. Клеточный слой не восстановился полностью в период наблюдения; 12. Клеточный слой не восстановился полностью спустя 6 месяцев. Сокращения: АК – аутологичный коллаген; БММП – бесклеточный матрикс мочевого пузыря; БМПТ – бесклеточный матрикс пещеристых тел; БМСА – бесклеточный матрикс сонной артерии; ГМ – гладкомышечный; ГМК – гладкомышечные клетки; ГМКМП – гладкомышечные клетки мочевого пузыря; ГМКРП – гладкомышечные клетки ротовой полости; ДАМ – амниотическая мембрана без эпителиального слоя; (Ж) – самка; КМ – коллагеновая матрица; КМ-МСК – мезенхимные стромальные клетки костного мозга; Л – лоскут; Л (ВН) – лоскут (вентральная накладка); Л (ДН) – лоскут (дорсальная накладка); Л (Н) – лоскут (накладка); КРП – кератиноциты ротовой полости; (М) – самец; МК – мезотелиальные клетки; МСК-ЖТ – мезенхимные стромальные клетки жировой ткани; Т – тубула; ТКВП – трубки из коллагена высокой плотности; ТФ – трансфицированные фибробласты; ТЭПК – трансфицированные эндотелиальные прогениторные клетки; УКМП – уротелиальные клетки мочевого пузыря; ФМ – матрикс на основе фиброина шелка; ФРП – фибробласты ротовой полости; ЭПК – эндотелиальные прогениторные клетки; ЭККП – эпидермальные клетки крайней плоти; ЭКУ – эпителиальные клетки уретры; ЭпиМСК-ЖТ – мезенхимные стромальные клетки жировой ткани, дифференцированные в эпителиальном направлении; ЭФМ – матрикс на основе фиброина шелка, полученный электроспиннингом; TGFβ1 миРНК ТФ – TGFβ1 миРНК трансфицированные фибробласты.

Таблица 1.3 – Клинические испытания биоэквивалентов мочеиспускательного канала

Ссылка	Скаффолд	Тип клеток	Количество пациентов	Протяженность дефекта (см)	Форма	Наблюдение (месяцы)	Биопсия	Осложнения	Показатель эффективности (%)
Эквиваленты, сформированные с использованием одного типа клеток									
[207]	MukoCell	КРП	10	1–3	Л (ВН (9), ДВ (1))	?	Нет	0	90
[169]	ДДМ	УКМП ¹	6	Мошоночная или промежностная гипоспадия	Л (ДВ)	87	Да (уротелиальные клетки)	0	83
[177]	MukoCell	ЭРП	98	3,8	Л	24	Нет	57 – рецидив 2 – локальная инфекция 2 – инфекция МП 1 – УК 1 – БК 1 – ЛЭ 1 – ЭП 1 – смерть	67,3
[50]	MukoCell	ЭРП	38	5	Л (ВН (21), ДН (6), ДВ (1), КТ (1))	55	Нет	2 – рецидив	84,2
[179]	MukoCell	ЭРП	77	4 ²	Л (ВН)	38	Нет	3 – рецидив 5 – гематома 5 – инфекция МП 1 – фистула	68,8

Продолжение Таблицы 1.3

Эквиваленты, сформированные с использованием нескольких типов клеток									
[206]	ДДМ	КРП	5	–	Л	111,8 ³	Нет	0	60 ⁴
		ФРП							
[204]	ПГК	УКМП	5	4–6	Т	71	Да ⁴	0	100
		ГМКМП							

Примечание. 1. Уротелиальные клетки получены при смыве; 2. 9 пациентов имели стриктуру протяженностью 8–16 см; 3. [135]; 4. Одному из пациентов потребовалось полное удаление имплантата, другому – частичное; всем пациентам потребовалось повторное вмешательство; 4. В месте имплантации гистологическая структура ткани была схожа с нативной уретрой через 3 месяца. Сокращения: БК – болезнь Крона; ДДМ – матрикс на основе децеллюляризованной дермы; ГМКМП – гладкомышечные клетки мочевого пузыря; КРП – кератиноциты ротовой полости; ЛЭ – легочная эмболия; МП – мочевыводящий путь; ПГК – полигликолевая кислота; УК – уретральный камень; УКМП – уротелиальные клетки мочевого пузыря; ФРП – фибробласты ротовой полости; ЭП – эпилептический приступ; ЭРП – эпителиальные клетки ротовой полости.

Глава 2. ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ УРЕТРЫ

2.1. Материалы и методы

2.1.1. Выделение клеток буккального эпителия и ее характеристика

Первичная культура была выделена из образцов материала слизистой ротовой полости, взятого во время плановых операций с информированного добровольного согласия пациентов (на базе Института урологии и репродуктивного здоровья человека, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)) [33]. Непосредственно после забора материала биоптаты в условиях операционного кабинета помещали в заранее подготовленные пробирки с раствором Хэнкса, содержащего антибиотики (гентамицин, пенициллин, стрептомицин) и антимикотик (флуконазол) для первичной деконтаминации образцов (2 смены по 5 минут). Транспортировку биоптатов в лабораторию осуществляли в пробирках объемом 50 мл со средой DMEM:F12 с добавлением гентамицина.

Монослойные культуры клеток буккального эпителия были получены с использованием эксплантационного подхода. Так, забранный материал после тщательной отмывки в стерильном растворе Хэнкса с добавлением флуконазола, гентамицина, пенициллина и стрептомицина измельчался с использованием скальпеля и/или ножниц, помещался на поверхность чашек Петри диаметром 35 мм и покрывался относительно небольшим количеством питательной среды для первичной адгезии к поверхности [33]. Такая методика выделения клеток была выбрана, так как присутствие в культуре фрагментов ткани имитирует процесс заживления раны, стимулируя коллективную миграцию клеток за счет секреции ферментов, цитокинов и факторов роста, и обеспечивает поддержку необходимого микроокружения [118].

Культивирование клеток буккального эпителия осуществляли с использованием полной ростовой среды следующего состава: DMEM:F12

с добавлением глутамина (Биолот, Россия), гентамицина (50мкг/мл; ПанЭко, Россия), инсулина-трансферрина-селенита (1:100; Биолот, Россия), эпидермального фактора роста (20нг/мл; EGF; ProSpec, Израиль) и эмбриональной телячьей сыворотки (10%; HyClone, США), - в стандартных условиях (37°C, 5% CO₂) [33]. Смену среды и визуальный контроль осуществляли 1 раз в 2–3 суток с использованием инвертированного микроскопа Primovert (Carl Zeiss, Германия) [33].

Перед проведением иммуноцитохимического (ИЦХ) анализа образцы помещали в раствор параформальдегида (4%) и инкубировали в течение 20 мин при температуре 4°C. Затем их отмывали с помощью фосфатно-солевого буфера трижды по 5 мин, добавляли растворы первичных антител к ZO-1, E-кадгерину, N-кадгерину и Ki67, содержащие 0,15% Triton X-100, и оставляли на ночь при температуре 4°C. После повторной отмывки фосфатно-солевым буфером образцы инкубировали со вторичными антителами козла к мыши, конъюгированными с флуоресцеином, и козла к кролику, конъюгированными с DyLight 594, в течение 1 часа. Для окрашивания ядер применяли Hoechst 33258. Препараты готовили с использованием Витрогеля (Biovitrum, Россия) и изучали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Olympus Fluoview FV10I (Olympus, Япония) [33].

Для установления фенотипа клеток использовали маркеры клеточной адгезии CD44, CD56 и CD326 и маркеры, характерные для ММСК: CD14, CD34, CD45, CD73, CD90 и CD105. Предварительно готовили суспензию клеток путем обработки монослойной культуры смесью трипсина и версена (1:1) и дальнейшего центрифугирования в течение 7 мин при 400g. К полученным образцам клеточной суспензии добавляли антитела, конъюгированные с флуоресцеина изотиоцианатом (FITC, fluorescein isothiocyanate), фикоэритрином (PE, phycoerythrin) и аллофикоцианином (APC – allophycocyanin), и инкубировали в темном месте в течение 15 мин при комнатной температуре. Затем клетки вновь центрифугировали и ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере с добавлением 1% эмбриональной телячьей сыворотки. Анализ был проведен с помощью

проточного цитофлуориметра Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, Inc, США) [23; 33].

2.1.2. Формирование и характеристика сфероидов из клеток буккального эпителия

Для получения трехмерной культуры – сфероидов – использовали универсальную методику культивирования на агарозных планшетах. Для этого клетки снимали с поверхности чашек Петри с помощью смеси трипсина и версена, центрифугировали в течение 7 мин при 400g, ресуспендировали с добавлением питательной среды до концентрации 3×10^6 клеток в мл и помещали в неадгезивные агарозные планшеты, изготовленные с помощью 3D Petri Dish (Microtissue, США), в 12-луночной планшете. Культивирование осуществляли при стандартных условиях в инкубаторе или камере системы цейтраферной микроскопии Cell-IQ (CM Technologies, Финляндия) со сменой среды каждые 2–3 дня [33].

Иммуноцитохимическое окрашивание сфероидов осуществлялось согласно методике, описанной выше.

Для установления особенностей структуры сфероидов использовали сканирующую электронную микроскопию. Для этого образцы фиксировали в глутаральдегиде (3% в фосфатно-солевом буфере) в течение 1 час при комнатной температуре или ночь при $+4^{\circ}\text{C}$. Затем их отмывали не менее трех раз с помощью буферного раствора и для электронной микроскопии дополнительно фиксировали OsO_4 (1% на фосфатно-солевом буфере) в течение 1 часа. После промывания образцы обезвоживали 50%, а затем 70% этиловым спиртом два раза по 5 мин и хранили в холодильнике до дня проведения микроскопического анализа. Затем их полностью обезвоживали при обработке 80% этанолом два раза по 5 мин, 96% два раза по 20 мин, абсолюте в течение 20 мин и ацетоне два раза по 5 мин, высушивали в критической точке и наносили слой золота. Анализ

проводился с помощью сканирующего электронного микроскопа CamScan-S2 (Cambridge Instruments, Великобритания) [33].

2.1.3. Децеллюляризация артерии

Изъятие материала осуществлялось в условиях морга в течение первых суток после констатации смерти согласно приказам № 483 МЗ СССР от 14.06.1972 и № 189 от 19.08.1993. У образца удалялись механически периартериальная клетчатка и фасциальный футляр, потом материал промывался водой в течение 4 часов, 0,9% раствором натрия хлорида – 3 смены через 6 часов, 1/15 М раствором натрия гидрофосфата – 8 часов. Ферментативная обработка осуществлялась с помощью раствора террилитина в фосфатном буфере (рН 7,5–8,0) при температуре 40°C в течение 4 часов с последующим промыванием водой (1 час) и обработкой 1% раствором лимонной кислоты (1 час). Финальное отмывание проводили в фосфатном солевом буфере (рН 7,0–7,5) в течение 4 часов и воде – 4 часов. Качество удаления клеточного материала оценивали гистологически. Отмытые образцы промакивали бумажными салфетками и упаковывали в двойной пакет. Стерилизация осуществлялась радиационным способом с дозой облучения 2,5 Мрад [32].

2.1.4. Формирование гибридной матрицы

Коллаген 1 типа выделяли из дермы крупного рогатого скота. Кусочки дермы размером 3×3 см помещали в 5% раствор пепсина в 0,1 н хлористоводородной кислоте. Оставляли при температуре 20±2°C при периодическом перемешивании на 24 часа. Затем раствор сливали, кусочки дермы заливали 1% раствором гидрокарбоната натрия. Через 10 минут этот раствор сливали и кусочки промывали проточной водой в течение 1 часа, а затем дважды дистиллированной водой. После этого набухшие кусочки дермы заливали 0,5 М уксусной кислотой и перемешивали до полного растворения коллагена. К полученному раствору коллагена добавляли равный объем 10% раствора хлорида натрия, перемешивали,

давали отстояться 15 мин и осадок отфильтровывали на воронке Бюхнера. Осадок вновь растворяли в 0,5 М уксусной кислоте и ставили на диализ против 0,1М уксусной кислоты на 24 часа. Определяли концентрацию коллагена биуретовым методом и разбавляли 0,1 М уксусной кислотой до содержания коллагена 10мг/мл готового раствора. Сетку из полилактогликолида заливали дистиллированной водой и оставляли на 15 мин при комнатной температуре. Вынимали и удаляли избыток влаги фильтровальной бумагой. В металлическую кювету с тефлоновым покрытием наливали раствор коллагена слоем 5 мм и на его поверхность накладывали сетку. На ее поверхность вновь наливали раствор коллагена слоем 5 мм. полученную конструкцию замораживали при минус 30 и подвергали сублимационной сушке до остаточной влажности 30%. Высушенный материал уплотняли прессованием до толщины 1,5 мм и помещали эксикатор, насыщенный парами формалина на 3 часа при 25°C. Избыток паров формалина удаляли шестикратной промывкой дистиллированной водой при 20 °C со сменой воды каждые 20 минут. Отмытый материал подвергали повторной сублимационной сушке. Готовый материал разрезали на необходимые для дальнейшего исследования кусочки, упаковывали полимерный пакет и стерилизовали радиационным методом дозой 2,0 Мрад [33; 85].

Определение макромеханических свойств осуществлялось в результате испытания на растяжение образцов с помощью универсальной испытательной машины Shimadzu EZTest EZ-SX (Япония). Для этого прямоугольные образцы с размерами 20×5 мм закреплялись в удерживающих зажимах с использованием наждачной бумаги для предотвращения выскользывания и снижения концентрации напряжений. Испытания проводились в жидкостной ячейке, заполненной фосфатным буфером и нагретой до 37 °C. Определение микромеханических свойств гибридной матрицы проводилось с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) на атомно-силовом микроскопе Bioscope Resolve (Bruker, США). Сканирование поверхности образца (топография поверхности) осуществлялось в режиме PeakForce QNM, а механические измерения (модуль Юнга) в режиме Force Volume. Использовался зонд RTESPA-

300 с радиусом закругления наконечника 8нм, константой жёсткости $k=25$ Н/м, размер скана 10×10 мкм [33].

Цитотоксичность сформированной гибридной матрицы определяли с помощью окрашивания Live/Dead и МТТ-теста. Для визуализации живых и мертвых клеток поверхность матрицы заселялась мультипотентными мезенхимными стромальными клетками (ММСК) в концентрации $1 \times 10^5/\text{см}^2$ и окрашивалась кальцеином АМ и пропидия йодидом через 24, 48 и 72 часа после инокулирования. Ядра клеток дополнительно окрашивали Hoechst 33342. Для проведения МТТ-теста использовали линию клеток 3Т3 (мышинные фибробласты). Клетки культивировали в 96-луночной планшете в концентрации 5 000 клеток на лунку. Через 24 часа к ним был добавлен экстракт матрицы или додецилсульфат натрия (SDS, ДСН) (положительный контроль) в 8-ми разведениях. Для приготовления экстрактов матрицы использовали фрагмент площадью 6 см^2 (ISO 10993-12:2012), который был залит 1 мл питательной среды и помещен в CO₂-инкубатор на 24 часа [33].

2.1.5. Формирование конструкта для имплантации и его характеристика

Для формирования конструкта на поверхность децеллюляризованной артерии инокулировали выделенные из слизистой оболочки щеки клетки в концентрации 3×10^6 клеток на 1 см^2 с последующим культивированием в течение 5 дней. Гибридную матрицу заселяли 7-дневными сфероидными клетками в концентрации 250 сфероидов на см^2 и покрывали полной ростовой средой; культивирование осуществлялось в стандартных условиях в течение 7 дней. Кроме того, на 7-й день образцы фиксировали для анализа морфологии клеток с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и иммуноцитохимии [32; 33].

2.1.6. Установление биосовместимости и функциональности конструкта *in vivo*

Эксперименты на животных были проведены с получением одобрения Локального этического комитета Сеченовского университета.

Для установления биосовместимости была проведена подкожная имплантация крысам фрагментов полученных материалов. Для этого фрагменты материалов были имплантированы подкожно в межлопаточную область лабораторных крыс и зафиксированы к подлежащим мышцам с помощью нерассасывающегося шовного материала для точного позиционирования локализации матриц при выводе животных из эксперимента. Вывод животных из эксперимента осуществлялся на 10, 30, 60, 90 сутки после имплантирования матриц. Каждая временная точка была обеспечена 3 лабораторными крысами. После вывода крыс из эксперимента было осуществлено гистологическое исследование фрагментов матрицы с окружающими тканями [13; 32].

Эффективность и функциональность конструктов была определена в модели на кроликах. Было отобрано 24 самца (по 12 животных в экспериментальной группе, возраст 2 года) со средней массой 3,5 кг. Перед операцией проводили ретроградную уретрографию согласно стандартной методике. В течение 7–10 дней в постоперационном периоде проводилось дренирование мочевого пузыря с помощью силиконового уретрального катетера Фолея №6 Ch, сопровождаемое антибиотикотерапией (фторхинолоны). Вывод животных осуществлялся на 7, 30, 60 и 90-е сутки после операции, каждая временная точка обеспечена 3 животными. Предварительно перед выведением проводили ретроградную уретрографию. Для имплантации конструкта на основе децеллюляризованной артерии, имеющей тубулярную структуру, были выполнены проксимальный и дистальный анастомозы узловыми швами между концами уретры и материала с помощью шовного материала пролен 5-0. Конструкт на основе гибридной матрицы был имплантирован дорсально: одиночными узловыми швами (викрил 5-0) осуществлялась фиксация по краям и в центре к вентральной поверхности

белочной оболочки пещеристых тел; его краевые концы были соединены в месте повреждения с краями уретры непрерывным швом (викрил 5-0) [32; 85].

2.1.7. Клиническое испытание

Имплантация конструкторов на основе децеллюляризованной артерии и гибридной матрицы пациентам проводилась в рамках клинических исследований, одобренных Локальным этическим комитетом Сеченовского университета, при подписании информированного согласия на проведение операции.

Пациент 1

Больной Б., 1951 года рождения, с 2003 г. начал замечать ухудшение мочеиспускания. В 2005 г. была диагностирована доброкачественная гиперплазия предстательной железы; проведена позадилоная аденомэктомия. После удаления уретрального катетера мочеиспускание восстановилось; через 1 месяц стал отмечать прогрессивное ухудшение мочеиспускания. При обследовании была выявлена стриктура уретры. В период с 2005 по 2013 гг. были проведены многократные бужирования уретры и оптические уретротомии с временным положительным эффектом. Согласно результатам рентгенологических методов обследования (ретроградная уретрография и микционная цистоуретрография) протяженность стриктуры проксимальной части луковичного отдела уретры составила 2,5 см [6]. Для восстановления просвета уретры была проведена заместительная уретропластика с использованием конструктора на основе децеллюляризованной артерии.

Техника операции. Доступ к луковичному отделу уретры был осуществлен через срединный разрез промежности без пересечения бульбоспонгиозных мышц (мышце- и нервосберегающая техника). Затем были выполнены последовательно вентральная и дорсальная уретротомии над зоной стриктуры, включающие по 1 см дополнительно в проксимальном и дистальном направлении в пределах визуально неизмененных тканей уретры. Конструктор фиксировался одиночными узловыми швами (викрил 6-0) дорсально: к краям слизистой оболочки уретры и

подлежащей белочной оболочке кавернозных тел. Целостность спонгиозного тела по вентральной поверхности была восстановлена после проведения силиконового уретрального катетера Фолея № 16 Ch с помощью одиночных узловых швов (викрил 5-0 и 4-0), расположенных в два ряда. Дополнительно выполняли дренирование мочевого пузыря цистостомическим дренажом [6].

Уретральный катетер удалялся на 28-й день после операции, и проводились урофлоуметрия, ретроградная и микционная цистоуретрография и оценка объема остаточной мочи [6].

Пациент 2

Больной Е., 1956 года рождения, около 10-и лет назад стал отмечать затрудненное мочеиспускание. При обследовании в поликлинике по месту жительства диагностирована гиперплазия простаты. Проводилась антибактериальная, противовоспалительная терапия, терапия α -адреноблокаторами с временным положительным эффектом. При обследовании в 2015 году была диагностирована стриктура луковичного отдела уретры, камень уретры. 30.11.2015г. в Клинике Урологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова выполнена уретроскопия, оптическая уретротомия, цистолитотрипсия, по данным которых на середине луковичного отдела определялась грубая рубцовая стриктура протяженностью 2 см, тяжело рассекаемая холодным ножом, за стриктурой определялось ладьевидное углубление, в просвете которого определялся конкремент размером до 1 см. Через месяц стал отмечать постепенное ухудшение мочеиспускания. При обследовании выявлен рецидив стриктуры уретры. Далее к врачам не обращался, не лечился. 15.05.2017г. в связи с выраженным нарушением мочеиспускания (Q_{max} – 1,0, Q_{avg} – 0,7) в клинике урологии выполнена лазерная уретротомия по поводу рецидива стриктуры луковично-мембранозного отдела уретры с эффектом. Через месяц пациент стал снова отмечать постепенное ухудшение мочеиспускания. Диагностирован рецидив стриктуры уретры. Пациент консультирован. Показана заместительная уретропластика. С пациентом проведена беседа. Предложены два принципиальных лечебных подхода: (1) заместительная уретропластика с

использованием слизистой оболочки щеки, либо (2) заместительная уретропластика с применением тканеинженерной конструкции с аутологичными клетками. Пациент остановил свой выбор на втором варианте. После подписания информированного согласия, 17.10.17 г., под местной анестезией, в условиях клиники урологии, амбулаторно, выполнен забор слизистой щеки (0,5x0,5 см) для выделения клеток. Осложнений и побочных эффектов отмечено не было. Пациент нуждался в госпитализации для восстановления адекватного мочеиспускания. Консультирован, госпитализирован в плановом порядке в Клинику Урологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова для оперативного лечения.

Техника операции. Была выполнена мышце/нервосберегающая дорсальная пластика луковичного отдела уретры с использованием конструктора на основе гибридной матрицы. Промежностным разрезом от корня мошонки до уровня на 2 см выше анального канала была рассечена кожа и подкожно-жировая клетчатка. Установлен ретрактор Scott. Была выделена переднебоковая поверхность бульбоспонгиозных мышц. Без пересечения бульбоспонгиозных мышц была выделена левая дорсолатеральная поверхность луковичного отдела уретры до границы с мембранозным отделом. Был проведен катетер Нелатона № 16 Ch по уретре и определен дистальный край стриктуры. Уретра была рассечена над катетером по дорсальной поверхности в проксимальном направлении скальпелем на протяжении 1,5 см, и наложены провизорные швы на атравматичной игле на края уретры. После чего был продолжен разрез уретры в проксимальном и в дистальном направлении на расстояние до 1,5 см от соответствующего края стриктуры и наложены провизорные швы на края уретры на расстоянии 1,5 см друг от друга. Были наложены три шва (викрил 4-0) на 11, 12 и 13 часах по дорсальной поверхности уретры по Varbagli. Была измерена длина по дорсальной поверхности уретры. Был извлечен конструктор на основе гибридной матрицы из транспортного контейнера и оптимизирован его размер и форма в соответствии с дефектом уретры. Фиксирование было осуществлено при помощи ранее установленных трех швов (викрил 4-0) на 11,12,13 часах по дорсальной поверхности уретры к дистальному краю разреза уретры. Три узловыми швами

(викрил 4-0) происходила фиксация края трансплантата к дистальному краю разреза уретры. Поверхность конструкта фиксировалась к подлежащей белочной оболочке полового члена единичными узловыми швами (викрил 6-0) в шахматном порядке. Было выполнено анастомозирование правого края рассечённой уретры с правым краем конструкта непрерывным швом (викрил 5-0). Был проведен в мочевого пузыря силиконовый катетер Фолея № 16Ch. Было выполнено анастомозирование левого края конструкта с левым краем рассеченной уретры непрерывным швом (викрил 5-0). Было выполнено послойное ушивание раны.

Уретральный катетер удалялся на 28-й день после операции, и проводились урофлоуметрия, ретроградная и микционная цистоуретрография и оценка объема остаточной мочи.

2.2. Анализ результатов

2.2.1. Результаты экспериментальных исследований

2.2.1.1. Характеристика монослойной и трехмерной культуры клеток буккального эпителия

Миграция эпителиальных клеток из фрагментов слизистой щеки отмечалась, как правило, не ранее, чем через 7–10 дней (Рисунок 2.1А). Первичная культура состояла из клеток с характерной морфологией «булыжной мостовой», монослой которых формировался за счет пролиферации отдельных клеток и коллективной миграции. Но случаев формирования колоний за счет единичных клеток не было отмечено. Для первичной культуры было характерно наличие большого количества клеток, которые не адгезировались к поверхности чашки Петри и предположительно являлись терминально дифференцированными эпителиальными клетками из поверхностных слоев, однако по мере смены среды они смывались (Рисунок 2.1Б). Ранее отмечалось, что поверхностные клетки слизистой оболочки ротовой полости, которые относительно легко можно

получить при полоскании рта или при помощи ватной палочки, представляют собой в основном популяцию высокодифференцированных эпителиальных клеток, которые плохо прикрепляются к поверхности культурального пластика и почти не пролиферируют. Такая культура может быть поддержана до 3 недель, но применима только для выделения мРНК, например, для проведения генетического анализа [110]. Так, в культуре происходило разделение клеток по их дифференцировочному потенциалу, и прикрепившиеся клетки представляли собой менее дифференцированную популяцию из базальных слоев эпителия, что соответствует стволовой нише *in vivo* [33].

Клетки пассировались при достижении 100% конfluence культуры. Для пассирования были протестированы две методики: 1) клетки в 0,25% растворе трипсина переносились в чашку Петри большего диаметра; 2) суспензию клеток помещали в чашку Петри в высокой плотности в капле объемом около 20 мкл и добавляли питательную среду после их адгезии [198]. Однако обе методики были малоэффективными из-за высокой чувствительности клеток к обработке трипсином, а низкая концентрация инокулята приводила к гибели большинства клеток и переходу оставшихся в мезенхимный фенотип. Так, нами была предложена более щадящая и длительная обработка, при которой двукратно использовалась смесь трипсина и версена – клеточную суспензию помещали в пробирку, фермент ингибировали путем добавления сыворотки и центрифугировали. Сформировавшийся осадок ресуспендировали в питательной среде и помещали клетки в высокой плотности в чистые чашки Петри того же диаметра, что и исходная. При высевании в высокой плотности клетки сохраняли эпителиальную морфологию и уже через 24 часа формировали плотные островки на поверхности культурального пластика (Рисунок 2.1В). Не прикрепившиеся клетки смывались при смене питательной среды после предварительной промывки фосфатно-солевым буфером [33].

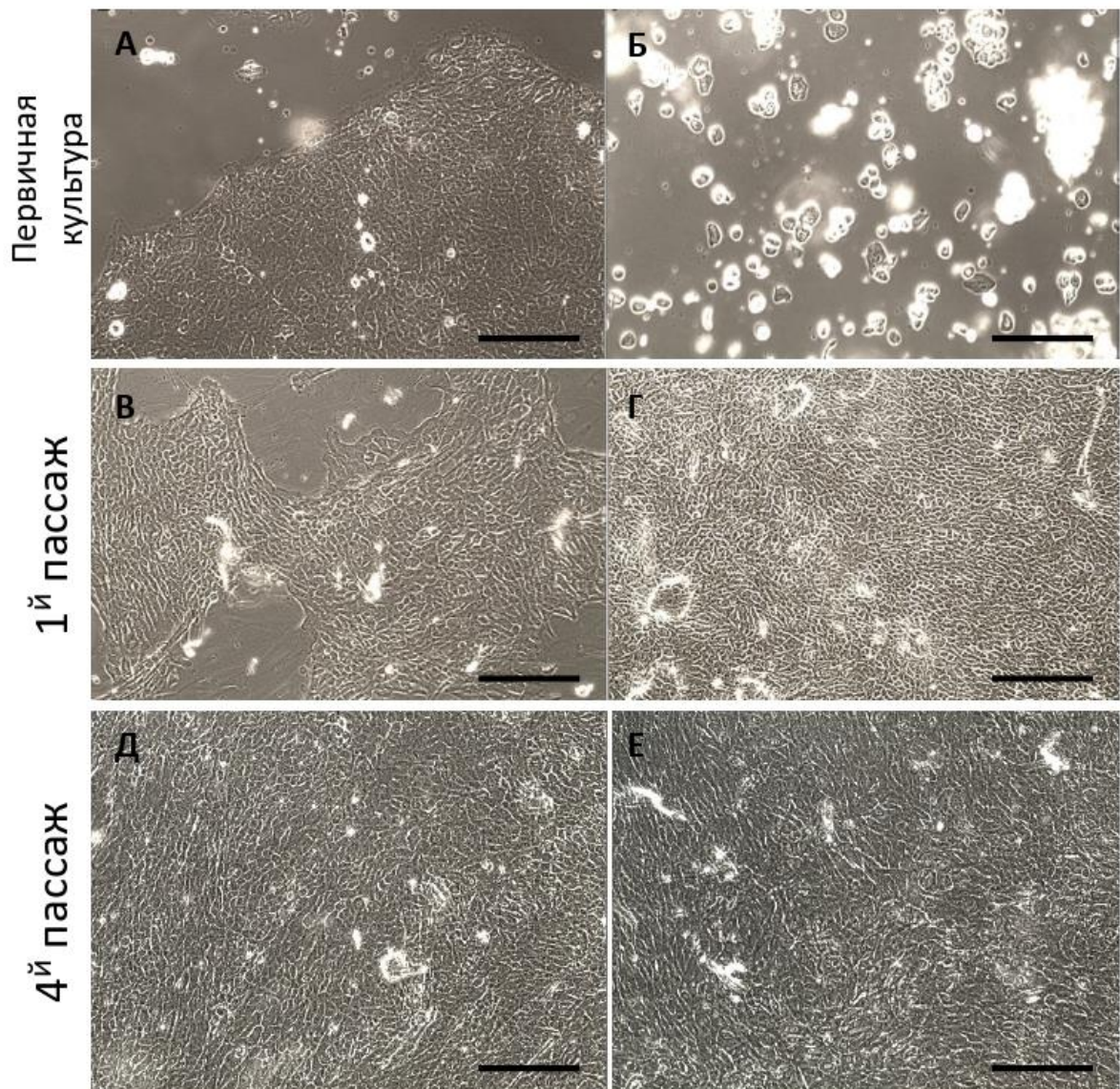


Рисунок 2.1 – Клетки буккального эпителия (первичная культура и культуры первого и четвертого пассажей): А – мигрирующий край эпителиального пласта;

Б – неприкрепившиеся клетки; В – островки эпителия через 24 часа;

Г – клеточный монослой с характерной морфологией «булыжной мостовой»;

Д – клеточный монослой с характерной морфологией «булыжной мостовой»;

Е – появление поляризованных клеток. *Фазово-контрастная микроскопия.*

Масштабный отрезок 200 мкм [33]

Клетки первого пассажа имели типичную морфологию «булыжной мостовой» (Рисунок 2.1Г) и экспрессировали на поверхности цитоплазматической мембраны белок плотных межклеточных контактов ZO-1 и в цитоплазме белок промежуточных филаментов цитоскелета цитокератин 19 (Рисунок 2.2) [33]. При их иммунофенотипировании было установлено, что большинство клеток имели маркер CD326 – молекула клеточной адгезии эпителия (EpcAM) (Таблица 2.1). Менее 10% клеток экспрессировали маркер CD56 – нейрональная молекула клеточной адгезии (NCAM) – характерный для клеток с мезенхимным фенотипом. Маркер CD44 – интегральный клеточный гликопротеин – был выявлен у четверти исследованных клеток. При анализе экспрессии маркеров CD73, CD90 и CD105, входящих в панель для описания МСК, было выявлен низкий уровень. Клетки также почти не экспрессировали маркеры CD14, CD34 и CD45, характерные для клеток гемопоэтического и лимфоцитарного ряда. Таким образом, клетки, выделенные из буккального эпителия, на первом пассаже имели признаки эпителиального фенотипа. В культуре наблюдали относительно высокий уровень экспрессии маркера CD44, участвующего в миграции и взаимодействии клеток и матрикса [170]. Это может быть объяснено коллективной миграцией пласта, при которой не разрушались межклеточные контакты [33].

Пассирование культуры буккального эпителия вело к снижению количества клеток, имеющих признаки эпителиального фенотипа. Так несмотря на то, что в культуре 4 пассажа большинство клетки имели характерную морфологию (Рисунок 2.1Д), появлялись переходные клетки (Рисунок 2.1Е) [33]. При этом между клетками формировались эпителиальные адгезивные E-кадгерин+ межклеточные контакты, маркер мезенхимных контактов N-кадгерин локализовался в ядрах клеток (Рисунок 2.2) [33].

Таблица 2.1 – Иммунофенотип клеток буккального эпителия первого и четвертого пассажей [33].

Маркер	Первый пассаж, %	Четвертый пассаж, %
CD14	10,1	5,3
CD34	0,7	0,2
CD44	26,4	90,8
CD45	0,8	1,0
CD56	9,9	84,6
CD73	15,5	57,9
CD90	18,5	69,1
CD105	2,1	6,8
CD326	93,7	49,4

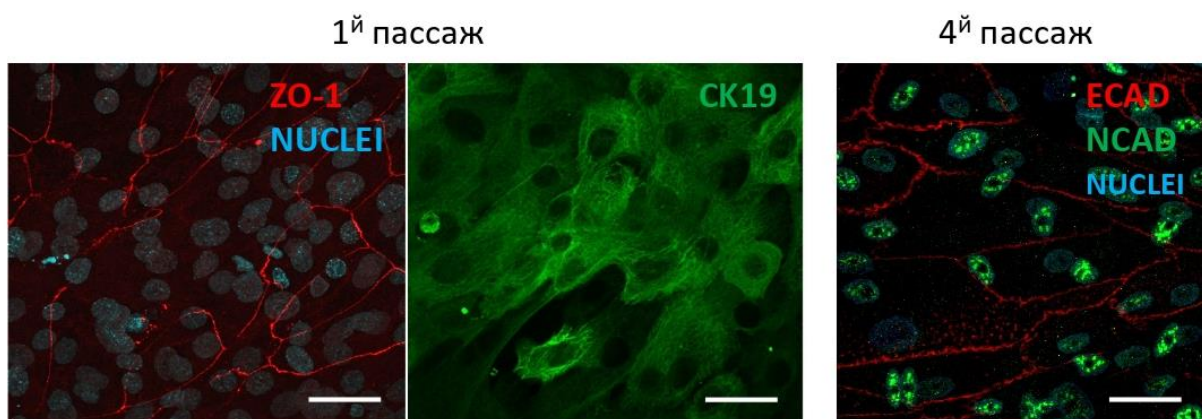


Рисунок 2.2 – Клетки буккального эпителия первого и четвертого пассажа: клетки первого пассажа – маркер плотных контактов ZO-1 (красный), белок промежуточных филаментов эпителиальных клеток цитокератин 19 (СК 19) (зеленый); клетки четвертого пассажа – E-кадгерин (красный), N-кадгерин (зелёный). Ядра окрашены красителем Ноеchst 33258. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Масштабный отрезок 10 мкм [33]

Отмеченные наблюдения совпадали с результатами анализа, полученными с помощью проточного цитофлуориметра, согласно которым доля CD326+ клеток резко уменьшалась, а CD56+, CD90+, CD73+ и CD44+ - значительно возрастала; экспрессия эндоглина (CD105) была характерна для менее 10% клеток четвертого пассажа (Таблица 2.1). Так, выявленные изменения свидетельствуют об эпителио-мезенхимном переходе и появлении популяции с эпителио-мезенхимным фенотипом [33].

При формировании сфероидов из клеток буккального эпителия было выявлено, что часть клеток, которые подверглись апоптозу, не участвовали в сфероидогенезе и располагались вокруг формируемых агрегатов (Рисунок 2.3). Как видно из графика компактизации сфероидов, данный процесс можно разделить на две стадии. На первой стадии (первые 24 часа) происходила самая значительная компактизация благодаря быстрому формированию межклеточных контактов и «невключению» апоптоз-неустойчивых клеток; на второй – компактизация менее выражена, что возможно обусловлено протеканием изменений внутренней структуры [33]. Так, в течение 7 суток при трехмерном культивировании выжившие после ферментативной обработки клетки буккального эпителия формировали сфероид, поверхность которого была представлена уплощенными и округлыми клетками, покрытыми большим количеством ворсинок, а внутренняя зона – только округлыми (Рисунок 2.4) [33].

Иммуноцитохимический анализ показал, что как между поверхностными, так и между внутренними клетками сфероидов формировались эпителиальные адгезивные E-кадгерин+ межклеточные контакты (Рисунок 2.4 В,Д), в то время как плотные межклеточные контакты (ZO1+) формировались между некоторыми поверхностными клетками (Рисунок 2.4 Е). N-кадгерин экспрессировался только в ядрах поверхностных и внутренних клеток (Рисунок 2.4 Г,Д), то есть функциональных контактов мезенхимного типа не формировалось. В клетках на поверхности также отмечалась экспрессия цитокератина 19, характерного для эпителиальных клеток, и отсутствовала –маркера фибробластов S100A4, синтез белка внеклеточного матрикса мезенхимных клеток – фибронектина – не происходил [33].

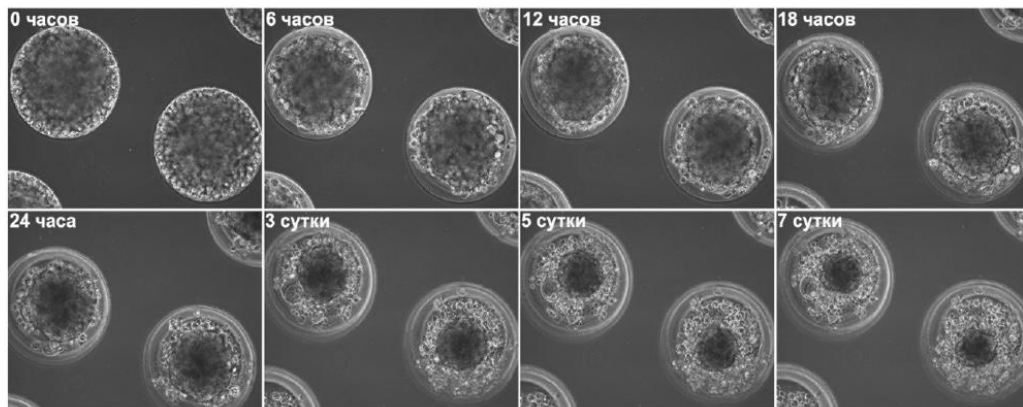


Рисунок 2.3 – Динамика сфероидогенеза при использовании клеток
буккального эпителия четвертого пассажа.

Цейтраферная микроскопия, фазовый контраст [33]

Отличительной особенностью сфероидов является дормантность, то есть покоее состояние клеток – лишь единичные клетки в составе сфероидов находились в активной фазе клеточного цикла, что было показано путем окрашивания сфероидов антителами к маркеру пролиферации Ki67 (Рисунок 2.5А-В). Это происходит, возможно, за счет формирования устойчивых E-кадгерин+ межклеточных контактов и отсутствия условий, стимулирующих миграцию и изменения в цитоскелете, поскольку в условиях адгезии к поверхности стимулируют клеточную пролиферацию (Рисунок 2.5Г-Е).

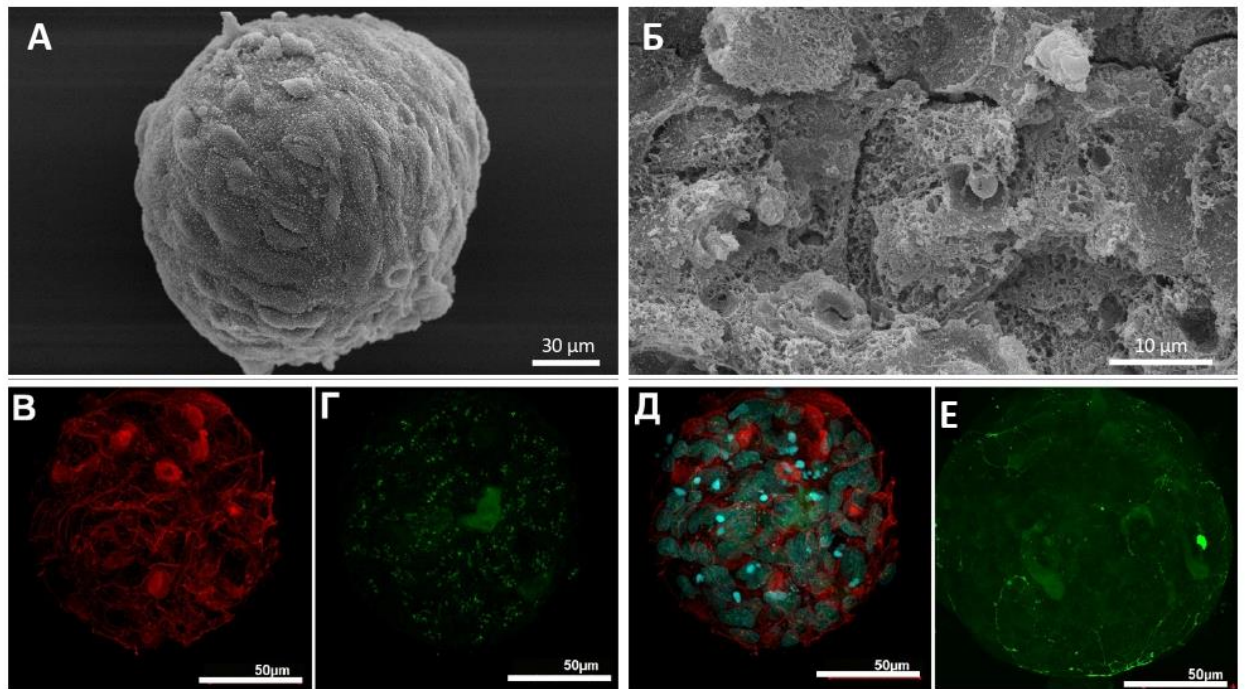


Рисунок 2.4 – Структура сфероида из клеток буккального эпителия 4 пассажа (7 дней). А – поверхность; Б – внутренняя структура; В – адгезивные E-кадгерин-положительные межклеточные контакты; Г – N-кадгерин локализовался только в ядрах клеток; Д – совмещение каналов, ядра окрашены Ноеchst 33258; Е – плотные ZO1-положительные межклеточные контакты.
А, Б – растровая электронная микроскопия; В-Е – лазерная сканирующая конфокальная микроскопия [33]

Для оценки жизнеспособности клеток в составе сфероидов и уровня оксигенации использовали прижизненное окрашивание сфероидов красителями SYTOX® Green (Invitrogen) и флуоресцентный детектор НАД(Ф)Н [218]. Результаты показали, что в центральной зоне сфероидов, по сравнению с периферией присутствует градиент НАДФН (Рисунок 2.6 А,В), что коррелирует с данными о том, что в центральной зоне сфероидов развивается гипоксия. Тем не менее, в центральной зоне присутствовали лишь единичные погибшие клетки (Рисунок 2.6 Б,В), что говорит о высокой жизнеспособности полученных сфероидов.

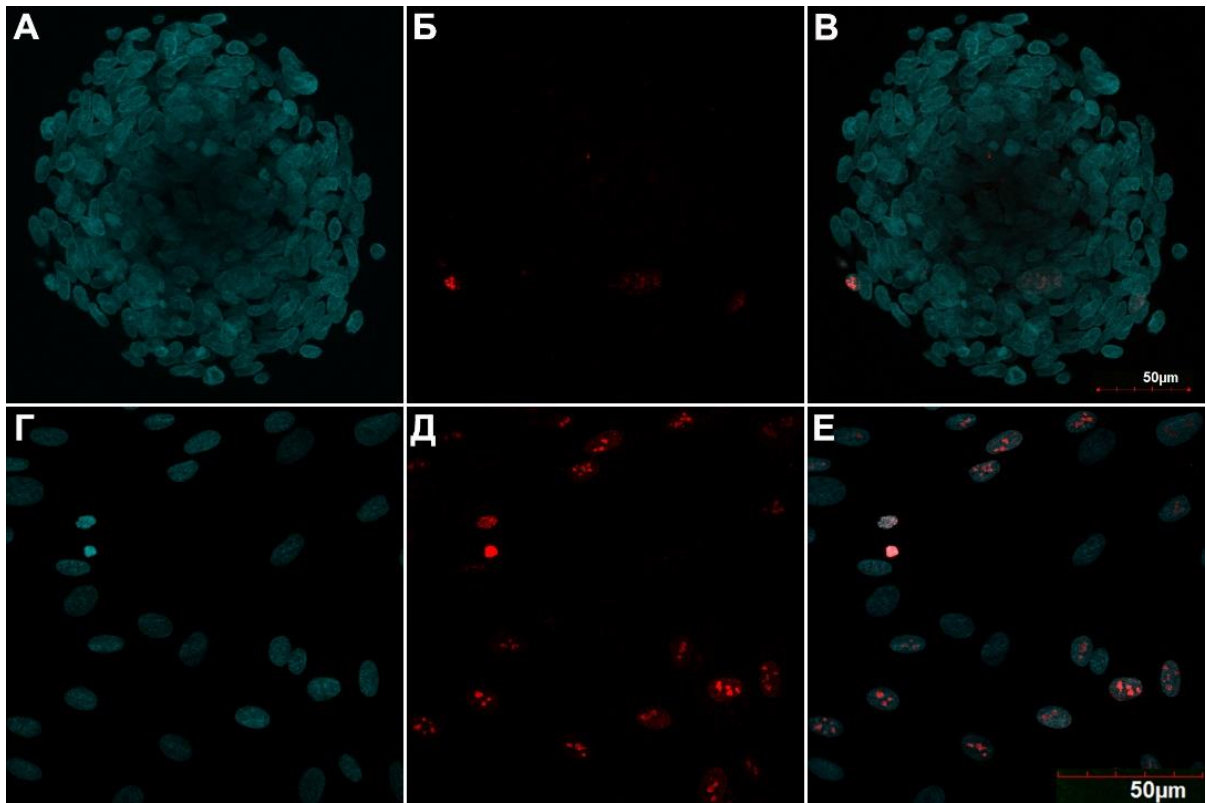


Рисунок 2.5 – Присутствие клеток в активной фазе клеточного цикла, окрашивание антителами к Ki67 7-дневных сфероидов (А-В) и клеток, мигрирующих из сфероида в условиях вторичной адгезии к субстрату (Г-Д). А, Г – ядра окрашены Hoechst 33258; Б, Д – окрашивание антителами к Ki67; В, Е – совмещение каналов. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия.

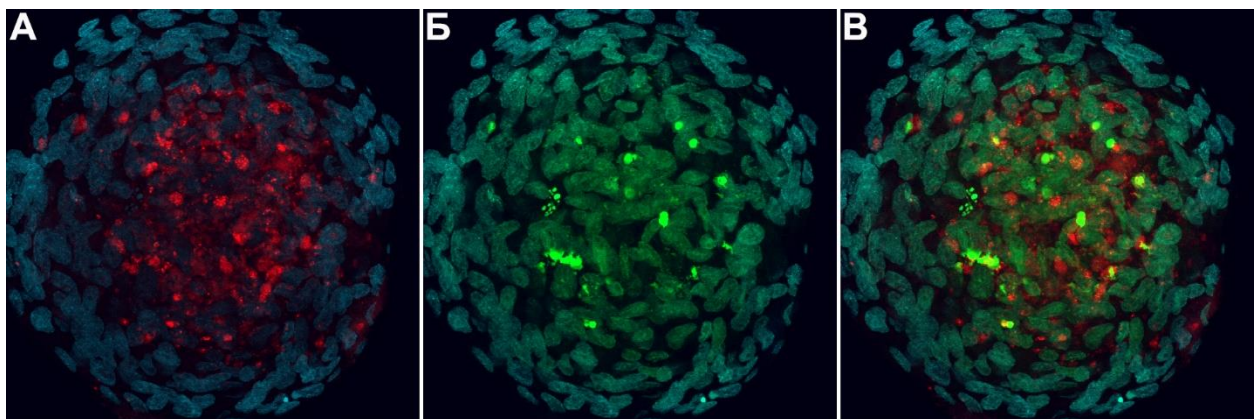


Рисунок 2.6 – Окрашивание индикатором НАД(Ф)Н (А) и красителем SYTOX® Green, проникающим лишь в погибшие клетки (Б). В – совмещение каналов. Ядра окрашены Hoechst 33258. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

2.2.1.2. Характеризация матриц и формирование конструктов на их основе

Децеллюляризованная артерия представляет собой бесклеточный экстрацеллюлярный матрикс, имеющий неоднородную структуру и состоящий из волокон коллагена с сохраненной надмолекулярной структурой, и эластина в виде внутренней и наружной мембраны и средней оболочки. Результаты гистологического исследования подтвердили высокую эффективность децеллюляризации: установлено отсутствие клеток и их фрагментов [26]. При заселении децеллюляризованной артерией суспензией клетки буккального эпителия прикреплялись к поверхности, пролиферировали и формировали эпителиальную выстилку (Рисунок 2.7). МТТ-тест не выявил значимой цитотоксичности, так как наименьшая установленная жизнеспособность клеток была выше 70% [32].

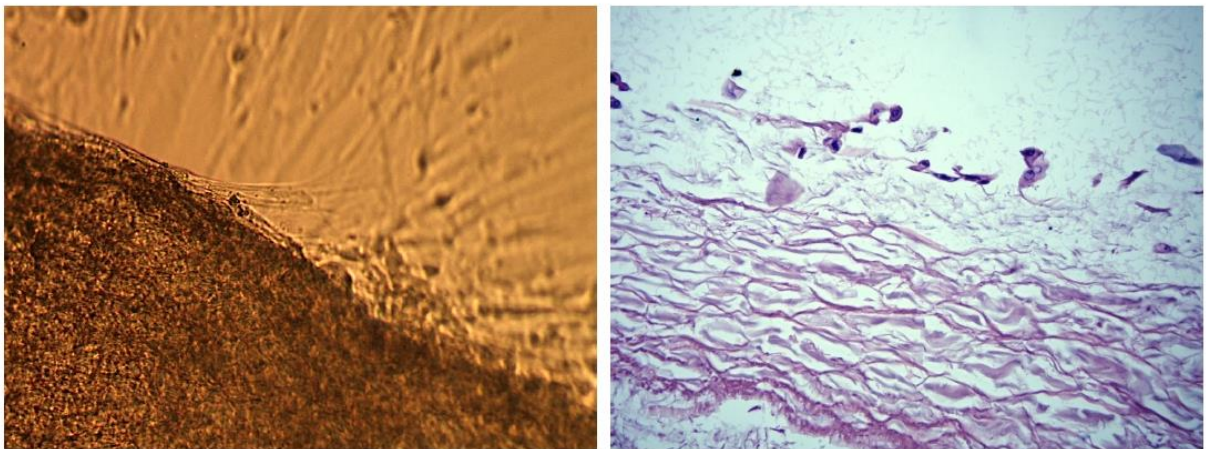


Рисунок 2.7 – Децеллюляризованная артерия, заселенная клетками буккального эпителия: световая микроскопия свежего (справа) и фиксированного (слева) фрагмента

Изготовленная гибридная матрица состояла из трех слоев: внутренний слой был представлен сеткой волокон полилактогликолида, а внешние – сшитым глутаровым альдегидом коллагеном (Рисунок 2.8). Слои коллагена имели шероховатую поверхность с многочисленными веретеноподобными порами. Средняя толщина матрицы составила 350 мкм. Волокна полилактогликолида

обеспечивали механическую поддержку и легкость манипулирования с готовым материалом, а покрытие коллагеном – клеточную адгезию и пролиферацию. Определение токсичности осуществлялось с помощью Live/Dead окрашивания и МТТ-теста. Результаты показали, что большинство мезенхимных стромальных клеток было прикреплено и равномерно распределено на поверхности матрицы через 72 часа после инокулирования (Рисунок 2.8). Через 24 часа мертвые клетки не наблюдались, а через 72 часа – лишь единичные. МТТ-тест показал отсутствие значимой цитотоксичности гибридной матрицы, так как наименьшая установленная жизнеспособность клеток была выше 70% (Рисунок 2.9). Выявлено, что для гибридной матрицы характерны следующие показатели: модуль Юнга – $275,02 \pm 13,42$ МПа, максимальное напряжение – $6,25 \pm 0,61$ МПа, удлинение при разрыве – $4,12 \pm 0,74\%$. Определение микромеханических свойств гибридной матрицы с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) показало, что значение модуля Юнга для испытываемых образцов матрицы составило $E=10,8 \pm 1,4$ ГПа [33].

При заселении суспензией клеток буккального эпителия децеллюляризованной стенки артерии было показано гистологически, что внутренняя поверхность была выстлана клетками с характерной эпителиальной морфологией [32]. Однако клеточная плотность была достаточно низкой, многослойная эпителиальная выстилка не формировалась, что в целом трудно достижимо при использовании клеточной суспензии [201]. Как было показано выше, клетки буккального эпителия способны формировать жизнеспособные сфероиды с функциональными межклеточными контактами и клеточной плотностью, близкой к нативным тканям. В связи с этим в дальнейших экспериментах по формированию конструкта на основе гибридной матрицы было принято решение использовать сфероиды.

Предварительно нами была установлена их способность к реактивации при помещении на адгезивную поверхность из дормантного состояния. Так, после инокулирования клетки буккального эпителия из сфероидов коллективно мигрировали и имели эпителиальную морфологию; не было обнаружено

единичных мигрирующих клеток (Рисунок 2.10 А, Б). Тем не менее, по мере отдаления клетки лидирующего края начинали приобретать признаки мезенхимного фенотипа. При миграции клетки сохраняли межклеточные контакты и формировали многослойную выстилку; вблизи от очага миграции они имели характерную для эпителиального фенотипа морфологию (Рисунок 2.10 В, Г). Между коллективно мигрирующими клетками формировались E-кадгерин+ межклеточные контакты (Рисунок 2.10 Д, Ж), экспрессию N-кадгерина наблюдали только в ядрах (Рисунок 2.10 Е, Ж). Через 6 дней клетки формировали плотную многослойную выстилку [33].

При инокулировании гибридной матрицы сфероидами и дальнейшем культивировании в течение 7 дней было установлено с помощью сканирующей электронной микроскопией, что формировалось несколько слоев клеток с характерным эпителиальным фенотипом. Иммуноцитохимический анализ подтвердил большое количество пролиферирующих клеток и присутствие эпителиальных E-кадгерин+ межклеточных контактов. Из-за высокой клеточной плотности в сфероидах и высокой плотности сфероидов на матрице миграция клеток была ограничена, что дополнительно способствовало поддержанию эпителиального фенотипа клеток [33]. Ранее такой подход был описан только в работе нашего коллектива [33]. В ряде исследований проблему клеточной плотности было предложено решить с помощью техники клеточных пластов. В частности, с ее использованием Mikami и др. [219] сформировал эквивалент уретры, состоящий из двух слоев эпителиальных и мышечных клеток. Однако такой подход обеспечивает только сохранение сформированных межклеточных контактов и их послойное расположение в конструкте, предложенный же нами позволяет восстановить эпителиальный фенотип, что важно при необходимости наработки большого количества клеток.

Гибридная матрица

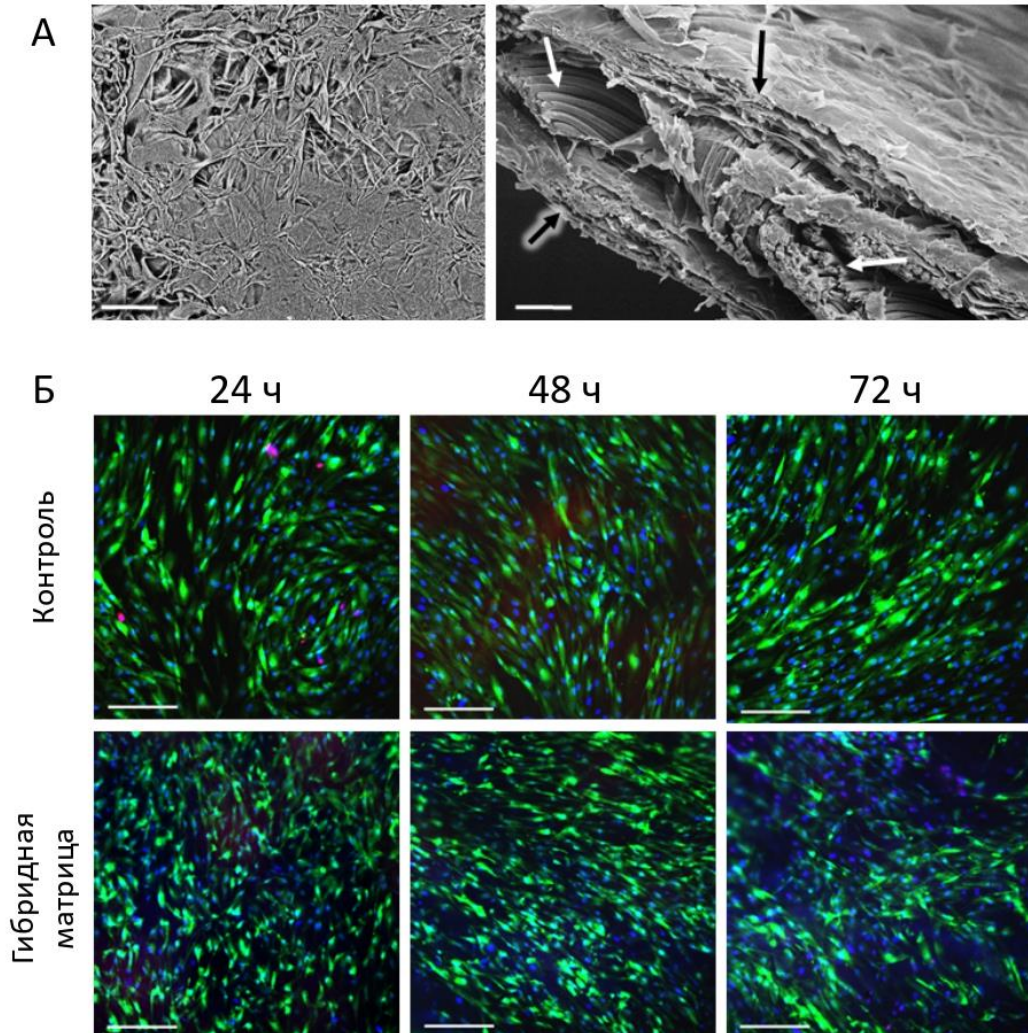


Рисунок 2.8 – Гибридная матрица: А – сканирующая электронная микроскопия (вид сверху и на срезе (масштабный отрезок 50 мкм). Белыми стрелками отмечены волокна полилактогликолида, черными – коллаген. Б – мезенхимные стромальные клетки на поверхности матрицы: кальций АМ (зеленая флуоресценция) – живые клетки, Hoechst 33342 (синяя флуоресценция) – ядра клеток, пропидия йодид (красная флуоресценция) – мертвые клетки. В качестве контроля использовалась монослойная культура (масштабный отрезок 100 мкм).

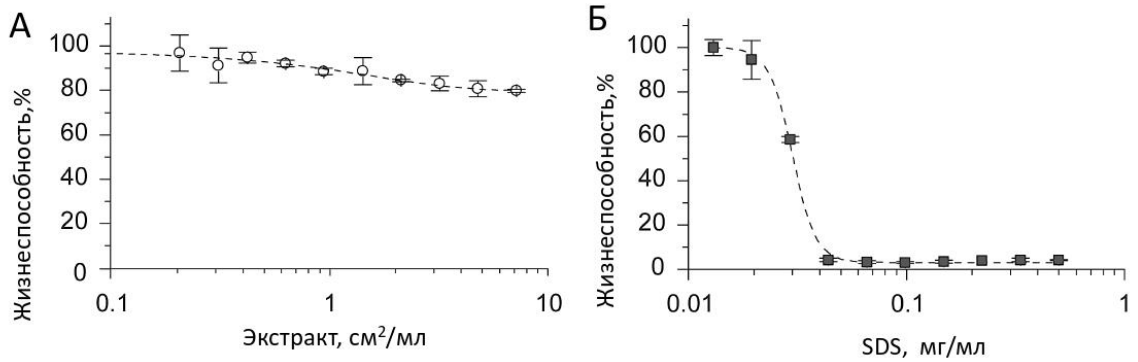


Рисунок 2.9 – Анализ цитотоксичности гибридной матрицы (А) с помощью МТТ-теста. SDS (Б) использовался в качестве положительного контроля

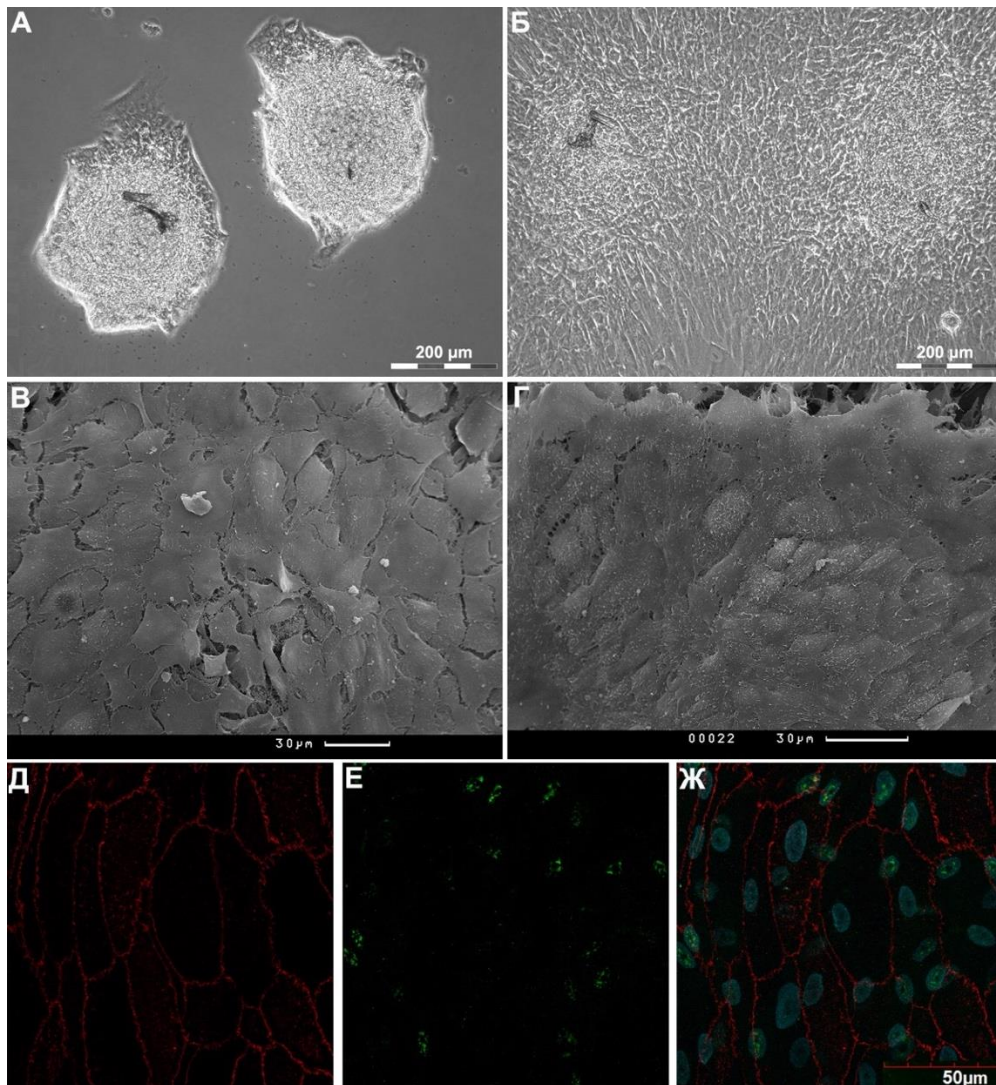


Рисунок 2.10 – Адгезия сфероидов и миграция клеток через 12 часов (А) и 7 суток (Б-Г). Между мигрирующими клетками формировались адгезивные E-кадгерин⁺ контакты (Д,Ж), N-кадгерин локализовался в ядрах клеток (Е,Ж). А, Б – растровая электронная микроскопия; В-Е – лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

2.2.2. Результаты доклинических исследований

Предварительно (перед уретропластикой) была установлена тканевая реакция на оба материала (децеллюляризованная артерия и гибридная матрица) в модели подкожной имплантации у крыс.

При испытании децеллюляризованной артерии с помощью гистологического анализа (Рисунок 2.11) выявлено, что происходило усиление разрыхления пучков коллагена в результате отека окружающих тканей и отмечалось наличие мелких очагов воспалительной инфильтрации на 7-й день после имплантации. Формирование капсулы из соединительной ткани не происходило; однако была обнаружена слабая лимфомакрофагальная реакция с участием небольшого количества нейтрофилов. К 30-му дню имплантированный фрагмент децеллюляризованной артерии был окружен капсулой из соединительной ткани и имел признаки частичной деградации наружных слоев, заключающиеся в их макрофагальной резорбции. Через 60 дней материал не был полностью резорбирован: отмечалось только наличие тонкого фрагмента с макрофагальной и лимфоцитарной инфильтрацией. К 90-му дню имплантированная децеллюляризованная артерия полностью деградировала. Так, полученные результаты позволяют говорить, что испытуемый материал обладает очень слабой биоактивностью в виду низкой иммуногенности и довольно длительным периодом полной биодеградации [32].

При подкожной имплантации фрагмента гибридной матрицы (Рисунок 2.12 и 2.13) было показано, что через 10 дней слои коллагена деградировали с замещением грануляционной тканью; ее клетки и сосуды прорастали через поры в сетке из волокон полилактогликолида. К 30-му дню за счет фиброзирования соединительной ткани нити полимера сближались и частично были резорбированы макрофагами и гигантскими клетками инородных тел. К 60-му дню отмечалось усиление фиброзирования грануляционной ткани, волокна полилактогликолида отсутствовали лишь через 90 дней. Таким образом, как и децеллюляризованная артерия, гибридная матрица обладает низкой иммуногенностью и длительной резорбцией [13].

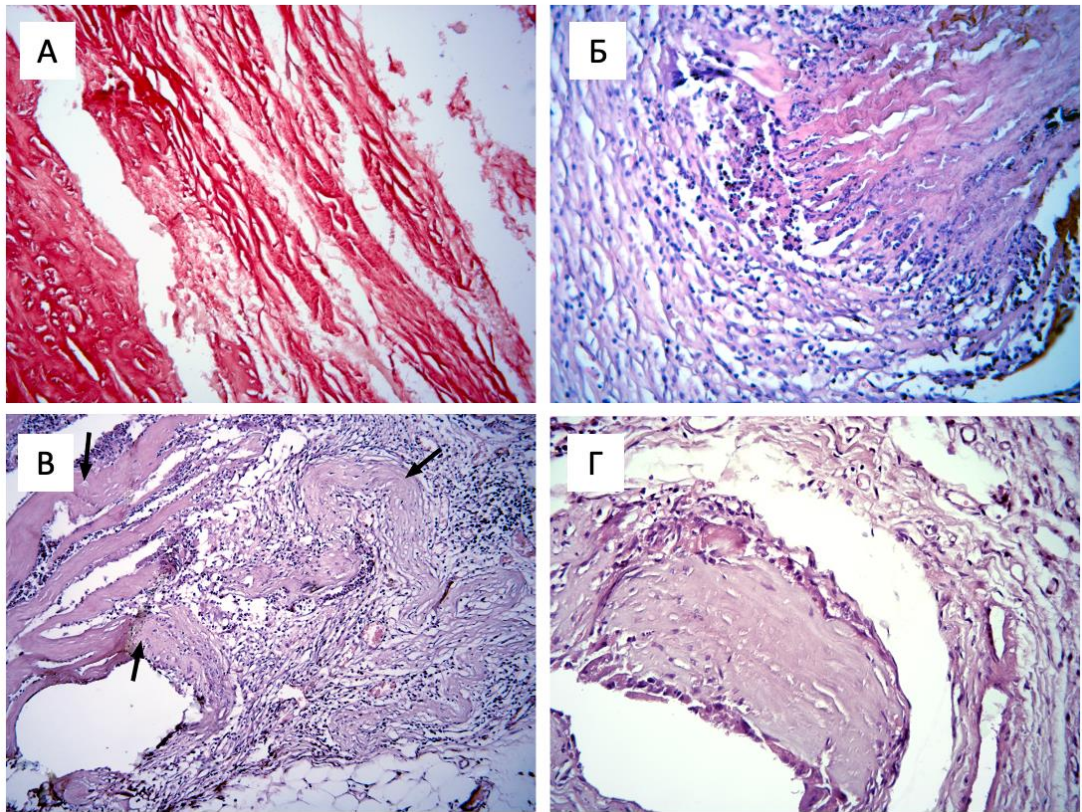


Рисунок 2.11 – Подкожная имплантация фрагментов децеллюляризованной артерии у крыс: А – 7 дней после операции, комбинированная окраска пикрофуксином и фуксилином, $\times 200$; Б – 30 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$; В – 60 дней после операции (стрелками обозначены остатки имплантата), окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$; Г – 90 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$

При проведении заместительной уретропластики с использованием децеллюляризованной артерии у кроликов (Рисунок 2.14) результаты гистологического анализа показали, что деградация материала через 10–30 дней была незначительной, по краям. Капсула из соединительной ткани формировалась к 30-му дня вокруг имплантированного фрагмента и отделялась от его наружной поверхности небольшим пространством. Через 10 дней после операции отмечалась миграция эпителиальных клеток со стороны близлежащих тканей, формирующих эпителиальный пласт с характерными признаками уроэпителия. Через 60 дней внутренняя поверхность была полностью выстлана сформированным уроэпителием, а децеллюляризованная артерия деградировала и была инфильтрирована [32].

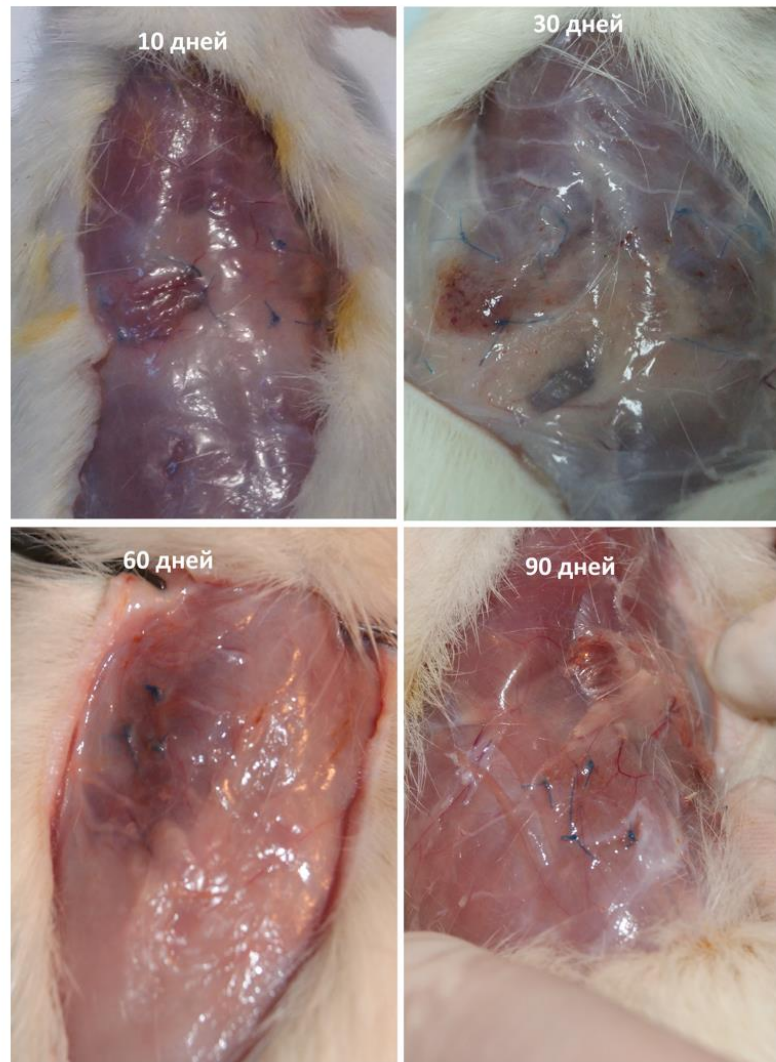


Рисунок 2.12 – Внешний вид места имплантации фрагментов гибридной матрицы у крыс через 10, 30, 60 и 90 дней

Результаты уретроцистографии (Рисунок 2.15) показали, что спустя 1 месяц зона имплантации хорошо обнаруживается, просвет мочеиспускательного канала сохраняется, затеков контрастного вещества не отмечается, что свидетельствует о приживлении импланта. Уретрограммы 1 и 3 месяца послеоперационного периода не имели значимых отличий. Однако при анализе результатов исследования через 6 месяцев отмечалось формирование дивертикула в зоне имплантации при сохранении просвета уретры. Способность к самостоятельному мочеиспусканию восстанавливалась у всех животных с момента удаления катетера и до конца периода наблюдения. Признаки облитерации просвета мочеиспускательного канала не были установлено [32].

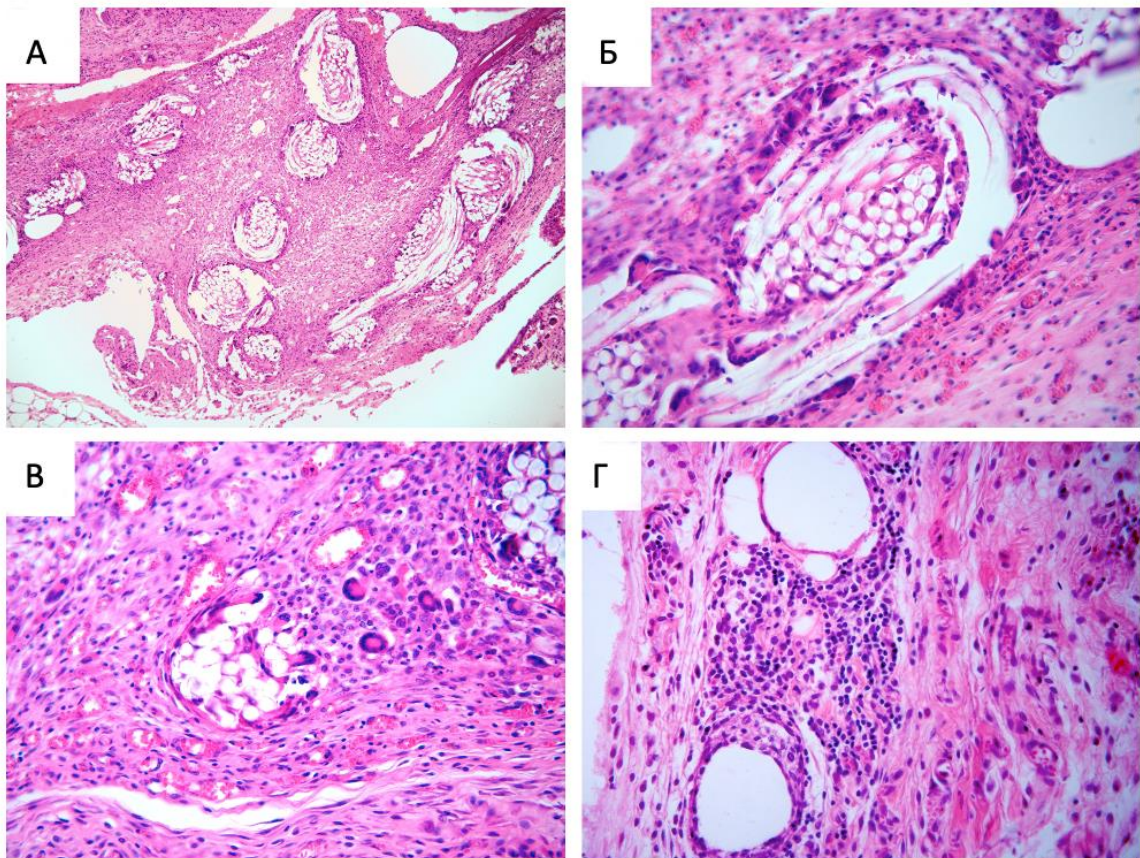


Рисунок 2.13 – Подкожная имплантация фрагментов гибридной матрицы у крыс: А – 10 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 100$; Б – 30 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$; В – 60 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$; Г – 90 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$

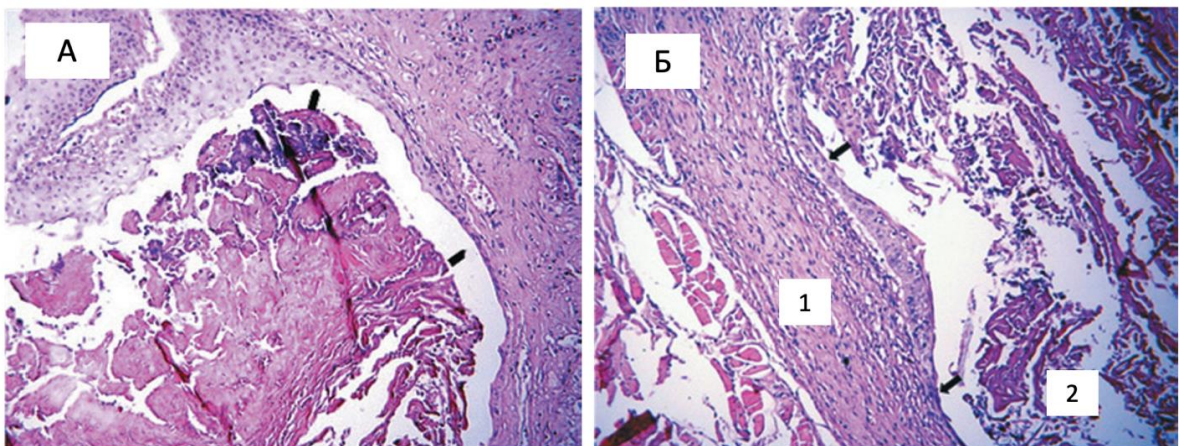


Рисунок. 2.14 – Эффективность реконструкции дефекта уретры с помощью децеллюляризованной артерии при заместительной уретропластике у кроликов: А – 10 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$; Б – 60 дней после операции, окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$

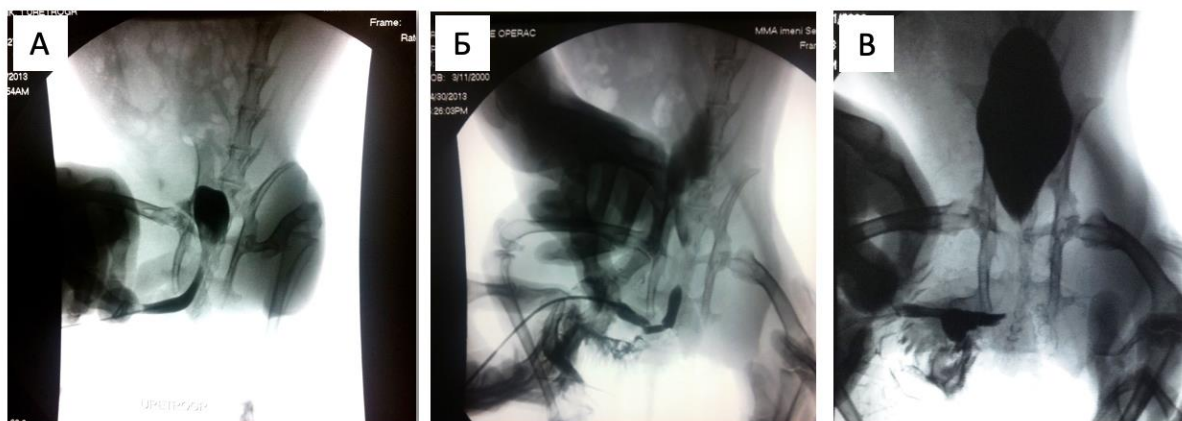


Рисунок. 2.15 – Уретрограммы кроликов через 1 месяц (А), 3 месяца (Б) и 6 месяцев (В) после проведения заместительной уретропластики с использованием децеллюляризованной артерии

При проведении заместительной уретропластики с использованием гибридной матрицы у кроликов гистологическое исследование выявило (Рисунок 2.16), что через 10 дней стенка интактной уретры, примыкающей к импланту, не имела изменений и состояла из переходного уротелия, собственной пластинки слизистой оболочки, подслизистой основы, относительно толстого слоя плотной соединительной ткани, мышечного слоя и кавернозного тела. Остатки слоя коллагена располагались местами среди фибрина в виде фуксинофильных волокнистых структур. Так, он почти полностью деградировал за исключением отдельных небольших фрагментов со стороны просвета. В зоне имплантации со стороны просвета были обнаружены нити полилактогликолида, между которыми откладывался фибрин, скапливались нейтрофилы, большинство из которых были разрушены, макрофаги и единичные гигантские клетки инородных тел. Признаков резорбции нитей полимера отмечено не было. Снаружи от фибринового слоя выявлено локальное формирование грануляционной ткани, состоящей из многочисленных кровеносных сосудов капиллярного типа, тяжей фибробластов и фуксинофильных коллагеновых волокон. К 30-му дню не было обнаружено фрагментов имплантированного материала, а внутренняя поверхность зоны имплантации (кроме середины) выстлана переходным недифференцированным уротелием, расположенным на рыхлой соединительной ткани с многочисленными сосудами и очагами инфильтрации лимфоцитами и макрофагами. Сформированная

соединительная ткань имела структуру, близкую к структуре собственной пластинки слизистой оболочки в нативной уретре. У одного из животных было отмечено наличие более зрелого эпителия и подлежащей соединительной ткани. К 60-му дню внутренняя поверхность в зоне имплантации была выстлана более дифференцированным эпителием, имеющим характерное строение. Подлежащая соединительная ткань имела также структуру, близкую к нативной собственной пластинке слизистой оболочки, и сосочки [31; 85].

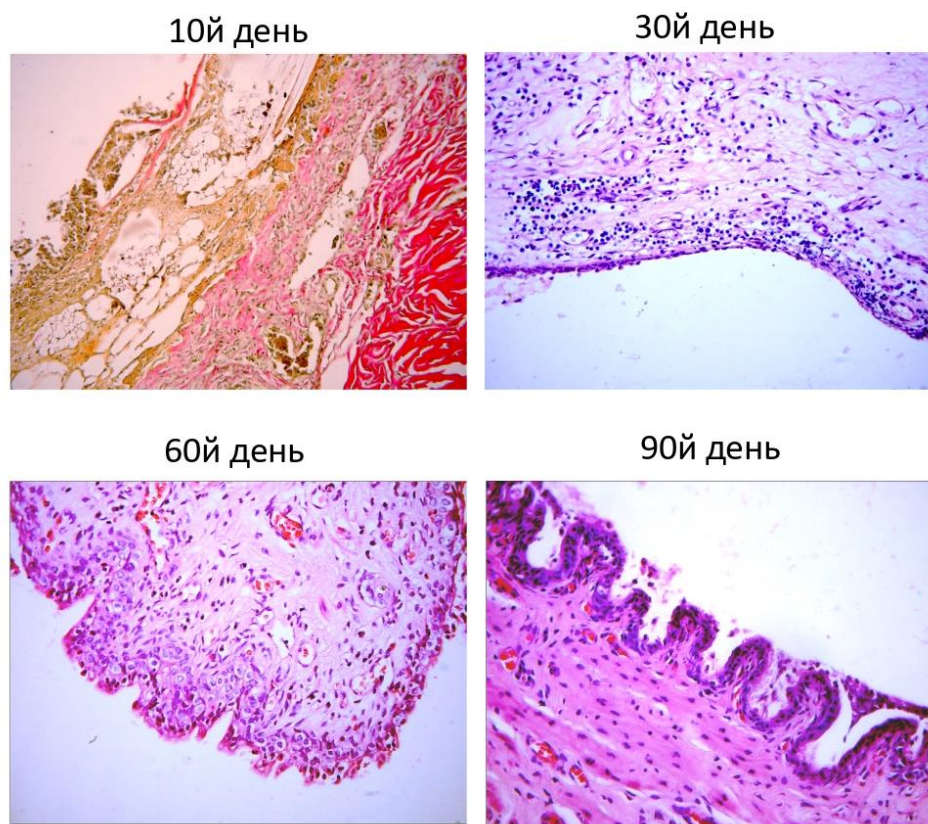


Рисунок. 2.16 – Эффективность реконструкции дефекта уретры с помощью гибридной матрицы при заместительной уретропластике у кроликов: 10-й день – окрашивание по Ван Гизону, увеличение $\times 200$, 30-й, 60-й, 90-й день – окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение $\times 400$

Анализ результатов уретрографии показал (Рисунок 2.17), что через 7 дней после операции не было выявлено затеков контрастного вещества, а область фиксации не обнаруживалась. К 90-му дню только у одного животного была выявлена стриктура, однако ни у одного кролика не было отмечено формирование

дивертикула уретры. Так, можно сделать заключение, что, согласно полученным результатам, гибридная матрица превосходит децеллюляризованную артерию [31; 85].

До операции



После операции

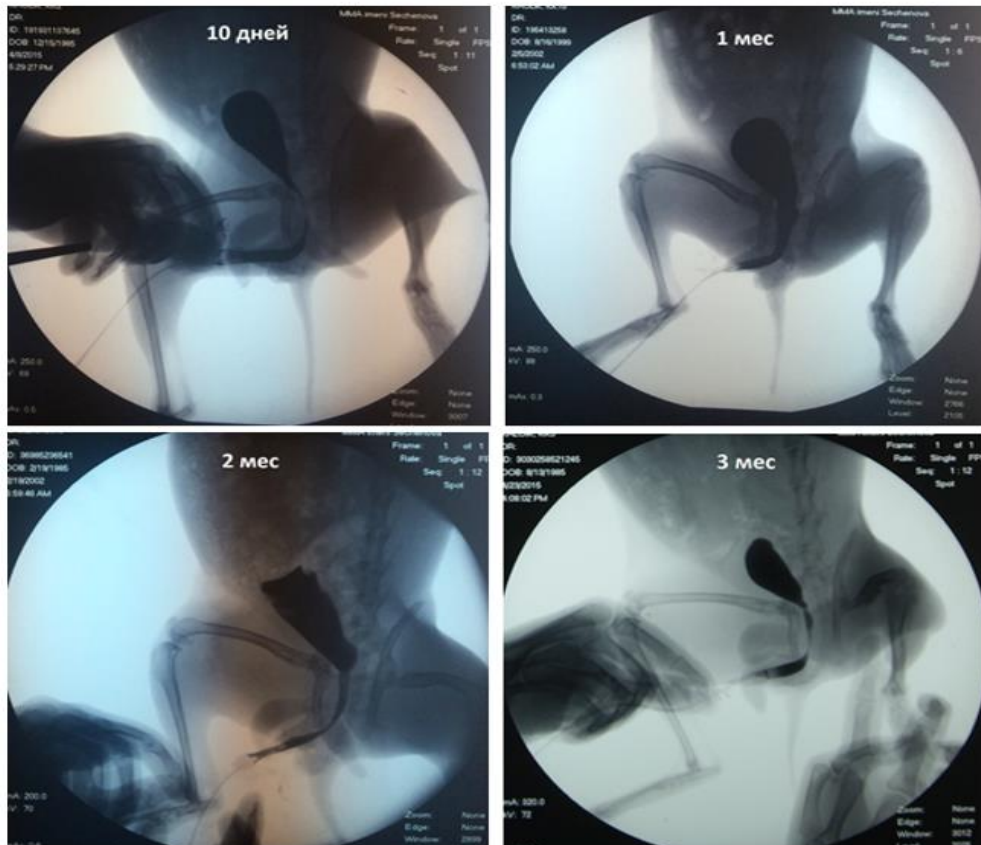


Рисунок. 2.17 – Уретрограммы кроликов до оперативного вмешательства и через 10 дней, 1 месяца, 2 месяца и 3 месяца после имплантации гибридной матрицы

2.2.3. Результаты клинических исследований

Разработанный конструкт на основе децеллюляризованной артерии, заселенной суспензией аутологичных клеток буккального эпителия, был имплантирован Пациенту Б. (Рисунок 2.18). В послеоперационном периоде особенностей не было выявлено. При проведении ретроградной уретрографии и микционной цистоуретрографии не обнаружено в зоне операции стриктур и затеков контрастного вещества. Максимальная скорость мочеиспускания была 24,6 мл/с, средняя – 16,3 мл/с при объеме 132 мл без остаточной мочи. Через 4 месяца после операции был выявлен рецидив стриктуры уретры и проведены уретроскопия и оптическая уретротомия. Результаты уретроскопии показали, что рецидив расположен вне зоны имплантации конструкта, а именно на границе его дистальной части и нативной уретры. Затем на протяжении 8 месяцев было выполнено дважды бужирование из-за снижения интенсивности струи мочи. Через год после операции был диагностирован рецидив стриктуры луковичного отдела уретры протяженностью 0,5 см, включая зону облитерации. Была проведена повторная операция – иссечение суженного участка уретры, уретроуретральный анастомоз (операция Хольцова). В послеоперационном периоде особенностей не выявлено. Через 10 дней после операции был удален уретральный катетер. Согласно микционной цистоуретрографии патологических изменений не обнаружено. Спустя 5 месяцев после проведенной повторной операции ухудшение качества мочеиспускания не установлено (Рисунок 2.19) [6].

Гистологический анализ фрагментов уретры, забранных при проведении повторной операции, показал, что имплантированный конструкт на основе децеллюляризованной артерии резорбировался и заместился фиброзной тканью; в зоне облитерации соединительная ткань просвета уретры была более рыхлой и незрелой по сравнению с фиброзно-рубцовой. Установлено, что иммуногенность имплантированного конструкта была низкой, так как воспалительная инфильтрация практически не определялась. Кроме того, участок уретры, примыкающий к зоне облитерации, сохранял просвет, а внутренняя поверхность была выстлана эпителиальной тканью, что доказывает эффективность использованного конструкта в восстановлении уретры [6].

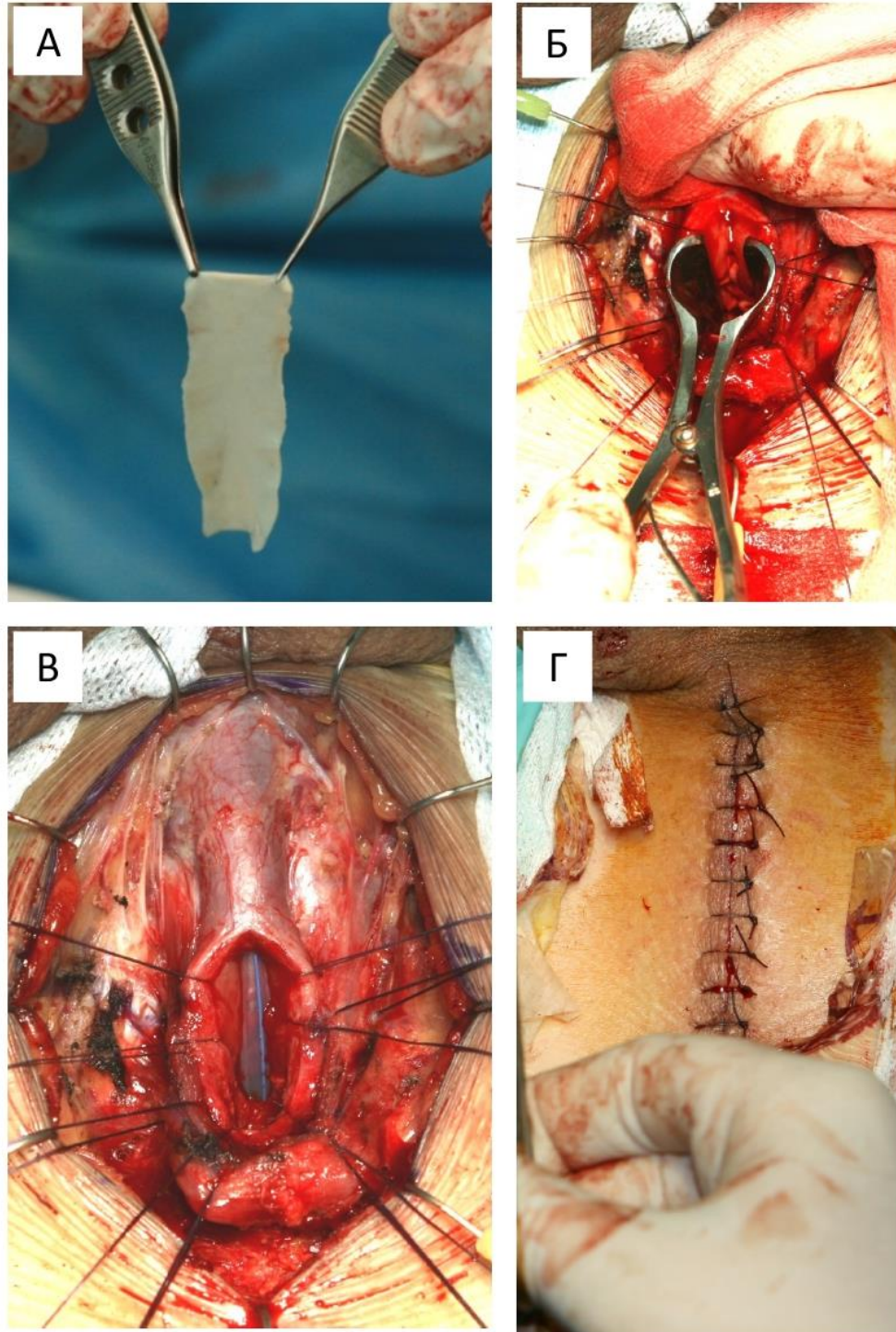


Рисунок 2.18 – Этапы операции: А – внешний вид конструктора на основе децеллюляризованной артерии; Б – фиксация конструктора в уретральной площадке; В – проведение уретрального катетера; Г – послойное ушивание раны

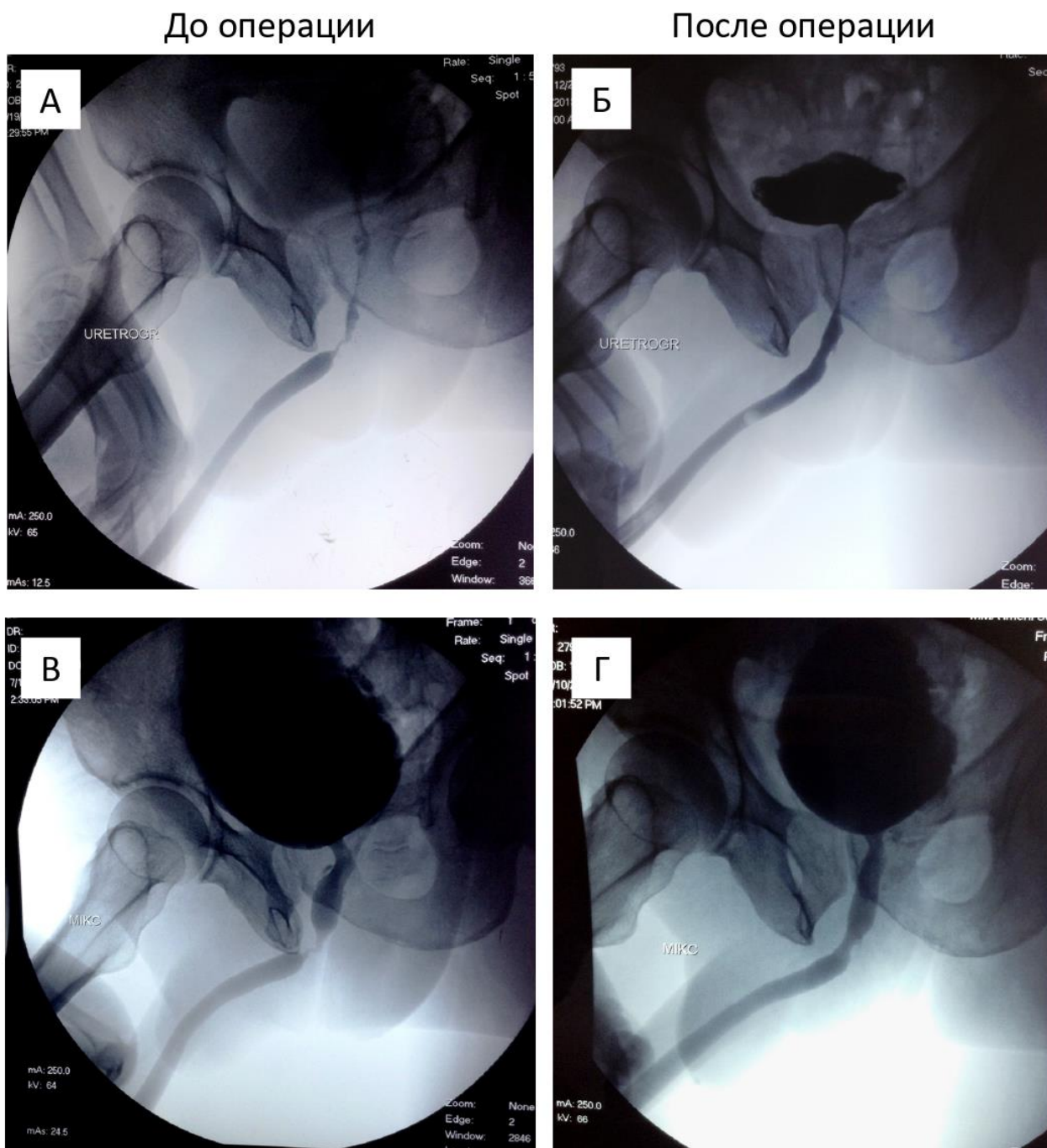


Рисунок 2.19 – Результаты ретроградной (А, Б) и микционной (В, Г) (цисто)уретрографии до операции (А, В) и через 28 дней после (Б, Г)

Однако в виду неоднозначности полученных результатов заместительной уретропластики с использованием конструктора на основе децеллюляризованной артерии было принято решение по оптимизации его состава и технологии формирования, а именно замене материала на гибридную матрицу из армирующей сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена и

использовании сфероидов для формирования многослойной эпителиальной выстилки.

Имплантация нового типа конструкта была осуществлена Пациенту Е. (Рисунок 2.20). Через 6 месяцев после операции, особенностей не было выявлено; при проведении ретроградной уретрографии и микционной цистоуретрографии не обнаружено в зоне операции стриктур и затеков контрастного вещества (Рисунок 2.21). Тем не менее, через 40 месяцев после операции пациент обратился с жалобой на затрудненное мочеиспускание. Выделение мочи было скудным, что не позволило провести урофлоуметрический анализ. При ультразвуковом исследовании выявлено, что правая почка с четким ровным контуром размером 11,5×5,5 см, паренхима однородная толщиной 1,8 см, подвижность почки при вдыхании до 2 см; левая почка с четким ровным контуром размером 11,5×5,0 см, паренхима однородная толщиной 1,9 см, подвижность почки при вдыхании до 2 см; мочевой пузырь с четкими ровными контурами, содержимое однородное анэхогенное; предстательная железа с четкими ровными контурами с неоднородной эхоструктурой объемом до 61 см³, не вдаётся в просвет мочевого пузыря; семенные пузырьки не расширены, структурно однородные; остаточный объем составлял 180 мл. При проведении ретроградной уретрографии и микционной цистоуретрографии обнаружено сужение, просвет нитевидный (Рисунок 2.22). От оперативного вмешательства для восстановления просвета мочеиспускательного канала пациент отказался. Через 1 неделю после проведения осмотра был госпитализирован скорой помощью по месту жительства, поставлена цистостома.

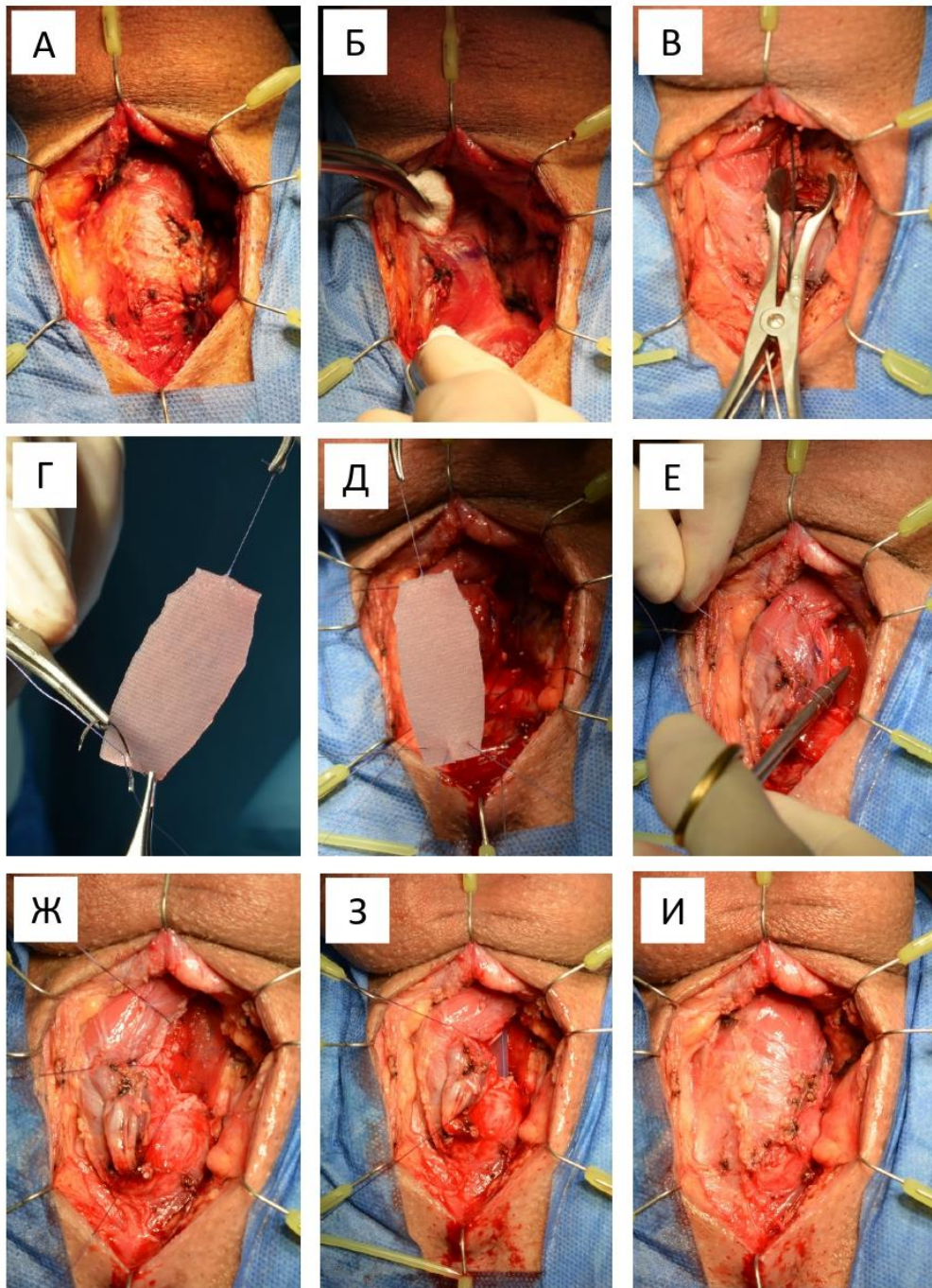
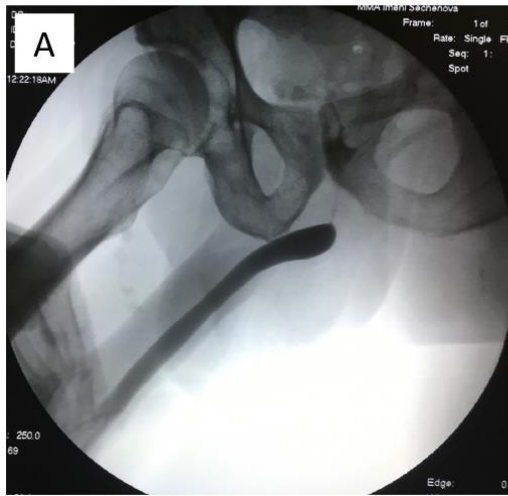


Рисунок 2.20 – Этапы операции: А – доступ к луковичному отделу уретры; вентральная поверхность бульбоспонгиозных мышц; Б – выделена дорсальная поверхность луковичного отдела уретры без пересечения бульбоспонгиозных мышц; В – луковичная уретра рассечена по дорсальной поверхности; носовые зеркала введены в проксимальную часть уретры; Г – внешний вид тканеинженерной конструкции на основе гибридной матрицы и аутологических буккальных сфероидов; Д – тканеинженерная конструкция в процессе фиксации тремя швами к проксимальной части уретральной площадки; Е – процесс фиксации тканеинженерной конструкции к уретральной площадке; Ж – тканеинженерная конструкция полностью фиксирована к уретральной площадке; З – проведен уретральный катетер по уретре в мочевого пузырь; И – дефект уретры восстановлен

До операции



После операции

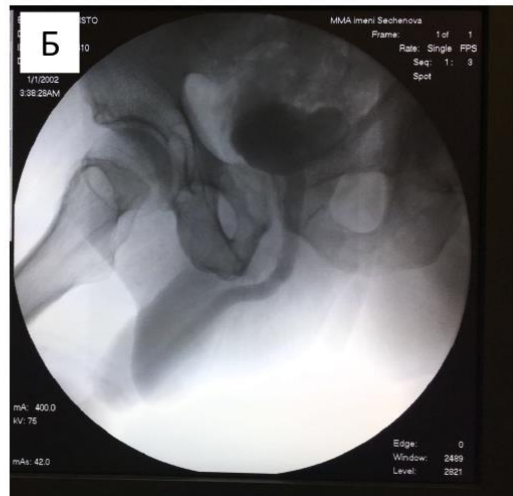


Рисунок 2.21 – Результаты ретроградной уретрографии до операции (А) и через 6 месяцев после (Б)

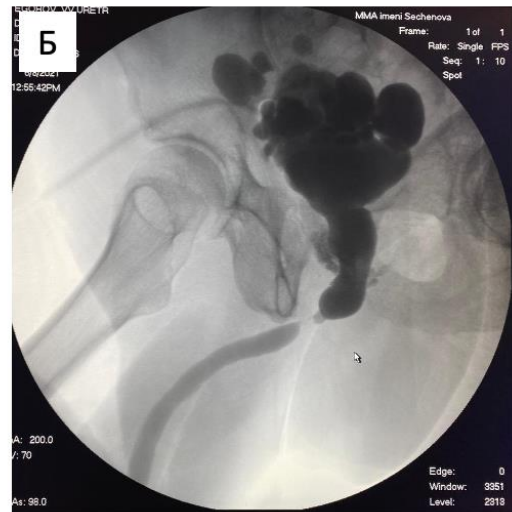
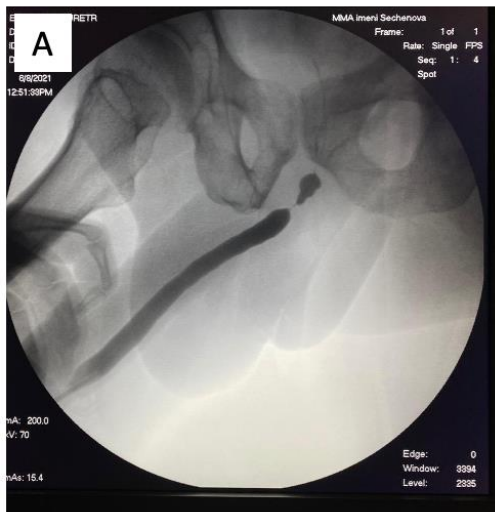


Рисунок 2.22 – Результаты ретроградной уретрографии (А) и микционной цистоуретрографии (Б) через 40 месяцев после операции

Глава 3. ПЛАСТИКА МОЧЕИСПУСКАТЕЛЬНОГО КАНАЛА МУЖЧИН: КЛАССИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ И НОВЫЕ ТРЕНДЫ

3.1. Материалы и методы

3.1.1. Клиническая характеристика пациентов с различными стриктурами уретры

Клиническая часть работы проведена на базе Университетской клинической больницы №2 Клинического центра ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в Институте урологии и репродуктивного здоровья человека. Отбор пациентов проводился с 2011 по 2021 гг.; за указанный промежуток времени было прооперировано 1019 пациентов. В исследование включались пациенты со стриктурами уретры, которым выполнялось открытое или эндоскопическое пособие по поводу сужения мочеиспускательного канала. Критерием невключения являлись пациенты, для которых единственным методом лечения было бужирование уретры, меатотомия и трансуретральная резекция шейки мочевого пузыря, так как это не входило в цели и задачи данной работы, и отказ от подписания информированного согласия. Послеоперационное обследование проводилось через 1, 3 и 6 месяцев в течение первого года после оперативного пособия, а затем ежегодно. Если пациент не являлся на послеоперационное обследование – это служило критерием для исключения его из исследования.

Первичной конечной точкой данного исследования являлась оценка эффективности различных видов лечения пациентов со стриктурами уретры. Перед оперативным лечением проводилось обследование пациентов (стандартное клиническое обследование, урофлоуметрия, ретроградная и микционная цистоуретрография, микроскопическое и бактериологическое исследование 3 порции мочи; оценка объема остаточной мочи); дополнительно выполнялись микционная ультразвуковая цистоуретроскопия (при невозможности выполнения микционной цистоуретрографии), ультразвуковое исследование спонгиозного

тела (при сложных и рецидивных стриктурах уретры), эндоскопическое исследование мочеиспускательного канала (при сложных и рецидивных стриктурах уретры).

Принятие решения о выборе метода лечения основывалось на особенностях стриктуры уретры (локализация, протяжённость, количество, наличие предшествовавшего лечения, осложнения стриктурной болезни уретры, этиология), показателях урофлоуметрии, а также на статусе пациента.

В зависимости от вида оперативного пособия пациенты были разделены на 6 групп:

1. Группа №1 «Буккальная уретропластика». Всем пациентам из данной группы в качестве материала для увеличения просвета уретры была использована слизистая оболочка щеки (и/или ротовой полости). В свою очередь, пациенты из данной группы были разделены на 4 подгруппы:

а. Дорсальная буккальная уретропластика – фиксация буккального трансплантата осуществлялась через дорсальный доступ к вентральной поверхности белочной оболочки полового члена;

б. Вентральная буккальная уретропластика – фиксация буккального трансплантата осуществлялась посредством вентральной уретротомии к краям рассечённой уретры, спонгиозное тело ушивалось над трансплантатом вторым слоем;

с. техника Asora – фиксация буккального трансплантата осуществлялась через вентральный уретротомный доступ к вентральной поверхности белочной оболочки полового члена;

д. дорсальная буккальная уретропластика по Kulkarni и Barbagli – фиксация буккального трансплантата осуществлялась к вентральной поверхности белочной оболочки полового члена с инвагинацией полового члена (без кожи и мясистой оболочки) в промежностную рану; данная операция выполнялась при протяжённых стриктурах уретры с распространением на пенильную уретру;

2. Группа №2 «Анастомотическая уретропластика». Всем пациентам из данной группы для восстановления проходимости мочеиспускательного канала выполнялось одно из трёх оперативных пособий:

а. Операция Хольцова – иссечение суженного участка уретры и восстановление уретры конец-в-конец (при стриктурах луковичного отдела уретры);

б. Уретро-простатический анастомоз – иссечение суженного участка уретры и восстановление уретры конец-в-конец (при посттравматических стриктурах мембранозного отдела уретры);

с. Анастомотическая уретропластика без пересечения спонгиозного тела (при стриктурах луковичного отдела уретры);

3. Группа №3 «Анастомотическая увеличивающая уретропластика». При данном оперативном пособии осуществлялась дорсальная буккальная уретропластика, но дополнительно иссекался фрагмент рубцово-изменённой уретры по вентральной поверхности, и в этом месте выполнялось анастомозирование краёв мочеиспускательного канала;

4. Группа №4 «Восстановление уретры с использованием реваскуляризованного свободного лоскута». Оперативное пособие выполнялось пациентам с субтотальным или тотальным повреждением уретры, которым была показана двухэтапная пластика. Вентральная полуокружность уретры выполнялась из кожно-фасциального лоскута крайней плоти; дорсальная полуокружность уретры выполнялась из слизистой оболочки щеки (ротовой полости);

5. Группа №5 «Промежностная уретростомия». Всем пациентам данной группы была выполнена промежностная уретростомия в связи с субтотальным или тотальным повреждением уретры; при этом либо выполнение этапных операций было противопоказано по медицинским показаниям, либо пациент сам отказывался от длительных и сложных операций на уретре;

6. Группа №6 «Оптическая уретротомия». Как правило, это были пациенты со стриктурами луковичного отдела уретры.

Всем пациентам после операции устанавливался силиконовый катетер Фолея 14–16 Ch; группы 1, 2, 4 – сроком на 4 недели; группы 2 и 5 – 3 недели; группа 6 – от 3 дней до недели. После удаления уретрального катетера (группы 1–5) выполнялась микционная цистоуретрография; в случае выявления затёка контрастного вещества уретральный катетер устанавливался повторно на 10 дней.

В рамках настоящей работы также включены результаты анализа клинических данных 1242 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, прооперированных в Тосканском хирургическом центре (Centro Chirurgico Toscano), расположенном в г. Ареццо (Италия), в период с 1987 по 2016 гг. [215]. В качестве критерия включения использовали подтвержденный диагноз – стриктура луковичного отдела уретры. Критерии невключения были следующими: пациенты со склерозирующим лихеном, неудавшимися операциями по лечению гипоспадии, стриктурами пенильного и заднего отдела уретры. Первичной конечной точкой являлась оценка эффективности различных видов лечения пациентов с использованием 14 различных техник.

Результаты эффективности лечения с использованием внутренней уретротомии только стриктур луковичного отдела уретры были получены при анализе клинических данных 136 пациентов, подвергшихся внутренней уретротомии в Центре реконструктивной уретральной хирургии, расположенном в г. Ареццо (Италия) [109]. Критерии включения были следующими: пациенты с ранее нелечеными стриктурами луковичного отдела уретры, подвергшиеся внутренней уретротомии, период наблюдения не менее 12 месяцев; критерии невключения – пациенты со стриктурами в результате травмы, пенильного или заднего отдела уретры, склерозирующим лихеном, неудавшимися операциями по лечению гипоспадии, протяженность стриктуры более 4 см, отсутствие информации в истории болезни в период наблюдения. Первичной конечной точкой было развитие рецидива после лечения первичной стриктуры уретры при помощи оптической уретротомии (в качестве единственного метода лечения).

Таким образом, выводы настоящей работы сформулированы на основании результатов анализа 3 выборок пациентов: 1019 пациентов со стриктурами

уретры, прооперированные в Сеченовском университете (Москва, Россия), 1242 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, прооперированные в Тосканском хирургическом центре (Ареццо, Италия), и 136 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, подвергшихся внутренней уретротомии в Центре реконструктивной хирургии уретры (Ареццо, Италия). Данные исследования проводились в рамках договора между ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и Центром реконструктивной хирургии уретры (Ареццо, Италия).

3.1.2. Классические и дополнительные методы обследования

Описание ниже приводится согласно тексту статьи соискателя [4].

Золотым стандартом диагностики стриктур мочеиспускательного канала являются ретроградная уретрография (Рисунок 3.1, 3.2) и микционная цистоуретрография (Рисунок 3.3) [96].

Крайне важно выполнять оба метода, так как порознь они могут давать неполную информацию о протяженности и локализации стриктур [123]. Данные методы обладают как неоспоримыми достоинствами, так и недостатками. К плюсам этих методов можно отнести высокую информативность графического изображения, которая позволяет, как правило, на одном снимке визуализировать уретру на всём протяжении, высокую специфичность и точность. Условные недостатки ретроградной уретрографии и микционной цистоуретрографии заключаются в лучевой нагрузке, отсутствии информации о состоянии спонгиозного тела (спонгиофиброз), в некоторых случаях несоответствии (чаще в сторону занижения) рентгенологической длины стриктуры луковичной уретры интраоперационным данным [96]. При первичных и, особенно, рецидивных стриктурах (после оптических уретротомий, анастомотических или заместительных уретропластик) для выбора оптимального метода лечения крайне важно обладать информацией о состоянии спонгиозного тела вокруг стриктуры.

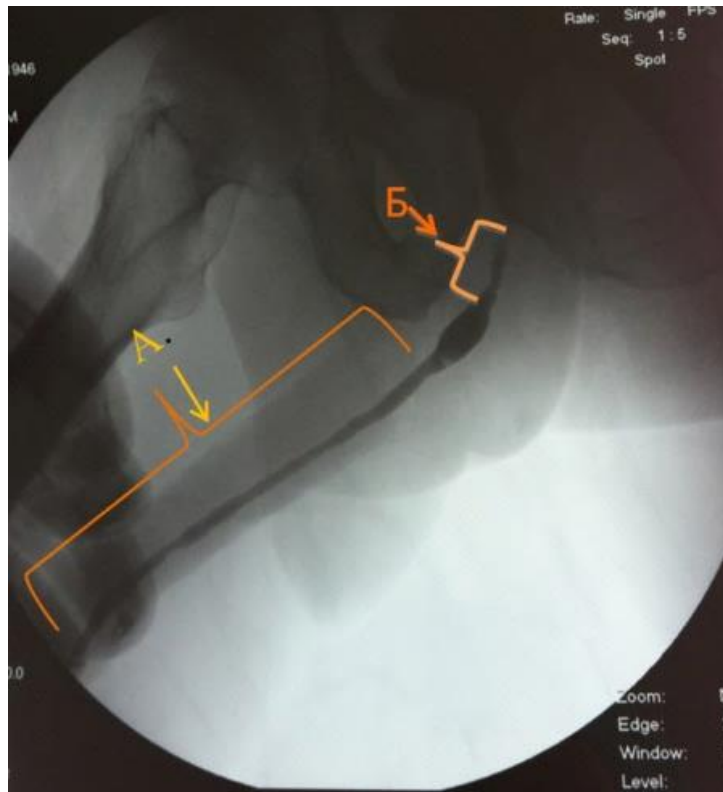


Рисунок 3.1 – Ретроградная уретрограмма: тотальная стриктура пенильно-луковичного (А) и луковично-мембранозного (Б) отделов уретры



Рисунок 3.2 – Ретроградная уретрограмма: стриктура луковичного отдела уретры (А)

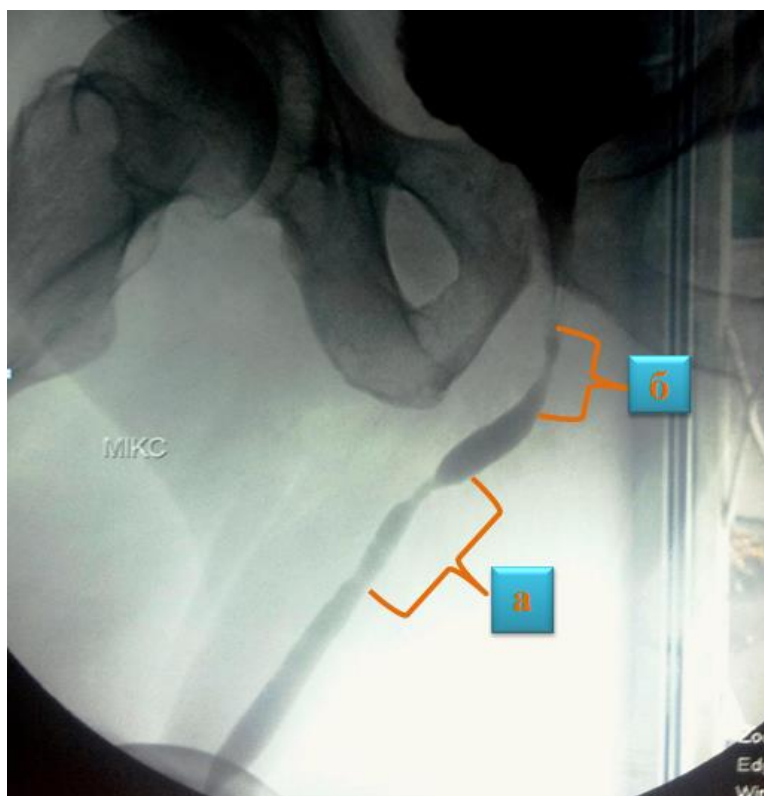


Рисунок 3.3 – Микционная цистоуретрограмма: стриктуры пенильно-луковичного (а) и луковично-мембранозного отделов уретры (б)

Наиболее доступным диагностическим методом в этом случае представляется ультразвуковая уретроскопия (Рисунок 3.4). Можно выделить три основные разновидности ультразвуковой уретроскопии: ретроградная, микционная, эндлюменальная.

Ретроградная ультразвуковая уретроскопия выполняется лежа на спине с согнутыми в коленях и разведенными в тазобедренных суставах нижними конечностями. В наружное отверстие мочеиспускательного канала на 1–2 см вводится кончик катетера Нелатона (следует плотно сжать губки уретры вокруг катетера) или катетера Фолея (в этом случае можно раздуть баллончик катетера на 2–3 мл) размером 14–16 Ch. К катетеру присоединяют шприц с 20–25 мл стерильного физиологического раствора. Следует убедиться в отсутствии пузырьков воздуха в шприце, так как последние могут вызвать гиперэхогенные помехи во время исследования. Одновременно с медленным введением жидкости проводится исследование головчатой, пенильной и луковичной уретры линейным датчиком в продольной и поперечной проекции. Целесообразно производить

видеозапись проводимого исследования, что позволит более детально проанализировать полученные данные. Ретроградная ультразвуковая уретроскопия позволяет получить информацию о локализации, количестве и протяженности стриктур передней части мочеиспускательного канала. Неоспоримым преимуществом данной методики перед аналогичным рентгенологическим исследованием является информация о состоянии спонгиозного тела вокруг сужения мочеиспускательного канала. Степень вовлеченности в рубцовый процесс губчатого тела влияет на выбор оперативного пособия (анастомотическая или заместительная уретропластика, одно- или двухэтапная операция) и, как следствие, на успех лечения в целом. Кроме того, протяженность стриктуры, определяемая при ультразвуковом исследовании, более точно соответствует протяженности, которая оценивается интраоперационно [7; 38]. Считается, что интраоперационная длина стриктуры уретры является истинной.

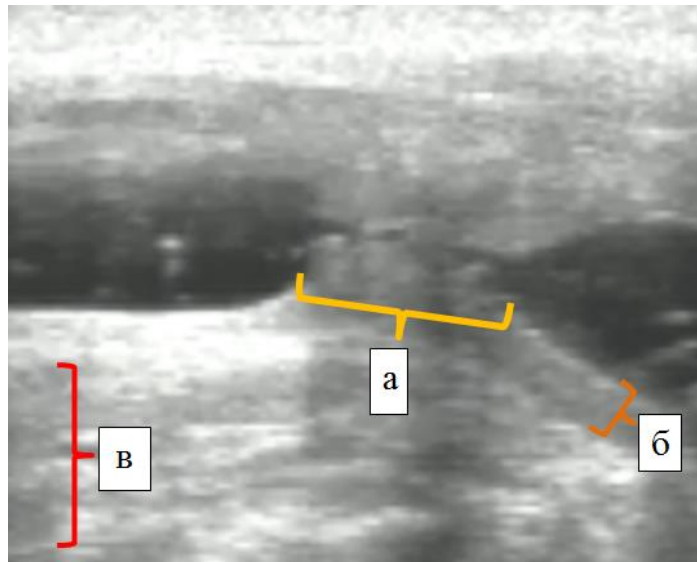


Рисунок 3.4 – Ретроградная уретросонограмма: стриктура пенильной уретры (а), спонгиозное тело (б), кавернозное тело (в)

Микционная ультразвуковая цистоуретроскопия была предложена в 1999 году (Рисунок 3.5) [1] в качестве метода дифференциальной диагностики

гиперплазии простаты от других причин инфравезикальной обструкции (склероз или рубцовая деформация шейки мочевого пузыря, стриктура уретры и др.).

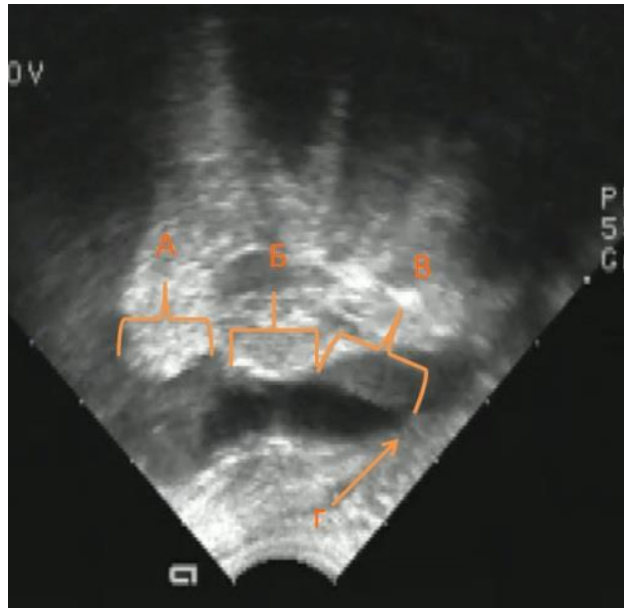


Рисунок 3.5 – Микционная цистоуретросонограмма: простатический (А), мембранозный (Б), луковичный (В) отделы уретры. Начало стриктуры (Г)

Исследование выполняется в положении на боку с прижатыми к животу коленями (как при ТРУЗИ). Мочевой пузырь должен быть наполнен до возникновения адекватного позыва к мочеиспусканию. В прямую кишку вводится ректальный ультразвуковой датчик, оценивается топографическое положение предстательной железы. Уровень верхушки простаты соответствует проксимальной части мембранозного отдела уретры. Кроме того, дополнительным ориентиром, позволяющим уточнить локализацию перепончатой части мочеиспускательного канала, является лонное сочленение, которое располагается непосредственно над дистальным сфинктером уретры. Анэхогенная тень, распространяющаяся за лонным сочленением, позволяет уточнить его локализацию. После определения топографических ориентиров следует попросить пациента начать мочеиспускание. В начале мочеиспускания открывается шейка мочевого пузыря (при отсутствии её склероза или рубцовой деформации), затем простатический и мембранозный отделы уретры. Как правило, при данном исследовании удается визуализировать проксимальную

часть луковичного отдела уретры, которая окружена толстым слоем (1,0–1,5 см) спонгиозного тела. Чтобы визуализировать проксимальную часть луковицы, следует более глубоко ввести ультразвуковой датчик в прямую кишку и привести его максимально кпереди, то есть приблизить к уретре. При больших размерах предстательной железы визуализация луковичной части уретры может быть затруднена. Преимущества микционной ультразвуковой уретроцистоскопии по сравнению с аналогичным рентгенологическим исследованием являются следующими:

- В некоторых случаях не удается добиться адекватного наполнения мочевого пузыря рентгеноконтрастным препаратом, в результате чего информация о состоянии задней уретры будет недоступна. При выполнении ультразвукового исследования данная проблема не возникает.
- Более четко удастся определить границы отделов уретры: простатический, мембранозный, проксимальная часть луковицы. Это позволяет более четко понять локализацию стриктуры мочеиспускательного канала, определить характер оперативного пособия, возможные послеоперационные осложнения (например, недержание мочи), прогноз заболевания.
- Отсутствие лучевой нагрузки.

Выполнение микционной ультразвуковой цистоуретроскопии в режиме реального времени (с обязательной видеозаписью исследования) позволяет оценить, насколько страдает сократительная функция наружного сфинктера уретры при стриктурах луковично-мембранозного или мембранозного отделов мочеиспускательного канала. Для этого во время микции следует попросить пациента несколько раз прервать мочеиспускание. Во время остановки мочеиспускания происходит смыкание мембранозного отдела уретры, что удастся четко визуализировать при исследовании. Смыкание мембранозного отдела уретры выявляет два важных момента:

- позволяет четко определить границы и протяженность этого отдела, что достаточно сложно сделать при других видах исследования;

- оценивает вовлеченность наружного сфинктера уретры в рубцовый парауретральный процесс.

Эндолюменальная уретроскопия (эндолюминальной эхографии уретры) используется в Институте урологии и репродуктивного здоровья человека. С 2000 года [11]. Суть метода заключается в проведении миниатюрного ультразвукового датчика непосредственно по мочевым путям. При этом возможно качественное изображение мочеиспускательного канала, а также окружающих тканей и органов (Рисунок 3.6, 3.7). Данный метод является высокоинформативным в определении протяженности склеротических изменений только при проходимых для ультразвукового зонда стриктурах.



Рисунок 3.6 – УЗ-датчик с эндолюменальным зондом

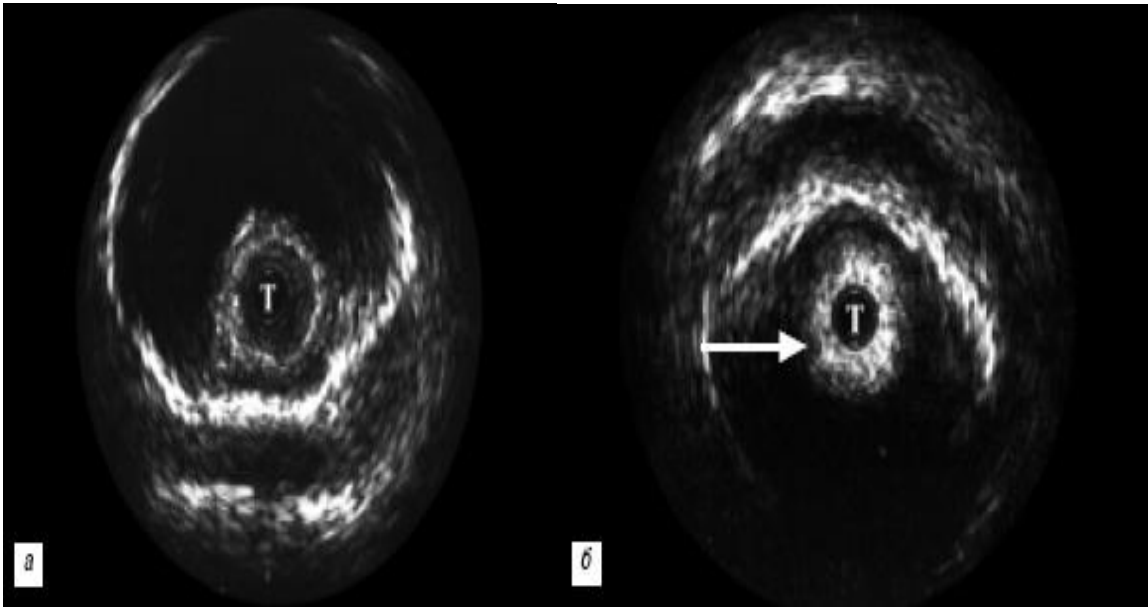


Рисунок 3.7 – Эндолюменальная УЗ-эхограмма мочеиспускательного канала: нормальная губчатая часть (а); зона стриктуры (б – указано стрелкой)

Стриктуры мочеиспускательного канала являются сложной медицинской проблемой, которая существенно снижает качество жизни пациента и может приводить к угрожающим жизни заболеваниям. Успех лечения зависит от правильно выбранного метода лечения. Выбор метода лечения, в свою очередь, основывается на результатах проведенного обследования. Как правило, при стриктурах уретры для постановки правильного диагноза бывает достаточно выполнения рентгенологических исследований (ретроградная уретрография, микционная цистоуретрография). Однако при рецидивных, протяженных, сложных стриктурах следует обладать дополнительной информацией, которую нельзя получить при указанных выше видах обследования: оценить состояние спонгиозного тела, четко определить границы отделов задней уретры, оценить состояние наружного сфинктера мочеиспускательного канала. Для этих целей подходят различные виды ультразвуковой уретроскопии, которые не обладают лучевой нагрузкой. Тем не менее, графическое изображение всей уретры, получаемое в результате рентгенологических исследований более «комфортно» для визуальной оценки хирургом. Таким образом, при стриктурах мочеиспускательного канала нельзя выделить только один вид исследования, который бы предоставлял исчерпывающую информацию для выбора

оптимального метода оперативного лечения. При сложных рецидивных стриктурах уретры целесообразно комбинированное использование рентгенологических и ультразвуковых методов диагностики.

3.1.3. Типы оперативных вмешательств

3.1.3.1. Анастомотическая уретропластика

Рентгенограмма и микционная цистоуретросонограмма (Рисунок 3.8)

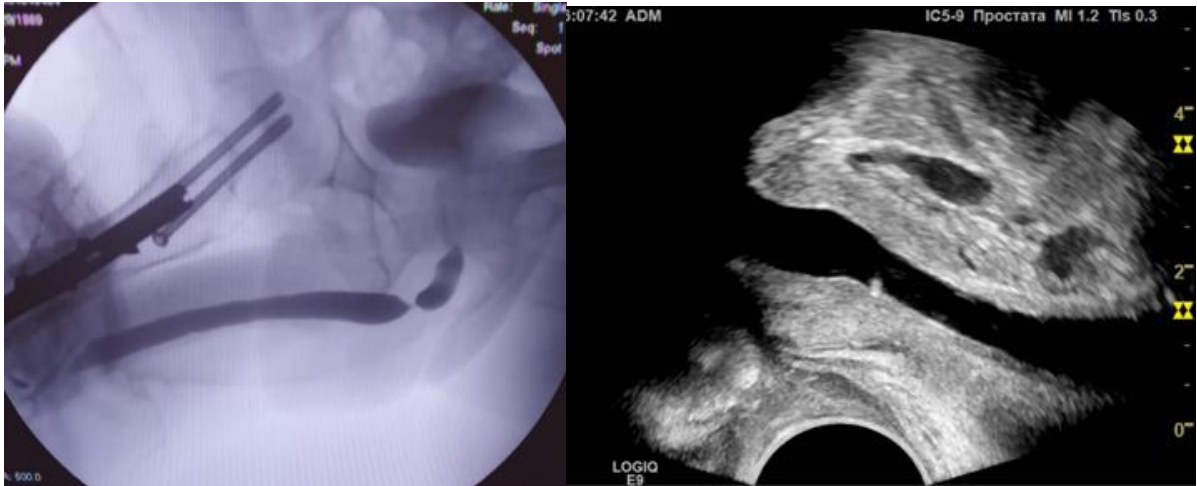


Рисунок 3.8 – Ретроградная уретрограмма: определяется короткая посттравматическая стриктура луковичного отдела уретры (слева); микционная ультразвуковая цистоуретроскопия – простатический и мембранозный отделы уретры без признаков сужения (справа)

Показания

Непротяженная (до 2-х см) стриктура луковичного отдела уретры с выраженным спонгиозом преимущественно посттравматической этиологии (тупая травма промежности); в том числе, после неудачных попыток эндоскопического лечения (оптическая уретротомия).

Укладка

Пациент укладывается в литотомическое положение: ноги согнуты в коленных и тазобедренных суставах, приподняты и разведены в сторону. Для укладки используются специальные фиксаторы для голеней, а также более функциональные системы (Yellofin® elite stirrups; www.allenmedical.com), которые снижают риск осложнений, связанных с данной укладкой пациента (особенно при длительных операциях). Для уменьшения риска осложнений целесообразно подкладывать под голени пациентов силиконовые валики. Укладка

в литотомическую позицию может вызвать осложнения у пациентов, перенесших перелом костей таза, а также у пациентов, страдающих остеоартрозом тазобедренных суставов. В указанных случаях целесообразно на дооперационном этапе определить возможность укладки пациента в литотомическое положение.

Обработка операционного поля

Для снижения риска инфекционных осложнений целесообразно предварительно обработать операционное поле в течение 10 минут мыльным раствором, а затем переходить к кожным антисептикам. Границы операционного поля: нижняя часть живота (ниже пупочного кольца), наружные половые органы, промежность, внутренняя поверхность бёдер. Направление обработки – сверху вниз; анус обрабатывается в последнюю очередь. В случае наличия цистостомического дренажа – последний целесообразно заменить непосредственно перед операцией и подвергнуть обработке кожными антисептиками. После обработки операционного поля надевают одноразовое бельё; целесообразно использовать бельё, которое используется при трансуретральных операциях (TUR set). Вырезается прямоугольное отверстие над промежностью и над наружными половыми органами. Во время операции манипуляции с операционным столом проводят в положении Тренделенбурга и обратного ему. Верхняя половина туловища накрывается стерильной пеленкой. Ноги, помимо ТУР-белья, заворачивают в стерильные простыни, которые после эндоскопического этапа заменяются на другие. После эндоскопического этапа операционное поле по периметру дополнительно обклеивается стерильным материалом.

Фиксация головки полового члена при помощи провизорного шва

По дорсальной поверхности на 12 часах головка полового члена фиксируется на провизорный шов (викрил 3-0, игла 22 мм ½). Игла срезается. Нить фиксирована на моските. Удобно манипулировать и натягивать член, когда это необходимо.

Уретроскопия, проведение струны

Целью данного этапа является осмотр уретры и проведение струны-проводника в мочевой пузырь (при условии, что отсутствует полная облитерация просвета уретры) (Рисунок 3.9). Струна позволяет найти просвет мочеиспускательного канала во время рассечения уретры. С целью минимизации травматизации уретры целесообразно выполнять уретроскопию при помощи уретероскопа.

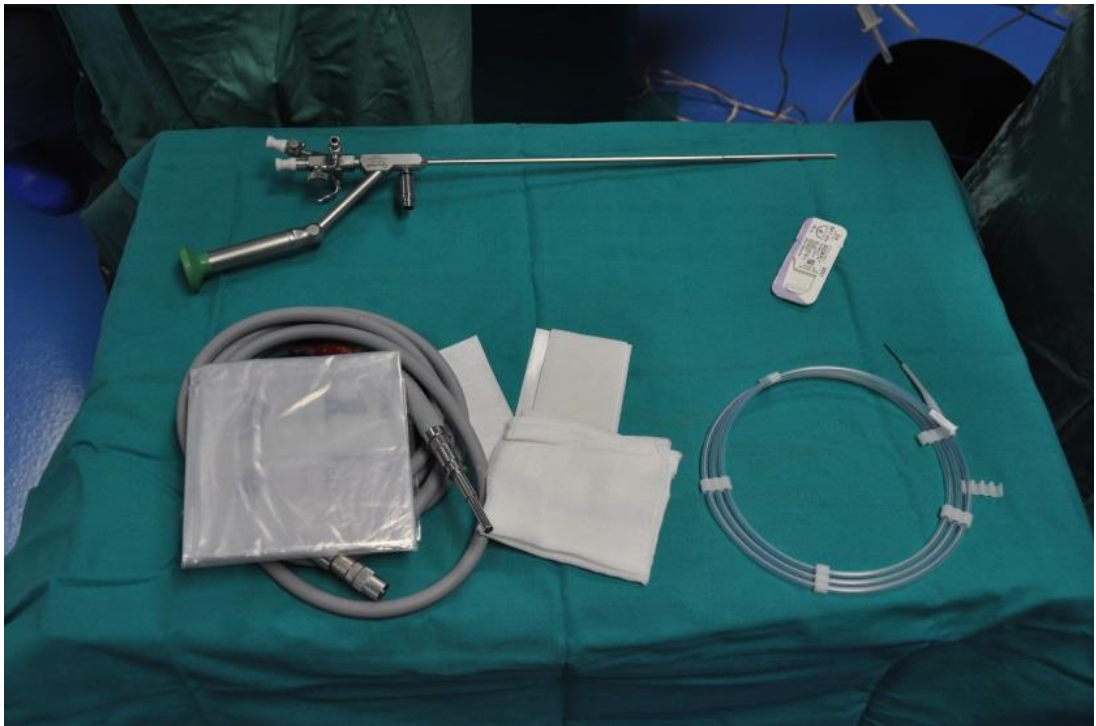


Рисунок 3.9 – Набор инструментов для уретроскопии и проведения струны-проводника перед началом анастомотической уретропластики

После того как струна проведена, уретероскоп извлекается. Струна фиксируется к половому члену стерильной клейкой лентой (Рисунок 3.10).

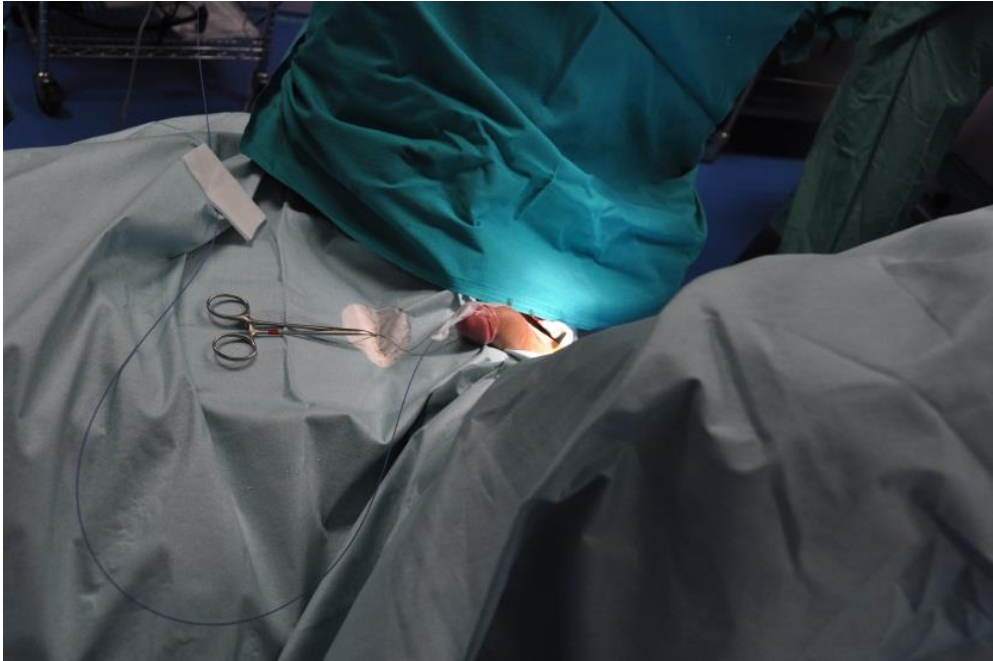


Рисунок 3.10 – Фиксация струны проводника к головке полового члена при помощи пластыря

Данным этапом не стоит пренебрегать при кажущейся временной затратности. Во время рассечения уретры могут возникнуть трудности с поиском просвета мочеиспускательного канала, что обусловлено массивностью спонгиозного тела в луковичном отделе, а также достаточно обильным венозным кровотечением из него, что существенно снижает видимость в операционной ране. Наличие же струны позволяет достаточно легко визуализировать просвет мочеиспускательного канала и избежать необоснованных временных затрат.

Введение раствора метиленового синего в уретру

Вводится 10 мл раствора метиленового синего, который позволяет точно дифференцировать слизистую оболочку уретры от спонгиозного тела на этапе после рассечения уретры, что предотвращает ложное проникновение в подслизистый слой (Рисунок 3.11). Кроме того, прокрашенная синькой слизистая уретры выступает чётким ориентиром при формировании уретро-уретрального анастомоза.



Рисунок 3.11 – Процесс введения раствора метиленового синего для дифференцировки слизистого слоя уретры

Член вытягивают за держалку (ассистент), хирург вводит раствор метиленового синего при помощи шприца, к которому подсоединена специальная длинная (5–6 см) игла с округлым утолщением на конце (Рисунок 3.12).



Рисунок 3.12 – Игла с округлым утолщением на конце для введения раствора метиленового синего при помощи шприца

Проведение уретрального катетера до дистального края стриктуры

Вводится катетер Нелатона (16 Ch), для того чтобы пальпаторно определить дистальный край стриктуры. После того, как дистальный край стриктуры пропальпирован, он помечается маркером (поперечная линия) и намечаются границы разреза. Длина разреза составляет около 5–6 см, нижний край разреза должен отстоять от ануса не менее, чем на 2 см во избежание травматизации соответствующих мышц.

Доступ

Послойно рассекается кожа и подкожно-жировая клетчатка. Проводится коагуляция кровотока сосудов. На последующих этапах (вплоть до ушивания операционной раны) следует использовать ретрактор Скотта, без которого выполнение данной операции будет крайне проблематичным. Крючками подхватывается кожа и подкожно-жировая клетчатка на 12, 2, 4, 6, 8 и 10 часах условного циферблата; крючки фиксируются на соответствующих часах ретрактора. При необходимости можно использовать дополнительные крючки, как правило на 11 и 1 часах условного циферблата. После рассечения подкожно-жировой клетчатки в верхней части раны будет находиться дистальная часть луковичного отдела уретры, в нижней – проксимальная, которая покрыта бульбо-спонгиозными мышцами (Рисунок 3.13).

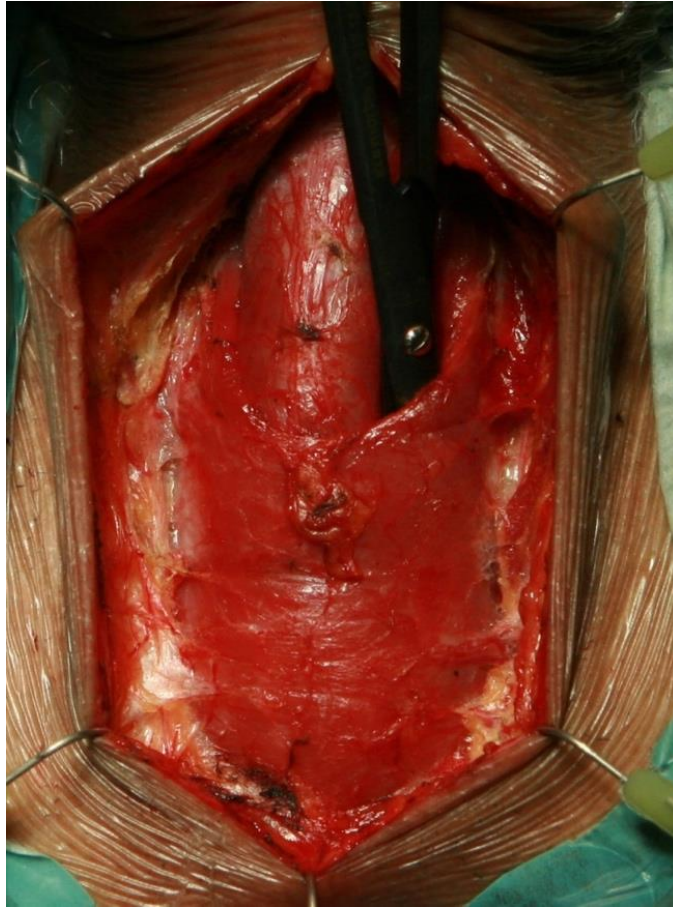


Рисунок 3.13 – Мобилизация бульбоспонгиозных мышц от подлежащего спонгиозного тела при помощи сосудистых ножниц (ножницы находятся между мышцами и спонгиозным телом)

Подкожно-жировая клетчатка рассекается при помощи монополярного электрокоагулятора. Следует быть аккуратным во избежание повреждения спонгиозного тела дистальной части луковичного отдела уретры (не прикрыта бульбо-спонгиозными мышцами). Повреждение спонгиозного тела приведёт к необходимости его ушивания (викрил 5-0), так как ни монополярная, ни биполярная коагуляция не эффективны в этом случае. Во избежание повреждения подлежащих тканей хирург с ассистентом при помощи пинцетов симметрично приподнимают участки подкожно-жировой клетчатки и рассекают ткань между ними. Гемостаз в области спонгиозного тела и бульбоспонгиозных мышц осуществляется при помощи биполярного пинцета.

При выполнении уретро-уретрального анастомоза в луковичном отделе необходимо выполнить мобилизацию всей луковичной уретры, в том числе и той,

которая расположена под бульбо-спонгиозными мышцами. Здесь возможно два подхода: (1) традиционный, который подразумевает рассечение мышц по срединной линии, и (2) передовой, при котором целостность мышц (сосудов и нервов) не нарушается [215].

1. Рассечение бульбо-спонгиозных мышц. Бульбо-спонгиозные мышцы крепятся с одной стороны к белочной оболочке кавернозных тел в области *crus penis*, а с другой стороны – по срединной линии к проксимальной части луковичного отдела уретры. У верхнего (свободного) края мышца мобилизовывается от подлежащего спонгиозного тела несколько латеральнее от срединной линии (латеральнее срединной линии мышца и спонгиозное тело не сращены между собой, что позволяет достаточно легко сформировать пространство между ними). Далее между мышцей и спонгиозным телом вводятся деликатные сосудистые ножницы (изгибом кпереди) и формируется пространство вплоть до наиболее проксимальной части луковичного отдела уретры. Аналогичным образом формируется пространство с противоположной стороны. Затем сосудистыми ножницами рассекается мышца по срединной линии от дистального к проксимальному краю. Края мышц фиксируются под крючки ретрактора Скотта. На этом этапе вентролатеральные поверхности луковичного отдела уретры отмобилизованы.

2. Мышце-сберегающая техника. Этапы аналогичны описанным выше до момента рассечения бульбо-спонгиозных мышц (Рисунок 3.14). Сохранение данных мышц может позволить снизить риск постмикционного дриблинга, а также задержки (секвестрации) спермы в луковичном отделе уретры при эякуляции [215]. После того, как с обеих сторон между мышцами и спонгиозным телом сформировано пространство, в него с обеих сторон вводятся ретракторы Фарабефа и мышца вытягивается кпереди. При помощи деликатных сосудистых ножниц и биполярного пинцета мышца отсепаровывается от подлежащего спонгиозного тела по срединной линии. По мере продвижения в проксимальном направлении выполняется тракция мышц.

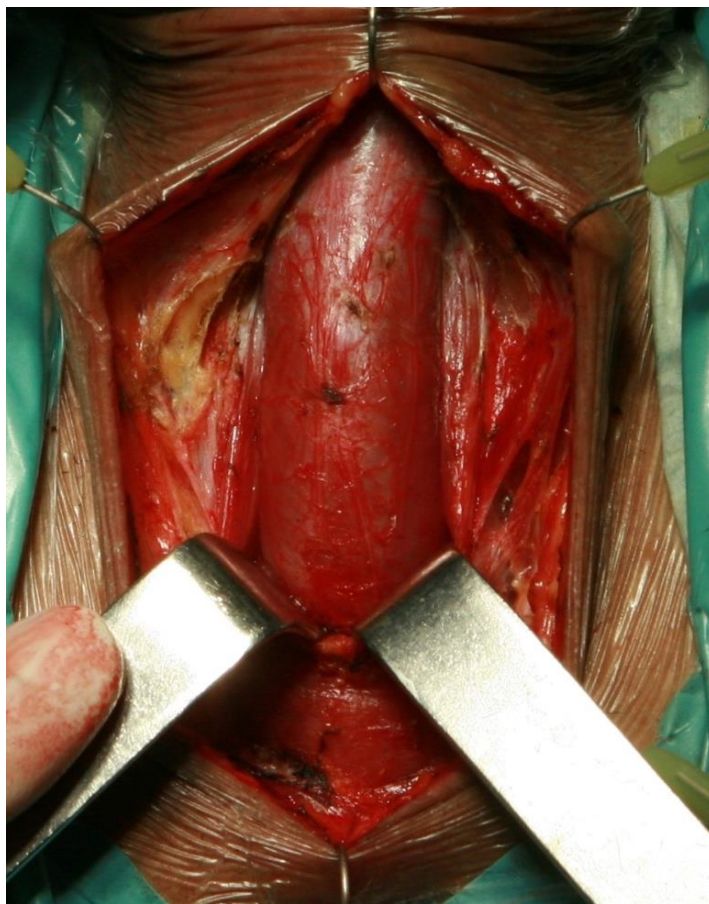


Рисунок 3.14 – Мобилизация бульбоспонгиозных мышц
(мышцы отмобилизованы и смещены книзу
при помощи ретракторов Фарабефа)

Когда мышцы полностью отсепарованы от спонгиозного тела, накладывается 4 провизорных шва (викрил 3-0 или 4-0) на верхний (свободный) край мышц, и при помощи данных швов мышца смещается и фиксируется в проксимальном направлении (Рисунок 3.15).

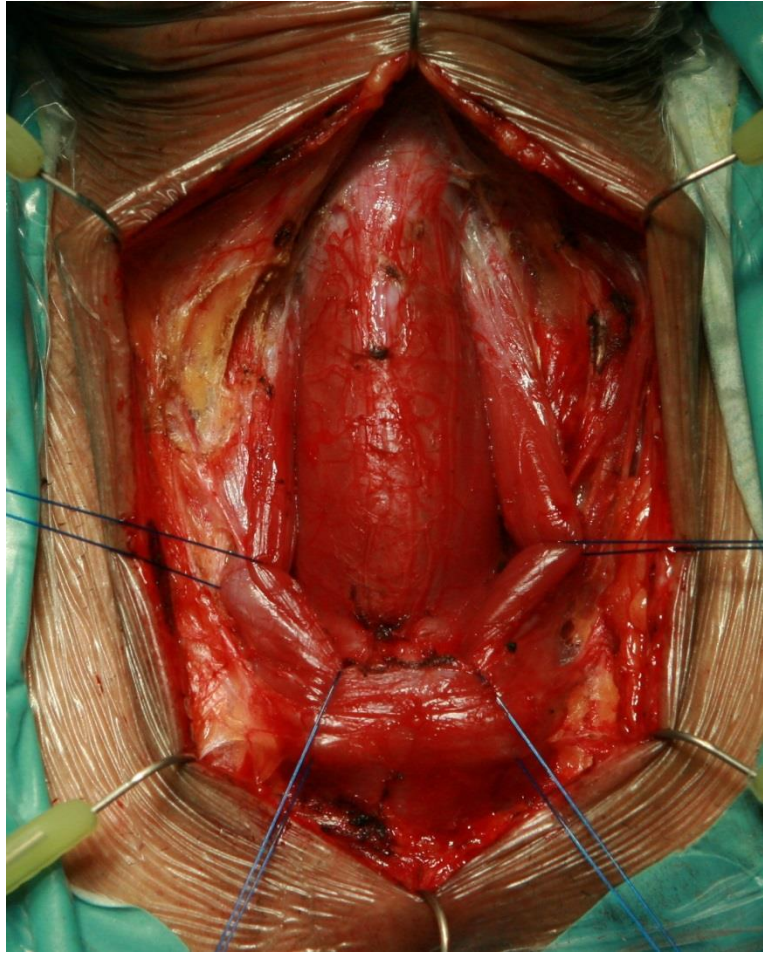


Рисунок 3.15 – Смещение и фиксирование в проксимальном направлении мышцы с помощью 4 провизорных швов

На этом этапе вентролатеральные поверхности луковичного отдела уретры отмобилизированы. Далее необходимо выполнить мобилизацию дорсальной поверхности луковичного отдела уретры от подлежащей белочной оболочки *scis penis*. В этой области имеются множественные мелкие прободающие сосуды (артерии и вены). Мобилизацию целесообразно осуществлять при помощи биполярного пинцета и деликатных сосудистых ножниц попеременно с правой и левой стороны навстречу в области срединной линии. При этом спонгиозное тело смещается при помощи влажной салфетки в соответствующую сторону. В результате будет достигнута полная мобилизация луковичного отдела уретры (Рисунок 3.16).

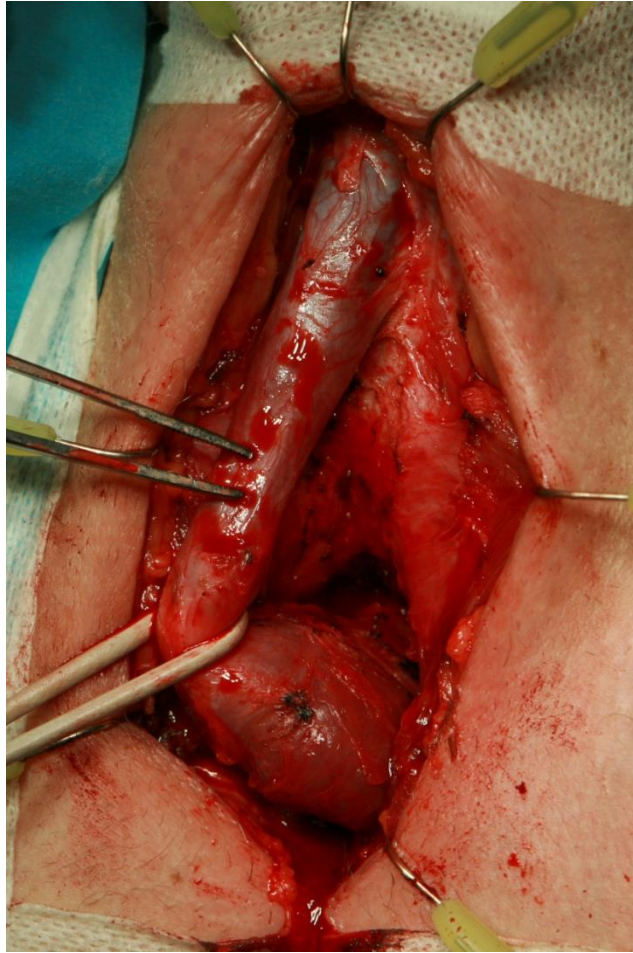


Рисунок 3.16 – Луковичный отдел уретры полностью мобилизован; пинцетом указана зона стриктуры (кончик катетера определён пальпаторно)

Определение зоны резекции уретры

Для определения дистального края стриктуры следует провести по уретре катетер Нелатона 16–18 Ch. Катетер вводится деликатно до области стриктуры (на рисунке эта область отмечена пинцетом). В качестве ориентира можно использовать провизорный шов (викрил 5-0). Для определения проксимального края стриктуры уретру следует повернуть на 180°. Для этого накладывается два провизорных шва (викрил 4-0) на правую латеральную поверхность спонгиозного тела (на 1 см выше и 2 см ниже дистального края стриктуры). Швы проводятся под уретрой на левую сторону и выполняется ротация уретры (Рисунок 3.17). Ротация необходима, для того чтобы расsection уретры именно по дорсальной поверхности, на которой толщина спонгиозного тела значительно менее выражена, чем на вентральной (это позволит существенно уменьшить

кровооточивость тканей и улучшить видимость в ране). Далее при ориентировании на струну-проводник производится рассечение уретры от дистального края стриктуры в проксимальном направлении пока не будет определён нормальный просвет уретры. После этого в проксимальную часть вводится катетер Фолея 20 Ch, чтобы определить проходимость уретры до мочевого пузыря.

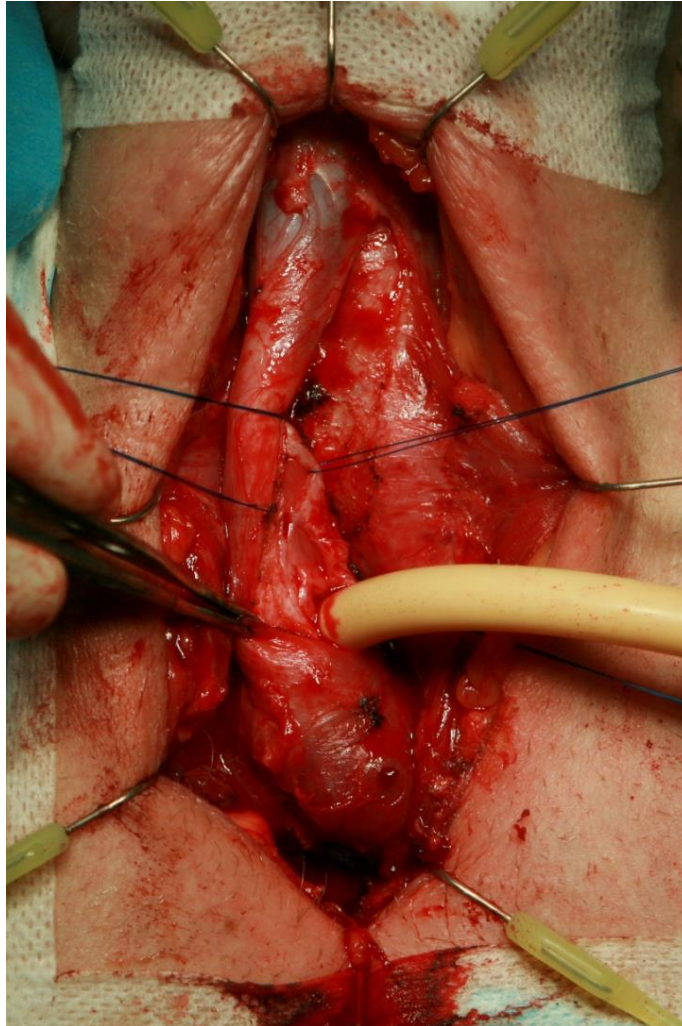


Рисунок 3.17 – Ротация уретры с помощью провизорных швов с последующим рассечением уретры от дистального края стриктуры в проксимальном направлении (катетер Фолея проведён в мочевой пузырь для исключения дополнительных сужений)

Резекция уретры

Резекция уретры осуществляется при отступлении на 0,5–1,0 см проксимальнее и дистальнее одноимённого края стриктуры при помощи сосудистых ножниц перпендикулярно направлению хода уретры (Рисунок 3.18).

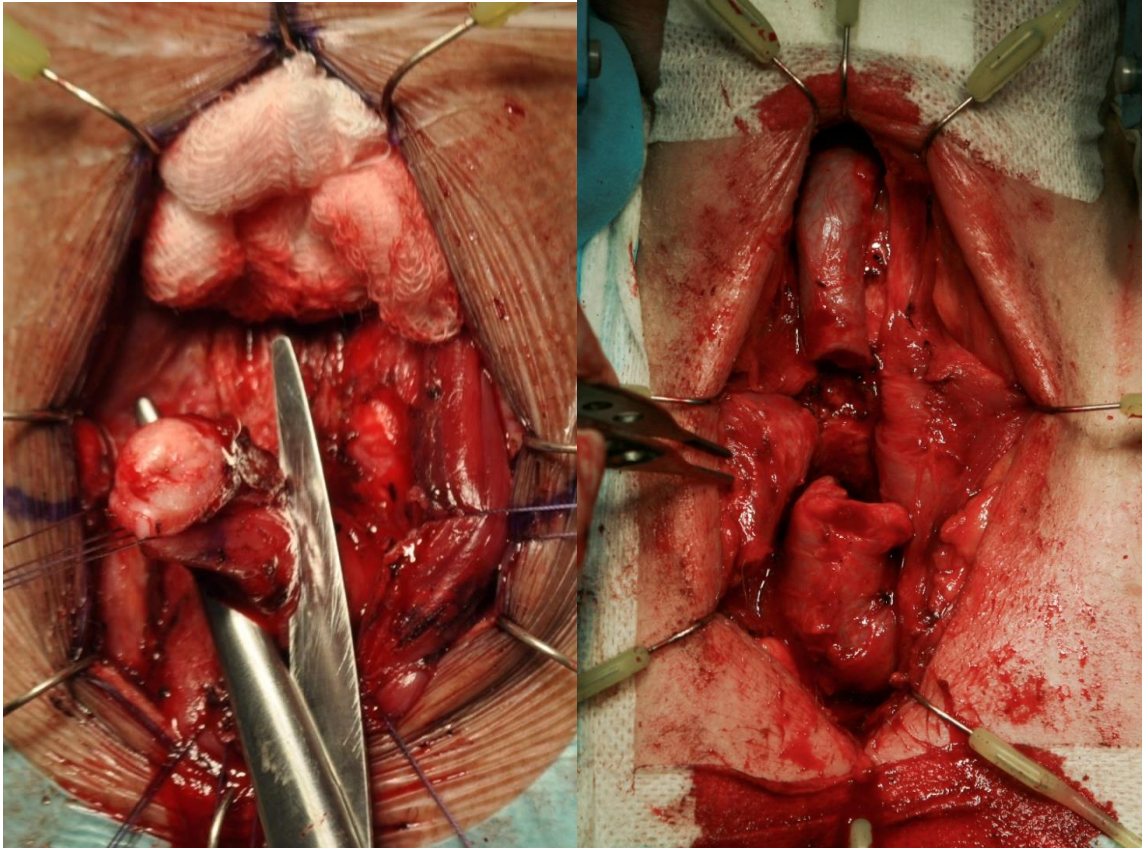


Рисунок 3.18 – Иссечение суженого фрагмента уретры в пределах здоровых тканей

После резекции уретры следует убедиться в отсутствии фрагментов рубцовых тканей на проксимальной и дистальной культе. При их наличии необходимо выполнить дополнительную резекцию. Культя уретры должна обильно кровить из здоровой спонгиозной ткани (венозное кровотечение), что является признаком отсутствия остатков рубцовой ткани. В проксимальной культе после резекции могут быть два источника артериального кровотечения – луковичные артерии. В этом случае гемостаз можно осуществить биполярной коагуляцией. Пытаться остановить венозное кровотечение из спонгиозной ткани не стоит. Для уменьшения его интенсивности можно прибегнуть к помощи

анестезиологической бригады и обеспечить уровень артериального давления в пределах 90/60 мм рт.ст. Данный приём достаточно эффективно снижает интенсивность кровотечения из спонгиозного тела и улучшает видимость в операционной ране.

После выполнения резекции уретры может создаться видимость того, что диастаз между культями уретры не позволит выполнить анастомоз без натяжения. Часто это ложный размер диастаза, который обусловлен контракцией культей уретры, в чем можно убедиться при сопоставлении концов культей при помощи пинцетов (Рисунок 3.19).

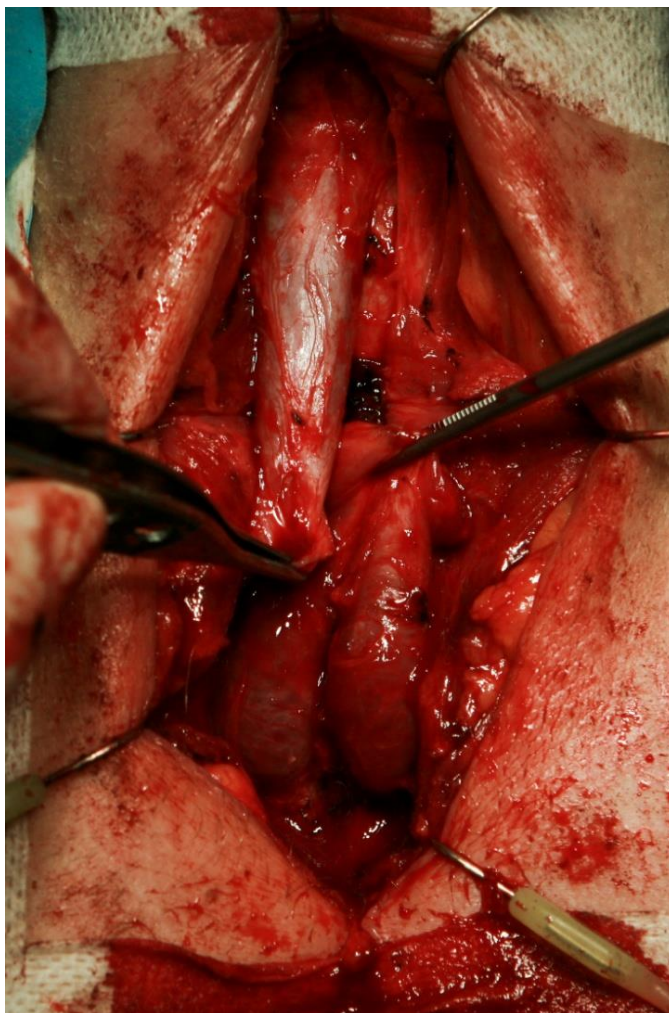


Рисунок 3.19 – Сопоставление концов уретры для исключения натяжения в зоне планируемого анастомоза

Формирование уретро-уретрального анастомоза

Для формирования успешного уретро-уретрального анастомоза следует учитывать два ключевых фактора: отсутствие рубцовых тканей в обеих культях уретры и отсутствие натяжения в области планируемого анастомоза. Вполне очевидно, что при стремлении обеспечить максимальное иссечение рубцовых тканей можно создать риск возникновения натяжения в области анастомоза. Тем не менее, рубцовые ткани должны быть иссечены полностью, иначе существенно повышается риск рецидива стриктуры. Для снижения риска натяжения в области анастомоза существует несколько хирургических приёмов:

- **Дополнительная мобилизация дистальной культы уретры.** Мобилизация дистальной культы уретры в дистальном направлении осуществляется аналогичным образом (как это было описано выше) при помощи биполярного пинцета и деликатных сосудистых ножниц. Часто этого манёвра бывает достаточно для формирования анастомоза без натяжения.
- **Пликация белочной оболочки в области *crus penis*.** Этот манёвр позволяет уменьшить диастаз между культями уретры. Накладывается по 2–3 пликационных шва (нерассасывающийся шовный материал 1-0 или 2-0) на белочную оболочку каждого *crus penis*. После затягивания швов расстояние между культями уретры может уменьшиться на 1,0–2,0 см.
- **Формирование межкрурального пространства.** Уретро-уретральный анастомоз в луковичном отделе уретры формируется на белочной оболочке кавернозных тел, которые формируют дугу (выгнутой стороной кпереди). При устранении дуги и анастомозировании напрямую можно также сократить диастаз на 1,0–2,0 см. Для выполнения этого манёвра следует разделить кавернозные тела друг от друга путем рассечения тканей строго по срединной линии (между кавернозными телами). Рассечение целесообразно выполнять игольчатым монополярным электродом. В случае повреждения целостности белочной оболочки последняя ушивается узловыми швами (викрил 4-0). Кавернозные тела отмобилизовываются друг от друга на всём протяжении луковичного отдела уретры. Сформированный анастомоз погружается в межкруральное пространство.

Указанные выше приёмы целесообразно использовать именно в такой последовательности. Если они не позволили сформировать анастомоз без натяжения, это, вероятнее всего, свидетельствует о неправильно выбранной операционной тактике (возможно, следовало планировать анастомотическую увеличивающую пластику уретры).

После того как выполнена проверка на то, что натяжение отсутствует в зоне планируемого анастомоза и культя уретры легко сопоставляются между собой, следует переходить непосредственно к формированию уретро-уретрального анастомоза. Выполняется спатуляция уретры, которая направлена на увеличение диаметра уретры в области анастомоза: дистальная культя по вентральной поверхности; проксимальная по дорсальной; глубина спатуляции около 0,5 см. Количество анастомотических швов варьирует от 6 до 8; рекомендуемый шовный материал – викрил 3-0 или 4-0. Швы накладываются на проксимальную культю в следующем порядке: 12, 2, 4, 6, 8, 10 часов (дополнительно можно наложить швы на 3 и 9 часах). Вкол осуществляется снаружи внутрь; на дистальной культю одноимённая нить будет осуществлять вкол изнутри наружу; в результате шов будет завязан снаружи уретры. Расстояние от края уретры до вкола составляет 0,5 см. Вколы следует осуществлять под контролем зрения при предварительном введении культю уретры носовых зеркал (длиной не менее 4–5 см; более короткие зеркала будут постоянно выпадать из просвета уретры) (Рисунок 3.20).

После того, как все швы наложены на проксимальную культю, формируется анастомоз. Сперва анастомозируется дорсальная полуокружность уретры (швы на 10, 12, 2 часах). Вкол в дистальную культю осуществляется изнутри наружу. Швы затягиваются после того, как все три шва проведены через дистальную культю. Затем проводится силиконовый уретральный катетер 16 Ch.

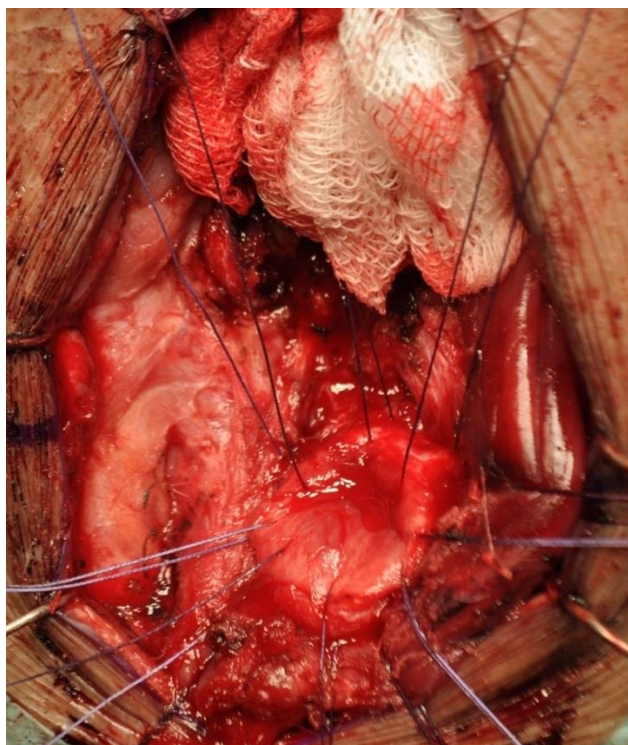


Рисунок 3.20 – Наложение швов на проксимальную культю уретры для формирования уретро-уретрального анастомоза

Анастомозирование вентральной поверхности осуществляется аналогичным образом (Рисунок 3.21).

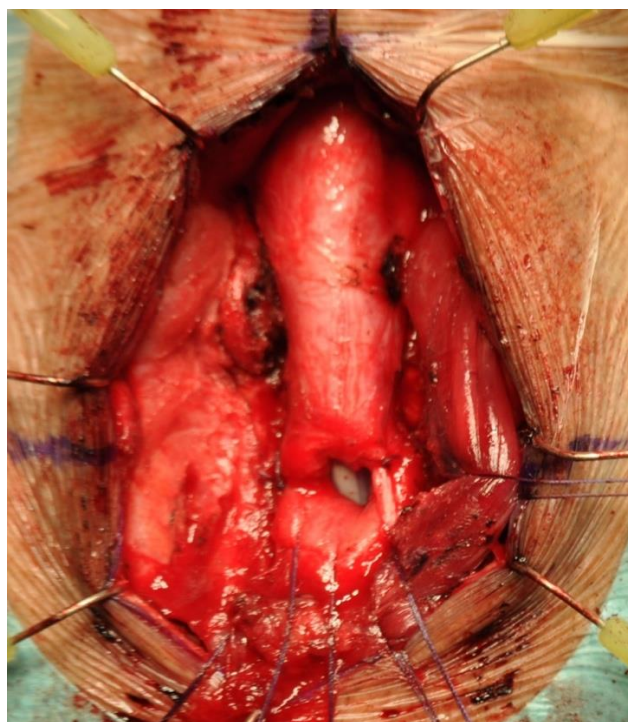


Рисунок 3.21 – Анастомозирование вентральной полуокружности уретры

Ушивание раны

Если выполнялась мышце-сберегающая техника мобилизации уретры, то после формирования анастомоза провизорные швы с бульбо-спонгиозных мышц удаляются и выполняется их репозиция (Рисунок 3.22). Последние могут быть подшиты к фасции спонгиозного тела (викрил 4-0 или 5-0).

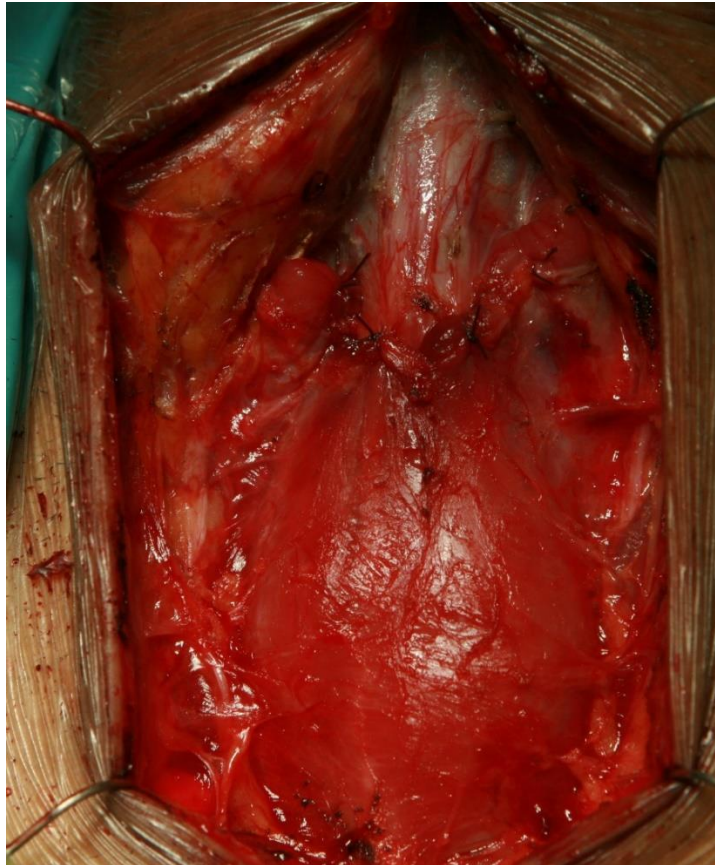


Рисунок 3.22 – Выполнена репозиция бульбо-спонгиозных мышц

Затем осуществляется послойное ушивание раны узловыми швами (викрил 3-0 или 4-0). При необходимости можно установить дренаж между областью анастомоза и бульбо-спонгиозными мышцами. Дренаж выводится через контрапертуру на 1,5–2,0 см латеральнее от линии разреза в верхней части раны. Целесообразно присоединить к дренажу стерильную грушу для создания отрицательного давления. Перед ушиванием кожи следует наложить дополнительную линию узловых швов непосредственно в подкожном слое (викрил 3-0 или 4-0), что позволит существенно снизить риск расхождения краёв раны. Кожа ушивается узловыми швами (викрил 3-0 или 4-0).

Повязка

После обработки послеоперационной раны кожным антисептиком накладываются две стерильные метровые салфетки, которые фиксируются стерильной клейкой лентой крест на крест из области седалищных бугров до подвздошной области. Такое наложение повязки позволит создать дополнительное давление в ране и обеспечит её надёжную фиксацию.

Послеоперационный период

Антибактериальная терапия согласно результатам предоперационного посева мочи на протяжении всего срока уретральной катетеризации. Во избежание реакций на материал катетера целесообразно использовать инертные силиконовые катетеры. Длительность катетеризации – 3 недели. Во время всего срока катетеризации пациент самостоятельно обрабатывает область наружного отверстия уретры и уретральный катетер водным раствором кожного антисептика (например, 0,02% р-р хлоргексидина) 4 раза в день. Послеоперационная рана ежедневно в течение 10 дней обрабатывается водным раствором кожного антисептика (например, 10% раствора бетадина) 2 раза в день. В дальнейшем осуществляется ежедневная гигиеническая обработка раны. Швы удаляются на 10-е сутки после операции (либо до их полного рассасывания). Пациенту не рекомендуется сидеть в течение 3 недель после операции, допускается положение полулёжа.

Осложнения в послеоперационном периоде

Осложнения возникают редко. Наиболее частыми из них являются гематома в области послеоперационной раны, инфекционно-гнойные осложнения в области послеоперационной раны, гнойный уретрит/простатит.

- Гематома в области послеоперационной раны. Как правило, не требует специальных мероприятий. В большинстве случаев происходит самостоятельная резорбция гематомы.

- Инфекционно-гнойные осложнения характеризуются припухлостью, болезненностью и покраснением в области послеоперационной раны. Целесообразно выполнить ультразвуковое исследование на предмет наличия жидкостных образований. При их наличии показано зондирование и дренирование с последующей обработкой антисептическими средствами. Также целесообразно рассмотреть вопрос оптимизации системной антибактериальной терапии. Как правило, данных мероприятий достаточно для купирования гнойно-инфекционного процесса и показаний для удаления уретрального катетера не возникает.
- Гнойный уретрит/простатит. Как правило, данные осложнения возникают не ранее 3–5 суток после операции. Клиническая картина характерна для острого инфекционно-гнойного процесса: боль в промежности и в уретре, боль внизу живота, интенсивные частые позывы к мочеиспусканию, гнойные выделения из уретры, лихорадка, озноб, лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево. Выполняется ТРУЗИ простаты, УЗИ послеоперационной раны, посев отделяемого из уретры, общий анализ крови и другие исследования по показаниям. Целесообразно в максимально короткие сроки рассмотреть возможность назначения антибактериальных препаратов из группы резерва (например, карбапенемы, цефалоспорины 4 поколения). В большинстве случаев удаётся купировать острый гнойно-воспалительный процесс и избежать удаления уретрального катетера. Если же в течение 1–3 дней предпринятые мероприятия не оканчиваются успехом, то целесообразно рассмотреть возможность удаления уретрального катетера и выполнения пункционной цистостомии.

Удаление уретрального катетера

Удаление уретрального катетера осуществляется в плановом порядке через 3 недели после операции. Удаление катетера всегда выполняется на фоне микционной цистоуретрографии. Сперва выполняется обзорный снимок в положении $\frac{3}{4}$ слева. Затем по уретральному катетеру вводится раствор рентген-контрастного вещества (предварительно следует опорожнить баллончик

катетера). У пациентов с длительным нахождением уретрального катетера может возникнуть ирритативная симптоматика, что следует принять во внимание при наполнении мочевого пузыря. Желательный объём наполнения составляет 200–250 мл. Тем не менее, крайне важным моментом является наличие явного позыва к мочеиспусканию. На высоте позыва уретральный катетер удаляется и выполняется снимок во время микции. Отсутствие затёков контрастного вещества и нормальный просвет уретры в области операции свидетельствуют об успешности проведённой операции. В этот же день целесообразно выполнить урофлоуметрию и оценить объём остаточной мочи. Если же на микционной цистоуретрограмме видны признаки несостоятельности анастомоза (затёк контрастного вещества), то необходимо повторно установить уретральный катетер на не менее, чем 7–10 дней и повторить указанный алгоритм.

Послеоперационное наблюдение и рекомендации

При отсутствии жалоб через 1 месяц после удаления катетера рекомендуется выполнить общий анализ мочи и бактериологическое исследование мочи. Повтор антибактериальной терапии осуществляется по показаниям. Каждые 3 месяца с момента операции необходимо выполнять урофлоуметрию. При снижении максимальной скорости мочеиспускания ниже 15 мл/с следует выполнить ретроградную уретрографию и микционную цистоуретрографию. В дальнейшем необходимо выполнять урофлоуметрию 1 раз в год в течение 5 лет. Можно рекомендовать пациенту вести дневник урофлоуметрии путем измерения средней скорости мочеиспускания в домашних условиях. Пациенту не рекомендуются занятия, связанные с давлением в области промежности (риск ишемизации): катание на велосипеде, мотоцикле и т.д.

3.1.3.2. Анастомотическая уретропластика без пересечения спонгиозного тела

Рентгенограмма (см. Рисунок 3.8)

Показания

Непротяженная (до 2 см) стриктура луковичного отдела уретры без выраженного спонгиофиброза (то есть, это не стриктуры посттравматической этиологии вследствие тупой травмы промежности), в том числе после неудачных попыток эндоскопического лечения (оптическая уретротомия).

Укладка пациента

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Обработка операционного поля

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Фиксация головки полового члена при помощи провизорного шва

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Уретроскопия, проведение струны

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Введение раствора метиленового синего в уретру

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Проведение уретрального катетера до дистального края стриктуры

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Доступ

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Определение дистального края стриктуры

Для определения дистального края стриктуры следует провести по уретре катетер Нелатона 16–18 Ch. Катетер вводится деликатно до области стриктуры (на рисунке эта область отмечена пинцетом).

В качестве ориентира можно использовать провизорный шов (викрил 5-0). Для определения проксимального края стриктуры уретру следует ротировать на 180°. Для этого накладывается два провизорных шва (викрил 4-0) на правую латеральную поверхность спонгиозного тела (на 1 см выше и 2 см ниже дистального края стриктуры). Швы проводятся под уретрой на левую сторону и выполняется ротация уретры. Ротация необходима, для того чтобы рассечь уретру именно по дорсальной поверхности, на которой толщина спонгиозного тела значительно менее выражена, чем на вентральной поверхности (это позволит существенно уменьшить кровоточивость тканей и улучшить видимость в ране). Далее при ориентировании на струну-проводник производится рассечение уретры от дистального края стриктуры в проксимальном направлении, пока не будет определён нормальный просвет уретры. После этого в проксимальную часть уретры вводится катетер Фолея 20 Ch, чтобы определить проходимость уретры до мочевого пузыря.

Иссечение слизистой оболочки уретры в области стриктуры

Ключевым отличием данного оперативного пособия от классического уретро-уретрального анастомоза является тот факт, что производится иссечение только слизистой уретры в области стриктуры без резекции спонгиозной ткани, то есть само спонгиозное тело остаётся интактным, что позволяет сохранить луковичные артерии [152]. Как было отмечено в «Показаниях», крайне важным моментом при выполнении данной операции является отсутствие выраженного спонгиофиброза. Выраженный спонгиофиброз во время оперативного пособия представлен рубцовой тканью с обеднённым кровотоком. В данном случае целесообразно выполнить классический уретро-уретральный анастомоз. Если спонгиозное тело интактно, обильно кровоснабжается, то следует выполнить иссечение рубцово-изменённой слизистой при отступлении по 5 мм дистальнее и проксимальнее от соответствующих краёв стриктуры. Иссечение слизистой осуществляется при помощи микрохирургических пинцетов, скальпеля и сосудистых ножниц (можно использовать остроконечные ножницы). Сперва скальпелем намечаются границы разреза, затем при помощи микрохирургических пинцетов и сосудистых ножниц производится иссечение рубцовой слизистой. Этот этап операции характеризуется обильным венозным кровотечением из подлежащего спонгиозного тела. Снижение артериального давления до уровня 90/60 мм рт.ст. (при отсутствии противопоказаний и при согласовании с анестезиологической бригадой) может существенно улучшить визуализацию в операционной ране; также следует предусмотреть использование аспиратора. После иссечения слизистой оболочки рана должна выглядеть в виде прямоугольника, дно которого представлено спонгиозной (Рисунок 3.23) [152].

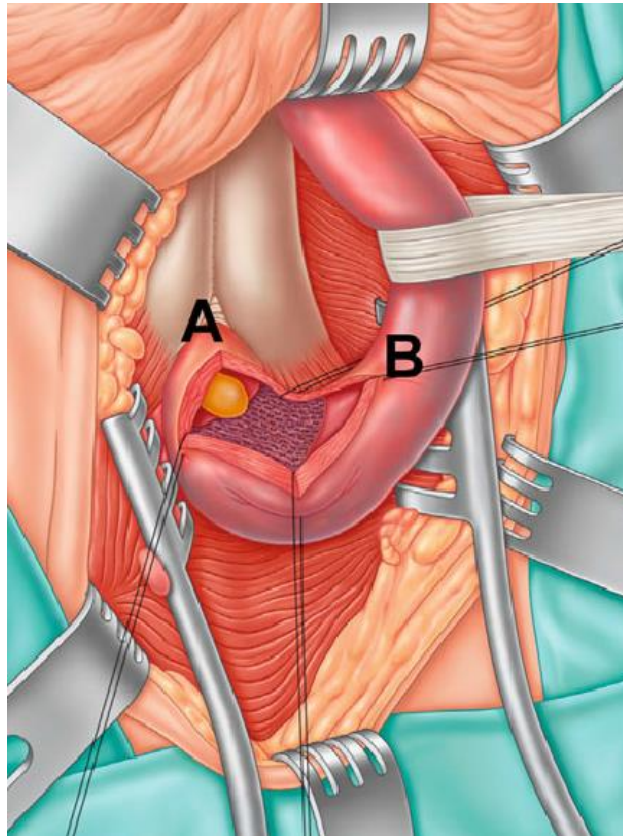


Рисунок 3.23 – Иссечение слизистой оболочки уретры в области стриктуры; дно раны прямоугольной формы представлено спонгиозной тканью [152]

Формирование анастомоза

Анастомоз формируется путём сопоставления проксимального и дистального краёв слизистой оболочки уретры. Целесообразно использовать викрил 4-0 или 5-0. Накладываются одиночные узловые швы от края к центру. Количество швов – около 4–8. Вкол осуществляется при отступлении 3–4 мм от края слизистой оболочки. Выкол – аналогично. Во время затягивания швов целесообразно смачивать последние физиологическим раствором для уменьшения пилящего эффекта от плетённой нити (снижение риска прорезывания швов). После того как все швы наложены, рана выглядит, как показано на рисунке (Рисунок 3.24).

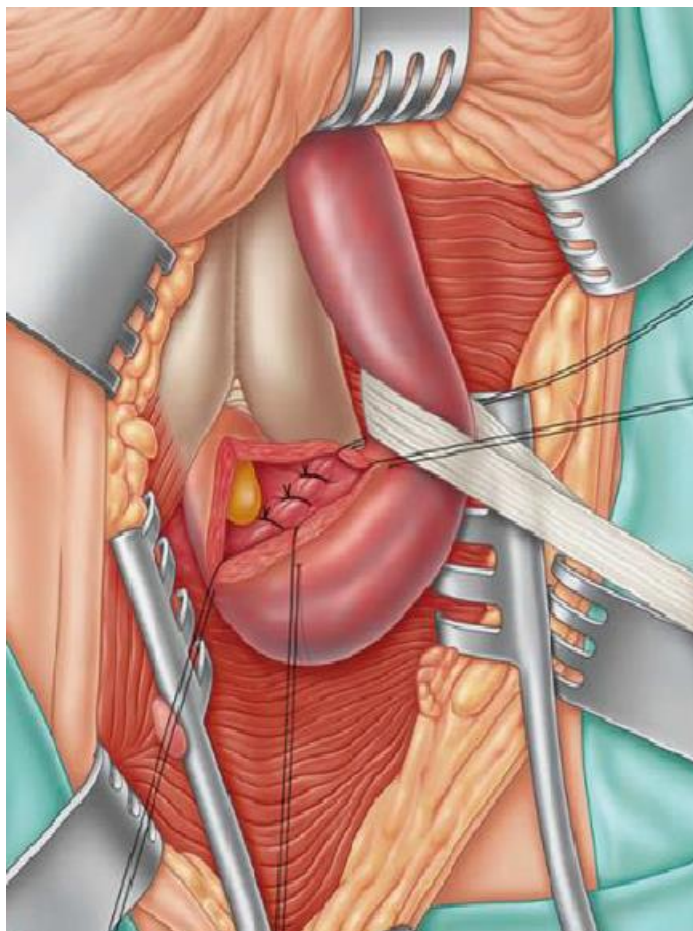


Рисунок 3.24 – Края слизистой оболочки уретры анастомозированы единичными узловыми швами [152]

Напомним, что рассечение уретры (по дорсальной поверхности) было осуществлено в продольном направлении, а ушивание производится в поперечном. За счёт этого манёвра осуществляется увеличение просвета уретры в зоне оперативного вмешательства. Ушивание уретры производится узловыми швами викрил 3-0 или 4-0 (Рисунок 3.25).

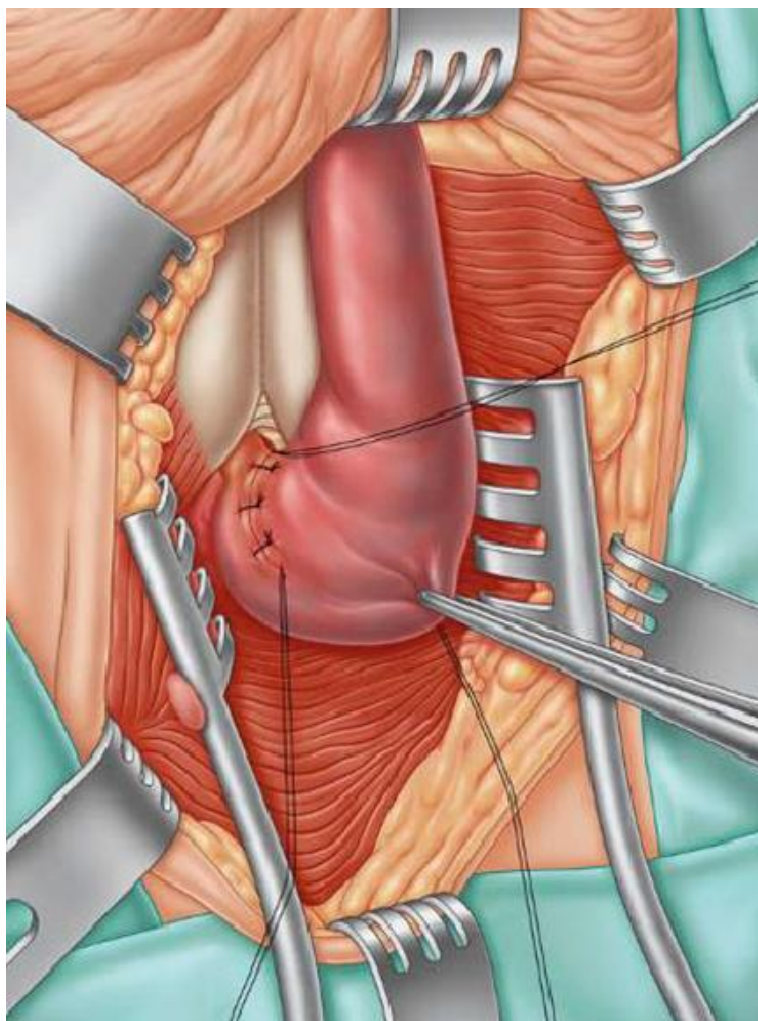


Рисунок 3.25 – Продольный разрез уретры ушит в поперечном направлении единичными узловыми швами [152]

Ушивание раны

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Послеоперационный период

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Осложнения в послеоперационном периоде

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Удаление уретрального катетера

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Послеоперационное наблюдение и рекомендации

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

3.1.3.3. Уретро-простатический анастомоз

Рентгенограмма (Рисунок 3.26)

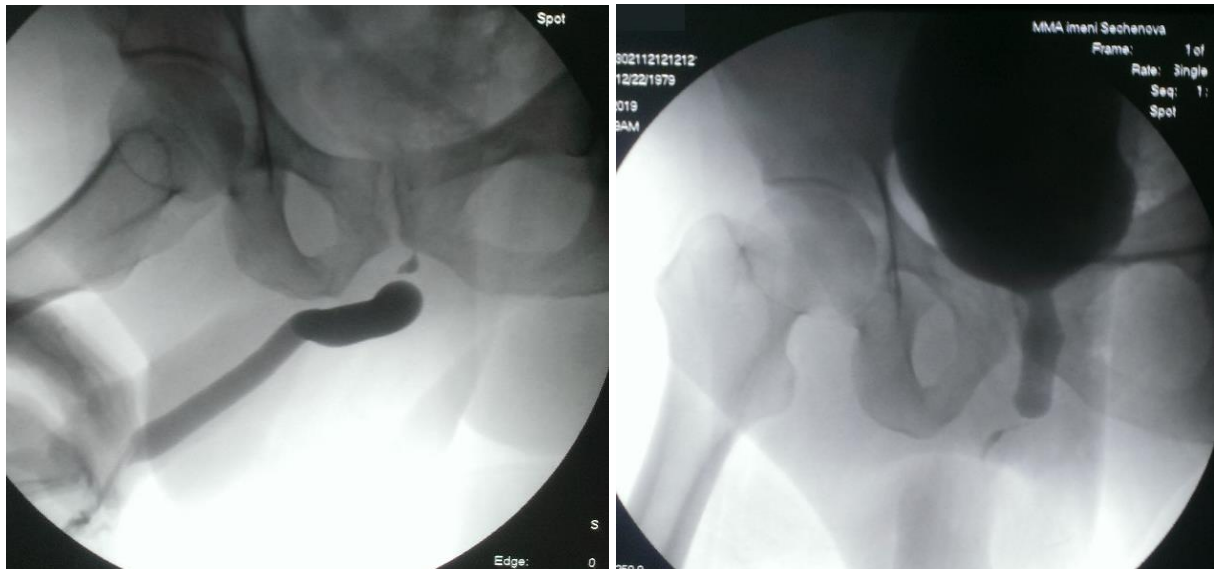


Рисунок 3.26 – ретроградная уретрограмма (слева), микционная уретрограмма (справа); пациент с посттравматической облитерацией мембранозного отдела уретры

Показания

Стриктура или облитерация мембранозного (луковично-мембранозного) отдела уретры в результате перелома костей таза.

Укладка пациента

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Обработка операционного поля

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Фиксация головки полового члена при помощи провизорного шва

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Проведение уретрального катетера до дистального края стриктуры

Вводится катетер Нелатона (16 Ch), для того чтобы пальпаторно определить дистальный край стриктуры. После того, как дистальный край стриктуры пропальпирован, он помечается маркером (поперечная линия), и намечаются границы разреза (Рисунок 3.27). Длина разреза составляет около 5–6 см, нижний край разреза должен отстоять от ануса не менее чем на 2 см во избежание травматизации соответствующих мышц.

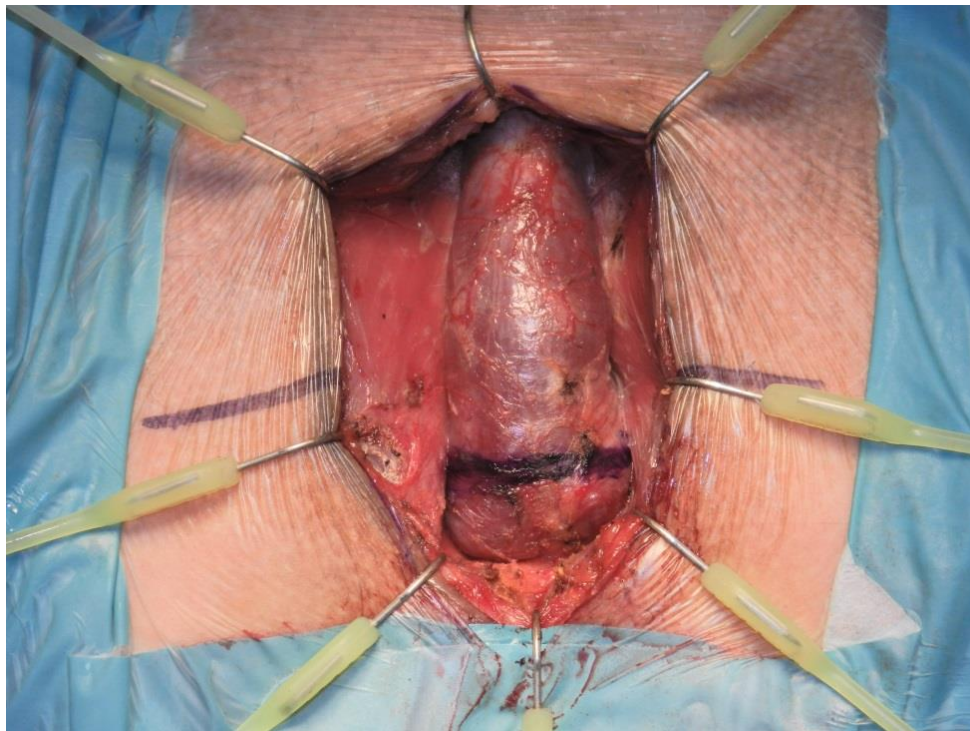


Рисунок 3.27 – Пальпаторно определена дистальная граница стриктуры (по уретре проведён катетер Нелатона 18Ch)

Доступ

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика». Особенности связаны с мобилизацией проксимальной части луковичного отдела уретры до границы с мембранозным отделом. На границе с мембранозным отделом уретры луковичная часть меняет своё направление и входит в малый таз. Производится мобилизация проксимальной части спонгиозного тела (луковицы) от сухожильного центра промежности. Активно используется биполярная коагуляция и сосудистые ножницы. После круговой мобилизации всей луковичной части уретры (дистальной и проксимальной вплоть до границы с мембранозной частью уретры) осуществляется пересечение уретры максимально глубоко в ране (по сути на границе луковичной и мембранозной части) (Рисунок 3.28, 3.29). Для этого следует использовать сосудистые ножницы соответствующего размера. Во время пересечения толщи спонгиозного тела неизбежно будут повреждены луковичные артерии (как правило, их две, на 4 и 8 часах условного циферблата). Кровотечение из луковичных артерий достаточно интенсивное. Необходимо быть готовым быстрому прошиванию артерий (целесообразно дополнительно использовать биполярную коагуляцию и аспиратор). После остановки артериального кровотечения можно приступать к дальнейшему этапу.

Как правило, после пересечения уретры в обеих культях уретры (проксимальной и дистальной) сохраняются фрагменты рубцовой ткани. Следует полностью удалить рубцовую ткань с дистальной культи уретры под визуальным контролем. Удаление рубцовой ткани с проксимальной культи под визуальным контролем достаточно затруднительно. Для этого следует прибегнуть к специальному манёвру. Необходимо по цистостомическому свищу провести гибким уретроцистоскоп до уровня облитерации/стриктуры уретры (Рисунок 3.30). При пальпаторном и визуальном (на свет из цистоскопа) ориентировании осуществляется круговое иссечение рубцовых тканей в области проксимальной культи уретры.

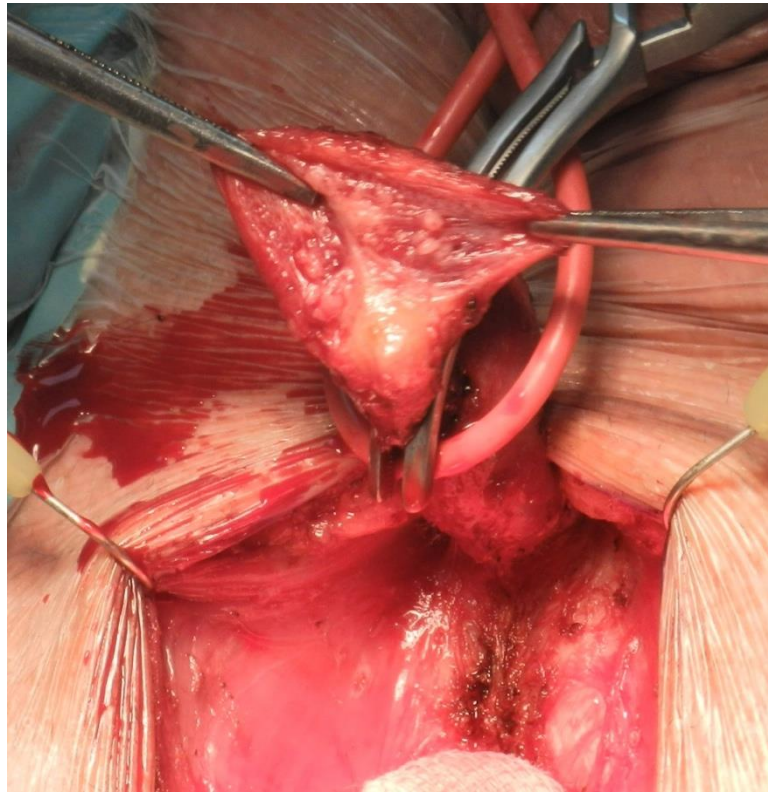


Рисунок 3.28 – Отмобилизована и отсечена дистальная культя уретры; определяется рубцово-изменённое спонгиозное тело; облитерация уретры

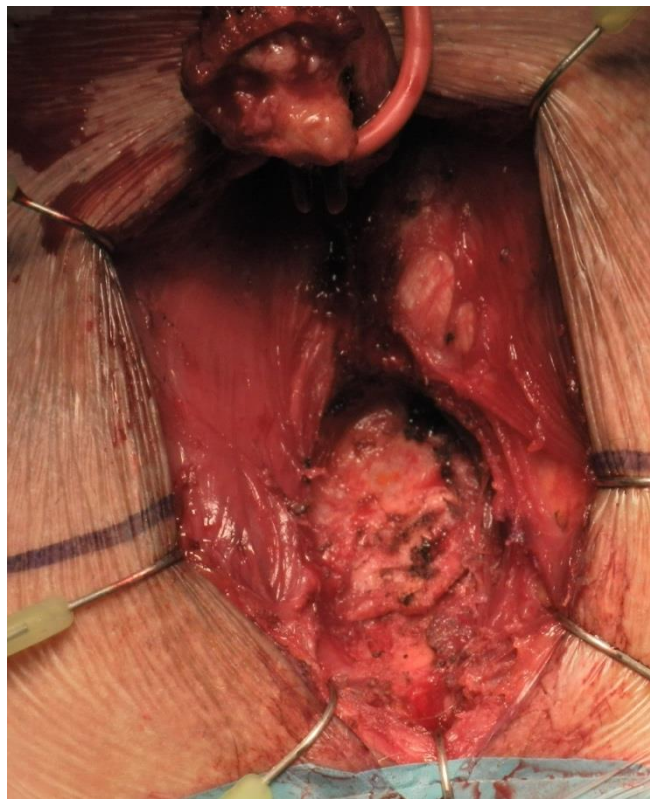


Рисунок 3.29 – Между проксимальной частью ножек полового члена определяется облитерация мембранозного отдела уретры



Рисунок 3.30 – Антеградно в простатический отдел уретры проведён цистоскоп; сквозь облитерацию определяется свет цистоскопа

В итоге в области проксимальной культи должен появиться кончик цистоскопа (Рисунок 3.31).

Далее в обе культи вводятся носовые зеркала, чтобы убедиться в достаточном просвете уретры, а также в том, что рубцовые ткани полностью иссечены (Рисунки 3.32, 3.33).

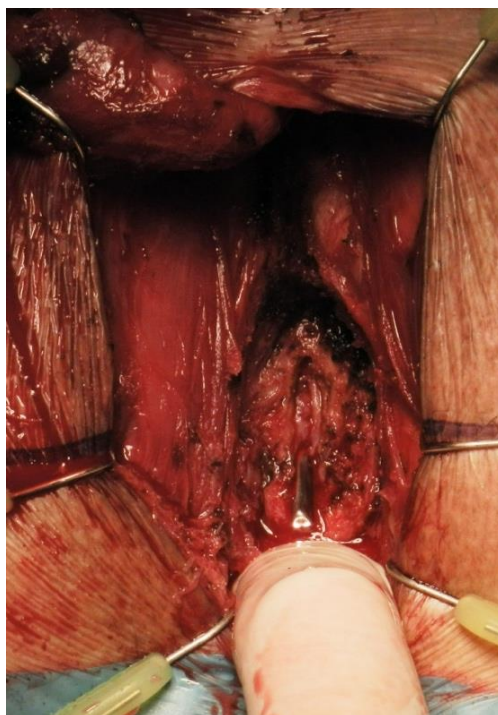


Рисунок 3.31 – Кончик цистоскопа в области проксимальной культи уретры

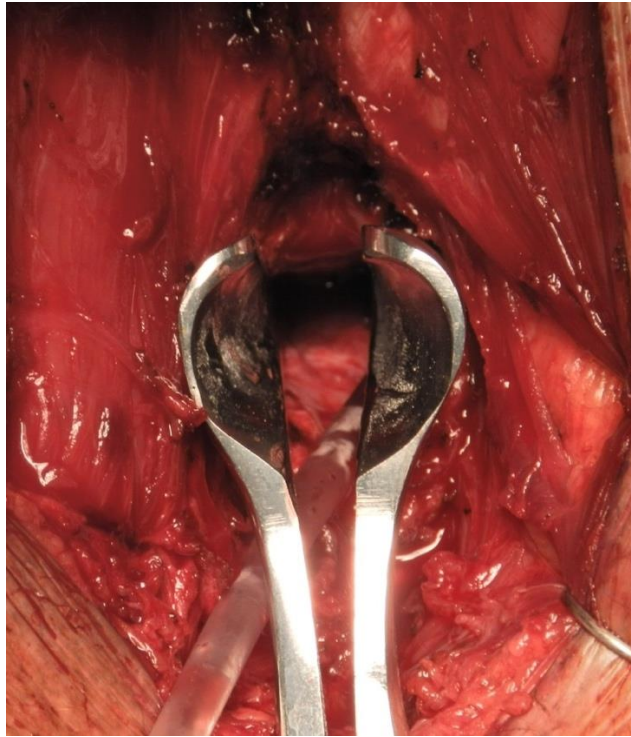


Рисунок 3.32 – После иссечения рубцовых тканей носовые зеркала проведены и раскрыты в мембранозно-простатическом отделе уретры

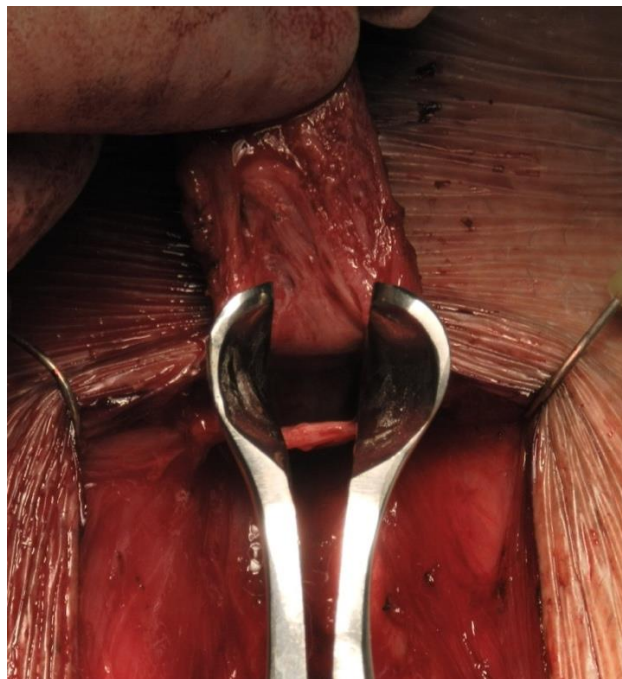


Рисунок 3.33 – После иссечения рубцовых тканей носовые зеркала проведены и раскрыты в луковичном отделе уретры

Наложение анастомотических швов

Как правило накладывается от 6 до 8 анастомотических швов (викрил 3-0) на проксимальную культю (12, 2, 4, 6, 8, 10 часов условного циферблата, дополнительные швы можно наложить на 3 и 6 часов). При наложении анастомотических швов вкол делается снаружи, выкол – в просвет уретры (в непосредственной близости от семенного бугорка, то есть на границе мембранозного и простатического отделов уретры) (Рисунок 3.34). Далее каждая нить фиксируется москитом и помещается на соответствующую позицию ретрактора Скотта.

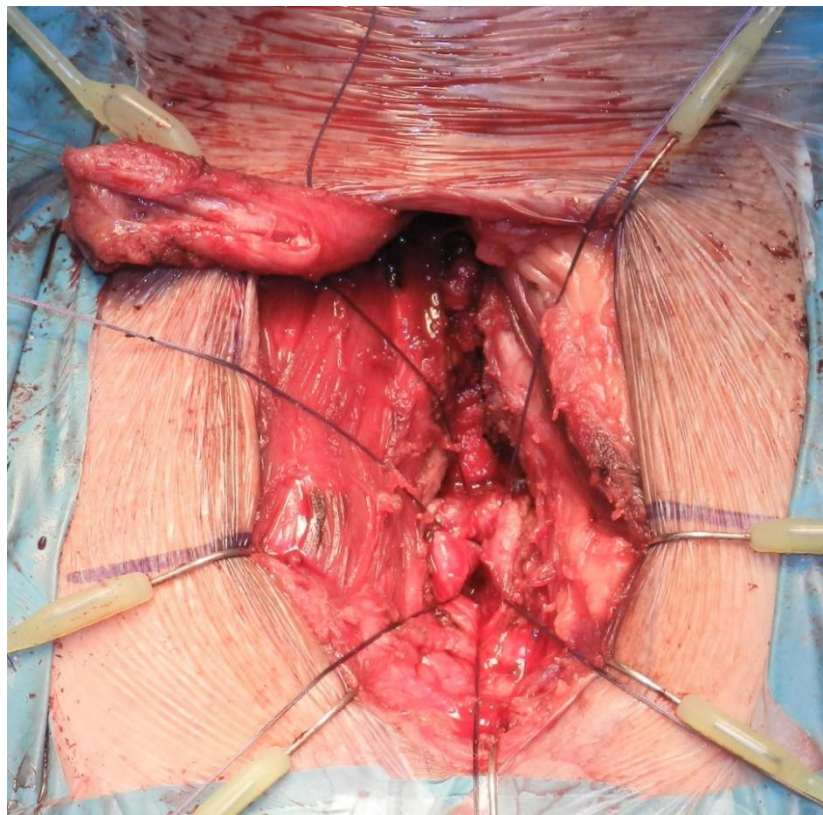


Рисунок 3.34 – Наложение анастомотических швов на проксимальную культю уретры

Формирование уретро-простатического анастомоза

После того, как наложены все нити на проксимальную культю, переходят к формированию непосредственно уретро-простатического анастомоза. Перед формированием анастомоза следует убедиться, что в зоне планируемого анастомоза не возникнет натяжения тканей уретры. Для этого при помощи двух пинцетов осуществляется сопоставление обеих культей уретры. При наличии

признаков натяжения можно прибегнуть к методикам по уменьшению натяжения, описанным в разделе «Анастомотическая пластика». При отсутствии натяжения анастомозируем культы уретры друг с другом. Сначала формируется дорсальная поверхность уретры. Для этого задействуются анастомотические швы на 10, 12, 2 часах условного циферблата. Свободная часть нити (без иглы) фиксируется в холостую иглу и проводится снаружи-внутри в области дорсальной полуокружности дистальной культы. Аналогичным образом анастомозируются все остальные нити как на дорсальной (10, 12, 2 часах условного циферблата), так и на вентральной (8, 6, 4 часах условного циферблата) поверхности (Рисунок 3.35).

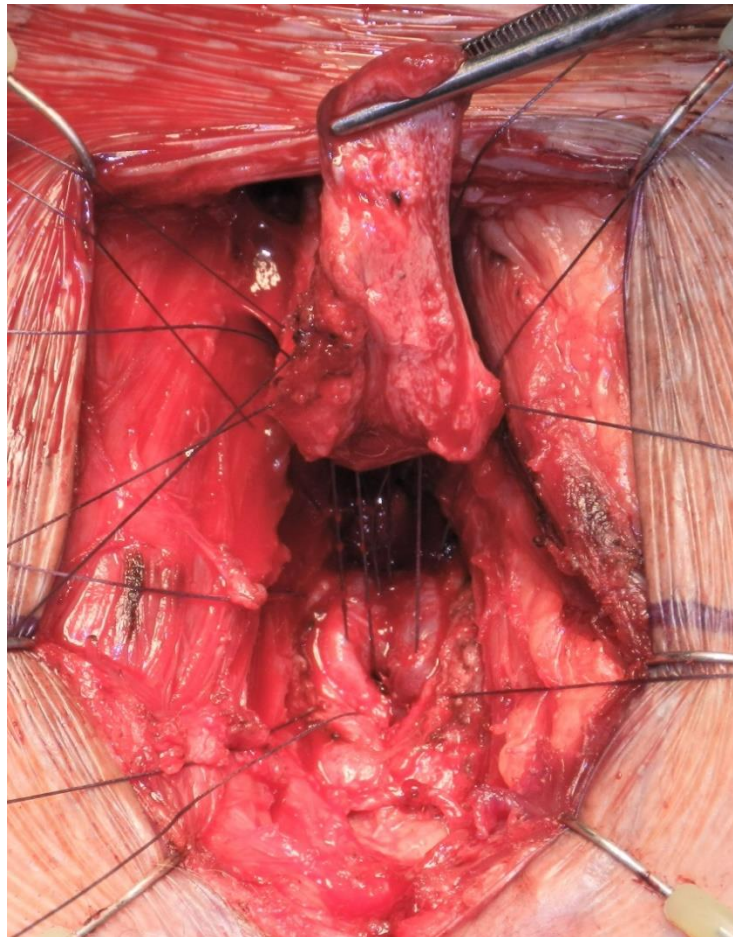


Рисунок 3.35 – Наложение анастомотических швов по дорсальной и вентральной поверхности дистальной культы уретры

После того, как все швы наложены, приступают к их затягиванию. Сперва затягивается шов 12 часах, затем на 10 и 2 часах, затем швы на 8 и 4 часах и последним – шов на 6 часах условного циферблата.

Проведение уретрального катетера

Проводится уретральный катетер №16 Ch, силиконовый. При проведении катетера может возникнуть небольшая сложность в его преодолении вновь сформированного анастомоза. Для предотвращения этих сложностей перед введением катетера следует по уретре провести достаточное количество лубриканта и при внешнем содействии указательного пальца задать необходимое направление движения катетера. В редких случаях может потребоваться ввести палец трансректально. Как правило, этих мероприятий бывает достаточно, чтобы провести катетер в мочевой пузырь.

Ушивание раны

Рана ушивается послойно (бульбо-спонгиозные мышцы, подкожно-жировая клетчатка, кожа). При необходимости устанавливается дренаж.

Повязка

После обработки послеоперационной раны кожным антисептиком на область раны накладываются две стерильные метровые салфетки, которые фиксируются стерильной клейкой лентой крест на крест из области седалищных бугров до подвздошной области. Такое наложение повязки позволит создать дополнительное давление в ране и обеспечит её надежную фиксацию.

Послеоперационный период

Антибактериальная терапия согласно результатам предоперационного посева мочи на протяжении всего срока уретральной катетеризации. Во избежание реакций на материал катетера целесообразно использовать инертные силиконовые катетеры. Длительность катетеризации – 3 недели. Во время всего срока катетеризации пациент самостоятельно обрабатывает область наружного отверстия уретры и уретральный катетер водным раствором кожного антисептика

(например, 0,02% раствор хлоргексидина) 4 раза в день. Послеоперационная рана ежедневно в течение 10 дней обрабатывается водным раствором кожного антисептика (например, 10% раствор бетадина) 2 раза в день; в дальнейшем – ежедневная гигиеническая обработка раны. Швы удаляются на 10е сутки после операции (либо до их полного рассасывания). Пациенту не рекомендуется сидеть в течение 3 недель после операции; допускается положение полулёжа.

Удаление уретрального катетера

Удаление уретрального катетера осуществляется в плановом порядке через 3 недели после операции. Удаление катетера всегда выполняется на фоне микционной цистоуретрографии. Сперва выполняется обзорный снимок в положении $\frac{3}{4}$ слева. Затем по уретральному катетеру вводится раствор рентген-контрастного вещества (предварительно следует опорожнить баллончик катетера). У пациентов с длительным нахождением уретрального катетера может возникнуть ирритативная симптоматика, что следует принять во внимание при наполнении мочевого пузыря. Желательный объём наполнения составляет 200–250 мл. Тем не менее, крайне важным моментом является наличие явного позыва к мочеиспусканию. На высоте позыва уретральный катетер удаляется и выполняется снимок во время микции. Отсутствие затёков контрастного вещества и нормальный просвет уретры в области операции свидетельствуют об успешности проведённой операции. В этот же день целесообразно выполнить урофлоуметрию и оценить объём остаточной мочи. Если же на микционной цистоуретрограмме видны признаки несостоятельности анастомоза (затёк контрастного вещества), то необходимо повторно установить уретральный катетер на не менее, чем 7–10 дней и повторить указанный алгоритм.

Послеоперационное наблюдение и рекомендации

При отсутствии жалоб через 1 месяц после удаления катетера рекомендуется выполнить общий анализ мочи и бактериологическое исследование мочи. Повторить антибактериальную терапию по показаниям. Каждые 3 месяца

с момента операции выполнять урофлоуметрию. При снижении максимальной скорости мочеиспускания ниже 15 мл/с – выполнить ретроградную уретрографию и микционную цистоуретрографию. В дальнейшем выполнять урофлоуметрию 1 раз в год в течение 5 лет. Можно рекомендовать пациенту вести дневник урофлоуметрии путем измерения средней скорости мочеиспускания в домашних условиях. Пациенту не рекомендуются занятия, связанные с давлением в области промежности (риск ишемизации): катание на велосипеде, мотоцикле и т.д.

3.1.3.4. Промежностная уретростомия

Рентгенограмма (Рисунок 3.36)



Рисунок 3.36 – Комбинированная (микционная и ретроградная) уретроцистограмма – протяжённая облитерация луковичного отдела уретры; пациент отказался от этапных оперативных пособий в пользу промежностной уретростомии

Показания

Множественные неудачные реконструктивные и паллиативные операции при стриктуре уретры; пожилой возраст пациента; субтотальные стриктуры; тяжёлый соматический статус; нежелание пациента осуществлять дренирование мочевого пузыря по цистостомическому свищу.

Общие рекомендации и особенности

Одним из ключевых условий при планировании данного оперативного пособия является наличие проходимой задней уретры (шейка мочевого пузыря, простатический и мембранозный отделы уретры). В этом следует убедиться путем выполнения в предоперационном периоде микционной цистоуретрографии и/или ультразвуковой микционной цистоуретроскопии. Если по тем или иным причинам данные диагностические процедуры оказались недостаточно информативны, то необходимо прибегнуть к антеградной цистоуретроскопии (как правило, большая часть данных пациентов уже имеют цистостомический дренаж).

Укладка пациента

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Обработка операционного поля

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Фиксация головки полового члена при помощи провизорного шва

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Уретроскопия, проведение струны

Выполняется только при сохранном просвете мочеиспускательного канала.

Введение раствора метиленового синего в уретру

Выполняется только при сохранном просвете мочеиспускательного канала.

Доступ

Доступ имеет свои особенности в сравнении другими операциями, при которых используется разрез в промежности. Форма разреза должна обеспечить несколько моментов: кожно-фасциальный лоскут достаточной длины, чтобы его свободный край можно было бы без натяжения фиксировать к границе луковично-мембранозного отдела уретры (по дорсальной поверхности); хорошая визуализация всего луковичного отдела уретры. Разрез состоит из двух компонентов. Первый компонент в виде перевёрнутой буквы U. Нижними ориентирами являются точки пальпации седалищных бугров (помечаются стерильным маркером) (Рисунок 3.37), верхними ориентирами – проекция средней части луковичного отдела уретры (на 4,0–5,0 см выше точек проекции седалищных бугров) и по 0,5 – 0,7 см. латеральнее от срединной линии (Рисунок 3.37). Второй компонент – это вертикальный разрез по срединной линии длиной 4,0–5,0 см, который начинается от верхушки первого компонента и распространяется на кожу нижней половины мошонки.



Рисунок 3.37 – Определены границы разреза перед началом промежностной уретростомии

Далее при помощи электроножа производится отсепаровывание кожно-фасциального лоскута от подлежащей подкожно-жировой клетчатки (Рисунок 3.38).

Тщательный гемостаз осуществляется при помощи коагулятора и пинцета с коагулятором (Рисунок 3.39).



Рисунок 3.38 – Отсепаровывание кожно-фасциального лоскута от подлежащей подкожно-жировой клетчатки при формировании доступа



Рисунок 3.39 – Гемостаз при помощи коагулятора и пинцета с коагулятором при формировании доступа

На отмобилизированный кожный лоскут накладывается провизорный шов (3-0, 17 мм, ½), игла срезается, нить в москит. Это позволяет фиксировать лоскут в положение книзу, что облегчает визуализацию операционной раны.

После этого устанавливается ретрактор Скотта и накладываются 4 фиксирующих крючка: на 12, 6, 3 и 9 часах условного циферблата (Рисунок 3.40).



Рисунок 3.40 – Наложение фиксирующих крючков

Рассечение глубокого слоя подкожно-жировой клетчатки осуществляется электроножом (Рисунок 3.41).

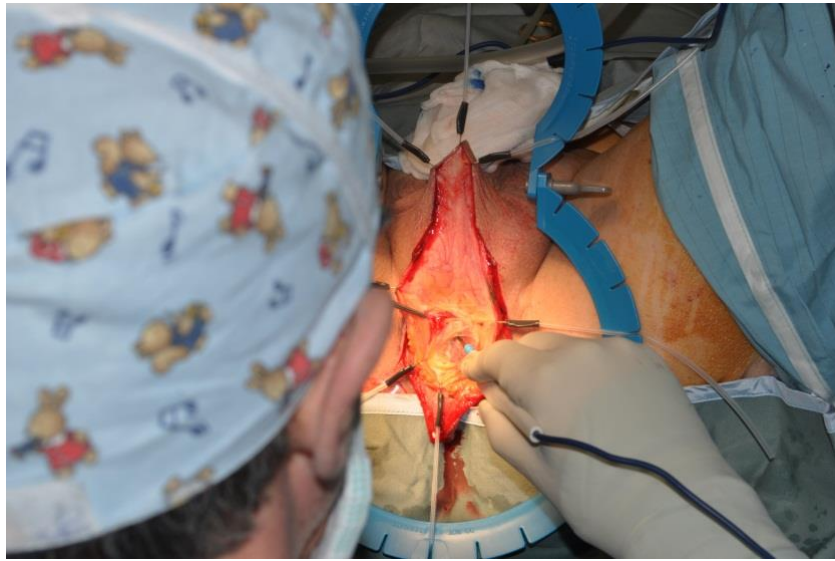


Рисунок 3.41 – Рассечение глубокого слоя подкожно-жировой клетчатки электроножом

Глубокий слой подкожно-жировой клетчатки над бульбо-спонгиозными мышцами рассекается коагулятором не по срединной линии, а несколько латеральнее справа (все стороны указываются относительно пациента). Это обусловлено тем, что по срединной линии ткани более интенсивно сращены и несколько сложнее выделить нужный слой. Более латеральный доступ позволяет легче ориентироваться в необходимом слое. Гемостаз осуществляется прежним образом с помощью коагулятора или пинцет с коагулятором.

Далее мобилизация переднебоковых поверхностей бульбо-спонгиозных мышц и дистальной части луковичной уретры (она не покрыта бульбо-спонгиозными мышцами) осуществляется при помощи сосудистых ножниц и коагулятора (гемостаз прежним образом) (Рисунок 3.42).



Рисунок 3.42 – Мобилизация переднебоковых поверхностей бульбо-спонгиозных мышц и дистальной части луковичного отдела уретры

После мобилизации переднебоковых поверхностей бульбо-спонгиозных мышц производится срединное рассечение на всем протяжении. Рассечение бульбо-спонгиозных мышц можно выполнить двумя способами:

1. При помощи сосудистых ножниц и микрохирургических пинцетов дистальный край бульбо-спонгиозных мышц отсепаровывается от подлежащего спонгиозного тела. Затем несколько латеральнее от срединной линии сосудистые ножницы вводятся между мышцами и спонгиозным телом в проксимальном направлении; аналогичный манёвр осуществляется и с противоположной стороны от срединной линии. Это позволяет отмобилизовать мышцы от спонгиозного тела. После этого ножницами производится рассечение мышцы в проксимальном направлении максимально близко к срединной линии.
2. Бульбо-спонгиозная мышца приподнимается в своей средней части при помощи двух микрохирургических пинцетов максимально близко к

срединной линии, но несколько латеральнее (2–3 мм). Между пинцетами мышца рассекается сосудистыми ножницами до подлежащего спонгиозного тела (Рисунок 3.43). Во время этого этапа важно не повредить спонгиозное тело. Если последнее повреждается, то гемостаз осуществляется ушиванием (викрил 5-0); коагуляция (моно/биполярная будут неэффективны).



Рисунок 3.43 – Рассечение бульбо-спонгиозных мышц

Далее происходит мобилизация спонгиозного тела луковичного отдела уретры от бульбо-спонгиозных мышц при помощи сосудистых ножниц. Продолжается тщательный гемостаз описанным выше способом. Сперва мобилизуется правая поверхность луковичного отдела уретры (Рисунок 3.44).



Рисунок 3.44 – Мобилизация правой поверхности луковичного отдела уретры

По мере мобилизации бульбо-спонгиозных мышц подхватываются на крючки. Аналогичным способом мобилизуется левая поверхность луковичного отдела уретры и подхватывается на крючки (Рисунок 3.45).



Рисунок 3.45 – Мобилизация левой поверхности луковичного отдела уретры

Мобилизация проксимальной части луковицы требует особого внимания в отношении гемостаза: достаточно активно используется коагулятор, пинцет с коагулятором, прошивание тканей (викрил 4-0, 17 мм, ½).

Рассечение уретры (по вентральной поверхности)

Проводится катетер Нелатона 16 Ch с целью определения дистального края стриктуры (определяется пальпаторно). Маркером помечается дистальный край стриктуры (поперечная полоса на спонгиозном теле). На 1,5–2,0 см дистальнее края стриктуры уретра фиксируется зажимом Alice, вытягивается несколько кпереди и рассекается скальпелем в дистальном направлении на протяжении 1,0–1,5 см (Рисунок 3.46).



Рисунок 3.46 – Рассечение дистальной части луковичного отдела уретры по вентральной поверхности

При рассечении слизистой уретры должен появиться раствор метиленового синего в ране (аспирируется отсосом).

На рассеченную уретру (сразу после рассечения) накладывается два провизорных шва (4-0, 17 мм, 1/2). Зажим Alice снимают. Направление вкола (снаружи-внутри или наоборот) значения не имеет, однако важно, чтобы в шов попала слизистая уретры. Чаще направление вкола изнутри-наружу (более надежно подхватывается слизистая). Глубина вкола составляет не менее 5 мм от края разреза слизистой. Игла срезается, нить фиксируется москитом на ретрактор Скотта.

Если у пациента имеется протяжённая стриктура уретры, которая не позволяет провести катетера Нелатона для определения дистального края стриктуры, то применяется иной способ рассечения луковичного отдела уретры. При помощи двух микрохирургических пинцетов приподнимается спонгиозное

тело по вентральной поверхности. Между пинцетами по срединной линии при помощи деликатного скальпеля при придерживании срединного положения рассекается спонгиозное тело. Если клиническая ситуация позволяет, то крайне желательно, чтобы в просвете уретры присутствовала струна-проводник; это позволит более легко найти просвет уретры при рассечении спонгиозного тела. Следует отметить, что выраженная толщина спонгиозного тела по вентральной поверхности может вызвать существенные трудности в поиске просвета уретры. В связи с этим рассечение луковичного отдела уретры целесообразнее начинать в её более дистальной части, где толщина спонгиозного тела меньше. При рассечении слизистой уретры должен появиться раствор метиленового синего в ране.

Далее сосудистыми ножницами уретра рассекается в проксимальном направлении (Рисунок 3.47).



Рисунок 3.47– Луковичный отдел уретры рассечён по вентральной поверхности

Чтобы удостовериться, что это истинный, а не ложный ход уретры, следует провести катетер Тимана (8 Ch) в мочевой пузырь (происходит выделение мочи по катетеру). После этого в данное отверстие вводятся носовые зеркала (Рисунок 3.48).

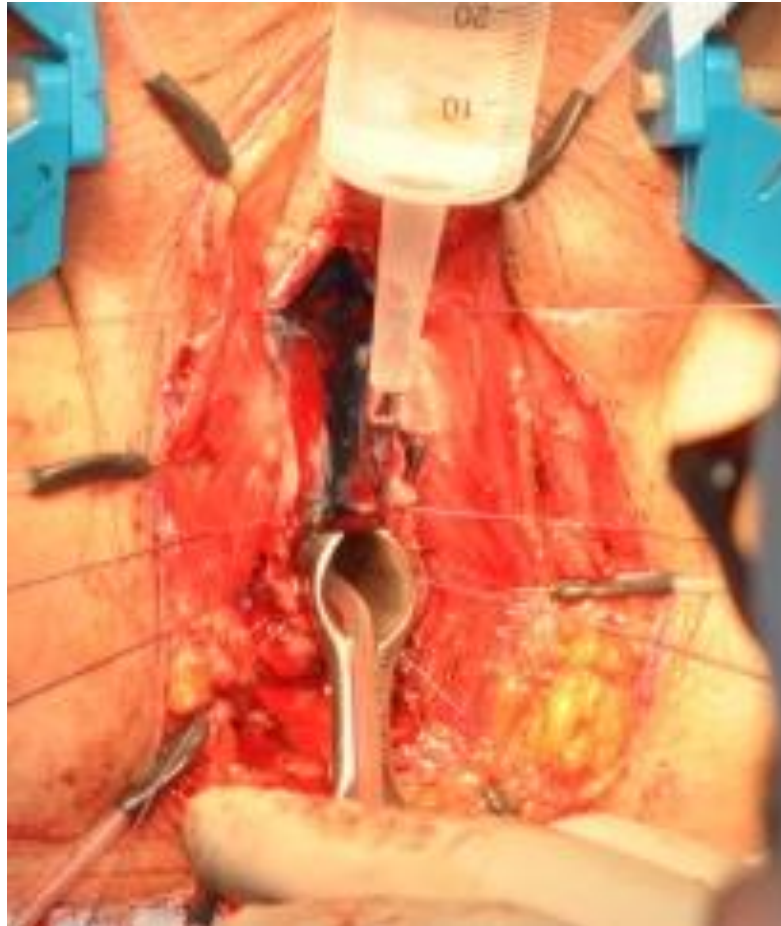


Рисунок 3.48 – Носовые зеркала проведены и раскрыты в мембранозно-простатическом отделе уретры

Обшивание уретры и спонгиозного тела

Обшивание производится с гемостатической целью, а также с целью создания уростомической площадки. Предварительно удаляются провизорные швы, если они были наложены ранее. Далее непрерывным обвивным швом (викрил 4-0, 17 мм, ½) обшивается вся левая часть рассечённого спонгиозного тела (вкол в спонгиозное тело, выкол из слизистой уретры и так далее). Первый вкол осуществляется на уровне верхнего края проксимального отверстия уретры (Рисунок 3.49).

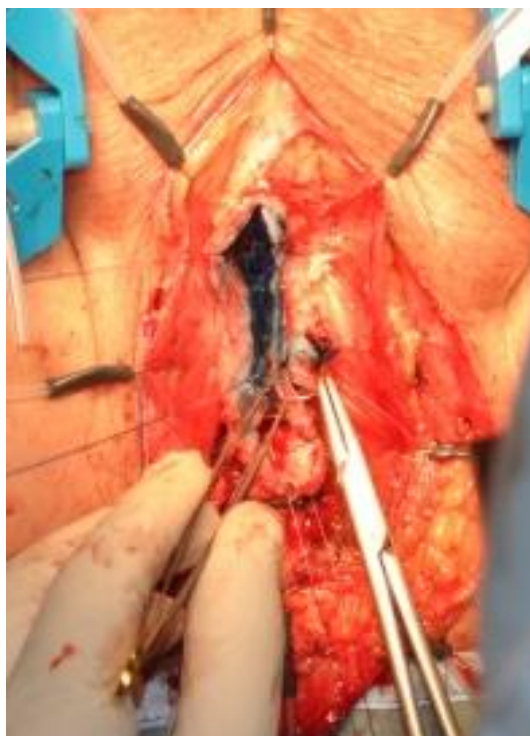


Рисунок 3.49 – Обшивание левой части рассеченного спонгиозного тела обвивным швом

Аналогичным образом прошивается вся правая половина спонгиозного тела (первый вкол на уровне верхнего края проксимального отверстия уретры) (Рисунок 3.50).



Рисунок 3.50 – Обшивание правой части рассеченного спонгиозного тела обвивным швом

С гемостатической целью узловыми швами (викрил 4-0, 17 мм, ½) обшивается нижняя полуокружность вокруг проксимального отверстия уретры (направление вколов различное – как удобнее; слизистая уретра в шов не подхватывается) (Рисунок 3.51).



Рисунок 3.51 – Обшивание нижней полуокружности вокруг проксимального отверстия уретры

Техника наложения швов на 7, 6, 5 часах условного циферблата

Данные анастомотические швы помогут погрузить кожный лоскут вглубь луковично-мембранозного отдела уретры и сформировать анастомоз между ним и слизистой мембранозного отдела уретры. С учетом пространственной ограниченности в данной части операционного поля, данный способ формирования анастомоза является приоритетным.

В луковично-мембранозный отдел уретры вводятся носовые зеркала (длина не менее 5 см), деликатным скальпелем рассекается только слизистая оболочка вентральной поверхности уретры (спонгиозное тело не рассекается). На данном этапе крайне желательно добиться хорошего визуального контроля выполняемых действий. Этого можно добиться как при использовании налобного осветителя, так и за счёт выраженной позиции Тренделенбурга и соответствующей ориентации операционных ламп. Сперва необходимо визуализировать семенной бугорок, при отступлении от которого на 3–5 мм дистальнее и следует начать разрез слизистой оболочки без рассечения подлежащего спонгиозного тела. Разрез производится строго по срединной линии и продолжается до луковичного отдела уретры. Важно повторить, что на данном этапе крайне важно иметь хороший визуальный контроль, в связи с чем с целью минимизации венозного кровотечения из спонгиозной ткани целесообразно обеспечить целевой уровень артериального давления в пределах 90/60 мм рт.ст. при отсутствии противопоказаний.

Далее следует непосредственно этап наложения трёх анастомотических швов. Носовые зеркала несколько разводятся, что приводит к формированию треугольной площадки, одной из вершин которой является семенной бугорок, а две другие вершины расположены в проксимальной части луковичного отдела уретры на 7 и 5 часах условного циферблата. Дно данной площадки представлено спонгиозным телом, лишённым слизистой оболочки. Для формирования анастомотических швов следует использовать специально подготовленные иглы. Следует использовать викрил 3-0, 17 мм, ½. Сперва игла при помощи двух иглодержателей выпрямляется, а затем её кончик (длиной 3–5 мм) плавно загибается кверху под углом около 30–40 градусов, в результате чего игла приобретает лыжеобразную форму. Игла вставляется в иглодержатель таким образом, чтобы изогнутый кончик смотрел вверх. Вкол первой иглы (6 часов условного циферблата) осуществляется в спонгиозное тело по срединной линии при отступлении около 10–15 мм от семенного бугорка; выкол – в непосредственной близости от семенного бугорка, но с обязательным захватом

слизистой уретры. После того, как кончик иглы появился в просвете уретры, он захватывается при помощи второго (более длинного и тонкого) иглодержателя. Первый иглодержатель снимается, второй иглодержатель проводится в мочевого пузыря, ротируется на 180° и извлекается наружу. На нить накладывается москит и фиксируется к ретрактору Скотта на 6 часах условного циферблата. После этого носовые зеркала повторно вводятся в луковично-мембранозный отдел уретры и ротируются таким образом, чтобы щель между зеркалами оказалась на 7 часах условного циферблата. Далее носовые зеркала раскрываются и повторяется процедура с лыжеобразной иглой, описанная выше. Следует отметить, что выкол следует производить несколько дистальнее (на 3–4 мм) от выкола, произведённого на 6 часах условного циферблата. Аналогичным образом накладывается шов и на 5 часах условного циферблата (Рисунок 3.52).

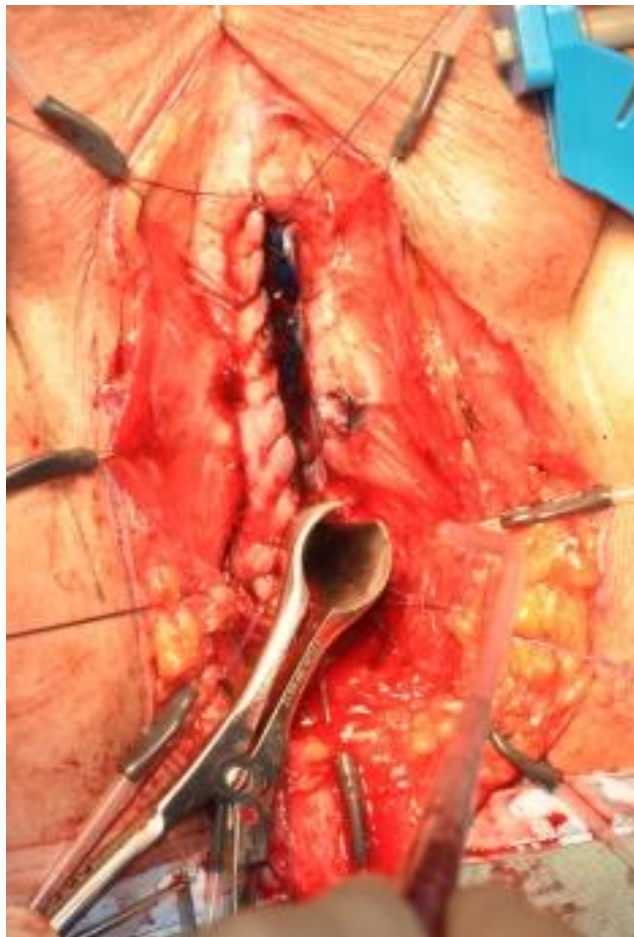


Рисунок 3.52– Наложения трёх анастомотических швов на нижнюю полуокружность уретры

После того, как все три шва наложены, москиты с нитями переводятся на верхнюю полуокружность ретрактора Скотта.

Этапы анастомозирования кожного лоскута с уретрой

Свободные концы нитей с 7, 6, 5 часов условного циферблата последовательно вдевают в многоразовую иглу, прокалывают соответствующее место кожного лоскута (вкол в подкожно-жировую клетчатку, выкол из кожи) (Рисунок 3.53). Расстояние между швом на 6 часах и соседних с ними на коже должно соответствовать аналогичному в уретре (около 3–4 мм с каждой стороны).



Рисунок 3.53 – Анастомозирование кожного лоскута с уретрой при помощи трёх анастомотических швов

Сперва затягивают шов на 6 часах, затем на 7 и 5 часах условного циферблата. При затягивании узлов следует убедиться, что край кожного лоскута

соприкасается со слизистой уретры в области семенного бугорка. Нитка с 6 часов срезается, с 7 и 5 часов фиксируется москитом и помещается на ретрактор Скотта (Рисунок 3.54).



Рисунок 3.54 – Кожно-фасциальный лоскут анастомозирован по вентральной поверхности с луковично-мембранозным отделом уретры

Проводится уретральный катетер Фолея (16 Ch, силиконовый) (Рисунок 3.55).



Рисунок 3.55 – Проведение уретрального катетера

Далее анастомозируются кожные края со спонгиозным телом. Для этого сперва накладывается шов на дистальное отверстие уретры (вкол изнутри наружу) на 12 часах с выколом из кожи (викрил 4-0, 17 мм, ½) (Рисунок 3.56).



Рисунок 3.56 – Наложение шва на дистальное отверстие уретры на 12 часах

Затем латеральнее слева от наложенного ранее узла пинцетом захватывается кожа мошонки, чтобы её можно было дотянуть до узла на 5 часах условного циферблата в области проксимального отверстия уретры. Узловым швом (викрил 4-0, 17 мм, $\frac{1}{2}$) данный фрагмент кожи фиксируется к спонгиозному телу на 4 часах условного циферблата (Рисунок 3.57).



Рисунок 3.57 – Захват кожи мошонки в области проксимального отверстия уретры и ее фиксирование к спонгиозному телу с левой стороны

Аналогичным образом поступают с правой стороны (Рисунок 3.58).



Рисунок 3.58 – Захват кожи мошонки в области проксимального отверстия уретры и ее фиксирование к спонгиозному телу с правой стороны

Далее анастомозируют непрерывным обвивным швом (викрил 3-0, 17 мм, ½) края кожи с краями уретры и спонгиозного тела (Рисунок 3.59).



Рисунок 3.59 – Анастомозирование непрерывным обвивным швом края кожи с краями уретры и спонгиозного тела

Последовательно непрерывным обвивным швом ушивается кожа (Рисунок 3.60). В нижнюю часть раны помещается гемостатическая сетка (опционально). Накладывается давящая повязка.

Послеоперационный период

В послеоперационном периоде пациенту не рекомендуется сидеть (10–14 дней после операции). Возможно принимать полусидячее положение. Микционная цистоуретрография и удаление катетера осуществляется через 3 недели после операции.

Наблюдение

Контрольный визит через 3 месяца для проведения осмотра и урофлоуметрии.



Рисунок 3.60 – Этапы ушивания раны

3.1.3.5. Вентральная буккальная уретропластика

Рентгенограмма (Рисунок 3.61)

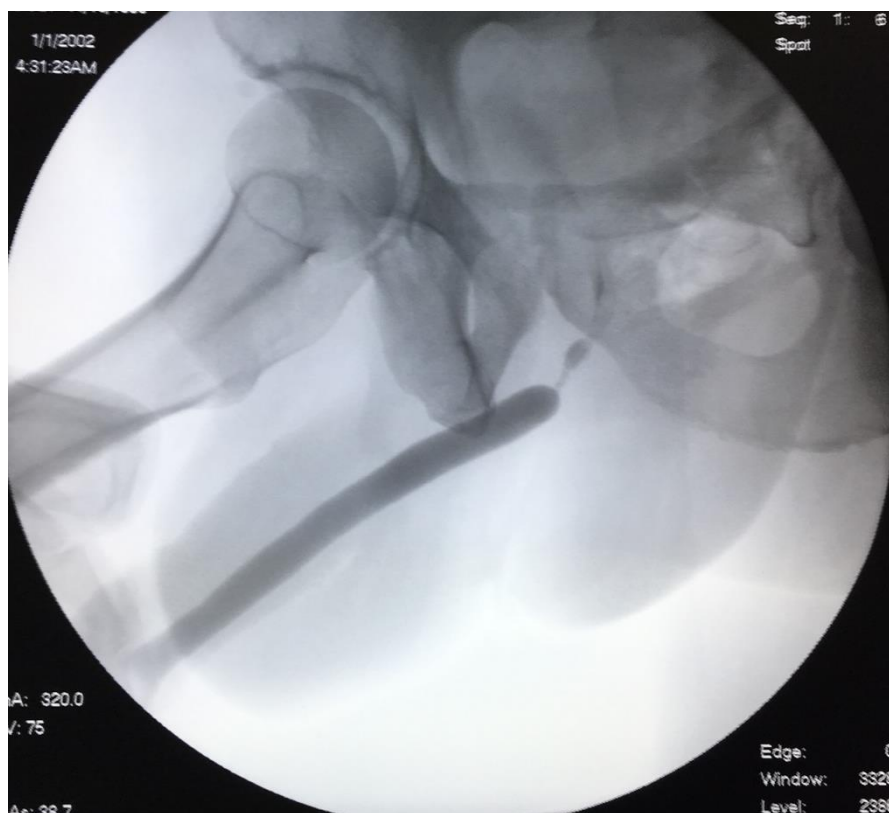


Рисунок 3.61 – Ретроградная уретрограмма.
Стриктура луковичного отдела уретры

Показания

Стриктура/стриктуры проксимальной части луковичного отдела уретры с сохранением просвета уретры, в том числе после неудачных попыток оптической уретротомии.

Укладка

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Обработка операционного поля

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Уретроскопия, проведение струны

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Введение катетера для определения дистального края стриктуры

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Набор инструментов

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Доступ

Рассечение кожи осуществляется скальпелем. Обычный линейный разрез от нижней части кожи мошонки до уровня на 2–3 см выше ануса по срединной линии. Как правило, в середине разреза должна размещаться проекция дистальной части стриктуры (определяется пальпаторно при введении катетера). Рассечение поверхностного слоя подкожно-жировой клетчатки осуществляется электроножом. Устанавливается ретрактор Скотта и 6 крючков (на 12, 2, 4, 6, 8, 10 часах условного циферблата). При необходимости, например, при избыточной подкожно-жировой клетчатки, можно установить два дополнительных крючка на 11 и 1 часах условного циферблата. При помощи сосудистых ножниц и электроножа рассекается глубокий слой подкожно-жировой клетчатки до бульбо-спонгиозных мышц, причем рассечение ножницами глубокого слоя подкожно-жировой клетчатки осуществляется не по срединной линии, а несколько латеральнее справа (все стороны указываются относительно пациента). Таким образом, выделяется вся передняя поверхность бульбо-спонгиозных мышц на протяжении всей длины разреза (Рисунок 3.62).



Рисунок 3.62 – Рассечение кожи и подкожно-жировой клетчатки до бульбо-спонгиозных мышц

Осуществляется очень тщательный гемостаз при помощи либо деликатного пинцета и монополярной коагуляции на нём, либо с помощью биполярного пинцета. Вместо тампонов используют метровые салфетки на пинцете. По мере углубления в рану крючками подхватываются более глубокие слои тканей (кожа, поверхностный и глубокий слой (на этом этапе добавляют оставшиеся 2 крючка) подкожно-жировой клетчатки, мышцы).

Электроножом и сосудистыми ножницами выделяются передне-боковые поверхности бульбо-спонгиозных мышц.

При помощи двух пинцетов (один у ассистента) приподнимается в средней части по срединной линии участок бульбо-спонгиозных мышц. Между пинцетами мышцы пересекаются дистально и проксимально. Для этого толща мышцы послойно пересекается ножницами, пока в глубине раны не окажется вентральная поверхность спонгиозного цвета; её можно легко определить по синюшному

цвету, она достаточно рыхло связана с бульбо-спонгиозными мышцами и легко отмобилизовывается от последних.

Сосудистыми ножницами осуществляется мобилизация всего спонгиозного тела (луковичный отдел уретры) от бульбо-спонгиозных мышц. Во время этого этапа пересекаются мелкие артериальные веточки, которые прободают бульбо-спонгиозные мышцы в направлении спонгиозного тела. Осуществляется тщательный гемостаз при помощи пинцета и монополярной/биполярной коагуляции. Мышцы фиксируются крючками с ретрактора Скотта, дополнительно можно использовать ретрактор Travers (на ретрактор надевается специальная металлическая пластина, чтобы избежать путаницы с инструментами). Луковичная уретра должна быть полностью мобилизована от бульбо-спонгиозных мышц (Рисунок 3.63).



Рисунок 3.63 – Мобилизация луковичного отдела уретры от бульбо-спонгиозных мышц

При мобилизации луковицы в проксимальной (нижней) части артериальные сосуды встречаются чаще. Может потребоваться прошивание мышц для осуществления гемостаза. При мобилизации проксимальной части луковицы от сухожильного центра промежности необходимо использовать следующий прием: пересечение тканей осуществляется между двух прошитых участков.

Рассечение уретры

Когда уретра полностью мобилизована от бульбо-спонгиозных мышц (остается немобилизованной только дорсальная поверхность), по ней вновь проводится катетер Нелатона для определения дистального края стриктуры (определяется пальпаторно и помечается маркером).

На 1,5–2,0 см дистальнее края стриктуры уретры фиксируются зажимом Alice, вытягиваются несколько кпереди и рассекаются скальпелем в проксимальном направлении на протяжении 1,0–1,5 см (Рисунок 3.64).



Рисунок 3.64 – Рассечение уретры в дистальной части луковичного отдела уретры по вентральной поверхности

При рассечении слизистой уретры должна появиться синька в ране (аспирируется отсосом). Рассеченные края уретры необходимо взять на москиты.

На рассеченную уретру сразу накладывается два провизорных шва (монофиламент, 4-0) (Рисунок 3.65). Зажим Alice снимают. Направление вкола (снаружи-внутрь или наоборот) значения не имеет, однако важно, чтобы в шов попала слизистая уретры. Тем не менее, чаще направление вкола изнутри-наружу (более надежно подхватывается слизистая). Глубина вкола около 3–5 мм от края разреза слизистой оболочки. Игла срезается, нитка помещается в москит и на ретрактор Скотта.



Рисунок 3.65 – Наложение двух провизорных швов на края рассечённой уретры

Затем более грубыми ножницами (черные остроконечные) уретра рассекается в проксимальном направлении. Рассекается интервалами по 1,0–1,5 см. Через каждый интервал с обеих сторон накладываются аналогичные описанным выше провизорные швы (игла срезается, нитка помещается в москит и на ретрактор Скотта) (Рисунок 3.66).



Рисунок 3.66 – Наложение провизорных швов на интервальном участке рассекаемой в проксимальном направлении уретры

Таким образом доходят до проксимального края стриктуры. Может возникнуть ситуация, что в месте наибольшего сужения мочеиспускательного канала ввести кончики ножниц в просвет уретры не удастся. Тогда просвет уретры рассекается при помощи деликатного скальпеля (можно использовать офтальмологический скальпель по типу шариковой ручки).

Предпринимается попытка введения в проксимальную часть уретры носовых зеркал. Если диаметр отверстия уретры не позволяет этого сделать, то немного продолжают разрез уретры в проксимальном направлении.

В проксимальную часть уретры введены носовые зеркала (Рисунок 3.67).

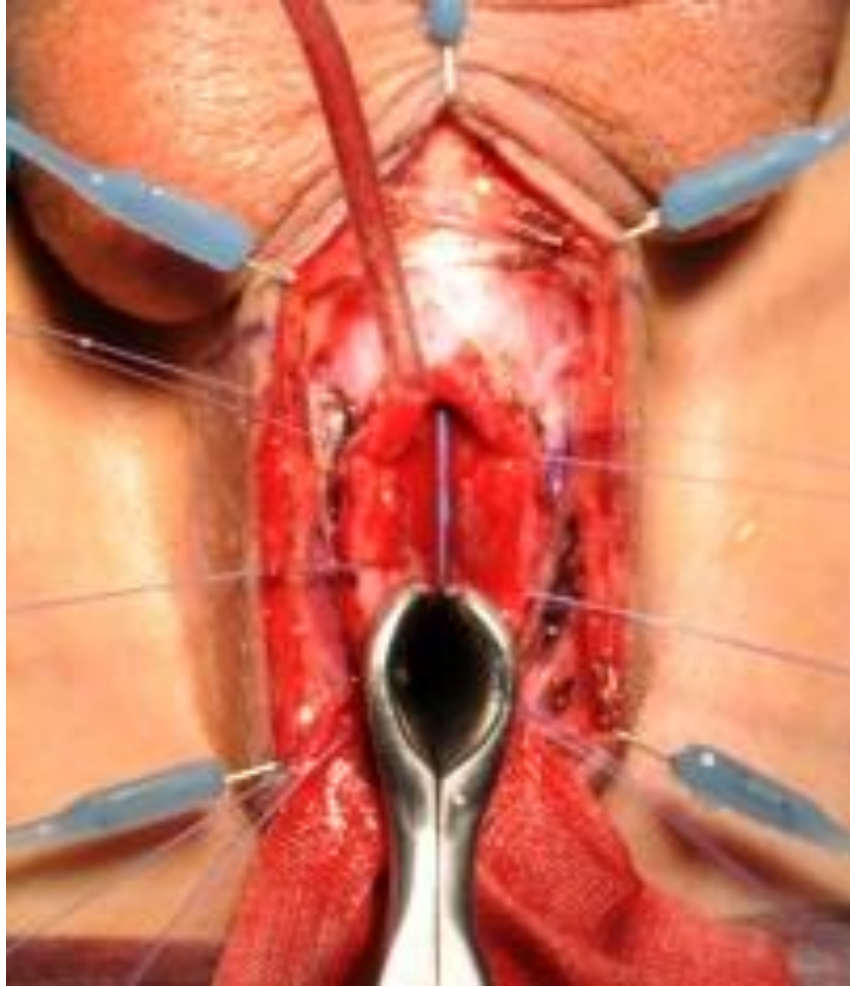


Рисунок 3.67 – Носовые зеркала проведены в луковично-мембранозный отдел уретры

Забор трансплантата слизистой щеки

Чаще всего забор трансплантата происходит параллельно осуществлению доступа к уретре. Всегда работает две бригады хирургов: один хирург, возможно, без медсестры и ассистента) проводит забор трансплантата, второй обеспечивает доступ к уретре с помощью ассистента и медсестра) (Рисунок 3.68). Такой подход позволяет существенно экономить время операции.



Рисунок 3.68 – Организация работы двух бригад хирургов при выполнении операции

Вариант интубации (трансназальный или классический) роли не играет. При помощи роторасширителя фиксируется ротовая полость в раскрытом положении. Накладывается 3 провизорных шва: один в угол рта, два других по бокам от него (викрил, 3-0) на расстоянии около 2 см. Осматривается ротовая полость и визуализируется сосочек слюнной железы (помечается маркером). Далее маркером отмечаются границы трансплантата (Рисунок 3.69).



Рисунок 3.69 – Нанесение маркером границ трансплантата на слизистой оболочке ротовой полости

Осуществляется гидропрепаровка раствором адреналина и маркаиона. Игла вводится на всю длину до дальнего края трансплантата, после чего медленно выводится назад, а раствор в это время поддается.

Деликатным (лучше офтальмологическим) скальпелем рассекается слизистая оболочка по краям трансплантата.

На ближний к хирургу край трансплантата накладывается провизорный шов (3-0), за который он подтягивается кверху. Важно, чтобы данный шов прошёл через всю толщину слизисто-подслизистого слоя трансплантата. Деликатными ножницами отсепаровывается слизистая оболочка от подлежащей клетчатки. Направление ножниц – параллельно поверхности щеки. Трансплантат удаляется. Осуществляется гемостаз электрокоагулятором. Рана ушивается непрерывным обвивным швом (не внахлест) викрил, 4-0. Голова пациента поворачивается в другую сторону. На оперированную щеку накладывается лед.

Трансплантат помещается на ровную поверхность (пластик), фиксируется 8 иглками от шприцов. Теми же ножницами удаляются излишки жира. Более мелкие фрагменты жира удаляются поглаживающими движениями офтальмологического скальпеля. Фенестрацию не проводят. На края трансплантата накладываются два провизорных шва (4-0) с москитами, и он передается хирургам. В жидкость с антибиотиками его не помещают.

Техника наложения швов на 5, 6, 7 часах условного циферблата

После того, как в уретру введены носовые зеркала, офтальмологическим скальпелем рассекается только слизистая оболочка вентральной поверхности уретры в направлении к мочевому пузырю (спонгиозное тело не рассекается) (Рисунок 3.70).

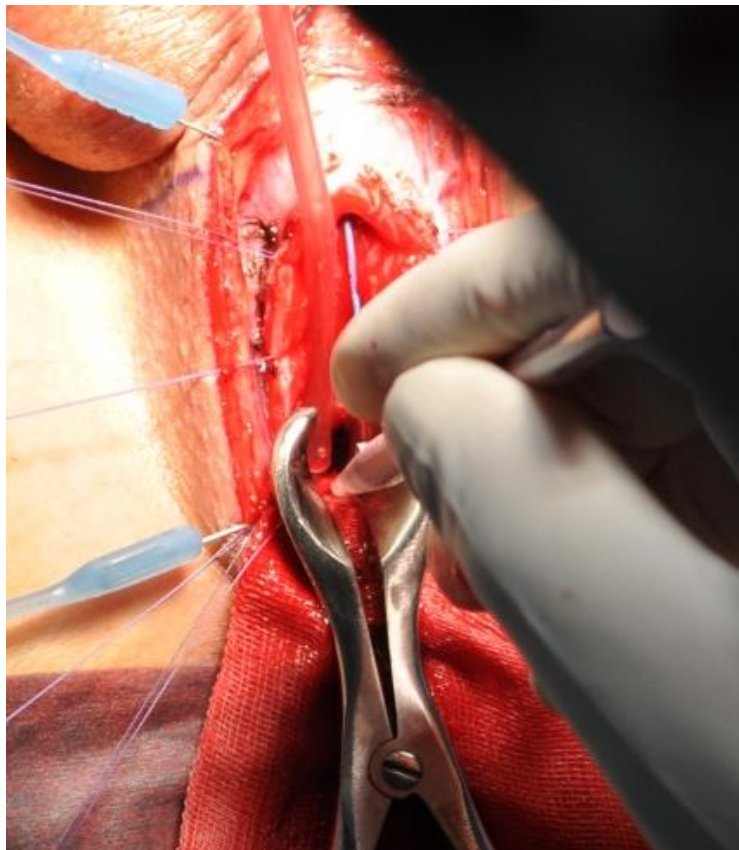


Рисунок 3.70 – Рассечение слизистой оболочки вентральной поверхности уретры в направлении к семенному бугорку

Получается своеобразный треугольник с вершинами на 5, 6, 7 часах. В эти вершины при помощи подготовленной лыжеобразной иглы (викрил 5-0 или 4-0) накладываются 3 шва. Снаружи внутрь прокалывается спонгиозное тело. При выколе кончик иглы появляется в просвете уретры. При помощи другого иглодержателя кончик появившейся иглы выкалывается в просвет мочевого пузыря, а затем выводится обратно наружу. Игла не срезается, помещается на москит и на ретрактор Скотта.

Этапы анастомозирования трансплантата и уретры

Первый анастомозирующий шов накладывается на дистальный край на 1 час условного циферблата. Сперва прокалывается край трансплантата (изнутри-наружу, то есть вкол в слизистую оболочку, выкол из подслизистой), затем (снаружи-внутри) прокалывается левый край (1 час условного циферблата) уретры (Рисунок 3.71). Узел завязывается внутри просвета уретры.



Рисунок 3.71 – Наложение первого анастомозирующего шва на дистальный край уретры (1 час у.ц.) и трансплантат слизистой оболочки щеки

Далее примеряется трансплантат к длине разреза. Лишняя часть отрезается.

Анастомозируются швы на 5 и 6 часах условного циферблата следующим образом: свободные концы нитей вдеваются в многоразовые иглы, и прокалывается соответствующее место в трансплантате (снаружи-внутри, то есть выкол в подслизистую оболочку, выкол из слизистой). Узлы завязываются внутри просвета уретры (сперва на 5, а затем на 6 часах). Узлы завязывают только после того, как швы продеты на 5 и 6 часах (Рисунок 3.72). После завязывания швов нитки не срезаются, а помещаются на москит и на ретрактор Скотта. После этого накладывается провизорный шов (монофиламент или викрил, 4-0) на правый край трансплантата (на расстоянии около 5 мм от края), чтобы можно было удобнее отводить трансплантат в ту или иную сторону при необходимости.



Рисунок 3.72 – Наложение анастомозирующих швов на 5 и 6 часах у.ц.

Рядом со швом на 5 часах (около 04:30–04:00) прокалывается край уретры (изнутри-наружу), а затем трансплантат (снаружи внутрь). Завязывается узел. Свободная часть нити помещается на москит и на ретрактор Скотта, а оставшейся нитью непрерывным обвивным швом (не внахлест) анастомозируются края уретры и трансплантата (вкол в слизистую оболочку уретры, выкол из спонгиозного тела уретры; вкол в подслизистую оболочку трансплантата, выкол из слизистой трансплантата и таким образом до шва, который был наложен первым на 1 час) (Рисунок 3.73).



Рисунок 3.73 – Наложение непрерывного обвивного шва для анастомозирования краев уретры и трансплантата слева

Накладывается шов на дистальный край разреза на 12 часах условного циферблата. Сперва прокалывается трансплантат (снаружи-внутри), а затем уретра (изнутри-наружу). Узел завязывается снаружи.

Проводится уретральный катетер (Фолея 16 Сн, силиконовый). Катетер смазывается лубрикантом дважды: перед введением в наружное отверстие уретры и перед введением в проксимальную часть (Рисунок 3.74). После установки уретрального катетера удаляется струна-проводник.

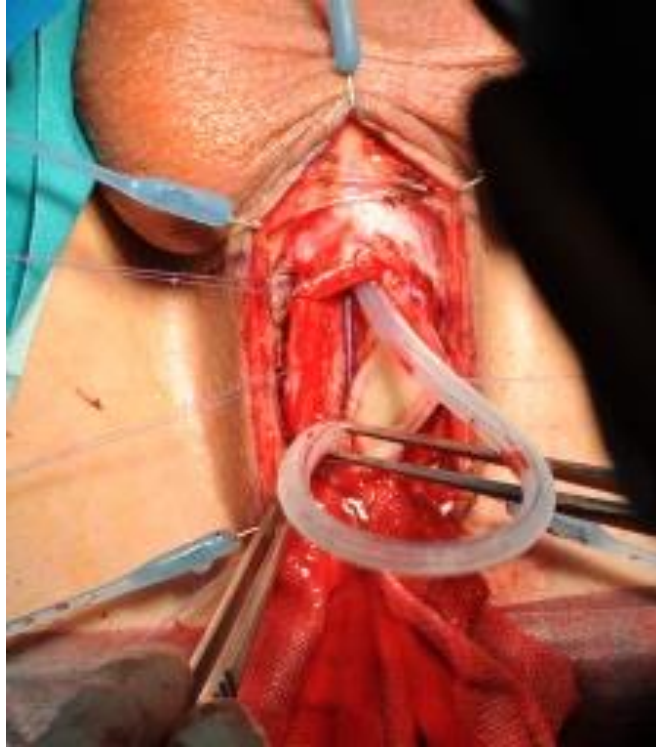


Рисунок 3.74 – Проведение уретрального катетера

Срезаются нитки со швов с 5 и 6 часов. Далее свободный конец нити с 7 часов вдевается в многоразовую иглу, прокалывается трансплантат снаружи-внутри, и завязывается узел внутри просвета уретры (предварительно переверачивается трансплантат направо и удаляется провизорный шов с трансплантата).

Рядом со швом на 7 часах условного циферблата (около 07:30–08:00) накладывается шов (трансплантат – снаружи-внутри; уретра – изнутри-наружу) и завязывается узел. Свободный конец нитки срезается. Обвивным швом (не внахлест) анастомозируется трансплантат с правым краем уретры до шва на 12 часах условного циферблата (Рисунок 3.75).



Рисунок 3.75 – Наложение непрерывного обвивного шва для анастомозирования краев уретры и трансплантата с правой стороны

Одним узловым швом (4-0) сводятся края спонгиозного тела в верхнем углу раны. Нитка не срезается, а помещается в москит и на ретрактор Скотта. Накладывается 1-2 Z-образных шва в нижнем углу раны (в толщу спонгиозного тела) для обеспечения лучшего гемостаза. Z-образными и узловыми швами (в нижней части в 2 ряда) ушивается спонгиозное тело (Рисунок 3.76).



Рисунок 3.76 – Ушивание спонгиозного тела Z-образными и узловыми швами

Дренаж (при необходимости) устанавливается в нижнюю часть раны. Выходное отверстие дренажа находится под мошонкой слева. Дренаж устанавливается между спонгиозным телом и бульбо-спонгиозными мышцами. Бульбо-спонгиозные мышцы ушиваются снизу-вверх непрерывным обвивным швом (викрил, 4-0). Подкожно-жировую клетчатку (в два слоя) ушивают непрерывным обвивным швом (3-0) (Рисунок 3.77).



Рисунок 3.77 – Ушивание подкожно-жировой клетчатки непрерывным обвивным швом

Кожу ушивают непрерывным либо обвивным швом внахлест (3-0), либо одиночными узловыми швами (Рисунок 3.78).



Рисунок 3.78 –Ушивание кожи непрерывным обвивным швом

Повязка

Накладывается давящая повязка (Рисунок 3.79).



Рисунок 3.79 –Наложение давящей повязки

Послеоперационный период

Первые сутки необходимо соблюдать постельный режим. Можно холодную жидкую и полужидкую пищу (йогурты, мороженое). Со вторых суток активизируют. Дренаж удаляют на 2-е сутки. Первая перевязка на 2-е сутки. Если есть цистостомический дренаж, его оставляют до удаления уретрального катетера. Если цистостомы нет, её не ставят. В позднем послеоперационном периоде не рекомендуется езда на велосипеде, мотоцикле и т.д. Следует исключить специи и приправы. Алкоголь не рекомендуется. Микционная цистоуретрография и удаление катетера осуществляются через 4 недели с момента операции.

Наблюдение

Контрольный визит через 3 месяца (урофлоуметрия, общий анализ мочи, бак посев мочи, остаточная моча).

3.1.3.6. Дорсальная буккальная уретропластика

Рентгенограмма (Рисунок 3.80)

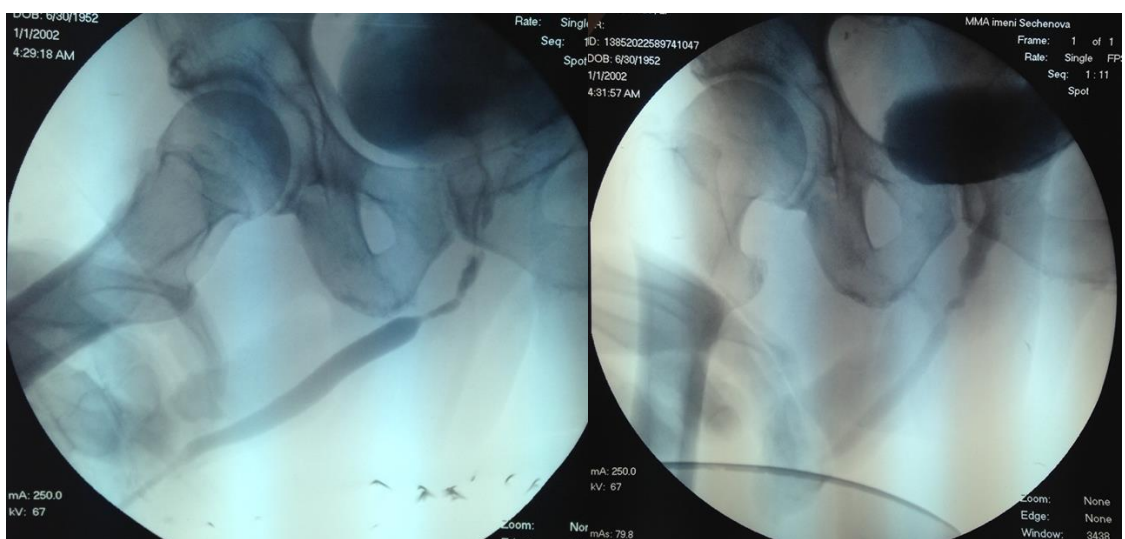


Рисунок 3.80 – Ретроградная уретрография (слева) и микционная цистоуретрография (справа); стриктура луковичного отдела уретры

Показания

Стриктура дистальной части луковичной уретры с сохранением просвета уретры, в том числе после перенесенных оптических уретротомий. Предпочтение следует отдавать пациентам без травматической этиологии стриктуры (без выраженного спонгиоза).

Укладка

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика» (Рисунок 3.81).



Рисунок 3.81 – Укладка пациента

Обработка операционного поля

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Уретроскопия, проведение струны

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Введение катетера для определения дистального края стриктуры

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Набор инструментов

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Доступ

Рассечение кожи осуществляется скальпелем. Обычный линейный разрез от нижнего края мошонки до уровня на 2–3 см выше ануса по срединной линии. Рассечение поверхностного слоя подкожно-жировой клетчатки осуществляется электроножом.

Устанавливается ретрактор Скотта и 6 крючков (2 оставшихся используются позже). В отличие от вентральной техники, при которой стриктура располагается проксимальнее, при дорсальной методике стриктура располагается дистальнее. По этой причине ретрактор Скотта фиксируется выше, и верхний крючок сильнее оттягивает кожу мошонки с дистальной части луковицы (Рисунок 3.82).



Рисунок 3.82 – Рассечена кожа и поверхностная фасция; установка ретрактора Скотта

Рассекается глубокий слой подкожно-жировой клетчатки электроножом (Рисунок 3.83).



Рисунок 3.83 – Рассечение глубокого слоя подкожно-жировой клетчатки электроножом

В верхней части раны видна дистальная часть луковицы без бульбо-спонгиозных мышц, а в нижней проксимальная часть, покрытая бульбо-спонгиозными мышцами (Рисунок 3.84).



Рисунок 3.84 – Рассечена кожа и подкожно-жировая клетчатка; определяются бульбо-спонгиозные мышцы

Все 8 крючков задействованы, ими фиксируется глубокий слой подкожно-жировой клетчатки.

Далее осуществляется мобилизация левой боковой и задней поверхности дистальной части луковицы. Данная часть луковицы (дистальная) не покрыта бульбо-спонгиозными мышцам. Мобилизация осуществляется пошаговой ротацией луковицы изнутри-наружу при помощи мощного пинцета с оливовидным утолщением. На данном этапе хирург в основном оперирует сосудистыми ножницами. Также осуществляется тщательный гемостаз с помощью деликатного пинцета и монополярного/биполярного коагулятора (Рисунок 3.85). Вместо тупфера используют метровую салфетку на пинцете.



Рисунок 3.85 – Мобилизация левой боковой и задней поверхности дистальной части луковичного отдела уретры

После мобилизации левой боковой и задней поверхности дистальной луковицы на левую боковую поверхность спонгиозного тела накладываются 2 провизорных шва (викрил, 4-0, 17 мм, ½) на расстоянии около 3 см друг от друга. Иглы срезаются, нитки помещаются в москит и на противоположную сторону ретрактора Скота. За счет этого обеспечивается ротационное положение уретры (Рисунок 3.86).



Рисунок 3.86 – Ротация луковичного отдела уретры

Рассечение уретры

Проводится катетер Нелатона 16 Ch с целью определения дистального края стриктуры (находится пальпаторно). Маркером помечается дистальный край стриктуры.

На 1,5–2,0 см дистальнее края стриктуры уретра фиксируется зажимом Alice, ротируется, вытягивается несколько кпереди и рассекается скальпелем в проксимальном направлении на протяжении 1,0–1,5 см по дорсальной поверхности (Рисунок 3.87).

При рассечении слизистой оболочки уретры должна появиться синька в ране (аспирируется отсосом). На рассеченную уретру сразу накладывается два провизорных шва (викрил, 4-0, 17 мм, 1/2) (Рисунок 3.88). Зажим Alice снимают. Направление вкола (снаружи-внутри или наоборот) значения не имеет, однако важно, чтобы в шов попала слизистая оболочка уретры. Чаще выбирают направление вкола изнутри-наружу, так как более надежно подхватывается слизистая оболочка. Глубина вкола около 3–5 мм от края разреза слизистой оболочки. Игла срезается, нитка помещается в москит и на ретрактор Скотта.



Рисунок 3.87 – Рассечение уретры в проксимальном направлении по дорсальной поверхности



Рисунок 3.88 – Наложение двух провизорных швов на края рассечённой уретры

Далее более грубыми ножницами (черные керамические остроконечные) уретра рассекается в проксимальном направлении. Крайне важно соблюдать дорсо-латеральное направление рассечения, то есть кончики ножниц должны смотреть кзади и влево. Рассекается интервалами по 1,0–1,5 см. Через каждый интервал с обеих сторон накладываются аналогичные описанным выше провизорные швы (игла срезается, нитка помещается в москит и на ретрактор Скотта).

Следует помнить о пространственном положении продольного разреза уретры. Этот разрез расположен по дорсальной (задней) поверхности ротированной уретры.

Таким образом доходят до проксимального края стриктуры. Может возникнуть ситуация, что в месте наибольшего сужения мочеиспускательного канала ввести кончики ножниц в просвет уретры не удастся. Тогда просвет уретры рассекается при помощи деликатного скальпеля, можно использовать офтальмологический скальпель по типу шариковой ручки.

Предпринимается попытка введения в проксимальную часть уретры носовых зеркал (Рисунок 3.89). Если диаметр отверстия уретры не позволяет этого сделать, то немного продолжают разрез уретры в проксимальном направлении.

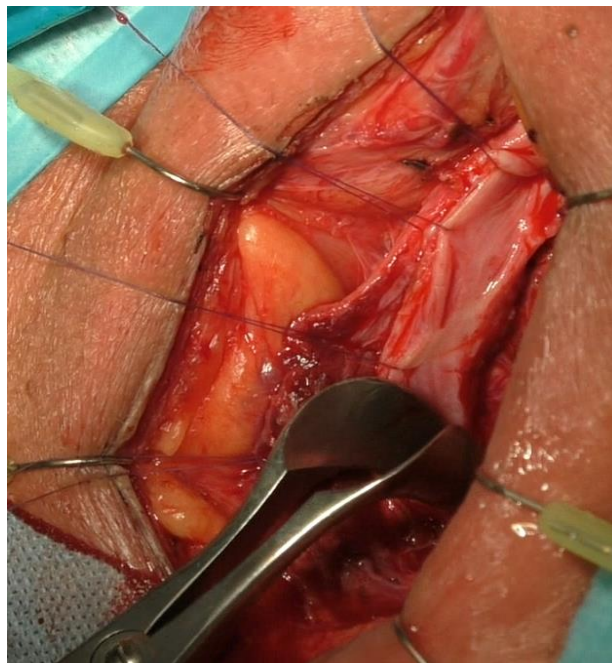


Рисунок 3.89 – Носовые зеркала проведены в луковично-мембранозный отдел уретры

Забор трансплантата слизистой щеки

Аналогично описанному выше в разделе «Вентральная буккальная уретропластика».

Техника наложения швов на 11, 12, 1 часах условного циферблата

После того, как в уретру введены носовые зеркала, офтальмологическим скальпелем рассекается только слизистая оболочка дорсальной поверхности уретры в направлении к мочевому пузырю (спонгиозное тело не рассекается) (Рисунок 3.90).



Рисунок 3.90 – Рассечение слизистой оболочки дорсальной поверхности уретры по направлению к мочевому пузырю

Получается своеобразный треугольник с вершинами на 11, 12, 1 часах условного циферблата. В эти вершины при помощи подготовленной лыжеобразной иглы (викрил 4-0) накладываются 3 шва. Снаружи внутрь прокалывается спонгиозное тело. При выколе кончик иглы появляется в просвете уретры. При помощи другого иглодержателя кончик появившейся иглы выкалывается в просвет мочевого пузыря, а затем выводится обратно наружу. Игла не срезается, помещается на москит и на ретрактор Скотта.

Этапы анастомозирования трансплантата и уретры

На провизорных швах (один на дистальном, второй на проксимальном крае трансплантата) трансплантат подводится к месту предстоящей фиксации (Рисунок 3.91).



Рисунок 3.91 – Подведение трансплантата с помощью провизорных к зоне анастомозирования

При помощи трёх узловых швов (викрил, 5-0, 13 мм, 3/8) дистальный край трансплантата фиксируется к белочной оболочке подлежащих кавернозных тел на уровне дистального края разреза уретры (Рисунок 3.92).



Рисунок 3.92 – Фиксация дистального края трансплантата к белочной оболочке подлежащих кавернозных тел на уровне дистального края разреза уретры

Далее примеряется трансплантат к длине разреза. Лишняя часть иссекается. Проводится анастомозирование швов на 11, 12, 1 часах условного циферблата: свободные концы ниток вдеваются в многоразовую иглу, и прокалывают трансплантат снаружи внутрь (вкол в подслизистую оболочку, выкол из слизистой) (Рисунок 3.93). Узел получится внутри просвета уретры.



Рисунок 3.93 – Анастомозирование трансплантата и уретры на 11, 12, 1 часах условного циферблата

Последовательно завязываются швы на 12, 01 и 11 часах условного циферблата. Одним узловым швом (викрил, 5-0, 13 мм, ½) фиксируется левый край трансплантата к подлежащей белочной оболочке кавернозного тела. Аналогичным образом фиксируется весь левый край трансплантата (Рисунок 3.94).

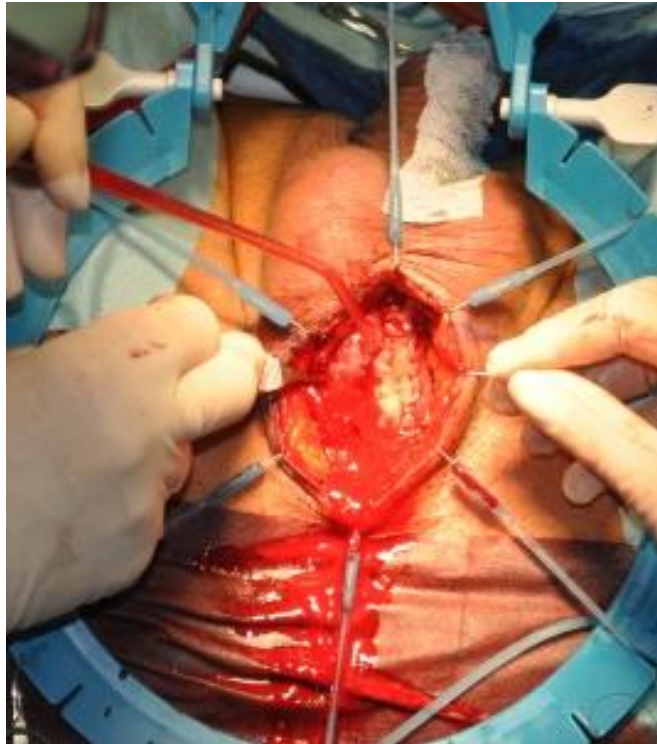


Рисунок 3.94 – Фиксация левого края трансплантата

Непрерывным обвивным швом анастомозируется правый край трансплантата с правым краем разреза уретры (викрил, 5-0, 13 мм, 3/8) от нижнего до верхнего края разреза.

Проводится уретральный катетер (Фолея 16 Сн, силиконовый). Катетер смазывается лубрикантом дважды: перед введением в наружное отверстие уретры и перед введением в проксимальную часть уретры. После установки уретрального катетера удаляется струна-проводник.

Непрерывным обвивным швом анастомозируется левый край трансплантата с левым краем разреза уретры (викрил, 5-0, 13 мм, 3/8) (Рисунок 3.95).

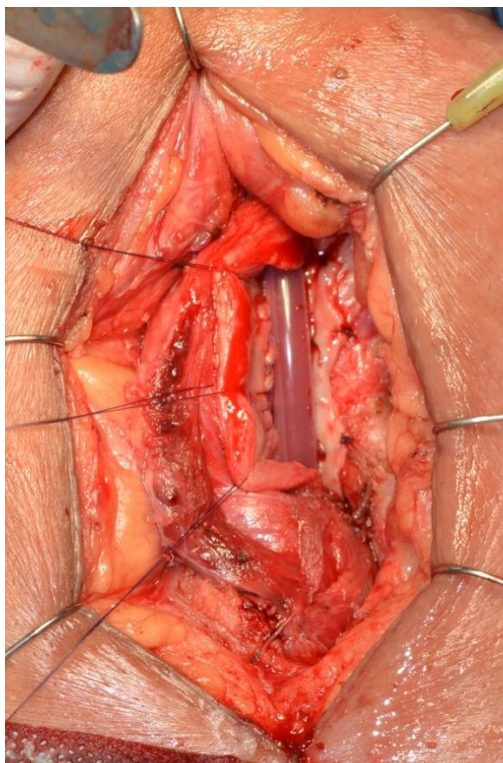


Рисунок 3.95 – Анастомозирование левого края трансплантата с левым краем разреза уретры (проведён уретральный катетер)

Подкожно-жировую клетчатку в один или два слоя ушивают непрерывным обвивным швом (викрил, 3-0, 22 мм, 1/2) (Рисунок 3.96).



Рисунок 2.96 – Ушивание подкожно-жировой клетчатки непрерывным обвивным швом

Кожу ушивают непрерывным обвивным швом внахлест или одиночными узловыми швами (викрил, 3-0, 22 мм, 1/2) (Рисунок 3.97).



Рисунок 3.97 – Ушивание кожи непрерывным обвивным швом

Повязка

Накладывается давящая повязка.

Послеоперационный период

Первые сутки назначается постельный режим. Можно холодную жидкую и полужидкую пищу (йогурты, мороженое). Со вторых суток активизируют. Дренаж удаляют на 2-е сутки. Первая перевязка осуществляется на 2-е сутки. Если есть цистостомический дренаж, его оставляют до удаления уретрального катетера. Если цистостомы нет, её не ставят. В позднем послеоперационном периоде не рекомендуется езда на велосипеде, мотоцикле и т.д. Следует исключить специи и приправы. Алкоголь не рекомендуется. Микционная цистоуретрография и удаление катетера проводится через 4 недели.

Наблюдение

Контрольный визит назначается через 3 месяца (урофлоуметрия, общий анализ мочи, бак посев мочи, остаточная моча).

3.1.3.7. Дорсальная буккальная уретропластика – единый промежностный доступ по Кулкарни-Барбали

Показания

Протяжённые стриктуры пенильного, луковичного, пенильно-луковичного отдела уретры с сохранением просвета нетравматической этиологии.

Укладка

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Обработка операционного поля

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика» (Рисунок 3.98).

Уретроскопия, проведение струны

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Введение катетера для определения дистального края стриктуры

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».

Набор инструментов

Аналогично описанному выше в разделе «Анастомотическая уретропластика».



Рисунок 3.98 – Нанесение маркером линии разреза в области промежности (продольная линия); поперечная линия на коже полового члена указывает на дистальный край стриктуры

Доступ

Осуществляется разрез в промежности от нижней части мошонки до уровня на 2–3 см выше ануса. Если стриктура располагается только в пенильной или в пенильно-луковичной части (дистальная луковица), то разрез можно начать со средней части мошонки и продлить до середины промежности по срединной линии. Стандартно рассекается кожа, подкожно-жировая клетчатка, выделяется ventральная поверхность дистальной части луковичного отдела уретры и бульбо-спонгиозных мышц (Рисунок 3.99).

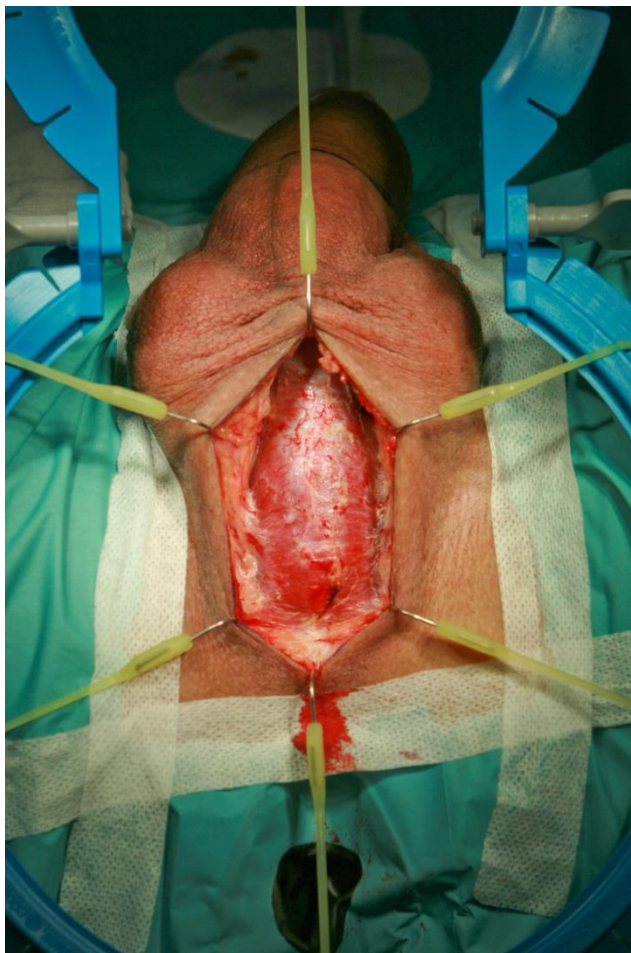


Рисунок 3.99 – Рассечена кожа, подкожно-жировая клетчатка; определяются бульбо-спонгиозные мышцы

Вариант I

Мобилизация спонгиозного тела и кавернозных тел пенильного отдела уретры

Данный этап проводится не под полным визуальным контролем. Важно под визуальным контролем на границе пенильного и луковичного отдела уретры войти в слой между фасцией, покрывающей ventro-латеральную поверхность спонгиозного тела (фасция Бакка) и мясистой оболочкой полового члена. В данный слой вводятся сомкнутые сосудистые ножницы и проводятся до уровня головки полового члена. По мере продвижения ножниц вперёд (дистально) их бранши постепенно раскрываются, отмобилизовывая мясистую оболочку от фасции Бакка, которая покрывает спонгиозное тело и кавернозные тела. Далее ножницы удаляются, и при помощи указательного пальца проводится

дополнительная мобилизация спонгиозного и кавернозного тела. После данного манёвра осуществляется попытка выворота полового члена (кавернозные тела и спонгиозное тело) в рану промежности (Рисунок 3.100). Это не всегда удаётся с первого раза и требует дополнительных усилий по мобилизации кавернозных и спонгиозного тела от мясистой оболочки.

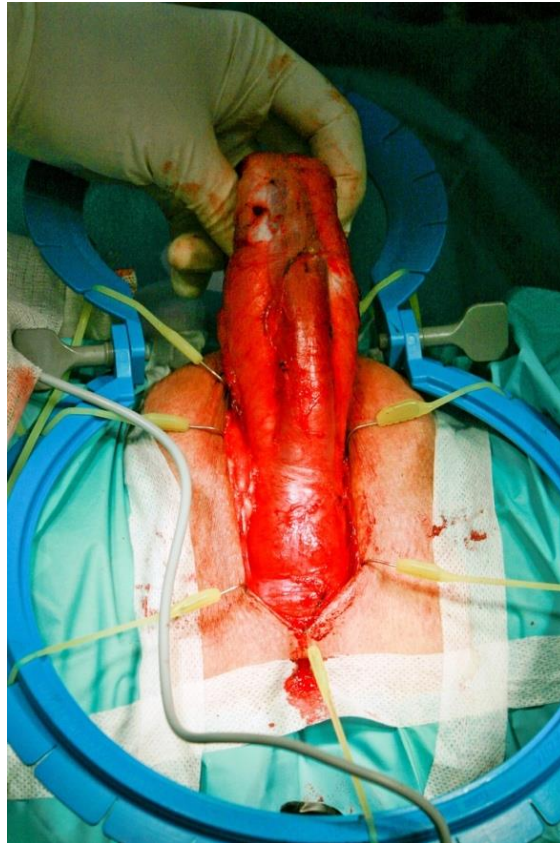


Рисунок 3.100 – Произведена мобилизация полового члена в пределах фасции Бака через промежностный разрез; половой член вывихнут в рану промежности

После того, как половой член вывихнут в рану промежности, осуществляется биполярный гемостаз. Практически вся передняя уретра доступна для оперативного вмешательства. Для заместительной уретропластики может быть выбрано два основных подхода: техника Asopa или дорсальная (дорсолатеральная) фиксация трансплантата.

1. Техника Asopa. Суть техники заключается в рассечении уретры по вентральной поверхности, затем по дорсальной (через уретротомный доступ), формировании уретральной площадки, фиксации к ней буккального

трансплантата и ушивании уретры по вентральной поверхности. Данная техника больше подходит в тех случаях, когда ранее в данной зоне уже выполнялась реконструктивная операция на уретре, и дорсальная мобилизация спонгиозного тела может вызвать сложности.

2. Рассечение уретры по вентральной поверхности (Рисунок 3.101). Для определения дистального края стриктуры по уретре проводится катетер; дистальный край определяется пальпаторно. При отступе 1,0–1,5 см дистальнее при помощи скальпеля рассекается спонгиозное тело до просвета уретры по вентральной поверхности в проксимальном направлении при ориентировании на струну-проводник. Свободные края уретры подхватываются на провизорные швы (мононить или викрил, 4-0), фиксируются москитом и помещаются на соответствующую часть ретрактора Скотта. Проксимальная часть рассечённой уретры должна располагаться на 1,0–1,5 проксимальнее проксимального края стриктуры.

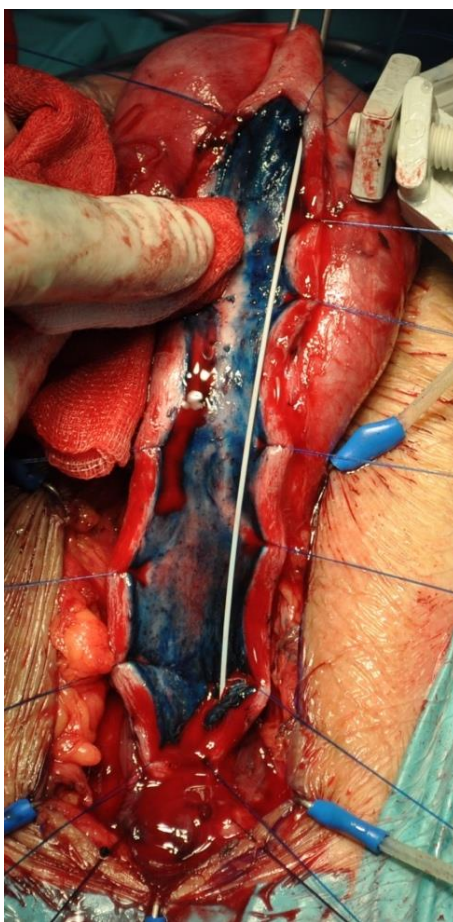


Рисунок 3.101 – Рассечение уретры по вентральной поверхности

Формирование уретральной площадки

После того, как уретра вскрыта по вентральной поверхности над всей протяжённостью стриктуры с захватом по 1,5 см нормальной ткани с обеих концов, следует приступить к формированию уретральной площадки. При помощи скальпеля рассекается слизистая оболочка и спонгиозное тело по дорсальной поверхности до уровня белочной оболочки кавернозных тел. Рубцовые ткани иссекаются изогнутыми остроконечными ножницами; края слизистой оболочки разводятся в стороны. В итоге формируется уретральная площадка, которая по краям ограничена слизистой оболочкой уретры (дорсальная поверхность), дно которой представлено белочной оболочкой кавернозных тел (Рисунок 3.102).

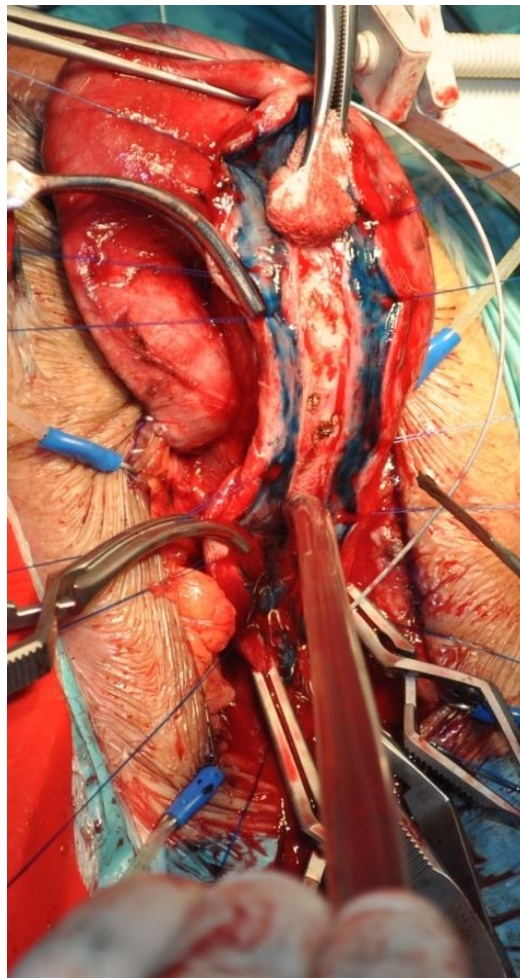


Рисунок 3.102 – Формирование уретральной площадки

Фиксация буккального трансплантата к уретральной площадке

Буккальный трансплантат соответствующей формы и длины сперва фиксируется (викрил, 5-0) к дистальному краю площадки тремя узловыми швами. Далее аналогичным образом происходит фиксация проксимального края и накладывается несколько одиночных узловых швов между трансплантатом и свободными краями слизистой оболочки уретры (дорсальная поверхность). Все узлы завязываются в просвете уретры. Далее происходит фиксация трансплантата ко дну уретральной площадки единичными узловыми швами (викрил, 5-0) в шахматном порядке (Рисунок 3.103). Следует избегать чрезмерного затягивания швов при фиксации трансплантата к уретральной площадке, так как это может привести сморщиванию белочной оболочки и последующему искривлению полового члена по вентральной поверхности.

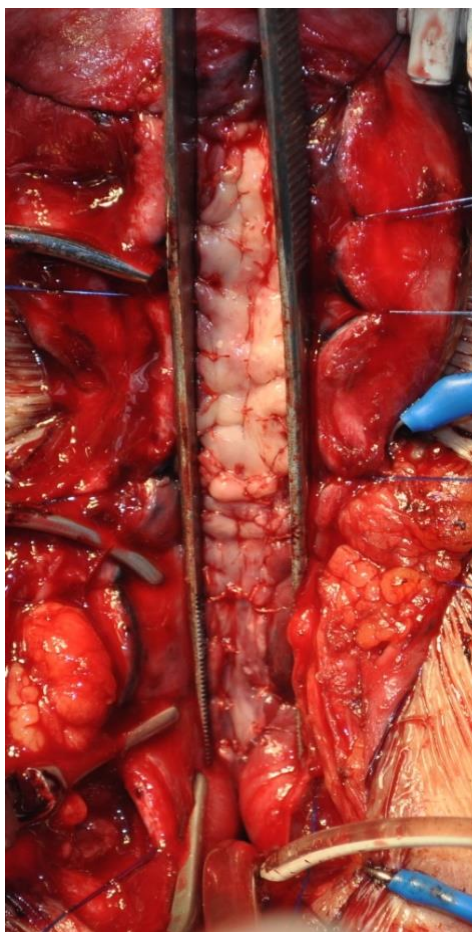


Рисунок 3.103 – Фиксация буккального трансплантата к уретральной площадке по дорсальной поверхности (техника Asopa)

Ушивание спонгиозного тела

После того, как трансплантат фиксирован к уретральной площадке, проводится силиконовый уретральный катетер №14 Сн (Рисунок 3.104).

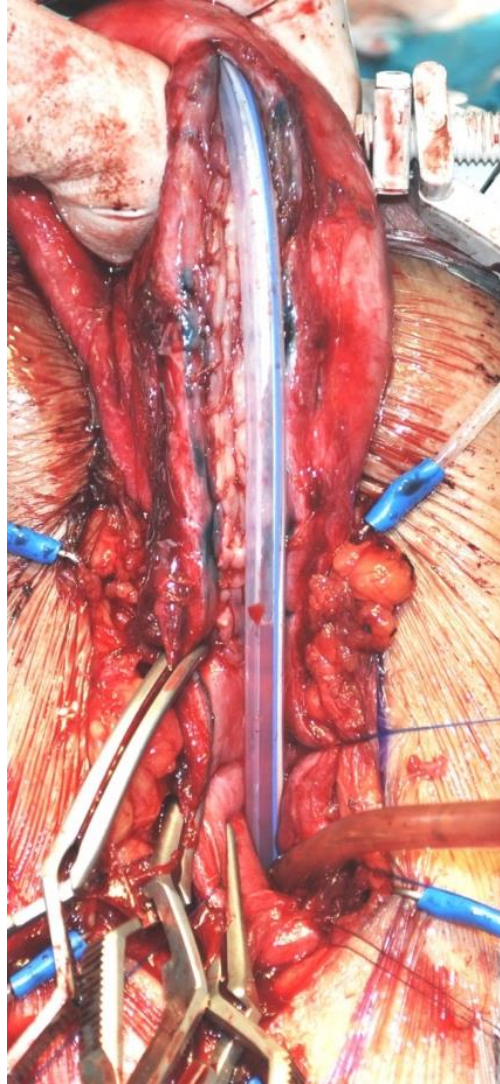


Рисунок 3.104 – Проведение уретрального катетера

Ушивание спонгиозного тела осуществляется на катетере непрерывным швом (викрил, 4-0 или 5-0) (Рисунок 3.105).

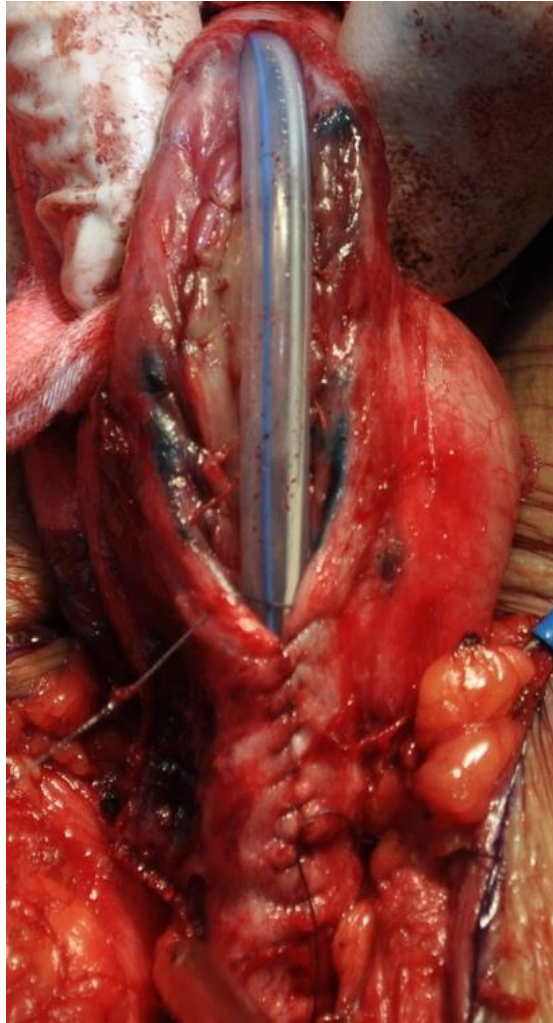


Рисунок 3.105 – Ушивание спонгиозного тела на катетере непрерывным швом

Через 5–10 стяжков целесообразно завязывать узловый шов и затем продолжить ушивание. Вкол осуществляется снаружи-внутри, выкол – изнутри-наружу (Рисунок 3.106). После ушивания спонгиозного тела приступают к ушиванию раны.

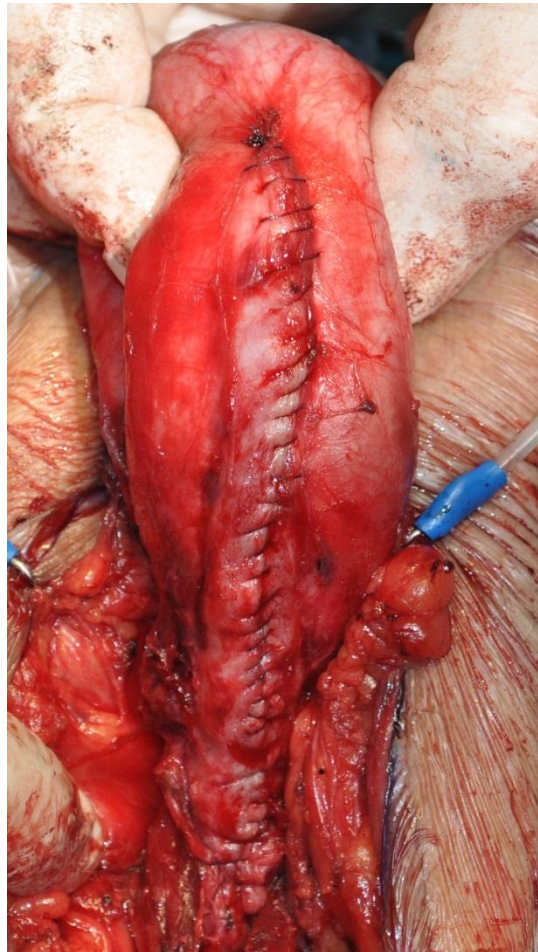


Рисунок 3.106 – Восстановлена целостность уретры

Вариант II

Мобилизация спонгиозного тела

Мобилизация спонгиозного тела осуществляется в пределах длины стриктуры уретры с захватом по 1,0–1,5 см с каждого из концов (дистальный и проксимальный) (Рисунок 3.107). Мобилизация реализуется при помощи деликатных сосудистых ножниц и биполярной коагуляции.



Рисунок 3.107 – Спонгиозное тело уретры полностью мобилизовано от подлежащих кавернозных тел

Рассечение спонгиозного тела по дорсальной поверхности

Для рассечения уретры по дорсальной поверхности необходимо ротировать спонгиозное тело на 180 градусов. Для этого накладываются два-три провизорных шва (викрил, 4-0) на правую латеральную поверхность спонгиозного тела, фиксируются на москиты, нити подводятся под спонгиозное тело, и осуществляется ротация последнего на 180 градусов (Рисунок 3.108).

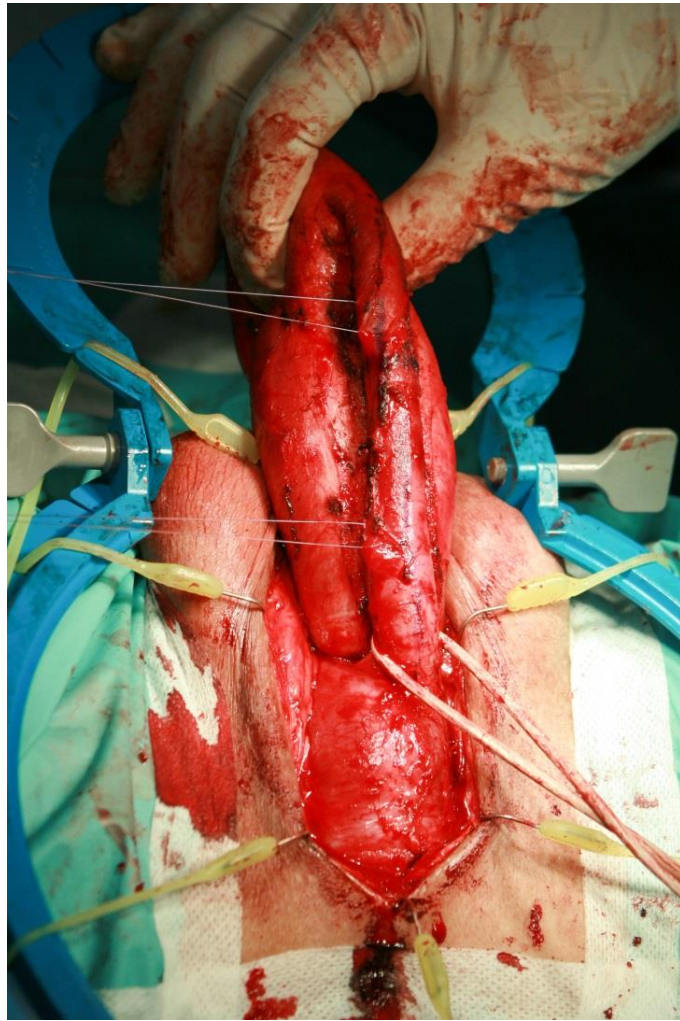


Рисунок 3.108 – Спонгиозное тело ротировано на 180 градусов при помощи провизорных швов

В результате дорсальная поверхность спонгиозного тела оказывается расположенной «лицом» к хирургу. При пальпаторном ориентировании на катетер определяется дистальный край стриктуры, при отступе от которого на 1,0–1,5 см дистальнее производится рассечение спонгиозного тела до просвета уретры в проксимальном направлении. Разрез продолжается (ориентирование на струну-проводник) до уровня на 1,0–1,5 см проксимальнее проксимального края стриктуры (Рисунок 3.109). Свободные края уретры подхватываются на провизорные швы (монопить или викрил, 4-0).

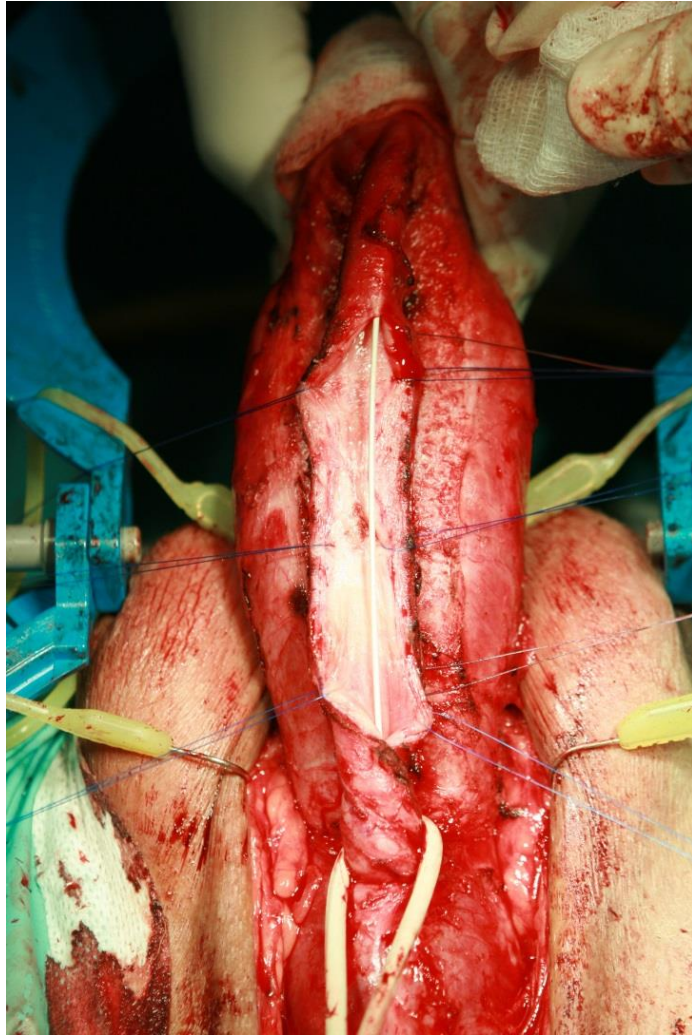


Рисунок 3.109 – Уретра рассечена по дорсальной поверхности

Фиксация буккального трансплантата к уретральной площадке

Буккальный трансплантат соответствующей длины и формы фиксируется одиночными узловыми швами к белочной оболочке кавернозных тел (викрил, 4-0 или 5-0). Сперва фиксируются дистальный и проксимальный края, затем латеральные, затем по поверхности (в шахматном порядке) (Рисунок 3.110).

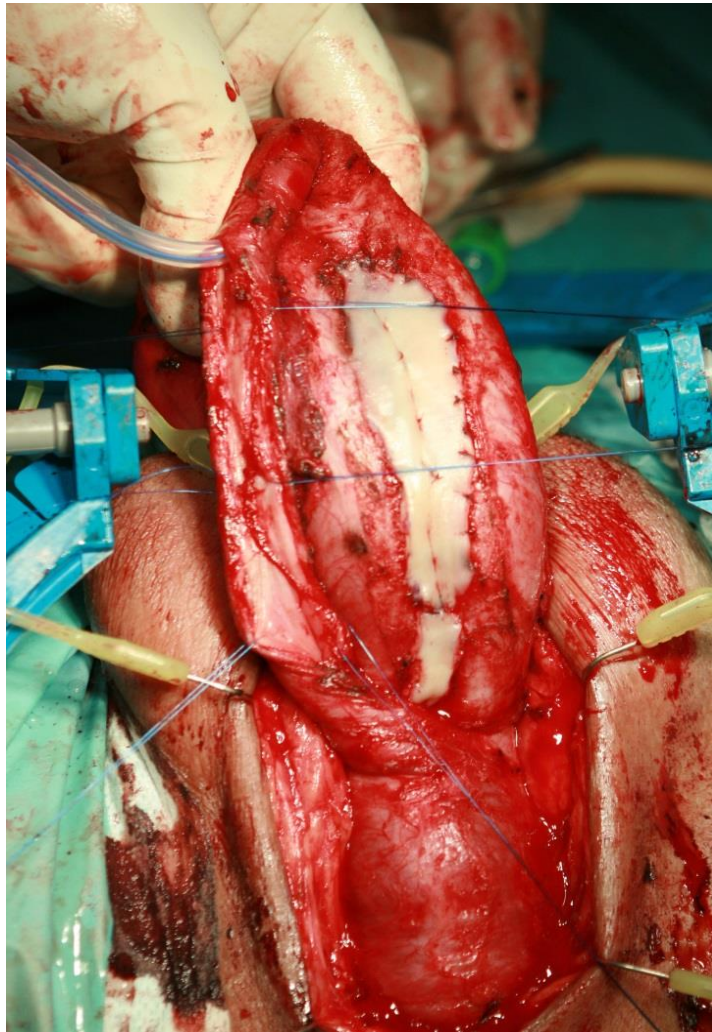


Рисунок 3.110 – Фиксация буккального трансплантата одиночными узловыми швами к белочной оболочке кавернозных тел

Анастомозирование краёв трансплантата с краями уретры

Непрерывным швом (викрил, 4-0 или 5-0) осуществляется анастомозирование свободного правого края трансплантата с правым краем слизистой оболочки уретры. Через каждые 5–10 стяжков завязывается узловой шов, после чего ушивание продолжается (Рисунок 3.111). Вкол производится изнутри-наружу, выкол – снаружи-внутри. После этого этапа проводится силиконовый уретральный катетер №14 Сн.



Рисунок 3.111 – Анастомозирование правого края трансплантата с правым краем слизистой оболочки уретры

Далее аналогичным образом анастомозируется левый свободный край буккального трансплантата с левым краем слизистой уретры; только направление вкола обратное: вкол снаружи-внутри, выкол изнутри-наружу (Рисунок 3.112).

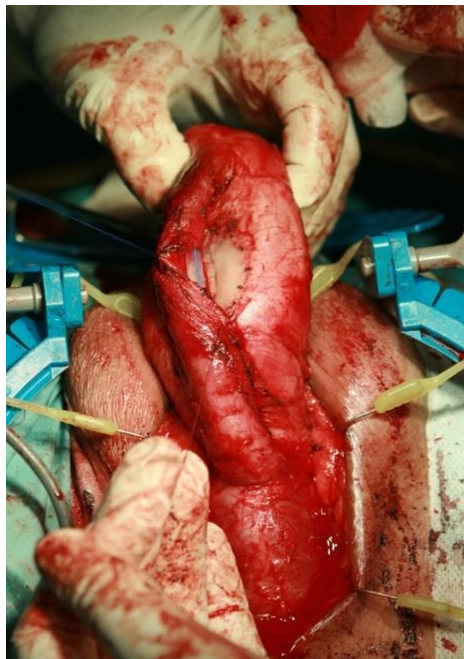


Рисунок 3.112 – Анастомозирование левого края трансплантата с левым краем слизистой оболочки уретры

После ушивания спонгиозного тела формируется дубликатура (викрил, 4-0) из окружающих тканей и зоны анастомозирования (Рисунок 3.113).

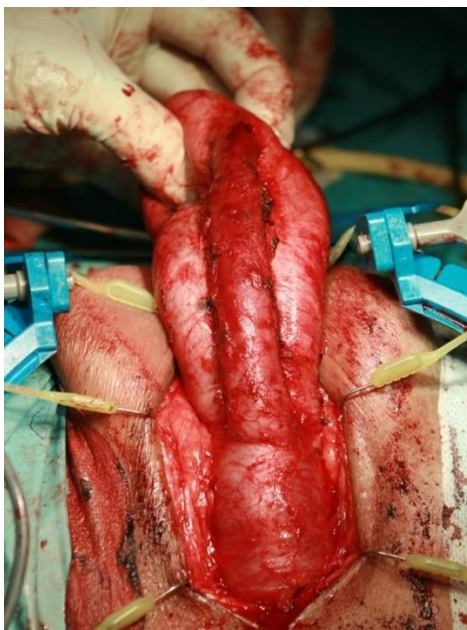


Рисунок 3.113 – Формирование дубликатуры из окружающих тканей и зоны анастомозирования

После чего осуществляется репозиция полового члена и послойное ушивание раны (Рисунок 3.114).

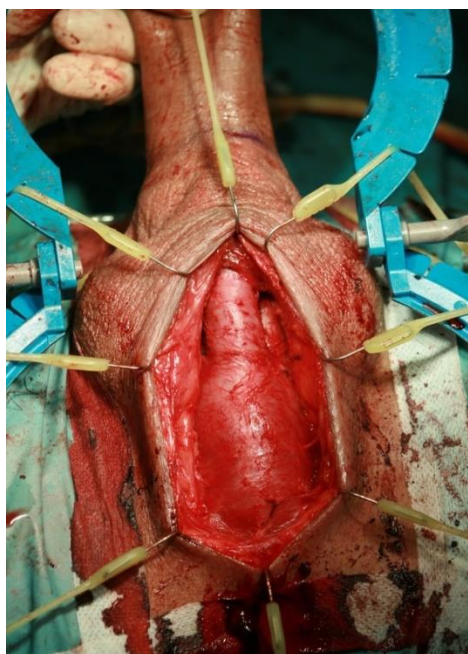


Рисунок 3.114 – Произведена репозиция полового члена

Повязка

После обработки послеоперационной раны кожным антисептиком на область раны накладываются две стерильные метровые салфетки, которые фиксируются стерильной клейкой лентой крест на крест из области седалищных бугров до подвздошной области. Такое наложение повязки позволит создать дополнительное давление в ране и обеспечит её надёжную фиксацию. Половой член целесообразно обернуть влажной салфеткой, поверх которой наложить эластичный бинт (избегая ишемизации тканей).

Послеоперационный период

Показана антибактериальная терапия согласно результатам предоперационного посева мочи на протяжении всего срока уретральной катетеризации. Во избежание реакций на материал катетера целесообразно использовать инертные силиконовые катетеры. Длительность катетеризации – 4 недели. Во время всего срока катетеризации пациент самостоятельно обрабатывает область наружного отверстия уретры и уретральный катетер водным раствором кожного антисептика (например, 0,02% р-р хлоргексидина) 4 раза в день. Послеоперационная рана ежедневно в течение 10 дней обрабатывается водным раствором кожного антисептика (например, 10% раствор бетадина) 2 раза в день; в дальнейшем – ежедневная гигиеническая обработка раны. Швы удаляются на 10-е сутки после операции (или до их полного рассасывания). Пациенту не рекомендуется сидеть в течение 4 недель после операции; допускается положение полулёжа.

Удаление уретрального катетера осуществляется в плановом порядке через 4 недели после операции. Удаление катетера всегда выполняется на фоне микционной цистоуретрографии. Сперва выполняется обзорный снимок в положении $\frac{3}{4}$ слева. Затем по уретральному катетеру вводится раствор рентген-контрастного вещества (предварительно следует опорожнить баллончик катетера). У пациентов с длительным нахождением уретрального катетера может возникнуть ирритативная симптоматика, что следует принять во внимание при

наполнении мочевого пузыря. Желательный объём наполнения составляет 200–250 мл. Тем не менее, крайне важным моментом является наличие явного позыва к мочеиспусканию. На высоте позыва уретральный катетер удаляется и выполняется снимок во время микции. Отсутствие затёков контрастного вещества и нормальный просвет уретры в области операции свидетельствуют об успешности проведённой операции. В этот же день целесообразно выполнить урофлоуметрию и оценить объём остаточной мочи. Если же на микционной цистоуретрограмме видны признаки несостоятельности анастомоза (затёк контрастного вещества), то необходимо повторно установить уретральный катетер не менее, чем на 7–10 дней и повторить указанный алгоритм.

При отсутствии жалоб, через 1 месяц после удаления катетера рекомендуется выполнить общий анализ мочи и бактериологическое исследование мочи. Повтор антибактериальной терапии осуществляется по показаниям. Каждые 3 месяца с момента операции необходимо выполнять урофлоуметрию. При снижении максимальной скорости мочеиспускания ниже 15 мл/с следует выполнить ретроградную уретрографию и микционную цистоуретрографию. В дальнейшем необходимо выполнять урофлоуметрию 1 раз в год в течение 5 лет. Можно рекомендовать пациенту вести дневник урофлоуметрии путем измерения средней скорости мочеиспускания в домашних условиях. Пациенту не рекомендуются занятия, связанные с давлением в области промежности (риск ишемизации): катание на велосипеде, мотоцикле и т.д.

3.1.3.8. Восстановление уретры с помощью кожно-фасциального лоскута крайней плоти и слизистой оболочки ротовой полости

Рентгенограмма (Рисунок 3.115)

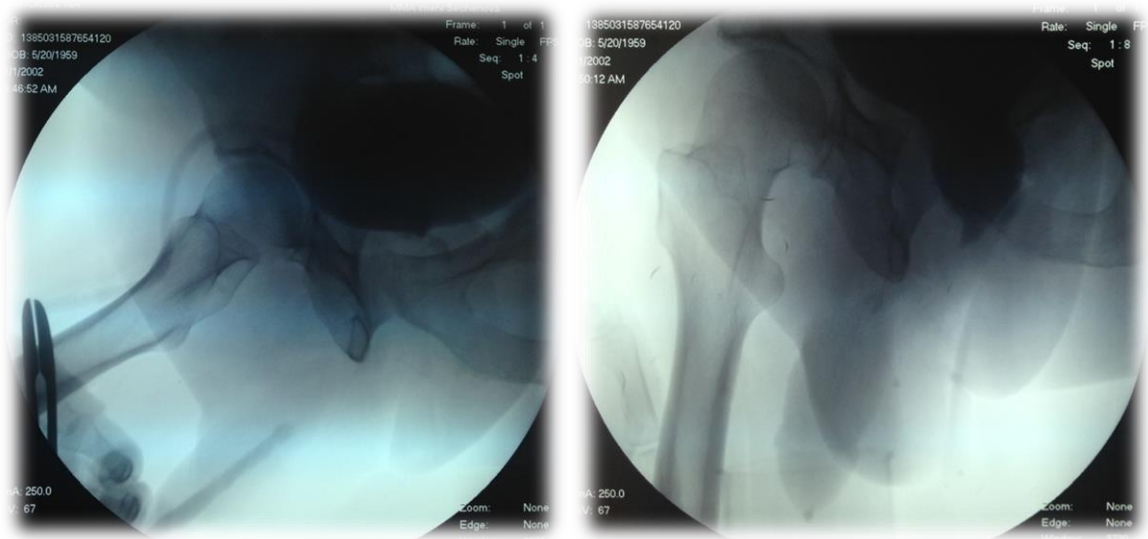


Рисунок 3.115 – Ретроградная уретрограмма (слева) и микционная цистоуретрограмма (справа; попытка); облитерация луковичного и дистальной части пенильного отделов уретры

Показания

Протяжённые (субтотальные/тотальные) стриктуры уретры, в том числе облитеративные. Данная методика является альтернативой этапным пластикам уретры, так как за одно оперативное вмешательство позволяет сформировать неоуретру необходимой длины.

Укладка

Пациент укладывается в литотомическое положение: ноги согнуты в коленных и тазобедренных суставах, приподняты и разведены в сторону. Для укладки используются специальные фиксаторы для голеней, а также более функциональные системы (Yellofin® elite stirrups; www.allenmedical.com), которые снижают риск осложнений, связанных с данной укладкой пациента (особенно при длительных операциях). Для уменьшения риска осложнений целесообразно

подкладывать под голени пациентов силиконовые валики. Укладка в литотомическую позицию может вызвать осложнения у пациентов перенесших перелом костей таза, а также у пациентов страдающих остеоартрозом тазобедренных суставов. В указанных случаях целесообразно на дооперационном этапе определить возможность укладки пациента в литотомическое положение. Следует иметь в виду, что во время оперативного пособия пациент будет переводиться из литотомического положения в положение лёжа на спине (этап формирования кожного лоскута).

Обработка операционного поля

Для снижения риска инфекционных осложнений целесообразно предварительно обработать операционное поле в течение 10 минут мыльным раствором, а затем переходить к кожным антисептикам. Границы операционного поля следующие: нижняя часть живота (ниже пупочного кольца), наружные половые органы, промежность, внутренняя поверхность бёдер. Направление обработки – сверху-вниз; анус обрабатывается в последнюю очередь. В случае наличия цистостомического дренажа последний целесообразно заменить непосредственно перед операцией и подвергнуть обработке кожными антисептиками. После обработки операционного поля надевают одноразовое бельё; целесообразно использовать бельё, которое используется при трансуретральных операциях (TUR set). Вырезается прямоугольное отверстие над промежностью и наружными половыми органами. Во время операции манипуляции с операционным столом проводят в положении Тренделенбурга и обратного ему. Верхняя половина туловища накрывается стерильной пеленкой. Ноги кроме ТУР-белья заворачивают в стерильные простыни. После эндоскопического этапа эти простыни заменяются на другие. После эндоскопического этапа операционное поле по периметру дополнительно обклеивается стерильным материалом.

Фиксация головки полового члена при помощи провизорного шва

По дорсальной поверхности на 12 часах головка полового члена фиксируется на провизорный шов (викрил 3-0, игла 22 мм ½). Игла срезается. Нить фиксирована на моските, что позволяет удобно манипулировать и натягивать член, когда это необходимо.

Уретроскопия, проведение струны

Целью данного этапа является осмотр уретры и проведение струны-проводника в мочевой пузырь (при условии, что нет полной облитерации просвета уретры). Струна позволяет найти просвет мочеиспускательного канала во время рассечения уретры. С целью минимизации травматизации уретры целесообразно выполнять уретроскопию при помощи уретроскопа (Рисунок 3.116).



Рисунок 3.116 – Набор инструментов для уретроскопии

После того, как струна проведена, уретроскоп извлекается. Струна фиксируется к половому члену стерильной клейкой лентой (Рисунок 3.117).

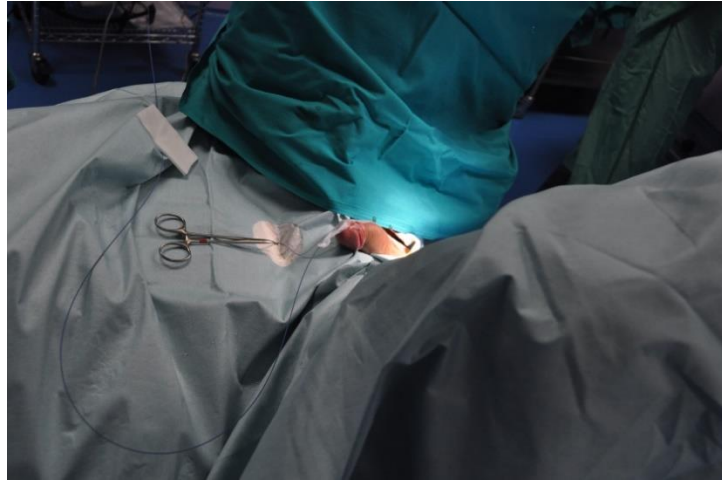


Рисунок 3.117 – Фиксирование струны к половому члену

Данным этапом не стоит пренебрегать при кажущейся временной затратности. Во время рассечения уретры могут возникнуть трудности с поиском просвета мочеиспускательного канала, что обусловлено массивностью спонгиозного тела в луковичном отделе, а также достаточно обильным венозным кровотечением из него, что существенно снижает видимость в операционной ране. Наличие струны позволяет достаточно легко визуализировать просвет мочеиспускательного канала и избежать необоснованных временных затрат.

Доступ

Данное оперативное пособие выполняется из двух доступов: в положении лёжа на спине двумя субкоронарными доступами формируется кожно-фасциальный лоскут из крайней плоти или из кожи полового члена; в литотомическом положении формируется доступ ко всей передней уретре через промежностный доступ.

Формирование кожно-фасциального лоскута крайней плоти

Данный лоскут будет использован в качестве вентральной полуокружности неоуретры (Рисунок 3.118).



Рисунок 3.118 – Нанесение разметки для формирования кожно-фасциального лоскута крайней плоти

Размечаются два циркулярных разреза: первый субкоронарно, второй – на 1,5–2,5 см проксимальнее. Глубина обоих разреза различна. Так, глубина субкоронарного разреза идёт вплоть до фасции Бака; глубина второго (проксимального разреза) – в пределах поверхностной фасции. Сперва выполняется субкоронарный разрез и осуществляется смещение кожи и мясистой оболочки до уровня основания полового члена. Затем выполняется второй циркулярный разрез в пределах поверхностной фасции и при помощи деликатных сосудистых ножниц осуществляется препаровка в пределах данного слоя (Рисунок 3.119, 3.120).



Рисунок 3.119 – Выполнение субкоронарного разреза и смещение кожи и мясистой оболочки до уровня основания полового члена



Рисунок 3.120 – Выполнение циркулярного разреза в пределах поверхностной фасции и при помощи деликатных сосудистых ножниц препаровка в пределах слоя

В итоге формируется циркулярный кожно-фасциальный лоскут, в котором питание обеспечивается за счёт мясистой оболочки.

Промежностный доступ

Промежностный доступ необходим в том случае, если стриктура захватывает луковичный отдел уретры; в противном можно ограничиться только субкоронарным доступом. Выполняется разрез в промежности от нижней части мошонки до уровня на 2–3 см выше ануса. Стандартно рассекается кожа, подкожно-жировая клетчатка, выделяется вентральная поверхность дистальной части луковичного отдела уретры и бульбо-спонгиозных мышц (Рисунок 3.121).

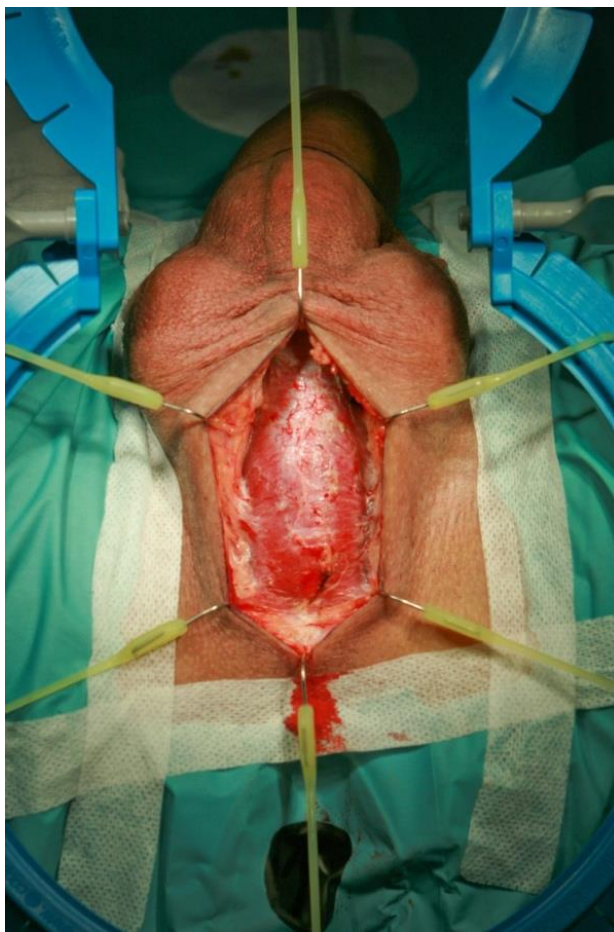


Рисунок 3.121 –Формирование промежностного доступа:
рассечена кожа, подкожно-жировая клетчатка;
определяются бульбо-спонгиозные мышцы

Мобилизация спонгиозного тела и кавернозных тел пенильного отдела уретры

Данный этап проводится не под полным визуальным контролем. Важно под визуальным контролем на границе пенильного и луковичного отдела уретры войти в слой между фасцией, покрывающей вентро-латеральную поверхность

спонгиозного тела (фасция Бака) и мясистой оболочкой полового члена. В данный слой вводятся сомкнутые сосудистые ножницы и проводятся до уровня головки полового члена. По мере продвижения ножниц вперёд (дистально) их бранши постепенно раскрываются, от мобилизовывая мясистую оболочку от фасции Бака, которая покрывает спонгиозное тело и кавернозные тела. Далее ножницы удаляются и при помощи указательного пальца проводится дополнительная мобилизация спонгиозного и кавернозного тела. После данного манёвра осуществляется попытка выворота полового члена (кавернозные тела и спонгиозное тело) в рану промежности (Рисунок 3.122). Это не всегда удаётся с первого раза и требует дополнительных усилий по мобилизации кавернозных и спонгиозного тела от мясистой оболочки.

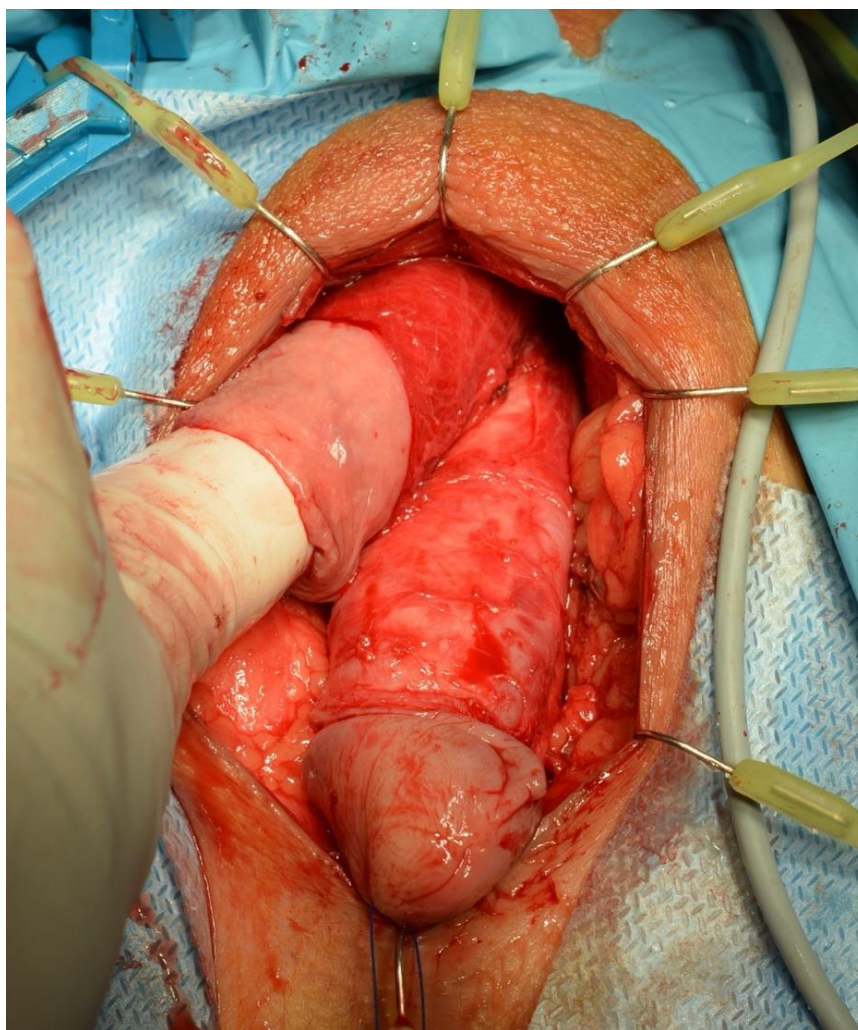


Рисунок 3.122 – Половой член (в пределах фасции Бака), а также кожно-фасциальный лоскут крайней плоти перемещены в рану промежности

После того, как половой член вывихнут в рану промежности, осуществляется биполярный гемостаз. Практически вся передняя уретра доступна для оперативного вмешательства. Кожно-фасциальный лоскут крайней плоти заводится в рану промежности отдельно. Далее кожно-фасциальный лоскут рассекается вдоль (Рисунок 3.123, 3.124).

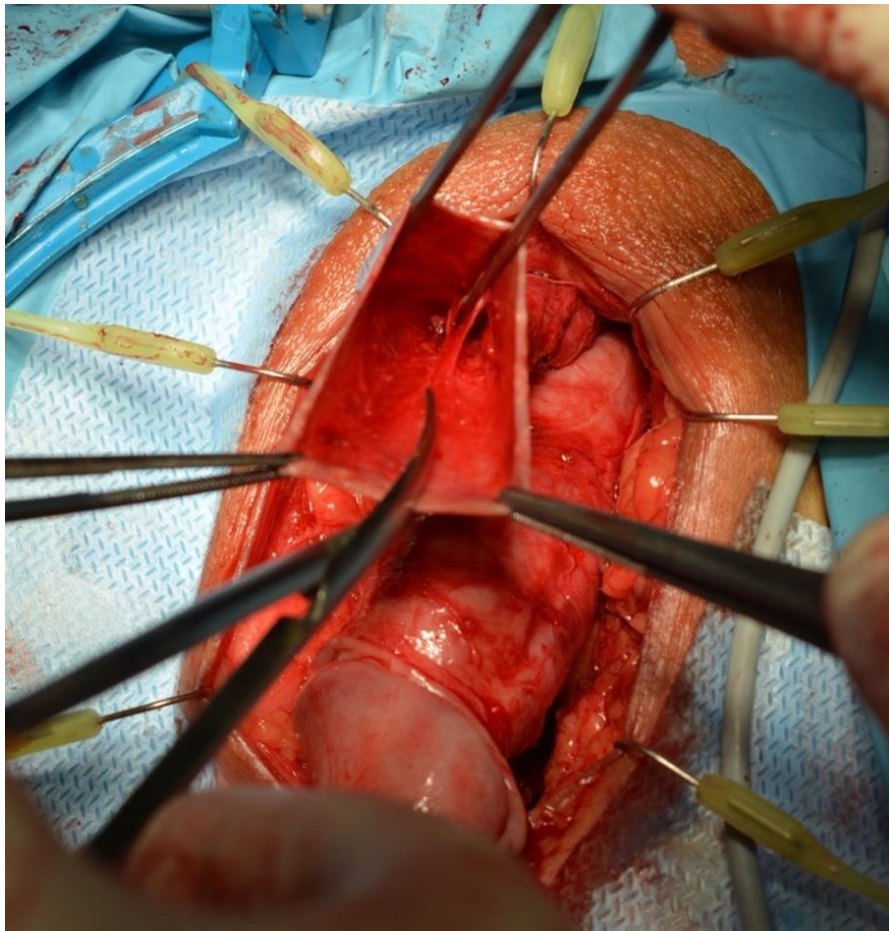


Рисунок 3.123 – Продольное рассечение кожно-фасциального лоскута крайней плоти

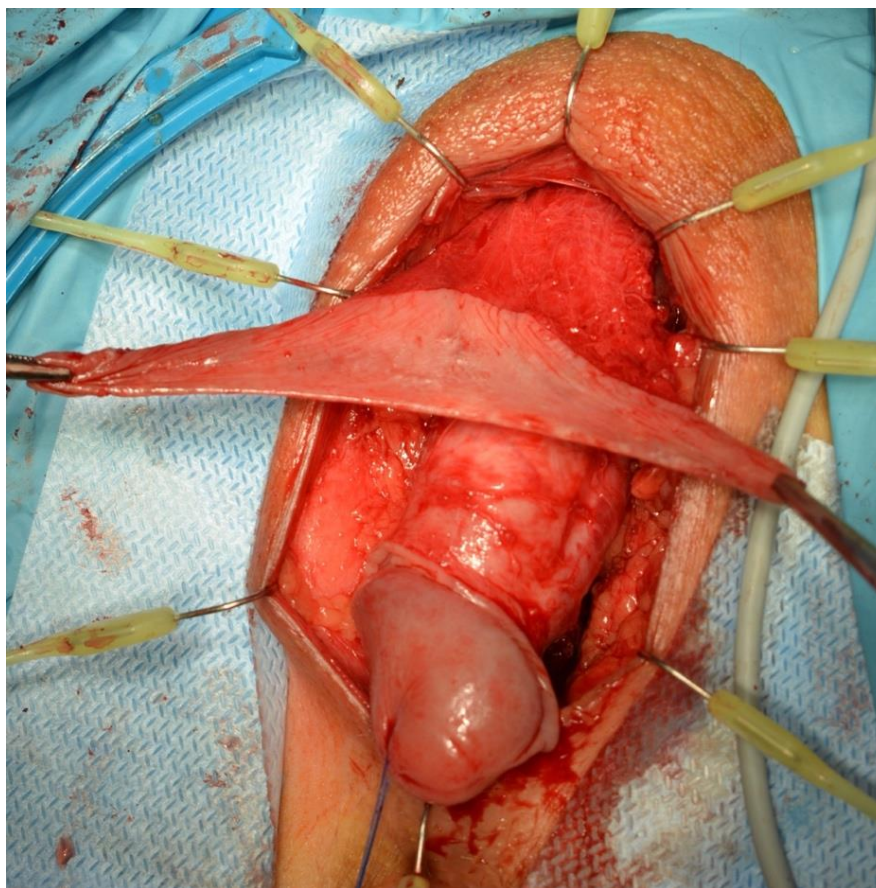


Рисунок 3.124 – Кожно-фасциального лоскут прямоугольной формы

В результате получается прямоугольной формы кожно-фасциальный лоскут, который будет использован для формирования вентральной полуокружности неоуретры.

Иссечение рубцово-изменённого спонгиозного тела

Производится иссечение рубцово-изменённого спонгиозного тела в пределах белочной оболочки с использованием микрохирургического пинцета, сосудистых ножниц и моно/биполярной коагуляции. В результате формируется уретральная площадка для фиксации буккального трансплантата (дорсальная полуокружность неоуретры). Буккальный трансплантат фиксируется тремя узловыми швами (викрил, 5-0) к дистальной и проксимальной части площадки. Как правило, площадка с обеих концов представлена сохранной частью уретры (спонгиозного тела). Буккальный трансплантат фиксируется к дорсальной поверхности сохранного спонгиозного тела. Также накладываются единичные узловые швы

(викрил, 4-0 или 5-0) по краям трансплантата при анастомозировании его с белочной оболочкой подлежащего кавернозного тела. После этого производится фиксация трансплантата по поверхности к белочной оболочке узловыми швами (викрил, 5-0) в шахматном порядке (Рисунок 3.125).

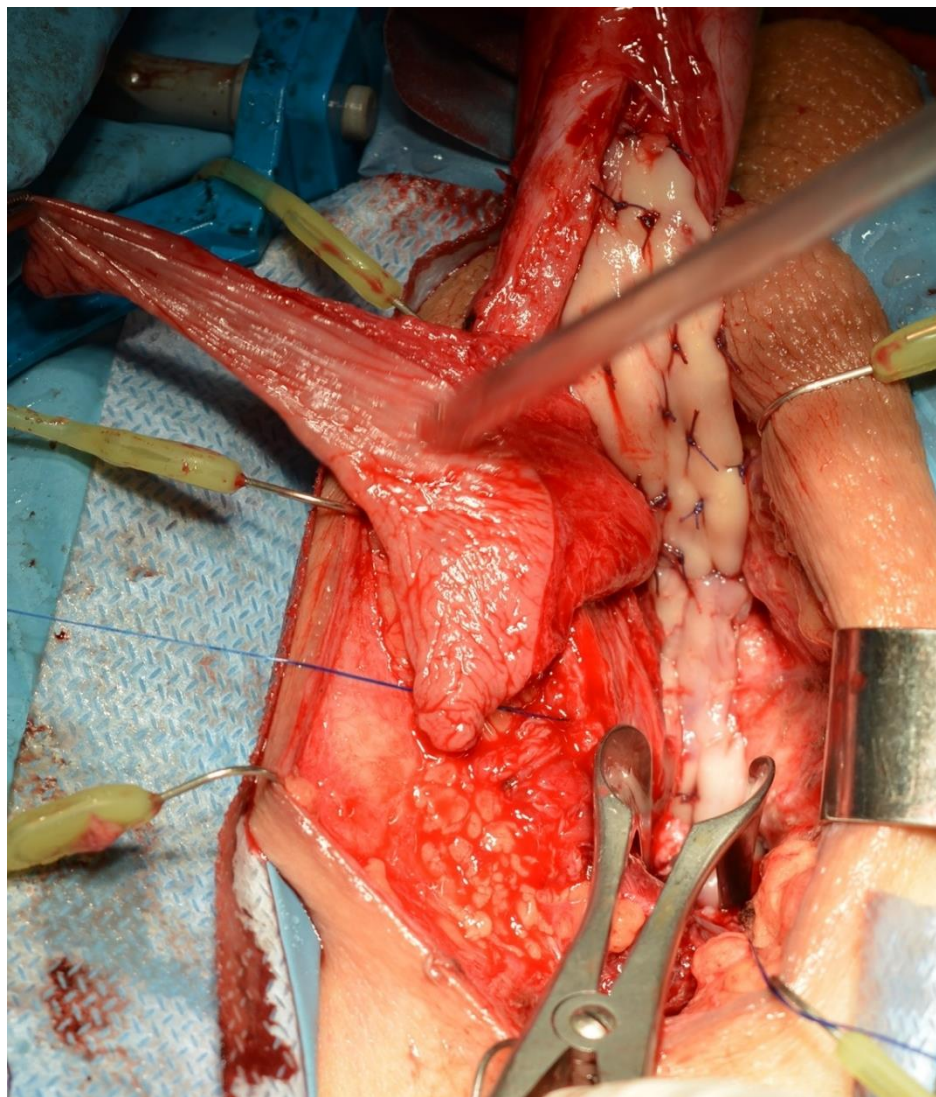


Рисунок 3.125 – Фиксация трансплантата слизистой оболочки щеки к белочной оболочке кавернозных тел

Анастомозирование буккального трансплантата и кожно-фасциального лоскута

В области сохранных участков спонгиозного тела проксимально и дистально выполняется спатуляция последнего по вентральной поверхности. При помощи одиночных узловых швов анастомозируется кожно-фасциальный лоскут в области спатуляции по вентральной поверхности (викрил, 5-0). Узлы

завязываются внутри просвета уретры. Далее формируется анастомоз между правым краем буккального трансплантата и правым краем кожно-фасциального лоскута непрерывным швом (викрил, 5-0) (Рисунок 3.126).

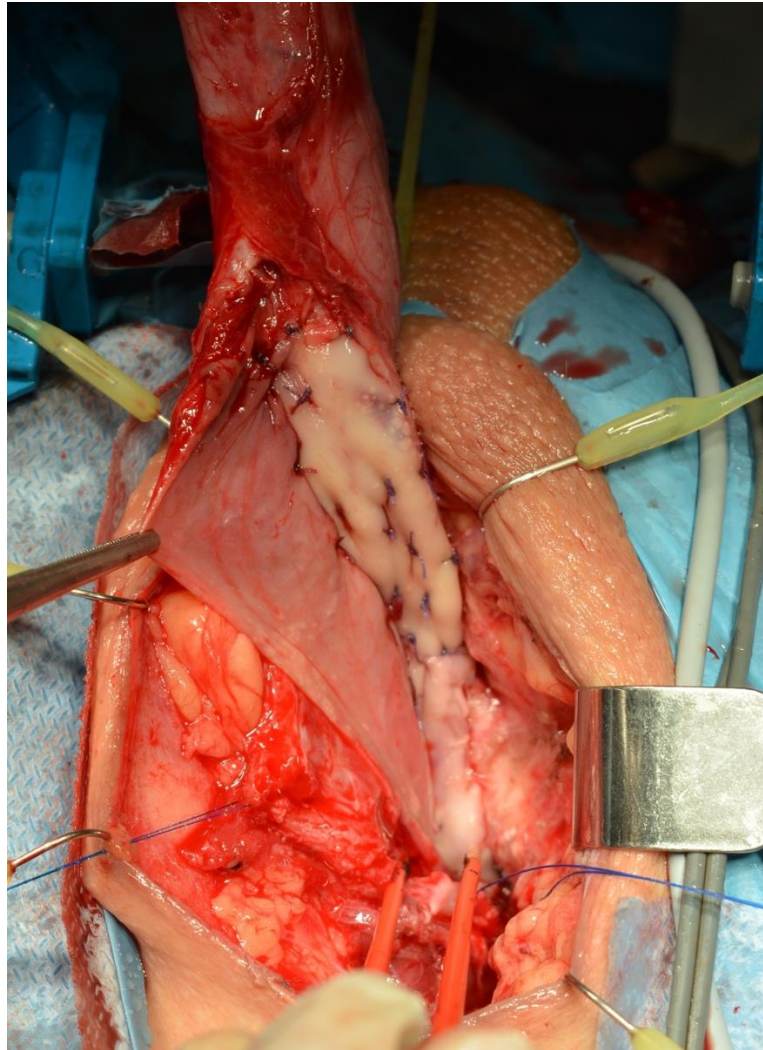


Рисунок 3.126 – Правый край буккального трансплантата анастомозирован с правым краем кожно-фасциального лоскута крайней плоти

После данного этапа кожно-фасциальный лоскут перекидывается через буккальный трансплантат таким образом, что кожная поверхность обращена в просвет уретры, а мясистая оболочка наружу. Непрерывным швом анастомозируется свободный левый край буккального трансплантата и левый край кожно-фасциального лоскута (Рисунок 3.127).

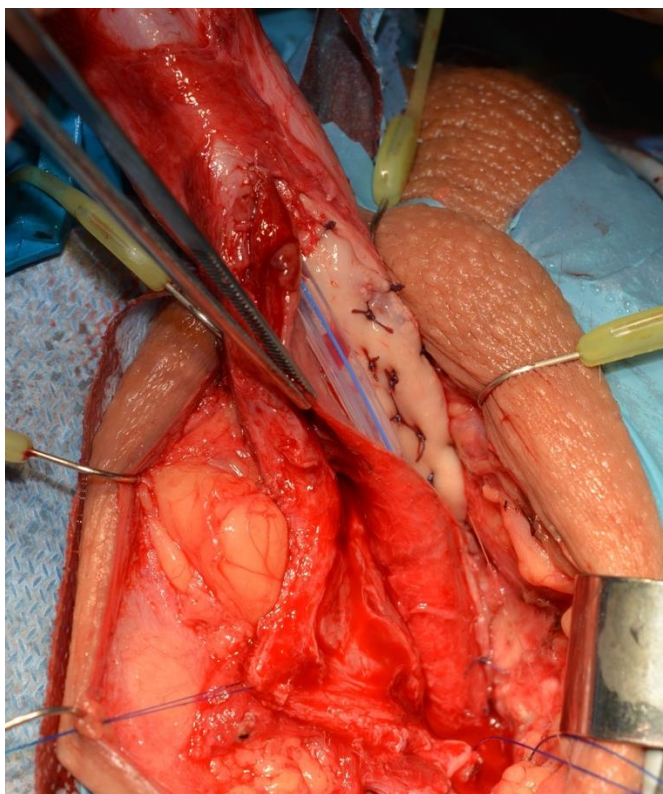


Рисунок 3.127 – Левый край буккального трансплантата анастомозирован с левым краем кожно-фасциального лоскута крайней плоти (проведён уретральный катетер)

Неоуретра сформирована (Рисунок 3.128).

Ушивание раны

Производится репозиция полового члена. Кожа в области проксимального циркулярного разреза в области полового члена анастомозируется отдельными узловыми швами к коже в субкоронарной области (викрил, 5-0). Рана промежности ушивается послойно узловыми швами (викрил, 4-0). На половой член накладывается влажная марлевая салфетка и стерильный эластический бинт, на рану промежности – давящая повязка. При необходимости выводится дренаж через контрапертуру.

Послеоперационный период. В послеоперационном периоде назначаются препараты для улучшения микроциркуляции, помимо стандартной терапии. Крайне важно предупредить пациента, что возможна некротизация кожи полового члена, как правило – фрагментарная.

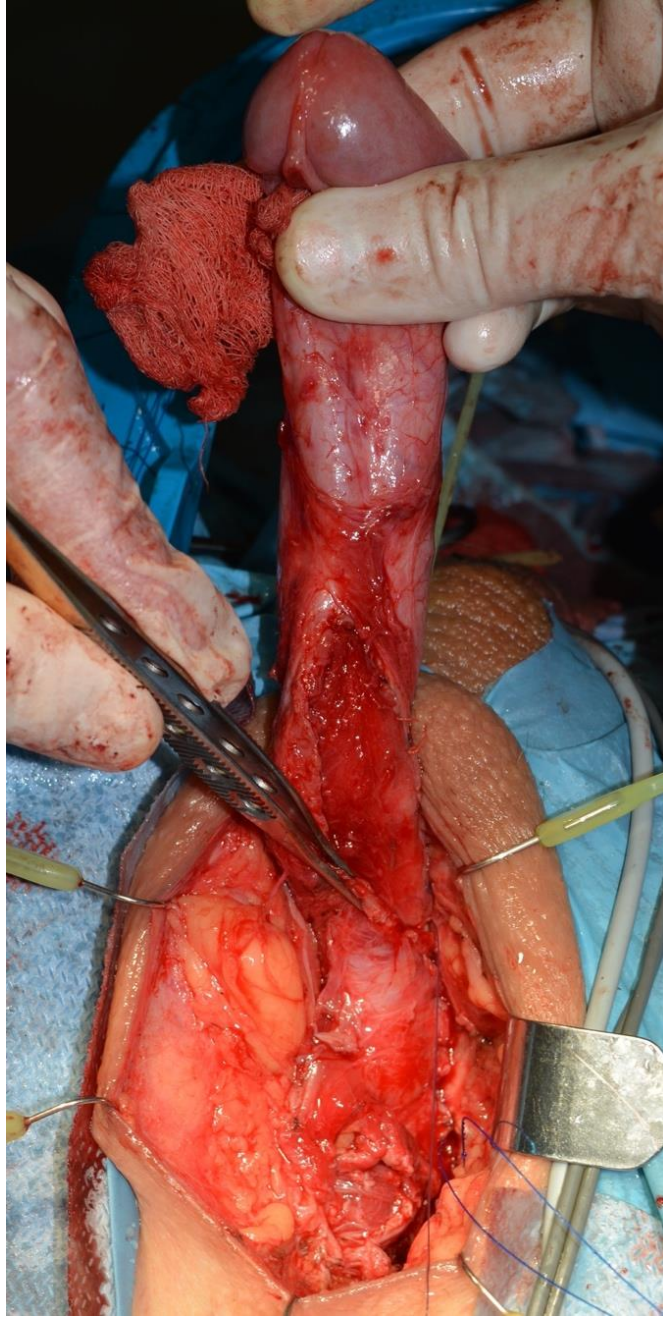


Рисунок 3.128 – Края кожно-фасциального лоскута крайней плоти анастомозированы с краями трансплантата слизистой оболочки щеки

3.1.4. Статистическая обработка материала

Для обработки и анализа данных были использованы методики описательной статистики, а также многофакторная логистическая регрессия.

3.2. Анализ эффективности операций

Результаты лечения пациентов, прооперированных в Клинике урологии УКБ №2 Сеченовского Университета представлены в таблице 3.1. Всего с 2011 по 2021 гг. было прооперировано 1019 пациентов:

- Различные виды уретропластики с использованием слизистой оболочки щеки – 265 пациентов;
- Различные виды анастомотической уретропластики – 34 пациента;
- Анастомотическая увеличивающая уретропластика – 4 пациента;
- Восстановление уретры с использованием кожно-фасциального лоскута крайней плоти и слизистой оболочки ротовой полости – 9 пациентов;
- Промежностная уретростомия – 4 пациента;
- Внутренняя оптическая уретротомия – 703 пациента.

Наиболее эффективной методикой оказались анастомотические уретропластики (93% при среднем сроке наблюдения 54 месяца); причём это относится как к анастомотическим операциям при стриктурах луковичного, так и мембранозного отделов уретры. Суммарная эффективность уретропластик с использованием слизистой оболочкой ротовой полости составила 79,6%, при среднем сроке наблюдения 60,6 месяцев.

Таблица 3.1 – Характеристика пациентов с указанием вида пособия по поводу сужения мочеиспускательного канала

Вид операции	Кол-во пациентов	Средний возраст, лет	Пол		Эффективность, %	Средний срок наблюдения, месяцев
			Жен	Муж		
Буккальная уретропластика	265	51,5±16,6	1	264	79,6	60,6
Дорсальная	204	52,4±16,3	1	203	81	60
Вентральная	31	51,1±16,6	0	31	80	65
По Asopa	11	50,4±15,9	0	11	82	64
Дорсальная по Kulkarni и Barbagli	15	52,0±17,3	0	15	80	65
Второй этап двухэтапной пластики уретры	4	51,6±16,9	0	4	75	49
Анастомотическая уретропластика	34	52,6±16,0	0	34	93	54
Операция Хольцова	21	53,3±16,0	0	0	90	61
Уретро-простатический анастомоз	9	50,4±15,7	0	0	89	64
Уретропластика без пересечения спонгиозного тела	4	54,1±16,3	0	0	100	37
Анастомотическая увеличивающая уретропластика	4	54,1±19,8	0	4	78	53
Восстановление уретры с использованием кожно-фасциального лоскута крайней плоти и слизистой оболочки ротовой полости	9	49,4±14,8	0	9	89	37
Промежностная уретротомия	4	73,7±3,4	0	4	100	67
Внутренняя оптическая уретротомия	703	62,5±12,8	3	700	***	***
ИТОГО	1019	59,3±15,0	4	981	87,9	54,3

- * С момента интубации
- ** Включены уретроскопия и установка струны-проводника
- *** Не входило в задачи исследования

Анализ клинических данных 1242 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, прооперированных в Тосканском хирургическом центре (Ареццо, Италия) [215], показал, что эффективность лечения зависела от совокупности факторов.

Идиопатические стриктуры уретры были выявлены у 783 пациентов из 1242 (63%), стриктура вследствие установки уретрального катетера у 167 пациентов (13,4%), стриктура в следствие трансуретральных вмешательств у 145 пациентов (11,8%), вследствие травмы – 121 пациент (9,7%), постинфекционные стриктуры – 15 (1,2%).

Средняя протяжённость стриктуры составила 4 см (от 1 до 8 см). Следует отметить, что у 872 пациентов (из 1242) ранее было проведено то или иное хирургическое вмешательство, связанное со стриктурой уретры. Среднее время наблюдения составило 103 месяца (от 12 до 362). Результаты лечения у 916 пациентов (73,8%) расценивались как успешные и у 326 (26,2%) как неудачные (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Эффективность операций, выполненных различными хирургическими методиками

№	Хирургическая методика	Количество пациентов (%)	Эффективность (%; время наблюдения)
1	Внутренняя уретротомия холодным ножом	348 (28)	230 (66,1; 62 мес)
2	Анастомоз конец-к-концу [137]	213 (17,1)	183 (85,9; 181 мес)
3	Увеличивающая дорсальная анастомотическая уретропластика кожным лоскутом [117]	10 (0,8)	2 (20; 234 мес)
4	Увеличивающая дорсальная анастомотическая уретропластика лоскутом слизистой оболочки щеки [117]	25 (2)	18 (72; 162 мес)

Продолжение Таблицы 3.2

5	Дорсальная буккальная уретропластика (inlay) [95; 159]	37 (3)	29 (78,4; 45 мес)
6	Дорсальная буккальная уретропластика (onlay) [94]	25 (2)	17 (68; 134 мес)
7	Дорсальная уретропластика кожным лоскутом [94]	33 (2,6)	19 (57,6; 241 мес)
8	Односторонняя буккальная уретропластика [157]	15 (1,2)	7 (46,7; 103 мес)
9	Двухэтапная уретропластика [155]	73 (5,9)	39 (53,4; 152 мес)
10	Латеральная буккальная уретропластика [65]	6 (0,5)	5 (83,3; 211 мес)
11	Круговая заместительная буккальная уретропластика [158]	12 (1)	7 (58,3; 182 мес)
12	Вентральная буккальная уретропластика [121; 148]	422 (34)	345 (81,7; 91 мес)
13	Вентральная только + дорсальная буккальная уретропластика (inlay)	16 (1,3)	14 (87,5; 33 мес)
14	Увеличивающая вентральная анастомотическая уретропластика лоскутом слизистой оболочки щеки [160]	7 (0,6)	1 (14,3; 158 мес)
Всего		1242	916 (73,8)

При этом эффективность лечения у пациентов с первичной стриктурой уретры составила 77,3%, а у пациентов, ранее перенесших какое-либо лечение по поводу стриктуры уретры – 72,2%; и только у пациентов, которые перенесли более 2 уретротомий эффективность, оказалась менее 70% (67,6%) (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Эффективность операции в зависимости от предшествующего лечения

Предшествующее лечение	Кол-во пациентов (%)	Эффективность (%)	Неэффективность (%)
Отсутствует	370 (29,8)	286 (77,3)	84 (22,7)
Дилатация	39 (3,1)	28 (71,8)	11 (28,2)

Продолжение Таблицы 3.3

Одна уретротомия	206 (16,7)	163 (79,1)	43 (20,9)
Две уретротомии	131 (10,5)	113 (86,3)	18 (13,7)
Более двух уретротомий	102 (8,2)	69 (67,6)	33 (32,4)
Уретропластика	31 (2,5)	22 (71)	9 (29)
Связанное лечение	363 (29,2)	235 (64,7)	128 (35,3)

Эффективность лечения резко снижалась при сроке наблюдения более 20 лет (Таблица 3.4), а частота рецидивов оказалась наиболее высокой в первые 2 года после оперативного лечения (Таблица 3.5).

Таблица 3.4 – Эффективность операции в отношении срока наблюдения в постоперационном периоде (года)

Срок наблюдения	Кол-во пациентов (%)	Эффективность (%)	Неэффективность (%)
1–5 года	325 (26,2)	251 (77,2)	74 (22,8)
5–10 лет	400 (32,2)	299 (74,8)	101 (25,2)
10–15 лет	275 (22,1)	200 (72,7)	75 (27,3)
15–20 лет	202 (16,3)	143 (70,8)	59 (29,2)
20–25 лет	35 (2,8)	20 (57,1)	15 (42,9)
25–30 лет	4 (0,3)	2 (50)	2 (50)
Более 30 лет	1 (0,1)	1 (100)	-

Таблица 3.5 – Случаи рецидива стриктуры уретры в постоперационном периоде

Срок наблюдения	Рецидив стриктуры (%)
0–1 год	134 (41,1)
1–2 года	75 (23)
2–3 года	28 (8,6)
3–4 года	27 (8,3)
4–5 года	11 (3,4)
5–6 лет	35 (10,7)
10–15 лет	12 (3,7)
15–20 лет	4 (1,2)
Всего	326 (26,2)

Эффективность хирургического лечения стриктуры уретры в зависимости от вида оперативного вмешательства представлена в таблице (см. Таблицу 3.2). Не было выявлено статистически значимых различий в возрасте пациентов с рецидивом стриктуры и успешной операцией: средний возраст при рецидиве

составил $41,9 \pm 16,11$ лет против $42,50 \pm 16,36$ лет у пациентов без рецидива ($p = 0,564$). При этом средняя протяженность стриктуры уретры оказалась меньше в группе без рецидива, и эти различия статистически достоверны: $2,76 \text{ см} \pm 1,42$ (без рецидива) vs. $3,03 \pm 1,52$ (с рецидивом) ($p = 0,009$).

Многофакторный анализ на основе логистической регрессии представлен в таблице (Таблица 3.6). Длина стриктуры уретры является независимым предиктором развития рецидива ($p < 0,0001$ (доверительный интервал 1,146–1,509)). В то же время анастомотическая уретропластика, а также вентральная и дорсальная пластика с использованием слизистой оболочки ротовой полости также оказались независимыми предикторами успешного исхода.

Таблица 3.6 – Многофакторный анализ

Многофакторная логическая регрессия	Значение <i>p</i>	ОШ	95% ДИ для ОШ	
			НГ	ВГ
Техника				
Внутренняя уретротомия холодным ножом	Реф.	1	–	–
Анастомоз конец-к-концу	< 0,0001	0,335	0,210	0,532
Увеличивающая дорсальная анастомотическая уретропластика кожным лоскутом	0,040	5,405	1,082	27,013
Увеличивающая дорсальная анастомотическая уретропластика лоскутом слизистой оболочки щеки	0,071	0,416	0,160	1,078
Дорсальная буккальная уретропластика (inlay)	< 0,0001	0,183	0,073	0,460
Дорсальная буккальная уретропластика (onlay)	0,024	0,326	0,123	0,863
Дорсальная уретропластика кожным лоскутом	0,644	0,826	0,367	1,859
Односторонняя буккальная уретропластика	0,896	0,926	0,294	2,917
Двухэтапная уретропластика	0,243	0,683	0,360	1,295
Латеральная буккальная уретропластика	0,155	0,202	0,022	1,829
Круговая заместительная буккальная уретропластика	0,641	0,745	0,217	2,559
Вентральная буккальная уретропластика	< 0,0001	0,198	0,123	0,317
Вентральная только + дорсальная буккальная уретропластика (inlay)	0,002	0,084	0,017	0,409
Увеличивающая вентральная анастомотическая уретропластика лоскутом слизистой оболочки щеки	0,117	5,686	0,646	50,027

Продолжение Таблицы 3.6

Этиология				
Неизвестно	Реф.	1	–	–
Катетер	0,371	1,199	0,806	1,783
Инструментально	0,223	1,295	0,855	1,964
Травма	0,122	0,659	0,388	1,118
Конгенитальное	0,342	2,219	0,429	11,493
Инфекция	0,433	0,579	0,148	2,265
Радиотерапия	0,814	1,331	0,123	14,356
Протяженность	< 0,0001	1,315	1,146	1,509
Предшествующее лечение				
Отсутствует	Реф.	1	–	–
Дилатация	0,887	1,059	0,480	2,339
Уретротомия	0,246	1,243	0,861	1,796
Уретропластика	0,493	1,362	0,564	3,290

Примечание. ВГ – верхняя граница; ДИ – доверительный интервал; НГ – нижняя граница; ОШ – отношение шансов.

Анализ клинических данных 136 пациентов с первичными стриктурами луковичного отдела уретры, подвергшихся внутренней уретротомии в Центре реконструктивной уретральной хирургии (Ареццо, Италия) [109], с целью оценки безрецидивного периода был проведен с использованием кривых Каплана-Мейера. Многопараметрическая регрессия Кокса применялась для оценки ассоциации предикторов (возраст, индекс массы тела, диабет, курение в анамнезе, этиология, тип и продолжительность стеноза, предоперационная максимальная скорость потока мочи) с риском рецидива стриктуры уретры.

Результаты описательной статистики представлены в таблице (Таблица 3.7). Протяжённость стриктуры 1–2 см была выявлена у 60 пациентов (45%), 2–3 см у 55 пациентов (40%) и 3–4 см у 21 пациента (15%). Средний срок наблюдения составил 55 месяцев. При сроке наблюдения 5 лет эффективность составила 57% (Рисунок 3.129). Однофакторный анализ выявил следующие закономерности: сахарный диабет, неидиопатическая этиология стриктуры, протяжённость стриктуры 3–4 см и предоперационная скорость мочеиспускания были статистически достоверно связаны с повышенным риском развития рецидива стриктуры уретры. Далее эти предикторы были подвергнуты многофакторному

анализу, в результате которого, только предоперационная скорость мочеиспускания была статистически достоверно связана с повышенным риском развития стриктуры уретры (Таблица 3.8). Все пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от предоперационной максимальной скорости мочеиспускания (группа №1: менее 5 мл/с; группа №2: 5–8 мл/с; группа №3: более 8 мл/с). На рис (Рисунок 3.130) представлено распределение безрецидивных периодов в трёх группах: 31% (группа №1), 53% (группа №2) и 83% (группа №3); эти различия статистически достоверны ($p < 0,00001$). Аналогичные взаимосвязи выявлены при анализе безрецидивных периодов при распределении пациентов на группы в соответствии с протяжённостью стриктуры уретры (Рисунок 3.131): 1–2 см – 71%, 2–3 см – 51%, 3–4 см – 39%. Из 51 пациента, у которых развился рецидив – 32-м выполнена повторная оптическая уретротомия с эффективностью 37,5%; 19-ти – буккальная уретропластика с эффективностью 94,7%.

Таблица 3.7 – Характеристика пациентов, подвергшихся эндоскопической уретротомии при стенозе переднего отдела уретры

Параметр	Значение
Возраст, года	37 (25–48)
Индекс массы тела, кг/м ²	24 (23–27)
Табакокурение	
Да	82 (60)
Нет	33 (25)
Бывший	21 (15)
Диабет	
Да	130 (96)
Нет	6 (4)
Тип стеноза	
Облитерирующий	53 (39)
Необлитерирующий	83 (61)
Этиология	
Идиопатическое	110 (81)
Инструментальное	11 (8)
Катетер	14 (10)
Инфекция	1 (1)

Продолжение Таблицы 3.7

Протяженность	
1–2 см	60 (45)
2–3 см	55 (40)
3–4 см	21 (15)
Дооперационная максимальная скорость мочеиспускания, мл/с	6,8 (5,0–9,1)
Срок наблюдения в постоперационном периоде, мес	55 (36–92)

Примечание. Для непрерывных переменных представлены медианные значения с интерквартильным диапазоном, для качественных – количество с процентным отношением.

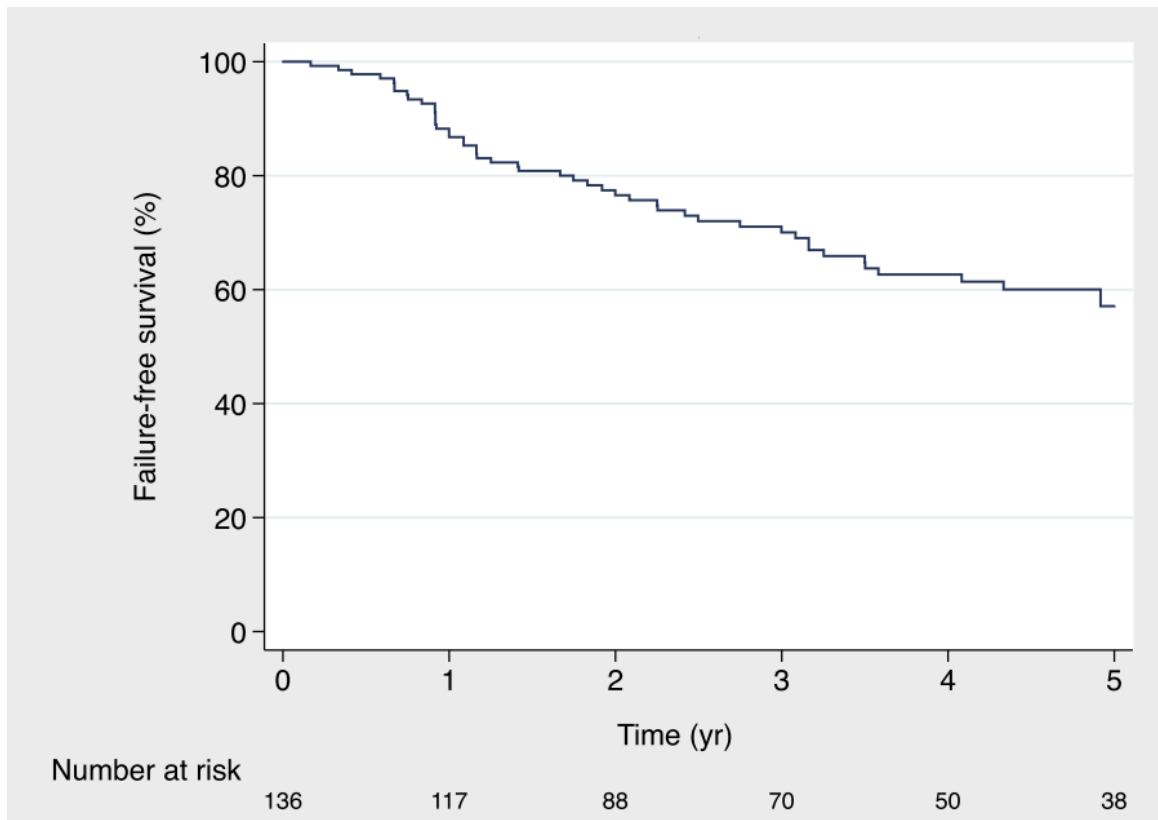


Рисунок 3.129 – График Каплана-Майера, описывающий выживаемость с отсутствием неблагоприятных исходов в исследуемой популяции

Таблица 3.8 – Однофакторный и многофакторный регрессионный анализ Кокса, предсказывающий успешность уретротомии при стенозе переднего отдела уретры

Переменная	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОР (95% ДИ)	Значение <i>p</i>	ОР (95% ДИ)	Значение <i>p</i>
Возраст, года	1,01 (0,99–1,03)	0,3	–	–
Индекс массы тела, кг/м ²	1,00 (0,91–1,10)	0,9	–	–
Диабет				
Нет	Реф.	–	Реф.	–
Да	3,25 (1,16–9,07)	0,024	1,83 (0,55–6,08)	0,3
Табакокурение				
Нет	Реф.	–	–	–
Да/бывший	1,18 (0,68–2,07)	0,6	–	–
Этиология				
Идиопатическое	Реф.	–	Реф.	–
Неидиопатическое	1,89 (1,02–3,51)	0,043	1,49 (0,74–2,99)	0,3
Тип стеноза				
Необлитерирующий	Реф.	–	–	–
Облитерирующий	1,45 (0,81–2,59)	0,2	–	–
Протяженность				
1–2 см	Реф.	–	Реф.	–
2–3 см	1,60 (0,85–3,01)	0,15	1,17 (0,60–2,28)	0,6
3–4 см	2,37 (1,09–5,12)	0,029	1,83 (0,83–4,04)	0,13
Дооперационная максимальная скорость мочеиспускания, мл/с	0,73 (0,64–0,84)	< 0,0001	0,76 (0,66–0,86)	< 0,0001

Примечание. ДИ – доверительный интервал; ОР – отношение рисков.

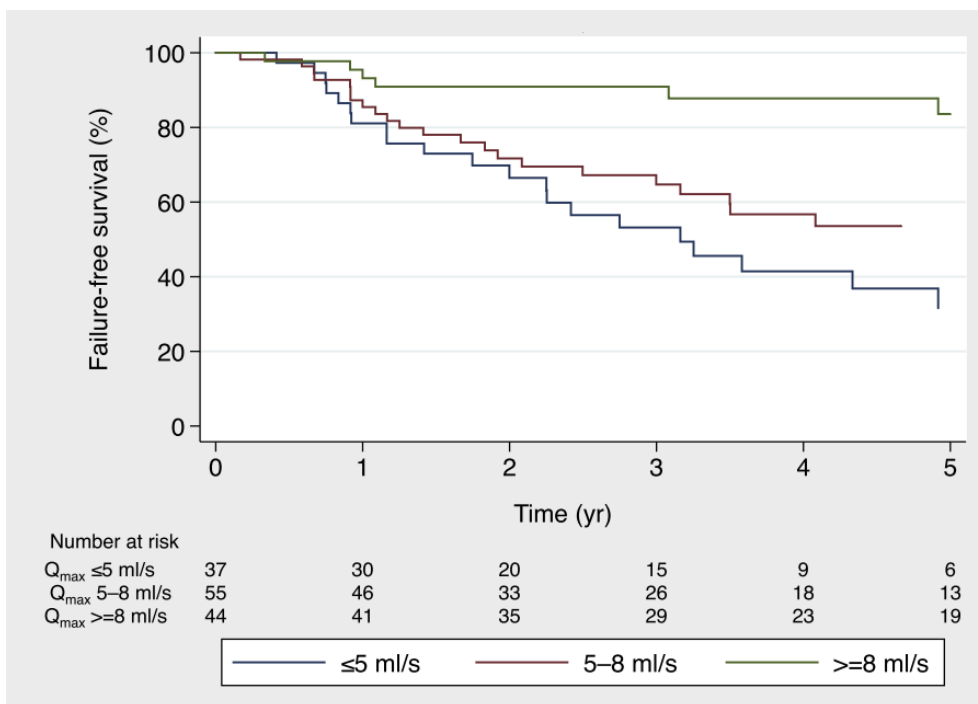


Рисунок 3.130 – График Каплана-Майера, описывающий выживаемость с отсутствием неблагоприятных исходов в соответствии с дооперационной максимальной скоростью мочеиспускания (Q_{\max}) при урофлоуметрии (5 vs 5–8 vs ≥ 8 мл/с)

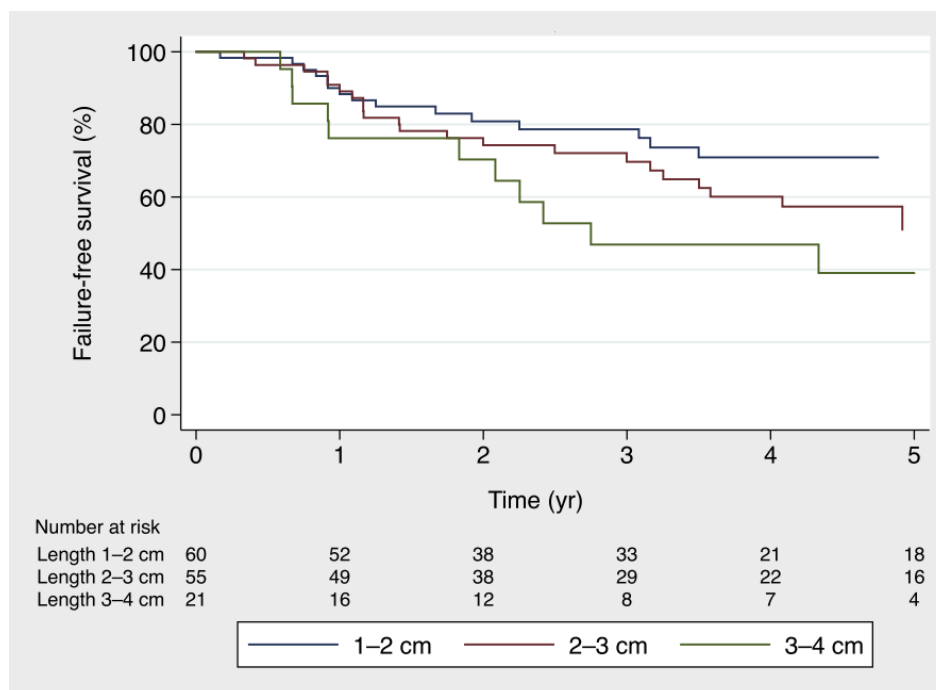


Рисунок 3.131 – График Каплана-Майера, описывающий выживаемость с отсутствием неблагоприятных исходов в соответствии с протяженностью стриктуры (1–2 vs 2–3 vs $\geq 3-4$ см)

Следует особо отметить, что успешное ведение пациентов со стриктурами уретры зависит не столько от типа хирургического вмешательства, сколько от процесса выбора хирургической тактики. Не существует какой-либо единой хирургической техники, которая была бы эффективна при любых видах стриктур уретры. При выборе хирургической тактики следует принимать во внимание целый набор данных: локализация и протяжённость стриктуры уретры, наличие отягчающих факторов (дивертикулы, свищи, предшествовавшие операции, врождённые аномалии), близость к наружному сфинктеру уретры, наличие остаточной мочи и т.д.

На основании представленных данных можно сделать следующие выводы в отношении хирургического лечения стриктур уретры:

1. Луковичный отдел уретры:

- Протяжённость стриктуры уретры более 3 см статистически достоверно коррелирует с риском развития рецидива;
- Анастомотическая уретропластика, а также дорсальная/вентральная уретропластика с применением слизистой ротовой полости показывают наиболее высокую эффективность (не ниже 90% и не ниже 80%, соответственно) при длительном сроке наблюдения (не менее 60 месяцев);
- Трансплантат ротовой полости эффективнее трансплантата кожи полового члена при уретропластике;
- Отсутствие рецидива при сроке наблюдения не менее 6 лет может быть расценено как критерий излечения.

2. Оптическая уретротомия при стриктурах луковичного отдела уретры:

- Риск развития рецидива в значительной степени зависит от предоперационной максимальной скорости мочеиспускания. В частности, если максимальная скорость выше 8 мл/с, это коррелирует с наиболее высокими показателями эффективности (83%);
- Пациенты с короткими стриктурами уретры (1–2 см) демонстрируют наилучшие результаты (71% успешных операций);

- Пациентов с предоперационной максимальной скоростью мочеиспускания менее 5 мл/с следует рассматривать в качестве кандидатов для буккальной уретропластики, особенно в том случае, когда речь идёт о протяжённых стриктурах;
- В случае развития рецидива после оптической уретротомии в качестве последующего метода лечения не следует рассматривать очередную уретротомию (возможной альтернативой является буккальная уретропластика);

3. Протяжённые стриктуры уретры:

- С эффективностью не менее 80% могут быть использованы дорсальная пластика по методике Kulkarni и Barbagli (срок наблюдения 65 месяцев) и восстановление уретры с использованием кожно-фасциального лоскута крайней плоти и слизистой оболочки ротовой полости (срок наблюдения 37 месяцев).

Исходя из нашего опыта и полученных данных, может быть предложен следующий алгоритм выбора хирургической тактики при стриктурах уретры (Рисунок 3.132).

Следует отметить, что данный алгоритм выбора метода оперативного лечения при стриктурах уретры не является исчерпывающим, исходя из того, что он основан на результатах собственных исследований и хирургического опыта. В частности, в данной схеме отсутствует указание на этапные операции, а также на анастомотическую уретропластику без пересечения спонгиозного тела в силу незначительного количества таких оперативных пособий (по 4 операции). Кроме того, мы не рассматривали ситуации с изолированным меатостенозом и сужения в области шейки мочевого пузыря. Тем не менее, исходя из нашего опыта, мы можем утверждать, что предложенный алгоритм позволяет найти эффективное хирургическое решение для большинства сужений мочеиспускательного канала, с которыми сталкивается уролог в клинической практике.

Отдельно хочется отметить клинический случай идиопатического сужения мочеиспускательного канала у женщины. После ряда внутренних оптических уретротомий, который завершались рецидивированием сужения, было принято решение о выполнении аугментационной буккальной уретропластики. Фрагмент слизистой оболочки щеки был фиксирован по дорсальной поверхности мочеиспускательного канала (предварительно было выполнено рассечение стриктуры). Особенность оперативного пособия заключалась в том, что не было необходимости выделять уретру. Доступ был интрауретральным при помощи носовых зеркал. Фиксация трансплантата происходила аналогично технике дорсальной уретропластике по Varbagli в той её части, где слизистая оболочка щеки фиксируется в проксимальной части уретры. В остальном оперативное лечение прошло без особенностей. Рецидив не возник.

Возвращаясь к предложенному алгоритму следует отметить, что наибольшее количество методов оперативного пособия рассматривается при стриктурах луковичного отдела уретры (5 хирургических техник). В случае короткой (до 2 см) стриктуры луковичной уретры травматической этиологии (тупая травма промежности) можно использовать резекцию уретры с концевым анастомозом (операция Хольцова; анастомотическая уретропластика). Эффективность такого лечения превышает 90%. Если протяжённость посттравматической стриктуры превышает 2 см, то мы предлагаем применить анастомотическую увеличивающую уретропластику, при которой также иссекается рубцово-изменённый участок уретры, но для снижения риска натяжения в области анастомоза используется трансплантат слизистой оболочки щеки. В случаях нетравматической этиологии стриктур луковичного отдела уретры мы предлагаем следующий подход:

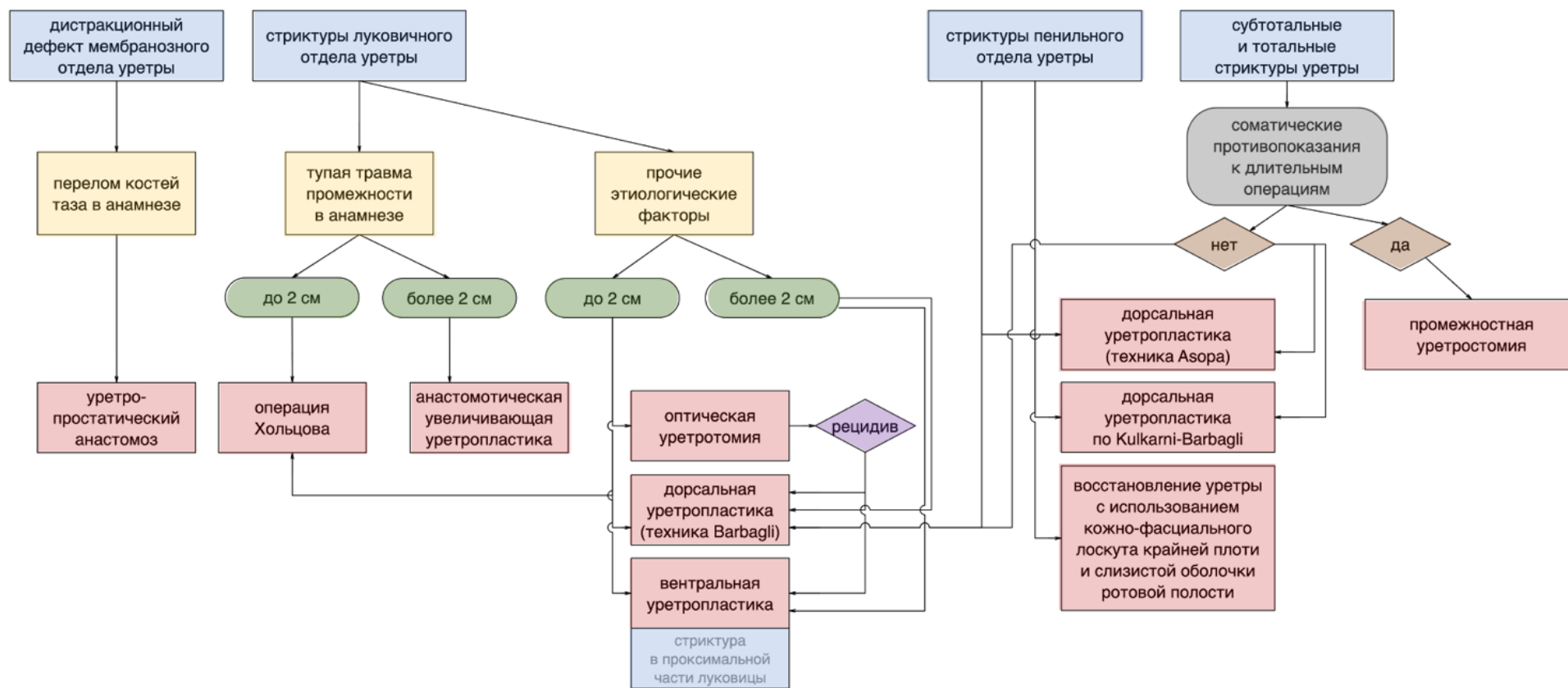


Рисунок 3.132 – Алгоритм выбора метода оперативного лечения при стриктурах уретры

1. При коротких стриктурах (до 2 см) можно рассматривать три хирургические техники: оптическая уретротомия, дорсальная или вентральная уретропластика. Во всех случаях аугментационной уретропластики в качестве трансплантатов мы использовали слизистую оболочку ротовой полости (в большинстве случаев это была слизистая оболочка щеки (при дефиците ткани мы также использовали слизистую оболочку языка и нижней губы)).

- Оптическую уретротомию целесообразно использовать при первичных стриктурах. В случае возникновения рецидива мы рекомендуем рассматривать тот или иной вид аугментационной уретропластики (дорсальная/вентральная);
- Вентральная уретропластика наиболее показана в тех случаях, когда стриктура локализуется в проксимальной части луковичного отдела уретры. Это связано с тем, что в этой части уретры спонгиозное тело наиболее выражено именно по вентральной поверхности, что обеспечивает достаточное кровоснабжение для реваскуляризации трансплантата;
- Дорсальная уретропластика применяется при любой локализации стриктуры уретры любой протяжённости. В этом случае трансплантат фиксируется к белочной оболочке полового члена. В последние годы мы используем именно эту технику при стриктурах луковичного отдела уретры. Как видно из схемы (Рисунок 3.132), дорсальная уретропластика достаточно универсальная техника, которая может быть использована практически при любых сужениях мочеиспускательного канала (за исключением дистракционного дефекта мембранозного отдела уретры и сужения шейки мочевого пузыря). В связи с этим данная техника должна быть в арсенале хирурга, который планирует заниматься пластическими операциями на мочеиспускательном канале;
- Выбор следует сделать между оптической уретротомией и аугментационной уретропластикой, на наш взгляд, совместно с пациентом при обсуждении всех преимуществ и недостатков обеих техник;

2. При протяжённых стриктурах (более 2 см) или стриктурах пенильно-луковичного отделов уретры мы используем дорсальную уретропластику. Если стриктура локализуется в проксимальной части луковичного отдела уретры, то можно применить вентральную технику (однако, как отмечено выше, в последние годы мы отдаём предпочтение дорсальной технике).

При стриктурах пенильного отдела уретры мы не рекомендуем выполнять оптическую уретротомию независимо от протяжённости стриктуры. Следует рассматривать различные виды аугментационных уретропластик. Если диаметр стриктуры не менее 3 мм, возможно выполнение дорсальной уретропластики через вентральный уретротомный доступ (техника Asopa) или классической дорсальной пластики по *Barbagli*. В случаях стриктур пенильного отдела уретры следует принимать во внимание и эстетический компонент. Это обусловлено тем, что при осуществлении доступа к уретре через ткани полового члена возможно развитие рубцовых изменений кожи пениса, что может быть негативно воспринято пациентом. Особенно значимо это для техник, при которых используется кожа полового члена в качестве материала для аугментации. Принимая во внимание вышесказанное, в последние годы мы используем технику *Kulkarni-Barbagli* при стриктурах пенильного отдела уретры независимо от протяжённости, а также при субтотальных и тотальных стриктурах. Единый промежностный доступ, применяемый при данной технике, позволяет избежать нарушения кожных покровов полового члена и сохраняет его эстетический вид.

При субтотальных и тотальных стриктурах уретры можно рассматривать три основных варианта:

1. Промежностная уретростомия. Данная техника показана в тех случаях, когда по соматическим показаниям пациент не сможет перенести длительную реконструктивную операцию или пациент сам отказывается от такого лечения. Отказ может быть обусловлен ранее перенесенными операциями, которые в итоге не привели к излечению от стриктуры мочеиспускательного канала. Промежностная уретростомия достаточно эффективное решение с достаточно высоким качеством жизни (как минимум значительно более высоким по

сравнению с цистостомическим дренажем). Тем не менее, пациента следует предупредить, что мочеиспускание будет происходить сидя, а семяизвержение будет реализовываться через промежностную стому;

2. Аугментационная уретропластика (различные варианты дорсальной пластики). Как мы указывали выше, мы отдаём предпочтение технике Kulkarni-Barbagli, которая не нарушает эстетический вид полового члена;

3. Заместительная уретропластика. Показана в тех случаях, когда выполнить аугментационную пластику не представляется возможным (диаметр стриктуры менее 3 мм, уретра облитерирована, уретра отсутствует фрагментарно или на всём протяжении, грубые рубцовые изменения, вовлекающие помимо уретры и окружающие ткани). В этих случаях можно рассматривать этапные операции, а также формирование новой уретры с помощью лоскута из крайней плоти (вентральная полуокружность уретры) и слизистой оболочки ротовой полости (дорсальная полуокружность); несмотря на то, что данная хирургическая техника является достаточно сложной, эффективность данного оперативного пособия достаточно высокая (89%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стриктуры уретры сохраняют свою актуальность и являются объектом исследовательских задач для многих междисциплинарных команд. Существующие хирургические техники позволяют справиться с подавляющим большинством клинических случаев сужения мочеиспускательного канала. На первый план выходят эффективный алгоритм выбора метода лечения и оптимальный набор хирургических техник, позволяющий добиться стабильно высоких показателей эффективности. Так, анализ клинических данных 1019 пациентов с различными стриктурами уретры, прооперированных в Клинике урологии Сеченовского Университета, показал, что наиболее эффективной методикой оказались анастомотические уретропластики (93% при среднем сроке наблюдения 54 месяца), а суммарная эффективность уретропластик с использованием слизистой оболочки ротовой полости составила 79,6% при среднем сроке наблюдения 60,6 месяцев. Анализ клинических данных 1242 пациентов со стриктурами луковичного отдела уретры, прооперированных в Тосканском хирургическом центре, также выявил, что наиболее эффективной техникой оказалась анастомотическая уретропластика (85,9%), однако пластики с использованием слизистой оболочки ротовой полости значительно различались по своей эффективности – в зависимости от способа фиксации трансплантата от 14,3% до 87,5%. Тем не менее, эффективность уретропластик с использованием слизистой оболочки ротовой полости составила 78% (длительность наблюдения от 13 до 230 месяцев), а с использованием трансплантатов кожи полового члена – 48% (длительность наблюдения от 183 до 281 месяца). При анализе клинических данных 136 пациентов с первичными стриктурами луковичного отдела уретры, прооперированных в Центре реконструктивной уретральной хирургии, выявлено,

что основным статистически достоверным фактором, связанным с повышенным риском развития рецидива стриктуры уретры, является только предоперационная скорость мочеиспускания, а в случае рецидива (51 пациент) повторная оптическая уретротомия (32 пациента) показала эффективность только 37,5%, в то время как буккальная уретропластика (19 пациентов) – 94,7%.

В настоящее время появляются новые хирургические решения, которые, в частности, представляют собой комбинацию существующих подходов (например, восстановление уретры с помощью кожно-фасциального лоскута крайней плоти и трансплантата слизистой оболочки ротовой полости) или оптимизацию существующих (например, анастомотическая уретропластика без пересечения спонгиозного тела).

Однако помимо развития хирургической составляющей проблематика сужений мочеиспускательного канала ищет решения и в другой области – такой, как регенеративная медицина и тканевая инженерия. Тканевая инженерия уретры, объединяя усилия урологов, материаловедов, клеточных биологов, обеспечивает междисциплинарный подход в решении данной проблемы. За последние десятилетия регенеративная медицина мочеиспускательного канала прошла сложный путь от бесклеточных матриц до биоэквивалентов, содержащих клетки пациента. Так, нами были разработаны эквиваленты стенки уретры на основе децеллюляризованной артерии/клеток буккального эпителия и гибридной матрицы/клеточных сфероидов, показана их биосовместимость и эффективность на модели стриктуры мочеиспускательного канала у кроликов. В виду неоднозначности полученных результатов заместительной уретропластики с использованием конструктора на основе децеллюляризованной артерии было принято решение по оптимизации его состава и технологии формирования, а именно замене материала на гибридную матрицу из армирующей сетки

из полилактогликолида и реконструированного коллагена и использовании сфероидов для формирования многослойной эпителиальной выстилки. Впервые проведены две операции пациентам по заместительной уретропластике с использованием эквивалентов уретры на основе децеллюляризованной артерии/клеток буккального эпителия и гибридной матрицы/клеточных сфероидов. Тем не менее, несмотря на оптимистичные результаты актуальным остаётся вопрос поиска оптимальной стратегии и показаний для аугментационных уретропластик.

ВЫВОДЫ

1. Наибольшей эффективностью при коротких (до 2 см) стриктурах уретры обладают анастомотические техники; это утверждение справедливо как для стриктур луковичного отдела уретры (90%), так и для дистракционных дефектов мембранозной уретры (89%).
2. При протяжённых стриктурах луковичного и/или пенильного отделов уретры эффективность аугментационных пластик с использованием слизистой оболочки ротовой полости составила в среднем 79%; при этом эффективность дорсальной уретропластики составила 81% (наибольшее количество случаев – 204 пациента).
3. При субтотальных и тотальных стриктурах уретры в качестве одноэтапных хирургических техник можно рассматривать аугментационную уретропластику с использованием слизистой оболочки ротовой полости по Kulkarni-Barbagli (единый промежностный доступ) с эффективностью 80%; а также заместительную уретропластику с использованием кожно-фасциального лоскута крайней плоти и слизистой оболочки ротовой полости с эффективностью 89%; данный вид оперативного пособия может рассматриваться в качестве альтернативы этапным операциям.
4. При коротких (до 2 см) стриктурах луковичного отдела уретры нетравматической этиологии оптическая уретротомия наиболее эффективна (83%) при предоперационной максимальной скорости мочеиспускания не менее 8 мл/с; при этом, независимым предиктором рецидива является предоперационная максимальная скорость мочеиспускания менее 5 мл/с (эффективность 31%); пациентов с предоперационной максимальной скоростью мочеиспускания менее 5 мл/с следует рассматривать в качестве кандидатов для буккальной уретропластики, особенно в тех случаях, когда речь идёт о протяжённых стриктурах.

5. Отсутствие рецидива стриктуры уретры спустя не менее 6 лет после хирургического лечения можно расценивать в качестве критерия излечения.
6. В модели подкожной имплантации у крыс материалы на основе децеллюляризованной артерии и гибридной матрицы обладали низкой иммуногенностью и длительным периодом резорбции (до 90 дней).
7. Установлено, что разработанные материалы на основе децеллюляризованной артерии и гибридной матрицы обладали оптимальным периодом деградации, в течение которого происходит успешное формирование ткани в месте имплантации. Так, через 60 дней имплантированный материал почти полностью деградировал, а внутренняя поверхность была полностью выстлана вновь сформированным уроэпителием.
8. Показано, что разработанный уникальный биоэквивалент на основе гибридной матрицы и сфероидов из клеток буккального эпителия позволяет формировать биосовместимые персонализированные импланты, которые способны восстанавливать морфо-функциональные свойства стенки и диаметр просвета мочеиспускательного канала.
9. Повторное возникновение стриктур демонстрирует необходимость проведения дополнительных испытаний для установления особенностей применения конструкторов и выявления оптимальных показаний для проведения операции с их использованием.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности хирургического лечения сужений мочеиспускательного канала необходимо владеть базовым набором хирургических техник для выполнения анастомотических, аугментационных, заместительных уретропластик, а также техникой промежностой перинеостомии.
2. При выполнении аугментационной уретропластики с использованием слизистой оболочки ротовой полости целесообразно предусмотреть вторую бригаду хирургов для параллельного забора трансплантата; хирург, производящий забор трансплантата должен владеть техниками забора слизистой оболочки щеки, языка и нижней губы.
3. В случае развития рецидива после оптической уретротомии в качестве последующего метода лечения не следует рассматривать очередную уретротомию; возможной альтернативой является аугментационная уретропластика с использованием слизистой оболочки ротовой полости.
4. При выполнении уретропластики в области луковичного отдела уретры целесообразно использовать хирургические техники позволяющие сохранить целостность бульбо-спонгиозных мышц как при дорсальном, так и при вентральном варианте ввиду важного функционального значения данных мышц для семяизвержения и профилактики постмикционного dribblinga.
5. Наиболее универсальной хирургической техникой, применяемой при уретропластиках, является дорсальная фиксация трансплантата ротовой полости к белочной оболочке кавернозных тел; эта техника используется как при аугментационной, так и при заместительной уретропластике (например, при восстановлении уретры с помощью кожно-фасциального лоскута крайней

плоти и буккального трансплантата). Фиксация трансплантата в пенильном отделе уретры может привести к дорсальному искривлению полового члена; для снижения риска искривления следует избегать чрезмерного затягивания фиксирующих трансплантат узлов.

6. При локализации стриктуры в пенильном отделе уретры и технической возможности выполнения аугментационных техник целесообразно использовать единый промежностный доступ по Kulkarni-Barbagli; такой подход позволит избежать косметических дефектов полового члена, а также, потенциально, снизит вероятность развития уретральных свищей в области пенильной уретры.

7. При тотальном повреждении передней уретры, которое требует длительных и сложных реконструктивных операций и невозможности выполнения данных пособий (соматические противопоказания, нежелание пациента), эффективной альтернативой постоянной цистостоме является промежностная уретростомия.

8. Для предотвращения нежелательных реакций со стороны организма пациента для изготовления эквивалентов стенки уретры рекомендуется использовать аутологичный материал для выделения клеток – слизистая оболочка щеки или согласно литературным данным мочевого пузыря пациента.

9. Используемые материалы для формирования биоэквивалента должны быть биосовместимыми, что должно быть установлено при выполнении тестов как в условиях *in vitro* (например, с помощью клеточных культур с использованием МТТ-теста и Live/Dead окрашивания), так и *in vivo* (например, при подкожной имплантации крысам).

10. Механические свойства используемых материалов и биоэквивалентов на их основе должны соответствовать таковым у замещаемой ткани и обеспечивать

возможность относительно легкой манипуляции с ними и функциональность импланта в месте дефекта на период заживления и формирования новой ткани.

11. При изготовлении биоэквивалентов рекомендуется заселять подложки 7-дневными сфероидными клетками буккального эпителия и культивировать конструкт в течение 7 дней для формирования многослойной эпителиальной выстилки.

12. Установление функциональности разработанных материалов и биоэквивалентов на их основе возможно только в случае ортотопической имплантации, например на модели у кроликов.

13. Применение биоэквивалентов требует перед операцией обязательного построения сети логистических звеньев, реализация которых желательна в пределах минимальных расстояний от места производства конструкта до места его применения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКМ – внеклеточный матрикс

ВОУТ – внутренняя оптическая уретротомия

ИЛ-8 – интерлейкин-8

ИЦХ – иммуноцитохимический

миРНК – малые интерферирующие РНК

МСК – мезенхимные стромальные клетки

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТРУЗИ – трансректальное ультразвуковое исследование

АРС – аллофикоцианин

bFGF – основной фактор роста фибробластов

CYR61 – обогащенный цистеином ангиогенный индуктор 61

EGF – эпидермальный фактор роста

ЕpCAM – молекула клеточной адгезии эпителия

FGF2 – фактор роста фибробластов 2

FITC – флуоресцеин изотиоцианат

HGF – фактор роста гепатоцитов

ICUD – International Consultation on Urological Diseases

NCAM – нейрональная молекула клеточной адгезии

NGF – фактора роста нервов

NSF – Национальный научный фонда США

SA β -gal – β -галактозидаза

PDGFB – гомодимерный полипептид цепи В

PE – фикоэритрин

PGA – полигликолевая кислота

PLA – полилактид (полимолочная кислота)

PLCL – поли-L-лактид-ко-ε-капролактон

PLGA – полилакто-ко-гликолид (полилакто-ко-гликолевая кислота)

PNIPAM – поли-N-изопропилакриламид

Q_{max} – максимальная скорость мочеиспускания

SIU – Société Internationale d'Urologie

TGF α – трансформирующий фактор роста α

TGF β 1 – трансформирующий фактор роста β 1

TIMP1 – тканевой ингибитор металлопротеиназы-1

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амосов, А. В. Ультразвуковые методы функциональной диагностики в урологической практике: специальность 14.00.40 "Урология" : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / А. В. Амосов ; Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. – Москва, 1999. . – 330 с.
2. Биорезорбируемые коллагеновые материалы в хирургии: 50 лет успеха / А. Л. Файзуллин, А. Б. Шехтер, Л. П. Истранов [и др.] // Сеченовский вестник. – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 59–70.
3. Возможности тканевой инженерии в лечении стриктур мочеиспускательного канала / Ю. Г. Аляев, А. З. Винаров, Н. А. Григорьев [и др.] // Сеченовский вестник. – 2012. – № 1 (7). – С. 16–20.
4. Возможности ультразвуковой диагностики стриктур мочеиспускательного канала / П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, А. В. Амосов [и др.] // Медицинский алфавит. Диагностическая радиология. – 2012. – Т. 4, № 21. – С. 57–59.
5. Глыбочко, П. В. Междисциплинарность в урологии. Исследовательский аспект / П. В. Глыбочко, Д. В. Бутнару // Урология. – 2019. – №. 4. – С. 2–6.
6. Заместительная уретропластика с использованием тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной сосудистой матрицы и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки: первый опыт / П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, В. Н. Николенко [и др.] // Урология. – 2015. – № 3. – С. 4–10.
7. Игнашин, Н. С. Соноуретрография в диагностике стриктур уретры / Н. С. Игнашин, А. В. Евсеев // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – № 3. – С. 40–42.
8. Использование клеточных технологий в терапии урологических заболеваний / П. В. Глыбочко, Ю. В. Олефир, Ю. Г. Аляев [и др.] // Урология. – 2016. – № 3. – С. 85–91.
9. Кинетика высвобождения метилурацила из биорезорбируемых полимерных

- носителей / Е. Н. Антонов, Д. В. Бутнару, А. З. Винаров [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т. 78, № 3. – С. 36–39.
10. Котов, С. В. Ятрогенные стриктуры уретры у мужчин: распространенность и основные этиологические факторы / С. В. Котов, М. К. Семенов // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. – Т. 11, № 3. – С. 152–157.
11. Крупинов, Г. Е. Эндолюминальная эхография верхних мочевых путей и уретры : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.40 / Г. Е. Крупинов. – Москва, 2002. – 170 с.
12. Микроструктурирование производных хитозана методами микромолдинга и двухфотонной полимеризации / П. С. Тимашев, К. Н. Бардакова, Н. В. Минаев [и др.] // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2016. – № 3–1. – С. 91–95.
13. Морфология коллагеновых матриц для тканевой инженерии (биосовместимость, биodeградация, тканевая реакция) / А. Б. Шехтер, А. Е. Гуллер, Л. П. Истранов [и др.] // Архив патологии. – 2015. – Т. 77, № 6. – С. 29–38.
14. Номенклатура биомедицинских клеточных продуктов / Ю. В. Олефир, В. А. Меркулов, Б. К. Романов [и др.] // Ремедиум. – 2017. – № 3. – С. 6–11.
15. Оперативное лечение протяженных стриктур уретры / Ф. Г. Колпациниди, П. С. Кызласов, А. Г. Мартов [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2019. – Т. 14, № 3. – С. 36–45.
16. Патоморфологические аспекты стриктур уретры различной этиологии / С. В. Котов, А. П. Ракша, Р. И. Гуспанов [и др.] // Урология. – 2021. – № 2. – С. 5–13.
17. Получение микроструктурированных материалов на основе сополимеров хитозана и D,L-лактида методом лазерно-индуцированной микростереолитографии / Т. С. Демина, К. Н. Бардакова, Е. А. Свидченко [и др.] // Химия высоких энергий. – 2016. – Т. 50, № 5. – С. 411–416.
18. Применение бесклеточного матрикса донорской артерии для пластики стриктур заднего отдела уретры / В. А. Брумберг, Т. А. Астрелина, А. А. Кажера [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2021. – Т. 14, № 1. –

С. 19–25.

19. Реконструкция уретры с помощью технологий тканевой инженерии / И. А. Васютин, А. В. Люндуп, А. З. Винаров [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2017. – Т. 72, № 1. – С. 17–25.

20. Росстат. Российский Статистический Ежегодник. 2018: Статистический Сборник / Росстат. – Москва, 2018. – 694 с.

21. Сложные стриктуры спонгиозной уретры с многоэтапным лечением: прогнозирование риска рецидива / М. И. Коган, В. П. Глухов, А. В. Ильяш [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2022. – Т. 15, № 1. – С. 136–141.

22. Пат. 2744301 Российская Федерация, МПК С12N 1/00 (2006.01). Способ получения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток из пупочного канатика новорожденного / А.А. Свистунов, Д. В. Бутнару, П. С. Тимашев [и др.]; заявитель ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова. – № 2020124246; заявл. 21.07.20 : опубл. 05.13.21, Бюл. №7. - 12 с.

23. Пат. 2779742 Российская Федерация, МПК С12N 5/02. Способ получения суспензии единичных жизнеспособных клеток из клеточных сфероидов / А. А. Свистунов, Д.В. Бутнару, П.С. Тимашев [и др.]; заявитель ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова. – № 2021123808; заявл. 10.08.21; опубл. 13.09.22, Бюл. № 26. - 11 с.

24. Сравнительный анализ пациентов со стриктурами спонгиозной уретры, подлежащих многоэтапной уретропластике или постоянной уретростомии / В. П. Глухов, М. И. Коган, А. В. Ильяш, В. А. Бугаенко // Урология. – 2022. – № 4. – С. 10–14.

25. Стриктуры передней уретры – современный подход к лечению / Д. В. Бутнару, Л. В. Марисов, Ю. Г. Аляев [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2012. – № 4 (96). – С. 115–121.

26. Структурные и механические особенности, биосовместимость, биодеградация и тканевая реакция на имплантацию коллагеновых скаффолдов для тканевой инженерии / А. В. Курков, А. Е. Гуллер, Л. П. Истранов [и др.] //

Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № S. – С. 132.

27. Тканевая инженерия мочевого пузыря с использованием бесклеточных матриц / П. В. Глыбочко, Ю. В. Олефир, Ю. Г. Аляев [и др.] // Урология. – 2017. – № 1. – С. 89–94.

28. Уретротомия тулиевым лазером и оптическая уретротомия при непротяженных стриктурах уретры / С. П. Данилов, Р. Б. Суханов, Е. А. Безруков [и др.] // Вопросы урологии и андрологии. – 2018. – Т. 6, № 2. – С. 40–44.

29. Факторы риска развития стриктур передней уретры после трансуретральной резекции предстательной железы / А. С. Греченков, П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев [и др.] // Урология. – 2015. – № 1. – С. 62–65.

30. Факторы риска развития стриктур уретры и/или контрактуры шейки мочевого пузыря после монополярной трансуретральной резекции гиперплазии предстательной железы / А. С. Греченков, П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев [и др.] // Вопросы урологии и андрологии. – 2017. – Т. 5, № 1. – С. 5–9.

31. Экспериментальное обоснование создания гибридной матрицы и тканеинженерной конструкции на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена с целью последующей заместительной уретропластики / П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, А. Б. Шехтер [и др.] // Урология. – 2015. – № 6. – С. 5–13.

32. Экспериментальное обоснование создания матрицы на основе децеллюляризированной сосудистой стенки с целью последующей заместительной уретропластики / П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, В. Н. Николенко [и др.] // Урология. – 2014. – № 6. – С. 41–46.

33. 2D/3D buccal epithelial cell self-assembling as a tool for cell phenotype maintenance and fabrication of multilayered epithelial linings in vitro / I. Zurina, A. Shpichka, I. Saburina [et al.] // Biomed. Mater. – 2018. – Vol. 13, № 5. – P. 054104.

34. 3-Dimensional Bioprinting for Tissue Engineering Applications / B. K. Gu,

- D. J. Choi, S. J. Park [et al.] // *Biomater. Res.* – 2016. – Vol. 20, № 1. – P. 1–8.
35. 3D bioprinting for engineering complex tissues / C. Mandrycky, Z. Wang, K. Kim, D. H. Kim // *Biotechnol. Adv.* – 2016. – Vol. 34, № 4. – P. 422–434.
36. 3D bioprinting for tissue and organ fabrication / Y. S. Zhang, K. Yue, J. Aleman [et al.] // *Ann. Biomed. Eng.* – 2017. – Vol. 45, № 1. – P. 148–163.
37. 3D bioprinting of urethra with PCL/PLCL blend and dual autologous cells in fibrin hydrogel: An in vitro evaluation of biomimetic mechanical property and cell growth environment / K. Zhang, Q. Fu, J. Yoo [et al.] // *Acta Biomater.* – 2017. – Vol. 50. – P. 154–164.
38. A comparison of sonourethrography and retrograde urethrography in evaluation of anterior urethral strictures / S. Choudhary, P. Singh, E. Sundar [et al.] // *Clin. Radiol.* – 2004. – Vol. 59, № 8. – P. 736–742.
39. A geographic analysis of male urethral stricture aetiology and location / D. M. Stein, D. J. Thum, G. Barbagli [et al.] // *BJU Int.* – 2013. – Vol. 112, № 6. – P. 830–834.
40. A preclinical study of cell-seeded tubularized scaffolds specially secreting LL37 for reconstruction of long urethral defects / Y. Li, J. Wu, F. A. N. Feng [et al.] // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol. 4301, № 20. – P. 4295–4301.
41. A smart bilayered scaffold supporting keratinocytes and muscle cells in micro/nano-scale for urethral reconstruction / X. G. Lv, C. Feng, Y. D. Liu [et al.] // *Theranostics.* – 2018. – Vol. 8, № 11. – P. 3153–3163.
42. Minced tissue in compressed collagen: a cell-containing biotransplant for single-staged reconstructive repair / C. I. Chamorro, S. Zeiai, G. Reinfeldt Engberg [et al.] // *J. Vis. Exp.* – 2016. – № 108. – P. 53061.
43. A tubular gelatin scaffold capable of the time-dependent controlled release of epidermal growth factor and mitomycin C / J. Zhu, F. Yang, F. He [et al.] // *Colloids Surf. B Biointerfaces.* – 2015. – Vol. 135. – P. 416–424.
44. Acellular bi-layer silk fibroin scaffolds support tissue regeneration in a rabbit model of onlay urethroplasty / Y. G. Chung, D. Tu, D. Franck [et al.] // *PLoS ONE.* –

2014. – Vol. 9, № 3. – P. 1–7.

45. Advanced properties of urine derived stem cells compared to adipose tissue derived stem cells in terms of cell proliferation, immune modulation and multi differentiation / H. S. Kang, S. H. Choi, B. S. Kim [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* – 2015. – Vol. 30, № 12. – P. 1764–1776.

46. All-trans retinoic acid directs urothelial specification of murine embryonic stem cells via GATA4/6 signaling mechanisms / J. R. Mauney, A. Ramachandran, R. N. Yu [et al.] // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5, № 7. – P. e11513.

47. Alpaslan, E. Anodized 20 nm diameter nanotubular titanium for improved bladder stent applications / E. Alpaslan, B. Ercan, T. J. Webster // *Int. J. Nanomedicine.* – 2011. – Vol. 6. – P. 219–225.

48. Amniotic membrane: From structure and functions to clinical applications / A. C. Mamede, M. J. Carvalho, A. M. Abrantes [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2012. – Vol. 349, № 2. – P. 447–458.

49. Angiogenic potential of spheroids from umbilical cord and adipose-derived multipotent mesenchymal stromal cells within fibrin gel / A. A. Gorkun, A. I. I. Shpichka, I. M. M. Zurina [et al.] // *Biomed. Mater.* – 2018. – Vol. 13, № 4. – P. 44108.

50. Anterior urethroplasty using a new tissue engineered oral mucosa graft: surgical techniques and outcomes / G. Barbagli, I. Akbarov, A. Heidenreich [et al.] // *J. Urol.* – 2018. – Vol. 200, № 2. – P. 448–456.

51. Antimicrobial barrier of an in vitro oral epithelial model / J. R. Kimball, W. Nittayananta, M. Klausner [et al.] // *Arch. Oral Biol.* – 2006. – Vol. 51, № 9. – P. 775–783.

52. Application of Wnt pathway inhibitor delivering scaffold for inhibiting fibrosis in urethra strictures: In vitro and in vivo study / K. Zhang, X. Guo, W. Zhao [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16, № 11. – P. 27659–27676.

53. Assessing in-hospital morbidity after urethroplasty using the European Association of Urology Quality Criteria for standardized reporting. / M. Bandini, G.

- Barbagli, R. Leni [et al.] // *World J. Urol.* – 2021. – Vol. 39, № 10. – P. 3921–3930.
54. Badylak, S. F. Immune response to biologic scaffold materials / S. F. Badylak, T. W. Gilbert // *Semin. Immunol.* – 2008. – Vol. 20, № 2. – P. 109–116.
55. Barbagli, G. Clinical experience with urethral reconstruction using tissue-engineered oral mucosa: a quiet revolution / G. Barbagli, M. Lazzeri // *Eur. Urol.* – 2015. – Vol. 68, № 6. – P. 917–918.
56. Barbagli, G. Dorsal onlay graft urethroplasty using penile skin or buccal mucosa in adult bulbourethral strictures / G. Barbagli, E. Palminteri, M. Rizzo // *J. Urol.* – 1998. – Vol. 160, № 4. – P. 1307–1309.
57. Becker, C. Stem cells for regeneration of urological structures / C. Becker, G. Jakse // *Eur. Urol.* – 2007. – Vol. 51, № 5. – P. 1217–1228.
58. Biocompatibility of different nanostructured TiO₂ scaffolds and their potential for urologic applications / R. Imani, M. Pazoki, D. Zupančič [et al.] // *Protoplasma.* – 2016. – Vol. 253, № 6. – P. 1439–1447.
59. Biomanufacturing seamless tubular and hollow collagen scaffolds with unique design features and biomechanical properties / A. Singh, D. Lee, N. Sopko [et al.] // *Adv. Health. Mater.* – 2017. – Vol. 6, № 5. – P. 1601136.
60. Bioprinting complex cartilaginous structures with clinically compliant biomaterials / M. Kesti, C. Eberhardt, G. Pagliccia [et al.] // *Adv. Funct. Mater.* – 2015. – Vol. 25, № 48. – P. 7406–7417.
61. Birder, L. A. Mechanisms of Disease: involvement of the urothelium in bladder dysfunction / L. A. Birder, W. C. De Groat // *Nat. Clin. Pract. Urol.* – 2011. – Vol. 4, № 1. – P. 46–54.
62. Bladder acellular matrix conjugated with basic fibroblast growth factor for bladder regeneration / W. Chen, C. Shi, X. Hou [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2014. – Vol. 20, № 15–16. – P. 2234–2242.
63. Browne, B. M. Use of alternative techniques and grafts in urethroplasty / B. M. Browne, A. J. Vanni // *Urol. Clin. North Am.* – 2017. – Vol. 44, № 1. – P. 127–140.

64. Buckley, J. Distal penile circular fasciocutaneous flap for complex anterior urethral strictures / J. Buckley, J. McAninch // *BJU Int.* – 2007. – Vol. 100, № 1. – P. 221–231.
65. Bulbar urethroplasty using buccal mucosa grafts placed on the ventral, dorsal or lateral surface of the urethra: Are results affected by the surgical technique? / G. Barbagli, E. Palminteri, G. Guazzoni [et al.] // *J. Urol.* – 2005. – Vol. 174, № 3. – P. 955–958.
66. Bulbar urethroplasty with dorsal onlay buccal mucosal graft and fibrin glue / G. Barbagli, S. De Stefani, M. C. Sighinolfi [et al.] // *Eur. Urol.* – 2006. – Vol. 50, № 3. – P. 467–474.
67. Cell-seeded acellular artery for reconstruction of long urethral defects in a canine model / H. Zhong, Y. Shen, D. Zhao [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 8854479.
68. Cell-seeded tubularized scaffolds for reconstruction of long urethral defects: A preclinical study / H. Orabi, T. Aboushwareb, Y. Zhang [et al.] // *Eur. Urol.* – 2013. – Vol. 63, № 3. – P. 531–538.
69. Cell fate and tissue remodelling in canine urethral repair using a BMSCs + EPCs amniotic patch / W. Zhang, X. Zhang, Y. Zhang [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2020. – Vol. 26, № 23–24. – P. e1403-e1412.
70. Characterizing and optimizing poly-L-lactide-co-1-caprolactone membranes for urothelial tissue engineering / R. Sartoneva, A. M. Haaparanta, T. Lahdes-Vasama [et al.] // *J. Royal Soc. Interface.* – 2012. – Vol. 9, № 77. – P. 3444–3454.
71. Co-delivery of VEGF and bFGF via a PLGA nanoparticle-modified BAM for effective contracture inhibition of regenerated bladder tissue in rabbits / X. Jiang, H. Lin, D. Jiang [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – № 6. – P. 20784.
72. Coculture of bladder urothelial and smooth muscle cells on small intestinal submucosa: Potential applications for tissue engineering technology / Y. Zhang, B. P. Kropp, P. Moore [et al.] // *J. Urol.* – 2000. – Vol. 164, № 3(Pt. 2). – P. 928–935.
73. Collagen cell carriers seeded with human urothelial cells for urethral

- reconstructive surgery: first results in a xenograft minipig model / S. Aufderklamm, M. Vaegler, A. Kelp [et al.] // *World J. Urol.* – 2017. – Vol. 35, № 7. – P. 1125–1132.
74. Composite scaffolds for the engineering of hollow organs and tissues / D. Eberli, L. F. Filho, A. Atala, J. J. Yoo // *Methods.* – 2009. – Vol. 47, № 2. – P. 109–115.
75. Conidi, A. Aptamers and their potential to selectively target aspects of EGF, Wnt/ β -catenin and TGF β -smad family signaling / A. Conidi, V. van den Berghe, D. Huylebroeck // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14, № 4. – P. 6690–6719.
76. Contemporary urethral stricture characteristics in the developed world / E. Palminteri, E. Berdondini, P. Verze [et al.] // *Urology.* – 2013. – Vol. 81, № 1. – P. 191–197.
77. Continued sustained release of VEGF by PLGA nanospheres modified BAMG stent for the anterior urethral reconstruction of rabbit / J. H. Wang, Y. M. Xu, Q. Fu [et al.] // *Asian Pac. J. Trop. Med.* – 2013. – Vol. 6, № 6. – P. 481–484.
78. Correlation between primary hypospadias repair and subsequent urethral strictures in a series of 408 adult patients / G. Barbagli, N. Fossati, A. Larcher [et al.] // *Eur. Urol. Focus.* – 2017. – Vol. 3, № 2–3. – P. 287–292.
79. Cotta, B. H. Endoscopic treatment of urethral stenosis / B. H. Cotta, J. C. Buckley // *Urol. Clin. North Am.* – 2017. – Vol. 44, № 1. – P. 19–25.
80. Creating perfused functional vascular channels using 3D bio-printing technology / V. K. Lee, D. Y. Kim, H. Ngo [et al.] // *Biomaterials.* – 2014. – Vol. 35, № 28. – P. 8092–8102.
81. Crosstalk between TGF- β 1 and CXCR3 signaling during urethral fibrosis / H. Xie, C. Feng, Q. Fu [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2014. – Vol. 394, № 1–2. – P. 283–290.
82. Decrease in culture temperature releases monolayer endothelial cell sheets together with deposited fibronectin matrix from temperature-responsive culture surfaces / A. Kushida, M. Yamato, C. Konno [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – Vol. 45, № 4. – P. 355–362.

83. Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting / V. Lee, G. Singh, J. P. Trasatti [et al.] // *Tissue Eng. Part C.* – 2014. – Vol. 20, № 6. – P. 473–484.
84. Designing a multifaceted bio-interface nanofiber tissue-engineered tubular scaffold graft to promote neo-vascularization for urethral regeneration / Y. Niu, G. Liu, M. Fu [et al.] // *J. Mater. Chem. B.* – 2020. – Vol. 8. – P. 1748–1758.
85. Development and morphological assessment of a composite scaffold for replacement of a urethral defect in an experiment / D. F. Kantimerov, A. B. Shekhter, E. V. Istranova [et al.] // *Urol. Androl.* – 2016. – Vol. 4, № 4. – P. 28–36.
86. Development of a porcine bladder acellular matrix with well-preserved extracellular bioactive factors for tissue engineering / B. Yang, Y. Zhang, L. Zhou [et al.] // *Tissue Eng. Part C.* – 2010. – Vol. 16, № 5. – P. 1201–1211.
87. Different types of scaffolds for reconstruction of the urinary tract by tissue engineering / B. Brehmer, D. Rohrmann, C. Becker [et al.] // *Urol. Int.* – 2007. – Vol. 78, № 1. – P. 23–29.
88. Differentially expressed gene networks in cultured smooth muscle cells from normal and neuropathic bladder / M. G. Dozmorov, B. P. Kropp, R. E. Hurst [et al.] // *J. Smooth Muscle Res.* – 2007. – Vol. 43, № 2. – P. 55–72.
89. Differentiate into urothelium and smooth muscle cells from adipose tissue-derived stem cells for ureter reconstruction in a rabbit model / Z. Zhao, H. Yu, C. Fan [et al.] // *Am. J. Trans. Res.* – 2016. – Vol. 8, № 9. – P. 3757–3768.
90. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into bladder cells: Potential for urological tissue engineering / H. Tian, S. Bharadwaj, Y. Liu [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2010. – Vol. 16, № 5. – P. 1769–1779.
91. Direct vision internal urethrotomy for short anterior urethral strictures and beyond: success rates, predictors of treatment failure, and recurrence management / L. A. Kluth, L. Ernst, M. W. Vetterlein [et al.] // *Urology.* – 2017. – Vol. 106. – P. 210–215.

92. Directed differentiation of bone marrow derived mesenchymal stem cells into bladder urothelium / G. Anumanthan, J. H. Makari, L. Honea [et al.] // *J. Urol.* – 2008. – Vol. 180, № 4. – P. 1778–1783.
93. Directed differentiation of embryonic stem cells into bladder tissue / S. Oottamasathien, Y. Q. Wang, K. Williams [et al.] // *Devel. Biol.* – 2007. – Vol. 304, № 2. – P. 556–566.
94. Dorsal free graft urethroplasty / G. Barbagli, C. Selli, A. Tosto, E. Palminteri // *J. Urol.* – 1996. – Vol. 155, № 1. – P. 123–126.
95. Dorsal free graft urethroplasty for urethral stricture by ventral sagittal urethrotomy approach / H. S. Asopa, M. Garg, G. G. Singhal [et al.] // *Urology.* – 2001. – Vol. 58, № 5. – P. 657–659.
96. Eaton, J. Imaging of the urethra: current status / J. Eaton, J. Richenberg // *Imaging.* – 2005. – Vol. 17, № 2. – P. 139–149.
97. Economic analysis and review of the literature on implant-based breast reconstruction with and without the use of the acellular dermal matrix / J. Bank, N. A. Phillips, J. E. Park, D. H. Song // *Aesthetic Plast. Surg.* – 2013. – Vol. 37, № 6. – P. 1194–1201.
98. Effective reconstruction of functional urethra promoted with ICG-001 delivery using Core-Shell Collagen / Poly (Lactide-co- caprolactone) [P(LLA-CL)] Nanoyarn-Based Scaffold: a study in dog model / K. Zhang, X. Fang, J. Zhu [et al.] // *Front. Bioeng. Biotech.* – 2020. – Vol. 8. – P. 774.
99. Encapsulated three-dimensional bioprinted structure seeded with urothelial cells: a new construction technique for tissue-engineered urinary tract patch / Y. Jin, C. Shi, Y. Wu [et al.] // *Chinese Med. J.* – 2020. – Vol. 133, № 4. – P. 424–434.
100. Engineered acellular collagen scaffold for endogenous cell guidance, a novel approach in urethral regeneration / K. Pinnagoda, H. M. Larsson, G. Vythilingam [et al.] // *Acta Biomater.* – 2016. – Vol. 43. – P. 208–217.
101. Engineering of pre-vascularized urethral patch with muscle flaps and hypoxia-

activated hUCMSCs improves its therapeutic outcome / D. Sun, Y. Yang, Z. Wei [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2014. – Vol. 18, № 3. – P. 434–443.

102. Epithelial-differentiated adipose-derived stem cells seeded bladder acellular matrix grafts for urethral reconstruction: An animal model / H. Li, Y. Xu, H. Xie [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2014. – Vol. 20, № 3–4. – P. 774–784.

103. Erickson, B. A. Single-stage segmental urethral replacement using combined ventral onlay fasciocutaneous flap with dorsal onlay buccal grafting for long segment strictures / B. A. Erickson, B. N. Breyer, J. W. McAninch // *BJU Int.* – 2012. – Vol. 109, № 9. – P. 1392–1396.

104. Evaluation of stretched electrospun silk fibroin matrices seeded with urothelial cells for urethra reconstruction / M. Xie, L. Song, J. Wang [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2013. – Vol. 184, № 2. – P. 774–781.

105. Ex vivo expression of angiogenic growth factors and their receptors in human penile cavernosal cells / M. Rajasekaran, A. Kasyan, W. Allilain, M. Monga // *J. Androl.* – 2003. – Vol. 24, № 1. – P. 85–90.

106. Fabrication of tissue-engineered bionic urethra using cell sheet technology and labeling by ultrasmall superparamagnetic iron oxide for full-thickness urethral reconstruction / S. Zhou, R. Yang, Q. Zou [et al.] // *Theranostics.* – 2017. – Vol. 7, № 9. – P. 2509–2523.

107. Filippo, R. E. De. Urethral replacement using cell seeded tubularized collagen matrices / R. E. De Filippo, J. J. Yoo, A. Atala // *J. Urol.* – 2002. – Vol. 168, № 4 II. – P. 1789–1793.

108. Fitzgerald, J. F. Biologic versus synthetic mesh reinforcement: What are the pros and cons? / J. F. Fitzgerald, A. S. Kumar // *Clin. Colon Rectal Surg.* – 2014. – Vol. 27, № 4. – P. 140–148.

109. Focus on internal urethrotomy as primary treatment for untreated bulbar urethral strictures: results from a multivariable analysis / G. Barbagli, N. Fossati, F. Montorsi [et al.] // *Eur. Urol. Focus.* – 2020. – Vol. 6, № 1. – P. 164–169.

110. Fresh and cultured buccal cells as a source of mRNA and protein for molecular

- analysis / A. Michalczyk, G. Varigos, L. Smith, M. L. Ackland // *BioTechniques*. – 2004. – Vol. 37, № 2. – P. 262–269.
111. From aggregates to porous three-dimensional scaffolds through a mechanochemical approach to design photosensitive chitosan derivatives / K. N. Bardakova, T. A. Akopova, A. V. Kurkov [et al.] // *Marine Drugs*. – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 48.
112. Frontiers in urethra regeneration: current state and future perspective / I. Vasyutin, D. Butnaru, A. Lyundup [et al.] // *Biomed. Mater.* – 2021. – Vol. 16, № 4. – P. 042004.
113. Garg, N. Road traffic injuries in India: A review of the literature / N. Garg, A. A. Hyder // *Scand. J. Pub. Health*. – 2006. – Vol. 34, № 1. – P. 100–109.
114. Generating elastin-rich small intestinal submucosa-based smooth muscle constructs utilizing exogenous growth factors and cyclic mechanical stimulation / R. L. Heise, J. Ivanova, A. Parekh, M. S. Sacks // *Tissue Eng. Part A*. – 2009. – Vol. 15, № 12. – P. 3951–3960.
115. Gilbert, T. W. Quantification of DNA in biologic scaffold materials / T. W. Gilbert, J. M. Freund, S. F. Badylak // *J. Surg. Res.* – 2009. – Vol. 152, № 1. – P. 135–139.
116. Growth, differentiation and senescence of normal human urothelium in an organ-like culture / A. Daher, W. I. De Boer, M. A. Le Frère-Belda [et al.] // *Eur. Urol.* – 2004. – Vol. 45, № 6. – P. 799–805.
117. Guralnick, M. L. The augmented anastomotic urethroplasty: indications and outcome in 29 patients / M. L. Guralnick, G. D. Webster // *J. Urol.* – 2001. – Vol. 165, № 5. – P. 1496–1501.
118. Hendijani, F. Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues / F. Hendijani // *Cell Prolif.* – 2017. – Vol. 50, № 2. – P. 1–14.
119. Huang, H. J. Feasibility of constructing tissue-engineered corpus cavernosus

- urethra with rabbit bone marrow mesenchymal stem cells / H. J. Huang, J. M. Zhang, H. H. Chu // *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu Yu Linchuang Kangfu*. – 2007. – Vol. 11. – P. 2665–2668.
120. Human urine-derived stem cells seeded in a modified 3D porous small intestinal submucosa scaffold for urethral tissue engineering / S. Wu, Y. Liu, S. Bharadwaj [et al.] // *Biomaterials*. – 2011. – Vol. 32, № 5. – P. 1317–1326.
121. Hunter, W. Use of free grafts in urethral stricture reconstruction / W. Hunter, M. J. W. // *J. Urol.* – 1996. – Vol. 155, № 6. – P. 1912–1915.
122. Hypoxia-preconditioned adipose-derived stem cells combined with scaffold promote urethral reconstruction by upregulation of angiogenesis and glycolysis / X. Wan, M. Xie, H. Xu [et al.] // *Stem Cell Res Therapy*. – 2020. – Vol. 11. – P. 535.
123. Imaging of urethral disease: A pictorial review / A. Kawashima, C. M. Sandler, N. F. Wasserman [et al.] // *RadioGraphics*. – 2004. – Vol. 24, № suppl.1. – P. S195–S216.
124. In-vivo performance of high-density collagen gel tubes for urethral regeneration in a rabbit model / L. A. Micol, L. F. Arenas da Silva, P. J. Geutjes [et al.] // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33, № 30. – P. 7447–7455.
125. In vitro investigations of tissue-engineered multilayered urothelium established from bladder washings / U. Nagele, S. Maurer, G. Feil [et al.] // *Eur. Urol.* – 2008. – Vol. 54, № 6. – P. 1414–1422.
126. In vivo biocompatibility and degradation behavior of elastic poly(L-lactide-co- ϵ -caprolactone) scaffolds / S. I. Jeong, B. S. Kim, S. W. Kang [et al.] // *Biomaterials*. – 2004. – Vol. 25, № 28. – P. 5939–5946.
127. Incidence, causes, and complications of urethral stricture disease / M. Lazzeri, S. Sansalone, G. Guazzoni, G. Barbagli // *Eur. Urol.* – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. 2–6.
128. Jerman, U. D. Amniotic membrane scaffolds enable the development of tissue-engineered urothelium with molecular and ultrastructural properties comparable to that of native urothelium / U. D. Jerman, P. Veranič, M. E. Kreft // *Tissue Eng. Part C*. –

2014. – Vol. 20, № 4. – P. 317–327.

129. Johnson, S. Regenology: Time for a New Specialty? / S. Johnson, A. Atala // *Stem Cells Trans. Med.* – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 4–6.

130. Kassaby, A. El. Randomized Comparative Study Between Buccal Mucosal and Acellular Bladder Matrix Grafts in Complex Anterior Urethral Strictures / A. El Kassaby, T. AbouShwareb, A. Atala // *J. Urol.* – 2008. – Vol. 179, № 4. – P. 1432–1436.

131. KRT14 marks a subpopulation of bladder basal cells with pivotal role in regeneration and tumorigenesis / G. Papafotiou, V. Paraskevopoulou, E. Vasilaki [et al.] // *Nature Comm.* – 2016. – Vol. 7. – P. 11914.

132. Langer, R. Tissue engineering / R. Langer, J. P. Vacanti // *Science.* – 1993. – Vol. 260, № 5110. – P. 920–926.

133. LIFT-bioprinting, is it worth it? / A. A. Antoshin, S. N. Churbanov, N. V. Minaev [et al.]. // *Bioprinting.* – 2019. – Vol. 15. – P. e00052.

134. Liu, J. S. Risk factors and timing of early stricture recurrence after urethroplasty / J. S. Liu, C. Dong, C. M. Gonzalez // *Urology.* – 2016. – Vol. 95. – P. 202–207.

135. Long-term follow-up after tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty / N. I. Osman, J. M. Patterson, S. Macneil, C. R. Chapple // *Eur. Urol.* – 2014. – Vol. 66, № 4. – P. 790–791.

136. Long-term follow up of bulbar end-to-end anastomosis: A retrospective analysis of 153 patients in a single center experience / G. Barbagli, M. De Angelis, G. Romano, M. Lazzeri // *J. Urol.* – 2007. – Vol. 178, № 6. – P. 2470–2473.

137. Long-term follow up of bulbar end-to-end anastomosis: A retrospective analysis of 153 patients in a single center experience / G. Barbagli, M. De Angelis, G. Romano [et al.] // *J. Urol.* – 2007. – Vol. 178, № 6. – P. 2470–2473.

138. Long-term study of male rabbit urethral mucosa reconstruction using epidermal cell / Q. Fu, C. L. Deng, X. F. Song, Y. M. Xu // *Asian J. Androl.* – 2008. – Vol. 10, № 5. – P. 719–722.

139. Lumen, N. Urethral reconstruction using buccal mucosa or penile skin grafts: Systematic review and meta-analysis / N. Lumen, W. Oosterlinck, P. Hoebeke // *Urol. Int.* – 2012. – Vol. 89, № 4. – P. 387–394.
140. Macadam, S. A. Acellular dermal matrices: economic considerations in reconstructive and aesthetic breast surgery / S. A. Macadam, P. A. Lennox // *Clin. Plast. Surg.* – 2012. – Vol. 39, № 2. – P. 187–216.
141. Male urethral strictures: A national survey among urologists in Italy / E. Palminteri, S. Maruccia, E. Berdondini [et al.] // *Urology.* – 2014. – Vol. 83, № 2. – P. 477–484.
142. Management of adult anterior urethral stricture disease: Nationwide survey among urologists in the Netherlands / M. A. Van Leeuwen, J. J. Brandenburg, E. T. Kok [et al.] // *Eur. Urol.* – 2011. – Vol. 60, № 1. – P. 159–166.
143. Management of anterior urethral strictures in adults: A survey of contemporary practice in Germany / C. M. Rosenbaum, C. P. Reiss, H. Borgmann [et al.] // *Urol. Int.* – 2017. – Vol. 99, № 1. – P. 43–50.
144. Mangera, A. A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures / A. Mangera, J. M. Patterson, C. R. Chapple // *Eur. Urol.* – 2011. – Vol. 59, № 5. – P. 797–814.
145. McAninch, J. Penile circular fasciocutaneous skin flap in 1-stage reconstruction of complex anterior urethral strictures / J. McAninch, A. Morey // *J. Urol.* – 1998. – Vol. 159, № 4. – P. 1209–1213.
146. Mechanical properties of cell sheets and spheroids: the link between single cells and complex tissues. / Y. M. Efremov, I. M. Zurina, V. S. Presniakova [et al.] // *Biophys. Reviews.* – 2021. – Vol. 13, № 4. – P. 541–561.
147. Memokath Stent Failure in Recurrent Bulbar Urethral Strictures: Results From an Investigative Pilot Stage 2A Study / G. Barbagli, C. Rimondi, S. Balò [et al.] // *Urology.* – 2017. – Vol. 107. – P. 246–250.

148. Morey, A. F. When and how to use buccal mucosal grafts in adult bulbar urethroplasty / A. F. Morey, J. W. McAninch // *Urology*. – 1996. – Vol. 48, № 2. – P. 194–198.
149. Morrison, S. J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer / S. J. Morrison, J. Kimble // *Nature*. – 2006. – Vol. 441, № 7097. – P. 1068–1074.
150. Mp81-13 design of a trial for hypospadias failure treatment, a regenerative medicine approach / G. Pellegrini, V. Sceberas, M. Lazzeri [et al.] // *J. Urol.* – 2018. – Vol. 199, № 4S. – P. e1101.
151. Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells: Potential for therapeutic applications in urology / S. Bharadwaj, G. Liu, Y. Shi [et al.] // *Stem Cells*. – 2013. – Vol. 31, № 9. – P. 1840–1856.
152. Mundy, A. R. Anastomotic urethroplasty / A. R. Mundy // *BJU Int.* – 2005. – Vol. 96, № 6. – P. 921–944.
153. Muscular tubes of urethra engineered from adipose-derived stem cells and polyglycolic acid mesh in a bioreactor / Y. Wang, Q. Fu, R. Y. Zhao, C. L. Deng // *Biotechnol. Letters*. – 2014. – Vol. 36, № 9. – P. 1909–1916.
154. Nerve growth factor combined with vascular endothelial growth factor enhances regeneration of bladder acellular matrix graft in spinal cord injury-induced neurogenic rat bladder / N. Kikuno, K. Kawamoto, H. Hirata [et al.] // *BJU Int.* – 2009. – Vol. 103, № 10. – P. 1424–1428.
155. New 2-stage buccal mucosal graft urethroplasty / E. Palminteri, M. Lazzeri, G. Guazzoni [et al.] // *J. Urol.* – 2002. – Vol. 167. – P. 130–132.
156. New insights into the pathogenesis and treatment of peritoneal fibrosis: A potential role of Wnt/ β -catenin induced epithelial to mesenchymal transition and stem cells for therapy / F. Zhang, H. Liu, F. Liu [et al.] // *Med. Hypoth.* – 2013. – Vol. 81, № 1. – P. 97–100.
157. One-sided anterior urethroplasty: A new dorsal onlay graft technique / S. Kulkarni,

- G. Barbagli, S. Sansalone, M. Lazzeri // *BJU Int.* – 2009. – Vol. 104, № 8. – P. 1150–1155.
158. One-stage circumferential buccal mucosa graft urethroplasty for bulbous stricture repair / G. Barbagli, E. Palminteri, M. Lazzeri, G. Guazzoni // *Urology.* – 2003. – Vol. 61, № 2. – P. 452–455.
159. One-stage penile urethroplasty using oral mucosal graft and glue / G. Barbagli, G. Pellegrini, F. Corradini [et al.] // *Eur. Urol.* – 2016. – Vol. 70, № 6. – P. 1069–1075.
160. One-stage repair of long bulbar urethral strictures using augmented russell dorsal strip anastomosis: Outcome of 234 cases / A. W. El-Kassaby, T. M. El-Zayat, S. Azazy, T. Osman // *Eur. Urol.* – 2008. – Vol. 53, № 2. – P. 420–424.
161. Orlandini, S. Z. Ultrastructure of human male urethra / S. Z. Orlandini, G. E. Orlandini // *Sys. Biol. Reprod. Med.* – 1989. – Vol. 23, № 1. – P. 51–59.
162. Pansadoro, V. Internal urethrotomy in the management of anterior urethral strictures: long-term followup / V. Pansadoro, P. Emiliozzi // *J. Urol.* – 1996. – Vol. 156, № 1. – P. 73–75.
163. Patient-reported outcomes for typical single cheek harvesting vs atypical lingual, labial or bilateral cheeks harvesting: a single-center analysis of more than 800 patients. / G. Barbagli, M. Bandini, S. Balò [et al.] // *World J. Urol.* – 2021. – Vol. 39, № 6. – P. 2089–2097.
164. Penile urethra replacement with autologous cell-seeded tubularized collagen matrices / R. De Filippo, B. Kornitzer, J. Yoo, A. Atala // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2012. – Vol. 9. – P. 157–264.
165. Penile urethroplasty using Orandi's dorsal skin flap: a new technique / G. Barbagli, P. M. Joshi, S. B. Kulkarni [et al.] // *BJU Int.* – 2019. – Vol. 124, № 5. – P. 892–896.
166. Peritoneal cavity as bioreactor to grow autologous tubular urethral grafts in a rabbit model / G. L. Gu, Y. J. Zhu, S. J. Xia [et al.] // *World J. Urol.* – 2010. – Vol. 28, № 2. – P. 227–232.

167. Porcine small intestine submucosa (SIS) is not an acellular collagenous matrix and contains porcine DNA: Possible implications in human implantation / M. H. Zheng, J. Chen, Y. Kirilak [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. Part B.* – 2005. – Vol. 73, № 1. – P. 61–67.
168. Pore size and LbL chitosan coating influence mesenchymal stem cell in vitro fibrosis and biomineralization in 3D porous poly(epsilon-caprolactone) scaffolds / N. G. Mehr, X. Li, G. Chen [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* – 2015. – Vol. 103, № 7. – P. 2449–2459.
169. Prepubertal follow-up after hypospadias repair with autologous in vitro cultured urothelial cells / M. Fossum, J. Skikuniene, A. Orrego, A. Nordenskjöld // *Acta Paediatrica.* – 2012. – Vol. 101, № 7. – P. 755–760.
170. Prognostic impact of the expression of putative cancer stem cell markers CD133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in colorectal cancer / A. Lugli, G. Iezzi, I. Hostettler [et al.] // *British J. Cancer.* – 2010. – Vol. 103, № 3. – P. 382–390.
171. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering / H. Niknejad, H. Peirovi, M. Jorjani [et al.] // *Eur. Cells Mater.* – 2008. – Vol. 15. – P. 88–99.
172. Reconstruction of penile urethra with the 3-dimensional porous bladder acellular matrix in a rabbit model / J. W. Huang, M. K. Xie, Y. Zhang [et al.] // *Urology.* – 2014. – Vol. 84, № 6. – P. 1499–1505.
173. Reconstruction of three-dimensional neourethra using lingual keratinocytes and corporal smooth muscle cells seeded acellular corporal spongiosum / C. Feng, Y. M. Xu, Q. Fu [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2011. – Vol. 17, № 23–24. – P. 3011–3019.
174. Regional differences in the extracellular matrix of the human spongy urethra as evidenced by the composition of glycosaminoglycans / E. A. Da Silva, F. J. B. Sampaio, V. Ortiz, L. E. M. Cardoso // *J. Urol.* – 2002. – Vol. 167, № 5. – P. 2183–2187.

175. Repair of urethral defects with polylactid acid fibrous membrane seeded with adipose-derived stem cells in a rabbit model / D. J. Wang, M. Y. Li, W. T. Huang [et al.] // *Connect. Tissue Res.* – 2015. – Vol. 56, № 6. – P. 434–439.
176. Repeat excision and primary anastomotic urethroplasty for salvage of recurrent bulbar urethral stricture / J. A. Siegel, A. Panda, T. J. Tausch [et al.] // *J. Urol.* – 2015. – Vol. 194, № 5. – P. 1316–1322.
177. Results of use of tissue-engineered autologous oral mucosa graft for urethral reconstruction: A multicenter, prospective, observational trial / G. Ram-Liebig, G. Barbagli, A. Heidenreich [et al.] // *EBioMedicine.* – 2017. – Vol. 23. – P. 185–192.
178. Risk calculator for prediction of treatment-related urethroplasty failure in patients with penile urethral strictures / G. Barbagli, M. Bandini, S. Balò [et al.] // *Int. Urol. Nephrol.* – 2020. – Vol. 52, № 6. – P. 1079–1085.
179. Safety and mid-term surgical results of anterior urethroplasty with the tissue-engineered oral mucosa graft MukoCell®: A single-center experience / L. Karapanos, I. Akbarov, V. Zugor [et al.] // *Int. J. Urol.* – 2021. – Vol. 28, № 9. – P. 936–942.
180. Santucci, R. A. Male Urethral Stricture Disease / R. A. Santucci, G. F. Joyce, M. Wise // *J. Urol.* – 2007. – Vol. 177, № 5. – P. 1667–1674.
181. Scaffold and scaffold-free self-assembled systems in regenerative medicine / D. Thomas, D. Gaspar, A. Soroushanova [et al.] // *Biotechnol. Bioeng.* – 2016. – Vol. 113, № 6. – P. 1155–1163.
182. Secretome From Mesenchymal Stem Cells Induces Angiogenesis Via Cyr61 / R. Estrada, N. Li, H. Sarojini [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 2009. – Vol. 219, № 3. – P. 563–571.
183. SiRNA knockdown of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in keloid fibroblasts leads to degradation of collagen type I / M. Aoki, K. Miyake, R. Ogawa [et al.] // *J. Invest. Dermat.* – 2014. – Vol. 134, № 3. – P. 818–826.
184. SIU/ICUD consultation on urethral strictures: Dilation, internal urethrotomy, and

stenting of male anterior urethral strictures / J. C. Buckley, C. Heyns, P. Gilling, J. Carney // *Urology*. – 2014. – Vol. 83, № 3 SUPPL. – P. S18-S22.

185. SIU/ICUD consultation on urethral strictures: Epidemiology, etiology, anatomy, and nomenclature of urethral stenoses, strictures, and pelvic fracture urethral disruption injuries / J. M. Latini, J. W. McAninch, S. B. Brandes [et al.] // *Urology*. – 2014. – Vol. 83, № 3 Suppl. – P. S1-S7.

186. Skalak, R. Tissue engineering: proceedings of a workshop, held at Granlibakken, Lake Tahoe, California, February 26–29, 1988 / R. Skalak, F. C. Fox // *UCLA Symp. Mol. Cell. Biol – Liss*, 1988. – Vol. 107. – P. 343.

187. Skin and oral fibroblasts exhibit phenotypic differences in extracellular matrix reorganization and matrix metalloproteinase activity / P. Stephens, K. J. Davies, N. Occleston [et al.] // *British J. Dermat.* – 2001. – Vol. 144, № 2. – P. 229–237.

188. Specific characteristics of urethral strictures in a developing country (Brazil) / R. H. Astolfi, B. R. Lebani, R. K. Krebs [et al.] // *World J. Urol.* – 2019. – Vol. 37, № 4. – P. 661–666.

189. Stem cell manipulation, gene therapy and the risk of cancer stem cell emergence / F. Clément, E. Grockowiak, F. Zylbersztejn [et al.] // *Stem Cell Invest.* – 2017. – Vol. 4, № 7. – P. 1–15.

190. Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications / Z. Dai, J. Ronholm, Y. Tian [et al.] // *J. Tissue Eng.* – 2016. – Vol. 7. – P. 1–13.

191. Stretchable collagen-coated polyurethane-urea hydrogel seeded with bladder smooth muscle cells for urethral defect repair in a rabbit model / C. Wang, C. Chen, M. Guo [et al.] // *J. Mater. Sci.* – 2019. – Vol. 30, № 12. – P. 135.

192. Surface micromorphology of cross-linked tetrafunctional polylactide scaffolds inducing vessel growth and bone formation. / D. Kuznetsova, A. Ageykin, A. Koroleva [et al.] // *Biofabrication*. – 2017. – Vol. 9, № 2. – P. 25009.

193. Surgical treatment of bulbar urethral strictures: tips and tricks / G. Barbagli,

- M. Bandini, S. Balò [et al.] // *Int. Braz. J. Urol.* – 2020. – Vol. 46, № 4. – P. 511–518.
194. The application of sheet technology in cartilage tissue engineering / Y. Ge, Y. Y. Gong, Z. Xu [et al.] // *Tissue Eng. Part B.* – 2015. – Vol. 22, № 2. – P. 114–124.
195. The differentiation of human adipose-derived stem cells towards a urothelium-like phenotype in vitro and the dynamic temporal changes of related cytokines by both paracrine and autocrine signal regulation / M. Zhang, M. X. Xu, Z. Zhou [et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol. 9, № 4. – P. e95583.
196. The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis / H. J. Sung, C. Meredith, C. Johnson, Z. S. Galis // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25, № 26. – P. 5735–5742.
197. The first oral mucosal graft urethroplasty was carried out in the 19th century: The pioneering experience of Kirill Sapezhko (1857–1928) / I. Korneyev, D. Ilyin, D. Schultheiss, C. Chapple // *Eur. Urol.* – 2012. – Vol. 62, № 4. – P. 624–627.
198. The growth and structure of human oral keratinocytes in culture / D. Arenholt-Bindslev, A. Jepsen, D. K. MacCallum, J. H. Lillie // *J. Invest. Dermat.* – 1987. – Vol. 88, № 3. – P. 314–319.
199. The influence of the scaffold design on the distribution of adhering cells after perfusion cell seeding / F. P. W. Melchels, B. Tonnarelli, A. L. Olivares [et al.] // *Biomaterials.* – 2011. – Vol. 32, № 11. – P. 2878–2884.
200. The morbidity of urethral stricture disease among male Medicare beneficiaries / J. T. Anger, R. Santucci, A. L. Grossberg, C. S. Saigal // *BMC Urol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 2–5.
201. The potential role of tissue-engineered urethral substitution: clinical and preclinical studies / A. Atala, M. Danilevskiy, A. Lyundup [et al.] // *J. Tissue Eng. Reg. Med.* – 2017. – Vol. 11, № 1. – P. 3–19.
202. The Wnt/ β -catenin pathway in human fibrotic-like diseases and its eligibility as a therapeutic target / M. Enzo, M. Rastrelli, C. Rossi [et al.] // *Mol. Cell. Ther.* – 2015. – Vol. 3, № 1. – P. 1.
203. TIMP-1 induces α -smooth muscle actin in fibroblasts to promote urethral scar

formation / Y. Sa, C. Li, H. Li, H. Guo // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2015. – Vol. 35, № 6. – P. 2233–2243.

204. Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: An observational study / A. Raya-Rivera, D. R. Esquiliano, J. J. Yoo [et al.] // *Lancet.* – 2011. – Vol. 377, № 9772. – P. 1175–1182.

205. Tissue-engineered buccal mucosa for substitution urethroplasty / S. Bhargava, C. R. Chapple, A. J. Bullock [et al.] // *J. Urol.* – 2004. – Vol. 93, № 6. – P. 807–811.

206. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes / S. Bhargava, J. M. Patterson, R. D. Inman [et al.] // *Eur. Urol.* – 2008. – Vol. 53, № 6. – P. 1263–1271.

207. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty. Outcome of our first 10 patients / O. Engel, G. Ram-Liebig, P. Reiß [et al.] // *J. Urol.* – 2012. – Vol. 187, № 4S. – P. e6.

208. Tissue-engineered buccal mucosa using silk fibroin matrices for urethral reconstruction in a canine model / M. Xie, Y. Xu, L. Song [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2014. – Vol. 188, № 1. – P. 1–7.

209. Tissue-engineered PLLA / gelatine nano fibrous scaffold promoting the phenotypic expression of epithelial and smooth muscle cells for urethral reconstruction / G. Liu, M. Fu, F. Li [et al.] // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2020. – Vol. 111. – P. 110810.

210. Tissue engineering of the urethra: A systematic review and meta-analysis of preclinical and clinical studies / L. R. M. Versteegden, P. K. J. D. de Jonge, J. IntHout [et al.] // *Eur. Urol.* – 2017. – Vol. 72, № 4. – P. 594–606.

211. Tissue engineering of urinary bladder and urethra: Advances from bench to patients / H. Orabi, S. Bouhout, A. Morissette [et al.] // *Sci. World J.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 154564.

212. Tissue engineering potential of urothelial cells from diseased bladders / R. Subramaniam, J. Hinley, J. Stahlschmidt, J. Southgate // *J. Urol.* – 2011. – Vol. 186, № 5. – P. 2014–2020.

213. Tissue engineering using a combined cell sheet technology and scaffolding

approach / I. M. Zurina, V. S. Presniakova, D. V. Butnaru [et al.] // *Acta Biomater.* – 2020. – Vol. 113. – P. 63–83.

214. Tonkin, J. B. Management of distal anterior urethral strictures / J. B. Tonkin, G. H. Jordan // *Nat. Rev. Urol.* – 2009. – Vol. 6, № 10. – P. 533–538.

215. Treatments of 1242 bulbar urethral strictures: multivariable statistical analysis of results / G. Barbagli, F. Montorsi, S. Balò [et al.] // *World J. Urol.* – 2019. – Vol. 37, № 6. – P. 1165–1171.

216. Trends in urethral stricture disease etiology and urethroplasty technique from a multi-institutional surgical outcomes / K. J. Cotter, A. E. Hahn, B. B. Voelzke [et al.] // *Urology.* – 2019. – Vol. 130. – P. 167–174.

217. Tubularized urethral replacement using tissue-engineered peritoneum-like tissue in a rabbit model / G. L. Gu, S. J. Xia, J. Zhang [et al.] // *Urol. Int.* – 2012. – Vol. 89, № 3. – P. 358–364.

218. Two-acceptor cyanine-based fluorescent indicator for NAD(P)H in tumor cell models / M. A. Fomin, R. I. Dmitriev, J. Jenkins [et al.] // *ACS Sensors.* – 2016. – Vol. 1, № 6. – P. 702–709.

219. Two-layer tissue engineered urethra using oral epithelial and muscle derived cells / H. Mikami, G. Kuwahara, N. Nakamura [et al.] // *J. Urol.* – 2012. – Vol. 187, № 5. – P. 1882–1889.

220. Two-sided bulbar urethroplasty using dorsal plus ventral oral graft: Urinary and sexual outcomes of a new technique / E. Palminteri, E. Berdondini, A. A. Shokeir [et al.] // *J. Urol.* – 2011. – Vol. 185, № 5. – P. 1766–1771.

221. Ullah, I. Human mesenchymal stem cells - Current trends and future prospective / I. Ullah, R. B. Subbarao, G. J. Rho // *Biosci. Rep.* – 2015. – Vol. 35. – P. e00191.

222. Ultrathin poly(N-isopropylacrylamide) grafted layer on polystyrene surfaces for cell adhesion/detachment control / Y. Akiyama, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano // *Langmuir.* – 2004. – Vol. 20, № 13. – P. 5506–5511.

223. Urethral reconstruction using oral keratinocyte seeded bladder acellular matrix

grafts / C. Li, Y. M. Xu, L. J. Song [et al.] // *J. Urol.* – 2008. – Vol. 180, № 4. – P. 1538–1542.

224. Urethral reconstruction with autologous urine-derived stem cells seeded in three-dimensional porous small intestinal submucosa in a rabbit model / Y. Liu, W. Ma, B. Liu [et al.] // *Stem Cell Res. Therapy.* – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 1–14.

225. Urethral reconstruction with small intestinal submucosa seeded with oral keratinocytes and TIMP-1 siRNA transfected fibroblasts in a rabbit model / H. Guo, Y. Sa, J. Huang [et al.] // *Urol. Int.* – 2016. – Vol. 96, № 2. – P. 223–230.

226. Urethral reconstruction with tissue-engineered human amniotic scaffold in rabbit urethral injury models / F. Wang, T. Liu, L. Yang [et al.] // *Med. Sci. Monitor.* – 2014. – Vol. 20. – P. 2430–2438.

227. Urethral reconstruction with tissue engineering and RNA interference techniques in rabbits / C. Li, Y. M. Xu, Z. S. Liu, H. Bin Li // *Urology.* – 2013. – Vol. 81, № 5. – P. 1075–1080.

228. Urethral replacement using epidermal cell-seeded tubular acellular bladder collagen matrix / Q. Fu, C. L. Deng, W. Liu, Y. L. Cao // *BJU Int.* – 2007. – Vol. 99, № 5. – P. 1162–1165.

229. Urethral tissue regeneration using collagen scaffold modified with collagen binding VEGF in a beagle model / W. Jia, H. Tang, J. Wu [et al.] // *Biomaterials.* – 2015. – Vol. 69. – P. 45–55.

230. Urethroplasty after urethral Urolume stent: An international multicenter experience / J. C. Angulo, S. Kulkarni, J. Pankaj [et al.] // *Urology.* – 2018. – Vol. 118. – P. 213–219.

231. Urinary bladder smooth muscle regeneration utilizing bone marrow derived mesenchymal stem cell seeded elastomeric poly(1,8-octanediol-co-citrate) based thin films / A. K. Sharma, P. V. Hota, D. J. Matoka [et al.] // *Biomaterials.* – 2010. – Vol. 31, № 24. – P. 6207–6217.

232. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction /

Y. Zhang, E. McNeill, H. Tian [et al.] // J. Urol. – 2008. – Vol. 180, № 5. – P. 2226–2233.

233. Urothelial differentiation of human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in vitro / S. Wu, Z. Cheng, G. Liu [et al.] // *Analyt. Cell. Pathol.* – 2013. – Vol. 36, № 3–4. – P. 63–69.

234. West, J. Vascularization of Engineered Tissues: Approaches to Promote Angiogenesis in Biomaterials / J. West, J. Moon // *Curr. Topics Med. Chem.* – 2008. – Vol. 8, № 4. – P. 300–310.

235. Williams, D. F. On the mechanisms of biocompatibility / D. F. Williams // *Biomaterials.* – 2008. – Vol. 29, № 20. – P. 2941–2953.

236. Zhang, Y. Repairing urethral defect with adipose-derived mesenchymal stem cells seeded on a porous silk fibroin scaffold in rabbits / Y. Zhang, Y. Zhou, L. S. Jia // *Jiangsu Med. J.* – 2010. – Vol. 36. – P. 199–201.