

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-1-19-25>

Применение бесклеточного матрикса донорской артерии для пластики стриктур заднего отдела уретры

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОДОБРЕНО ЭТИЧЕСКИМ КОМИТЕТОМ ПРИ ФГБУ ГНЦ ФМБЦ ИМ. А.И. БУРНАЗЯНА ФМБА РОССИИ. ПРОТОКОЛ №32 ОТ 02.02.2020 Г.

В.А. Брумберг, Т.А. Астрелина, А.А. Кажера, П.С. Кызласов, В.М. Трояков, Т.Ф. Маливанова, И.В. Кобзева, В.А. Никитина, Т.В. Карасева, Д.Ю. Усупжанова, В.А. Брунчуков, А.А. Расторгуева, С.В. Лищук, Е.А. Дубова, Д.М. Смолев, А.Н. Башков, А.С. Самойлов

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медико-биологический центр им. А.И. Бурназяна» Федерального Медико-биологического агентства России; д. 23, ул. Маршала Новикова, Москва, 123098, Россия

Контакт: Кызласов Павел Сергеевич, dr.kyzlasov@mail.ru

Аннотация:

Введение. Стриктура уретры является сложной и актуальной проблемой оперативной урологии. Основная проблема лечения протяженных структур задней уретры заключается в отсутствии возможности сформировать адекватную уретральную площадку для аугментационной уретропластики распространенным и имеющим приоритет в лечении стриктур пенильного отдела, буккальным графтом. Применение тканевых бесклеточных матрикс может быть перспективным в развитии реконструктивной урологии, что в будущем позволит решить ряд проблем, связанных с аугментационными уретропластиками.

Целью данной статьи явилось изучение возможности применения бесклеточного матрикса донорской артерии в качестве свободного плоского лоскута для заместительной уретропластики стриктуры на модели лабораторных животных (кроликов).

Материалы и методы. Использовались донорские кровеносные сосуды, которые подвергались детергентно-ферментативной перфузионной децеллюляризации. Для оценки качества бесклеточного матрикса проводили гистологическое исследование, иммуногистохимическое исследование. Бесклеточный лоскут донорской артерии фиксировали к белочной оболочке со стороны смоделированного дефекта и выполняли заднюю накладную («on-lay») уретропластику.

Результаты обсуждения. Полученный матрикс характеризовался отсутствием определяемых ядер клеток, сохранным коллагеном I типа, содержанием ДНК не более 50 нг/мг ткани. В послеоперационном периоде отмечали нормальную двигательную активность животных, нормальное мочеиспускание, потеря веса не наблюдалась. Уровни С-реактивного белка, креатинина и мочевины в периферической крови через 5 месяцев после операции были в пределах нормы: $0,285 \pm 0,04839$ мг/л, $93,5 \pm 8,057$ мкм/л, $8,35 \pm 1,355$ мм/л, соответственно. При цистоуретрографии с помощью компьютерной томографии данных о стриктуре уретры не выявлено. При проведении магнитно-резонансной томографии в аксиальной и сагиттальной проекциях косвенно подтверждалась проходимость уретры.

Заключение. На модели лабораторных животных было показано, что полученный бесклеточный лоскут обладает биосовместимостью *in vivo* и может использоваться для заместительной уретропластики стриктур заднего отдела уретры.

Ключевые слова: бесклеточный матрикс; стриктура уретры; заместительная «on-lay» уретропластика; компьютерная томография; магнитно-резонансная томография.

Для цитирования: Брумберг В.А., Астрелина Т.А., Кажера А.А., Кызласов П.С., Трояков В.М., Маливанова Т.Ф., Кобзева И.В., Никитина В.А., Карасева Т.В., Усупжанова Д.Ю., Брунчуков В.А., Расторгуева А.А., Лищук С.В., Дубова Е.А., Смолев Д.М., Башков А.Н., Самойлов А.С. Применение бесклеточного матрикса донорской артерии для пластики стриктур заднего отдела уретры. Экспериментальная и клиническая урология 2021;14(1):19-25, <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-1-19-25>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-1-19-25>

Application of the cell-free matrix of the donor artery for plasty of posterior urethral strictures

EXPERIMENTAL STUDY ETHICS APPROVED AT FSBI SSC FMBC NAMED AFTER A.I. BURNAZYAN FMBA OF RUSSIA. DOCUMENT NO. 32 DATED 02.02.2020

V.A. Brumberg, T.A. Astrelina, A.A. Kazhera, P.S. Kyzlasov, V.M. Troyakov, T.F. Malivanova, V.I. Kobzeva, V.A. Nikitina, T.V. Karaseva, D.Yu. Usupzhanova, V.A. Brunchkov, A.A. Rastorgueva, S.V. Lishchuk, E.A. Dubova, D.M. Smolev, A.N. Bashkov, A.S. Samoilov
Federal State Budgetary Institution State Scientific Center Federal Medical and Biophysical Center of the A.I. Burnazyan Federal Medical and Biological Agency of Russia. 23, st. Marshal Novikov, Moscow, 123098, Russia

Contacts: Pavel S. Kyzlasov, dr.kyzlasov@mail.ru

Summary:

Introduction. Urethral stricture is a complex and urgent problem in operative urology. The main problem in the treatment of extended structures of the posterior urethra is the inability to form an adequate urethral site for augmentation urethroplasty with the common buccal graft, which has a priority in the treatment of penile strictures. The use of tissue acellular matrices may be promising in the development of reconstructive urology, which in the future will solve a number of problems associated with augmentation urethroplasty.

The purpose of this article is to study the possibility of using a cell-free matrix of a donor artery as a free flat flap for stricture replacement urethroplasty on a model of laboratory animals (rabbits).

Materials and methods. Donor blood vessels were Used, which were subjected to detergent-enzymatic perfusion decellularization. To assess the quality of the cell-free matrix, a histological study and an immunohistochemical study were performed. The cell-free flap of the donor artery was fixed to the protein envelope from the side of the simulated defect and posterior on-lay urethroplasty was performed.

Results and discussion. The resulting matrix was characterized by the absence of detectable cell nuclei, preserved type I collagen, and a DNA content of no more than 50 ng / mg of tissue. In the postoperative period, normal motor activity of animals, normal urination, weight loss was not observed. The levels of C-reactive protein, creatinine, and urea in peripheral blood 5 months after surgery were within the normal range: 0.285 ± 0.04839 mg / l, 93.5 ± 8.057 mm / l, and 8.35 ± 1.355 mm/l, respectively. If cystourethrography with the help of computer tomography data for stricture of the urethra is not revealed. During magnetic resonance imaging in the axial and sagittal projections, the patency of the urethra was indirectly confirmed.

Conclusion. In a laboratory animal model, it was shown that the resulting cell-free flap has in vivo biocompatibility and can be used for replacement urethroplasty of posterior urethral strictures.

Key words: cell-free matrix; urethral stricture; replacement «op-lay» urethroplasty; computed tomography; magnetic resonance imaging.

For citation: Brumberg V.A., Astrelina T.A., Kazhera A.A., Kyzlasov P.S., Troyakov V.M., Malivanova T.F., Kobzeva I.V., Nikitina V.A., Karaseva T.V., Usupzhanova D.Yu., Brunchukov V.A., Rastorgueva A.A., Lishchuk S.V., Dubova E.A., Smolev D.M., Bashkov A.N., Samoilo A.S. Application of the cell-free matrix of the donor artery for plasty of posterior urethral strictures. *Experimental and Clinical Urology* 2021;14(1):19-25, <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2021-14-1-19-25>

ВВЕДЕНИЕ

Стриктура уретры представляет собой обструктивное поражение мочеиспускательного канала, сопровождающееся симптомами со стороны нижних отделов мочевых путей – затрудненное мочеиспускание, дискомфорт и т.д. [1]. Это заболевание представляет собой значимую медицинскую проблему, а его распространенность в развитых странах достигает до 6 случаев на 1000 лиц мужского пола [2]. Основными причинами развития стриктур уретры являются ятрогенные повреждения – 33% (при катетеризации, эндоскопических процедурах и др.), травмы – 19% и постинфекционные осложнения (в т.ч. постгонорейные) [3]. Выбор метода лечения зависит от локализации стриктуры, ее протяженности, сопутствующей патологии и количества ранее перенесенных операций [4].

Тканевые бесклеточные матриксы являются перспективными биоматериалами для применения в реконструктивной хирургии и позволяют решить ряд проблем, связанных с имплантацией синтетических материалов. Так, в частности, при деградации и вытеснении трансплантата тканями реципиента не образуются потенциально токсичные продукты деградации, в отличие, например, от матриксов на основе полигликолиевой кислоты [5]. Важно, что свободные лоскуты, представленные тканевыми бесклеточными матриксами, являются одобренным для клинического применения биоматериалом (главным образом, для пластики кожи) [6]. Относительно аугментационной уретропластики известны клинические и экспериментальные исследования применения бесклеточных лоскутов в лечении стриктур передней уретры и гипоспадии [7, 8]. На основе изучения литературы в качестве свободного лоскута для заместительной пластики уретры был выбран бесклеточный матрикс как наиболее безопасный и изученный материал для гетеротопической ксенотрансплантации.

Цель настоящего исследования – изучить возможность применения бесклеточного матрикса донорской артерии в качестве свободного плоского лоскута для заместительной уретропластики на модели лабораторных животных (кроликов).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения материала исследования использовали кровеносные сосуды – артерию чревного ствола и коронарную артерию – которые изымали от посмертных доноров в асептических условиях. На каждый изъятый донорский сосуд составляли сопроводительный лист. Изъятие донорского биоматериала проводили в соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ ст. 47 и ст. 66, ред. от 08.06.2020 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», при координации с патологоанатомическим отделением ФМБЦ ГНЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. После изъятия сосуда транспортировали в стерильном растворе 0,9% NaCl с добавлением 1% пенициллина-стрептомицина («ПанЭко», Россия) и 2,5 мкг/мл амфотерицина Б (Bharat Serums & Vaccines, Индия) на льду.

Детергентно-ферментативная перфузионная децеллюляризация

Для обеспечения перфузии донорские артерии фиксировали в статичных трубчатых стеклянных камерах с внутренним диаметром 3,5 – 5,5 мм (EbersMedical, Испания). Детергентно-ферментативную децеллюляризацию проводили в соответствии со следующим протоколом:

1. Перфузия 0,5% Тритон x100 (Santa-Cruz, США), 0,5% деоксихолат натрия (NaDOC) (Sigma-Aldrich) проводилась в течение 2 суток;

2. 0,05% Трипсин-ЭДТА (Gibco, Великобритания) – в течение 2 часов;

3. Для инактивации трипсина использовали DMEM с низкой глюкозой (Biological Industries, Израиль) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 1% пенициллина-стрептомицина – в течение 24 часов;

4. Раствор 300 ЕД/мл ДНКазы I (AppliChem, Германия) в 40 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂*6H₂O, 10 mM NaCl – в течение ночи;

5. PBS (фосфатный буфер, Sigma-Aldrich) с добавлением 1% пенициллина-стрептомицина и 2,5 мкг/мл амфотерицина В – в течение 2 суток.

Сосудистые матриксы замораживали в реополигликине («Биохимик», Россия) с использованием

EVA-мешков (OrigenBiomedical, США) и хранили при температуре минус 80°C. Перед проведением операции лабораторному животному бесклеточные сосудистые матриксы размораживали, трехкратно промывали водой для инъекций (ООО «Ист-Фарм», Россия) и помещали в 1xPBS с добавлением цефазолина (5 мг/мл) при температуре плюс 4°C.

Для оценки качества децеллюляризации матриксов использовали следующие методы: гистологическое исследование с окрашиванием гематоксилином-эозином (Г-Э) для выявления остаточных ядер клеток, иммуногистохимическое исследование (ИГХ) с антителами к коллагену I типа внеклеточного матрикса (моноклональные антитела к коллагену I типа крысы и кролика, Dako, Дания), окрашивание DAPI (MetaSystemsProbes, Германия).

При оценке окрашенных Г-Э гистологических срезов критерием эффективности децеллюляризации являлось отсутствие морфологически различимых ядер в видимом поле зрения, не регистрируемых алгоритмами детекции ПО QuPath [9]. Первичный анализ изображений гистологических препаратов, окрашенных DAPI, проводили с использованием флуоресцентного микроскопа Carl Zeiss Axiovert (Carl Zeiss, Германия) под увеличением 10x. Критерием эффективности децеллюляризации являлось отсутствие морфологически различимых ядер с выраженными границами или фрагментированных ядер.

Для оценки остаточного количества геномной ДНК из фрагментов децеллюляризованных матриксов выделяли ДНК с использованием коммерческого набора Qiagen DNAeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, США). Исследование проводили в триплетах. Концентрацию ДНК в полученных препаратах определяли на спектрофотометре SmartSpec (BioRad, США).

Для создания модельного дефекта уретры и реконструкции дефекта использовали 7 кроликов самцов породы «Советская шиншилла» с массой тела 4,5-5,0 кг, полученные из питомника лабораторных животных «Рапполово» (НИЦ «Курчатовский институт» – ФГУП ПЛЖ «Рапполово»), имеющих соответствующее ветеринарное свидетельство и прошедших 14-суточный карантин. Исследование осуществлялось в соответствии с правилами лабораторной практики при проведении доклинических экспериментов в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96) и с положением Европейской Конвенции о защите позвоночных животных. Перед операцией кроликам выполняли внутримышечную анестезию смесью ксилазина («Ксила», Interchemie Werken, Нидерланды) и золетила 100 (Virbac, Франция) по 75 мг каждого.

Порядок послеоперационного наблюдения за лабораторными животными

В качестве стандартной терапии проводили катетеризацию мочевого пузыря для постоперационного дренирования уретры в течение 14 дней под прикры-

тием антибактериальной терапии внутримышечным введением препарата «Байтрил» 2,5% раствора для инъекций (BAYER, Германия) из расчета 0,2 мл на 1 кг веса животного. За животными наблюдали в течение 6 месяцев после операции, при мониторинге общего состояния животных оценивали вес, мочеиспускание, проводили взятие венозной периферической крови для биохимического измерения креатинина, мочевины и С-реактивного белка.

При оценке определяемых биохимических показателей крови ориентировались на нормы для С-реактивного белка (3,90±0,70 мг/л), креатинина (44,2 – 221 мкмоль/л), мочевины (10±0,5 ммоль/л) [10–12].

Для проведения инструментальных методов исследования кроликам проводили внутримышечную анестезию смесью ксилазина («Ксила», Interchemie Werken, Нидерланды) и золетила 100 (Virbac, Франция) по 75 мг каждого. Компьютерную томографию (КТ) с цистоуретрографией проводили с использованием контрастного вещества «Ультравист» (Bayer, Германия) и магнитно-резонансную томографию (МРТ) – «Гадовист» (Bayer, Германия) через 5 месяцев после операции. Выполнялись обзорные снимки органов мочеполовой системы и, по результатам полученных DICOM-изображений, создавали трехмерную реконструкцию уретры с локализацией кавернозных тел. Также, проводили МРТ в аксиальной и сагиттальной плоскостях. На получаемых МРТ-срезах отмечали попадание в мочевой пузырь контраста и опорожнение мочевого пузыря.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка эффективности децеллюляризации матриксов

При анализе гистологических препаратов бесклеточных матриксов донорских сосудов не обнаруживали ни единичных ядер клеток, ни их фокусов. При окрашивании DAPI морфологически различимые ядра клеток с очерченными границами также не определялись. Для качественной оценки сохранности коллагена I типа после децеллюляризации матриксов проводили ИГХ с помощью которой отмечалась положительная реакция на коллаген I типа во всей толще бесклеточного матрикса (рис. 1).

Содержание ДНК в препаратах децеллюляризованных сосудистых тканей составило 42,3±8,05 нг/мг влажного веса ткани, что находится в рамках референсного значения для бесклеточных матриксов (50 нг/мг ткани) используемого как критерий для оценки потенциальной иммуногенности биоматериалов [13].

Моделирование дефекта слизистой уретры. Заместительная уретропластика с использованием свободного донорского бесклеточного лоскута («on-lay» уретропластика) ■

После обработки операционного поля по уретре до мочевого пузыря проводили уретральный катетер Foley 6 Ch. Далее производили циркулярное рассечение наружного листка крайней плоти. Кожу полового члена сдвигали проксимально. Продольным разрезом по вентральной поверхности полового члена осуществляли доступ к пенильному отделу уретры. После мобилизации уретры от кавернозных тел на протяжении выполняли

уретротомию для создания дефекта слизистой уретры длиной 1,0 см, при этом дефект был локализован в заднем отделе уретры. Далее фиксировали бесклеточный лоскут донорской артерии к белочной оболочке со стороны смоделированного дефекта посредством наложения лоскут-узловых швов. Затем непрерывными обвивными швами Monosyn 7/0 (B.Braun, Германия) выполняли заднюю («on-lay») уретропластику выше-

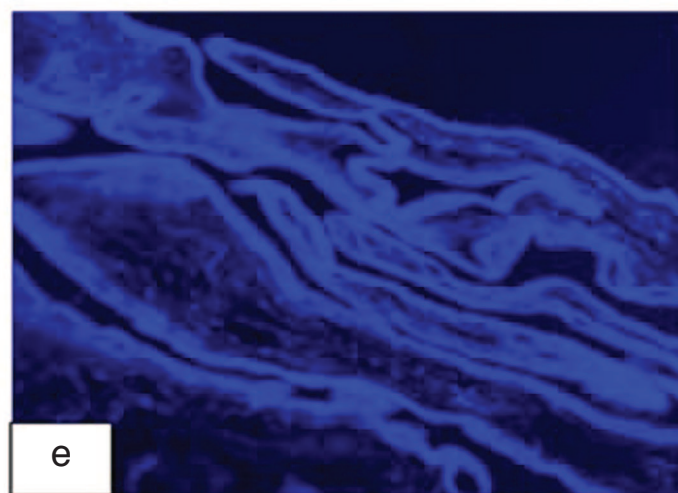
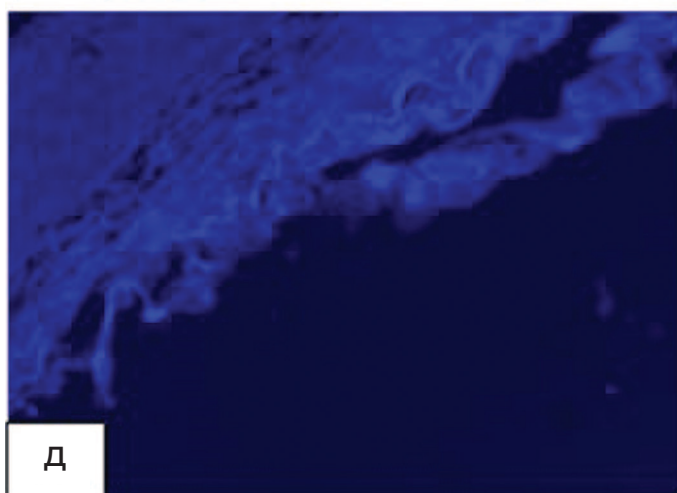
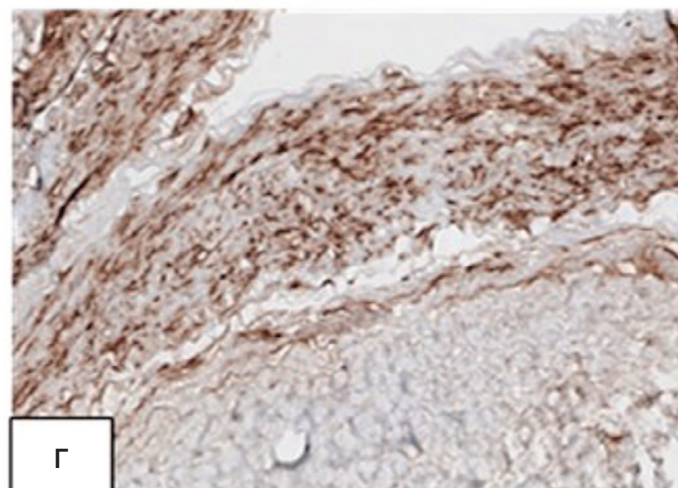
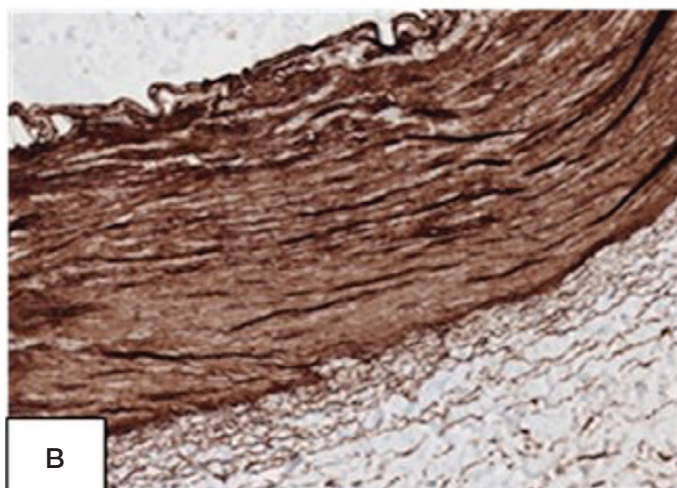
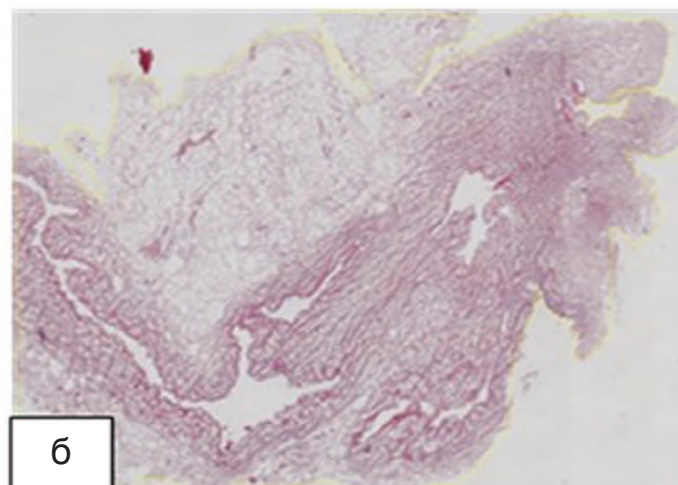
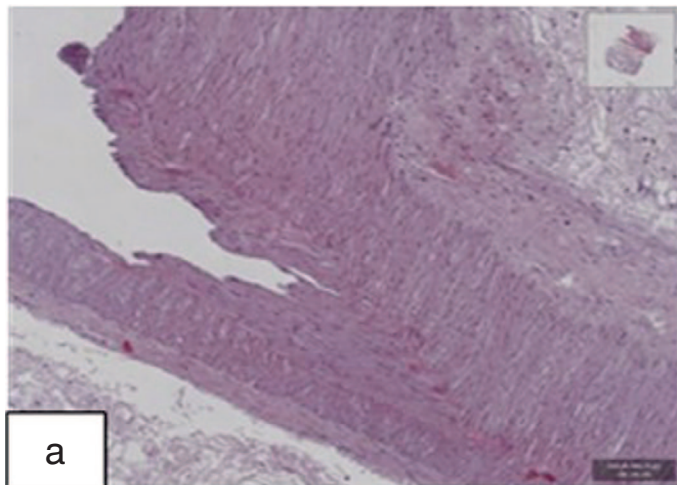
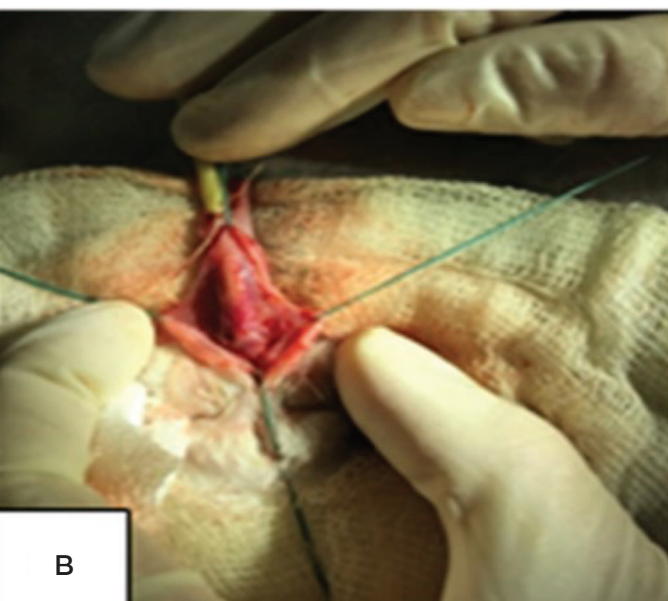
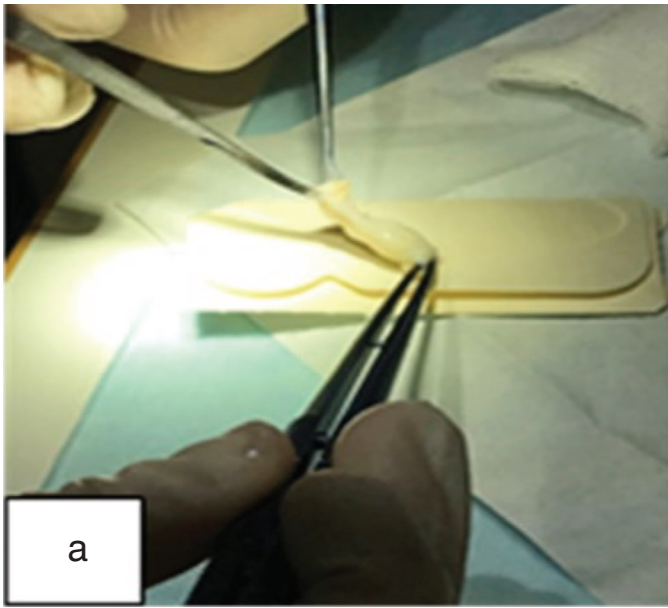


Рис. 1. Морфологическая оценка качества децеллюляризации матриц: а, б – окрашивание гематоксилин – эозином, 100X; в, г – ИГХ на коллаген I типа, 100X; д, е – окрашивание DAPI, 10X. а, в, д – нативная сосудистая ткань; б, г, е – препараты децеллюляризованных сосудистых матриц

Fig. 1. Morphological assessment of the quality of matrix decellularization: a, b – hematoxylin – eosin staining, 100X; c, d-IGX for type I collagen, 100X; d, e-DAPI staining, 10X. a, c, d-native vascular tissue; b, d, e – preparations of decellularized vascular matrices



упомянутым лоскутом. Послойное ушивание раны проводили узловыми швами Polysorb 5/0 (Covidien, Швейцария). Уретральный катетер Foley 6 Ch оставляли в мочевом пузыре и фиксировали к животу, катетер удаляли на 14 суток после операции (рис. 2).

В ходе послеоперационного наблюдения отмечали нормальную двигательную активность животных, нормальное мочеиспускание, не наблюдали потерю веса. Уровни С-реактивного белка, креатинина и мочевины в периферической крови через 5 месяцев после операции были в пределах нормы: $0,285 \pm 0,04839$ мг/л, $93,5 \pm 8,057$ мкм/л, $8,35 \pm 1,355$ мм/л, соответственно.

По результатам КТ с цистоуретрографией уретры на 5-й месяц после операции была получена трехмерная реконструкция уретры с кавернозными телами (рис. 3).

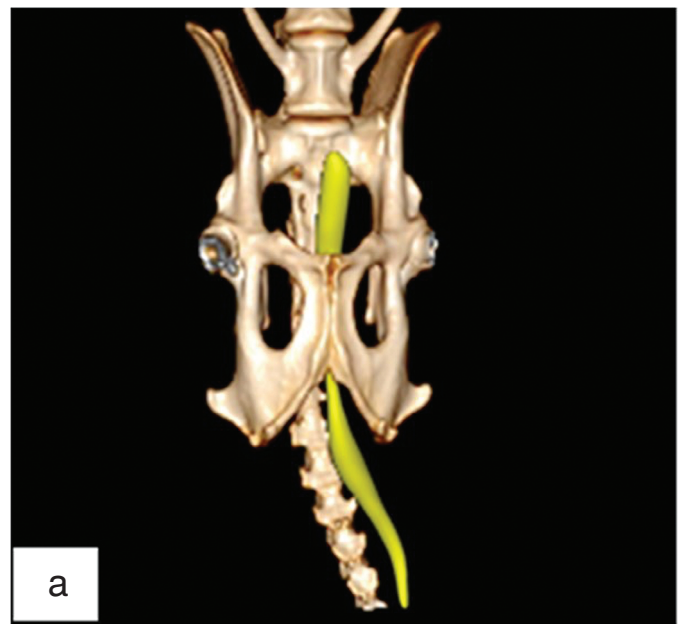


Рис. 3. Реконструкция уретры на основе КТ снимков: а – трехмерная модель уретры; б – трехмерная модель уретры с локализацией кавернозных тел. Желтым цветом отмечена уретра, красным – кавернозные тела
Fig. 3. Reconstruction of the urethra based on CT images: a-three-dimensional model of the urethra; b-three-dimensional model of the urethra with localization of cavernous bodies. Yellow marks the urethra, red marks the cavernous bodies

Рис. 2. Создание модельного дефекта слизистой уретры (задняя уретротомия) и заместительной уретропластики с использованием донорского бесклеточного лоскута коронарной артерии. а – бесклеточный лоскут донорской артерии; б – фиксация лоскута к белочной оболочке, проведение уретропластики непрерывными обвивными швами; в – проведение катетера Фолея 6 Ch от отверстия уретры до мочевого пузыря
Fig. 2. Creation of a model defect of the urethral mucosa (posterior urethrotomy) and replacement urethroplasty using a donor cell-free flap of the coronary artery. a-cell-free flap of the donor artery; б – fixation of the flap to the protein membrane, urethroplasty with continuous wrapping sutures; в – Foley catheter 6 Ch from the opening of the urethra to the bladder

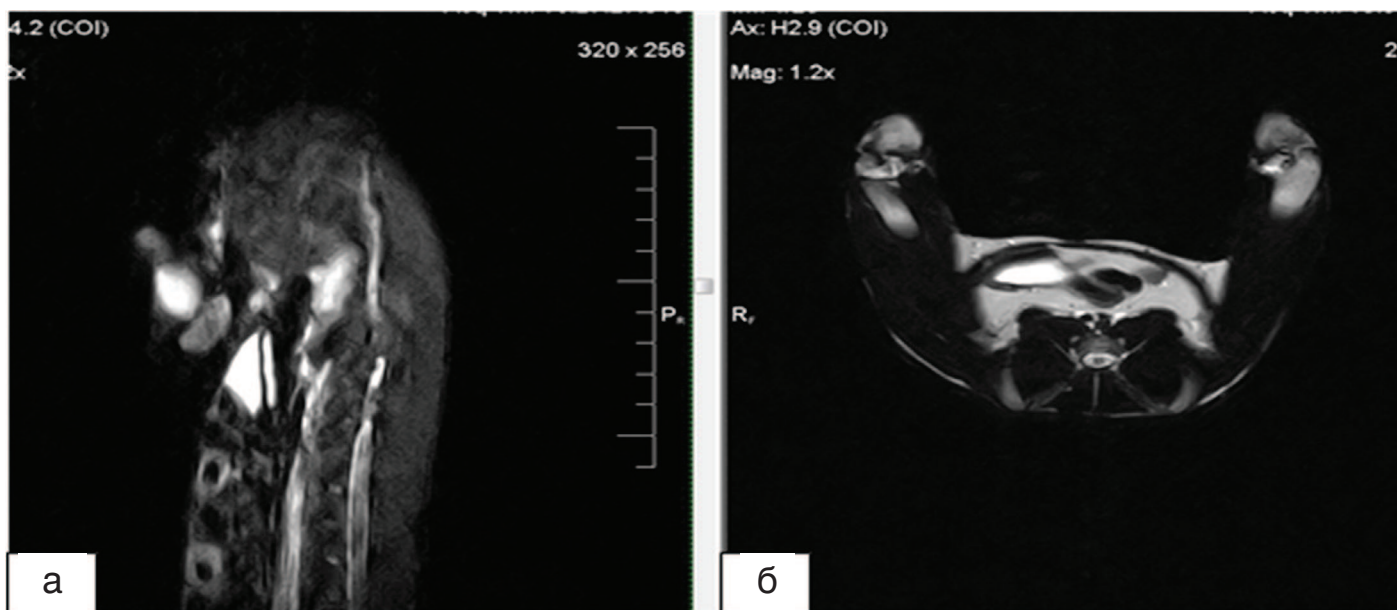


Рис. 4. МРТ-срезы органов таза: а – срез в сагиттальной плоскости, хорошо прослеживается локализация мочевого пузыря, половых органов и уретры с введенным контрастным веществом; б – срез в аксиальной плоскости.
Fig. 4. MRI sections of the pelvic organs: a – section in the sagittal plane, the localization of the bladder, genitals and urethra with the introduced contrast agent is well traced; b – section in the axial plane

Отмечали наполнение мочевого пузыря контрастом и его опорожнение при МРТ, что косвенно свидетельствовало о проходимости уретры (рис. 4).

В качестве способа лечения модельного дефекта в нашей работе была выбрана заместительная пластика с использованием свободного лоскута, поскольку пластика с использованием лоскута на сосудистой ножке сопряжена со значительными трудностями [14].

Бесклеточный лоскут был выбран в качестве материала для заместительной уретропластики ввиду высокой частоты применения материалов данного вида в реконструктивных операциях. Так, например, в качестве свободных бесклеточных лоскутов в уретропластике применяются подслизистая оболочка тонкого кишечника свиньи, дермальный матрикс, матрикса амниотической мембраны и подслизистой мочевого пузыря [7, 15-17]. Однако, важно отметить, что применение свободных

лоскутов, представленных бесклеточными оболочками сосудов, изучено недостаточно. В Российской Федерации только одна публикация описывает применение децеллюляризованного матрикса трупного сосуда для лечения стриктуры уретры у пациента [18]. Таким образом, изучение возможности применения бесклеточного сосудистого матрикса в качестве свободного лоскута для заместительной пластики представляется актуальным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе показана возможность применения бесклеточного матрикса донорских артерий в качестве свободного лоскута для заместительной пластики дефекта задней уретры у кролика. Показано, что заместительная пластика стриктуры с использованием данного лоскута безопасна и эффективна. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Рыжкин А.В., Мамедов Э.А., Глухов В.П., Ильяш А.В. Хирургическое лечение посттравматических стриктур уретры. *Образовательный вестник «Сознание»* 2017; 12(12):237-239. [Ryzhkin A.V., Mamedov E.A., Gluhov V.P., Ilyash A.V. Hirurgicheskoe lechenie posttravmaticheskikh striktur uretryi. *Obrazovatelnyy vestnik «Soznanie» = Educational bulletin «Consciousness»* 2017;12(12):237-239. (In Russian)].
2. Суховерхов А.О., Капсаргин Ф.П., Окладников А.Ю. Результаты лечения больных со стриктурами уретры различной локализации. *Сибирское медицинское обозрение* 2015;6(96):88-91. [Suhoverhov A.O., Kapsargin F.P., Okladnikov A.Yu. Rezultaty lecheniya bolnykh so strikturami uretryi razlichnoy lokalizatsii. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review* 2015;6(96):88-91. (In Russian)].
3. Hampson L.A., McAninch J.W., Breyer B.N. Male urethral strictures and their management. *Nat Rev Urol* 2014;11(1):43-50.
4. Котов С.В. Новые методы уретропластики при стриктурах уретры у мужчин. *Анналы хирургии* 2015;4:9-11. [Kotov S.V. Novyye metody uretroplastiki pri strikturah uretryi u muzhchin. *Annaly hirurgii = Annals of Surgery* 2015;4:9-11. (In Russian)].
5. Клабуков И.Д. Многослойная тканеинженерная конструкция на основе биodeградируемых и биосовместимых материалов для восстановления поврежденных желчных путей. М.: Автореф. дисс. к.б.н. 2018(26). [Klabukov I.D. Mnogosloynnaya tkaneinzhenernaya konstruksiya na osnove biodegradiruemykh i biosovmestimyykh materialov dlya vosstanovleniya povrezhdennykh zhelchnyykh putey. M.: Avtoref. diss. k.b.n. 2018(26). (In Russian)].
6. Deneve J.L., Turaga K.K., Marzban S.S., Puleo CA, Sarnaik AA, Gonzalez RJ, et al. Single-institution outcome experience using alloderm(r) as temporary coverage or definitive recon-

7. Lin D, Wang G, Song H, Qu Y, Liu P, Lianget H, et al. Use of Acellular Dermal Matrix for Urethroplasty Coverage in Proximal Hypospadias Repair: a Pilot Study. *Adv Ther* 2020(37):1425-1435.
8. Васютин И.А., Люндуп А.В., Винаров А.З. Реконструкция уретры с помощью технологий тканевой инженерии. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2017;72(1):17-25. [Vasyutin I.A., Lyundup A.V., Vinarov A.Z.. Rekonstruksiya uretryi s pomoschyu tehnologii tkanevoy inzhenerii. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskih nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* 2017;72(1):17-25. (In Russian)].
9. Bankhead P, Loughrey M.B., Fernandez J.A., Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep* 2017;4(7):1-7.
10. Севастьянов В.И., Духина Г.А., Григорьев А.М., Перова Н.В., Кирсанова Л.А., Скалецкий Н.Н., Ахаладзе Д.Г., Готье С.В. Функциональная эффективность биомедицинского клеточного продукта для регенерации суставного хряща (экспериментальная модель остеоартроза). *Вестник трансплантологии и искусственных органов* 2015;17(1):86-96. [Sevastyanov V.I., Duhina G.A., Grigorev A.M., Perova N.V., Kirsanova L.A., Skaletskiy N.N., Ahaladze D.G., Gote S.V. Funktsionalnaya effektivnost biomeditsinskogo kletochnogo produkta dlya regeneratsii sustavnogo hryascha (eksperimentalnaya model osteoartroza). *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs* 2015;17(1):86-96. (In Russian)].
11. Melillo A. Rabbit Clinical Pathology. *J Exot Pet Med* 2007;16(3):135-145.
12. Абрашова Т.В., Гушин Я.А., Ковалева М.А., Рыбакова А.В., Селезнева А.И., Соколова А.П. и др. Физиологические, биохимические и биометрические показатели

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

нормы экспериментальных животных; под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. Санкт-Петербург: Лема, 2013:116. [Abrashova T.V., Guschin Ya.A., Kovaleva M.A., Ryibakova A.V., Selezneva A.I., Sokolova A.P. i dr. Fiziologicheskie, biohimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimentalnykh zhivotnykh; pod red. Makarova V.G., Makarovo M.N. Sankt-Peterburg: Lema, 2013:116. (In Russian)].

13. Губарева Е.А., Сотниченко А.С., Гилевич И.В., Маккиарини П. Морфологическая оценка качества децеллюляризации сердца и диафрагмы крыс. *Гены и клетки* 2012;7(4):38-45. [Gubareva E.A., Sotnichenko A.S., Gilevich I.V., Makkiarini P. Morfologicheskaya otsenka kachestva detseulyarizatsii serdtsa i diafragmy krysis. *Geny i kletki=Genes and Cells* 2012;7(4):38-45. (In Russian)].

14. Guo H.L., Jia Z.M., Wang L., Bao X.Q., Huang Y.C., Zhouet J.M., et al. Tubularized urethral reconstruction using a prevascularized capsular tissue prelaminated with buccal mucosa graft in a rabbit model. *Asian J Androl* 2019;21(4):381-386.

15. Mangera A., Chapple C.R. Tissue engineering in urethral reconstruction—an update. *Asian*

J androl 2013;15(1):89-92.

16. Ramuta T. Z., Kreft, M. E. Human Amniotic Membrane and -Derived Cells: How Far Are We from Their Use in Regenerative and Reconstructive Urology Amniotic Membrane? *Cell transplantation* 2018;27(1):77-92.

17. de Kemp V., de Graaf P., Fledderus JO, Ruud Bosch JL, de Kort MO, et al. Tissue engineering for human urethral reconstruction: systematic review of recent literature. *PLoS One* 2015;10(2):1-14.

18. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Николенко В.Н., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истранов Л.П. и др. Тканевая инженерная замещающая уретропластика на основе децеллюляризованного сосудистого матрикса и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки: первый опыт. *Урология* 2015; 3: 4-10 [Glybochko P.V., Aljaev J.G., Nikolenko V.N., Shehter A.B., Vinarov A.Z., Istranov L.P., et al. Tissue engineered substitution urethroplasty based on decellularized vascular matrix and autologous cells of the buccal mucosa: The First Experience. *Urologiia* 2015(3):4-10. (In Russian)].

Сведения об авторах:

Брумберг В.А. – младший научный сотрудник лаборатории №1 Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; brumb1225@gmail.com; РИНЦ Author ID 1063299

Астрелина Т.А. – д.м.н., доцент, руководитель Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; t_astrelina@mail.ru; Researcher ID F-5439-2016, РИНЦ Author ID 6507311937

Кажера А.А. – врач-уролог Центра урологии и андрологии ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; Kazhera@inbox.ru; РИНЦ Author ID 1060704

Кызласов П.С. – д.м.н., профессор, руководитель Центра урологии и андрологии ФМБЦ ГНЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, главный внештатный уролог ФМБА; Москва, Россия; dr.kyzlasov@mail.ru; РИНЦ Author ID 615093

Трояков В.М. – аспирант кафедры урологии и андрологии МБУ ИНО ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; troyakov@mail.ru

Кобзева И.В. – к.м.н., зав. криобанка Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; irina-kobzeva@yandex.ru; РИНЦ Author ID 344804

Никитина В.А. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории №9 Центра биомедицинских технологий, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, член ISCT; Москва, Россия; nikitina@yandex.ru; РИНЦ Author ID 97400

Карасева Т.В. – Начальник отдела экспертизы биомедицинских технологий и координации клинических исследований Центра биомедицинских технологий, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; karaseva.7@yandex.ru; РИНЦ Author ID 911695

Маливанова Т.Ф. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории редактирования генома Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; tmalivanova@yandex.ru

Усупжанова Д.Ю. – младший научный сотрудник лаборатории №1 Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; usupzhanova94@mail.ru; РИНЦ Author ID 998601

Брунчук В.А. – младший научный сотрудник лаборатории редактирования генома Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; brunchuk2008@yandex.ru; РИНЦ Author ID 999246

Расторгуева А.А. – младший научный сотрудник лаборатории редактирования генома Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; rastorgueva.ann@gmail.com; РИНЦ Author ID 1021504

Лишчук С.В. – к.м.н., врач-патологоанатом, заведующий патологоанатомическим отделением ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; slishchuk@fmbcfmba.ru; РИНЦ Author ID 970949

Дубова Е.А. – д.м.н., врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; dubovaea@gmail.com; РИНЦ Author ID 559767

Смолев Д.С. – к.м.н., врач-рентгенолог отделения лучевой и радиоизотопной диагностики ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; dsmolev@yandex.ru

Башков А.Н. – к.м.н., врач-рентгенолог, зав. отделением лучевой и радиоизотопной диагностики ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; abashkov@yandex.ru; РИНЦ Author ID 270879

Самойлов А.С. – д.м.н., профессор РАН, генеральный директор ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, Россия; РИНЦ Author ID 738843

Вклад авторов:

Брумберг В.А. – анализ данных, написание текста, 10%
Астрелина Т.А. – анализ данных, организация, 10%
Кажера А.А. – хирургический этап эксперимента, 8%
Кызласов П.С. – хирургический этап эксперимента, 8%
Трояков В.М. – хирургический этап эксперимента, 4%
Кобзева И.В. – формирование бесклеточного матрикса, 5%
Никитина В.А. – формирование бесклеточного матрикса, 5%
Карасева Т.В. – формирование бесклеточного матрикса, 5%
Маливанова Т.Ф. – формирование бесклеточного матрикса, 5%
Усупжанова Д.Ю. – ветеринарный контроль, 5%
Брунчук В.А. – ветеринарный контроль, 5%
Расторгуева А.А. – ветеринарный контроль, 5%
Лишчук С.В. – гистологическое и иммуногистохимическое исследование, 5%
Дубова Е.А. – гистологическое и иммуногистохимическое исследование, 5%
Смолев Д.С. – диагностический этап, 5%
Башков А.Н. – диагностический этап, 5%
Самойлов А.С. – организация, контроль руководства, 5%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Статья поступила: 21.12.20

Принята к публикации: 09.02.2021

Information about authors:

Brumberg V.A. – researcher at laboratory № 1 of the center for biomedical technologies of the A.I. Burnazyan state research center of the Federal STATE medical University of Russia; Moscow, Russia; brumb1225@gmail.com

Astrelina T.A. – Dr. Sc., associate Professor, head of the center for biomedical technologies of the A.I. Burnazyan state medical CENTER of the Russian Federation; Moscow, Russia; t_astrelina@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-3629-0372

Kazhera A.A. – doctor of the Center of urology and andrology SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; Kazhera@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0002-4108-4066

Kyzlasov P.S. – Professor of Department of urology and andrology SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia, Dr.Sci. Med; Moscow, Russia; dr.kyzlasov@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-1050-6198

Troyakov V.M. – post-graduate student of the Department of urology and andrology SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; troyakov@mail.ru

Kobzeva I.V. – PhD, head of Cryobank of the Center for biomedical technology, doctor of medical SSC, FMBC SSC center named after them. A. I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; irina-kobzeva@yandex.ru

Nikitina V.A. – PhD, senior researcher of laboratory №9 center of biomedical technology, SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia, a member of ISCT; Moscow, Russia; nikitina@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-3150-7686

Karaseva T.V. – Head of the Department of biomedical technologies expertise and coordination of clinical research at the center for biomedical technologies, FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; karaseva.7@yandex.ru

Malivanova T.F. – PhD, senior researcher at the genome editing laboratory of the center for biomedical technologies of the SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; tmalivanova@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9699-2603

Usupzhanova D.Yu. – Junior research associate of laboratory No.1 of the center for biomedical technologies of the SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; usupzhanova94@mail.ru

Brunchuk V.A. – Junior researcher of the laboratory for genome editing of the biomedical technologies SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; brunchuk2008@yandex.ru

Rastorgueva A.A. – Junior researcher of the laboratory for genome editing of the biomedical technologies SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; rastorgueva.ann@gmail.com

Lishchuk S.V. – pathologist, head of pathology Department, research SSC center named of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia, PhD Med; Moscow, Russia; slishchuk@fmbcfmba.ru, https://orcid.org/0000-0003-0372-5886

Dubova E.A. – Dr. Sc., doctor – pathologist of pathology Department of SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; dubovaea@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-7115-538X

Smolev D.M. – PhD, radiologist Department of radiation and radioisotope diagnostic of SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; dsmolev@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-9180-487

Bashkov A.N. – PhD, radiologist, head of Department of radiation and radioisotope diagnostic of SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia; abashkov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4560-6415

Samoilov A.S. – Dr. Sc., Prof. of RAS, the General Director of SSC FMBC of A.I. Burnazyan of FMBA of Russia; Moscow, Russia

Authors' contributions:

Brumberg V.A. – data analysis, text writing, 10%
Astrelina T.A. – data analysis, organization, 10%
Kazhera A.A. – surgical stage of the experiment, 8%
Kyzlasov P.S. – surgical stage of the experiment, 8%
Troyakov V.M. – surgical stage of the experiment, 4%
Kobzeva I.V. – formation of acellular matrix, 5%
Nikitina V.A. – formation of acellular matrix, 5%
Karaseva T.V. – formation of acellular matrix, 5%
Malivanova T.F. – formation of acellular matrix, 5%
Usupzhanova D.Yu. – veterinary control, 5%
Brunchuk V.A. – veterinary control, 5%
Rastorgueva A.A. – veterinary control, 5%
Lishchuk S.V. – histological and immunohistochemical examination, 5%
Dubova E.A. – histological and immunohistochemical examination, 5%
Smolev D.M. – diagnostic stage, 5%
Bashkov A.N. – diagnostic stage, 5%
Samoilov A.S. – organization, management control, 5%

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was performed without external funding.

Received: 21.12.20

Accepted for publication: 09.02.2021