


© CC  Коллектив авторов, 2020  
 УДК 616.643-089.844-003.93]-092.4  
 DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-5-30-35

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ УРЕТРОПЛАСТИКИ

А. А. Горелова<sup>1, 2</sup>, А. Н. Муравьев<sup>1, 3\*</sup>, Т. И. Виноградова<sup>1</sup>, А. И. Горелов<sup>2, 4</sup>,  
 Н. М. Юдинцева<sup>5</sup>, Ю. А. Нащекина<sup>5</sup>, И. А. Самусенко<sup>6</sup>, П. К. Яблонский<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская Покровская больница», Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

<sup>6</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 09.06.20 г.; принята к печати 07.10.20 г.

**ВВЕДЕНИЕ.** Проведение реконструктивных вмешательств на уретре требуется при стриктурах и облитерациях уретры, гипоспадии. Чаще в качестве имплантируемого материала применяют слизистую щеки. Поиск альтернативных материалов для снижения травматичности и осложнений в донорской зоне является актуальным направлением современной урологии. В качестве такого материала могут быть использованы тканеинженерные конструкции (ТИК). **ЦЕЛЬ.** Обоснование возможности использования ТИК, приготовленной на основе биodeградируемых полимеров и заселенной аутологичными клетками буккального эпителия (БЭ), в качестве имплантируемого материала для уретропластики в эксперименте.

**МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ.** В экспериментальном исследовании создана ТИК на основе поли-L-лактид-капролактона (ПЛК) и поли-L-лактид-гликолида (ПЛГ), заселенная клетками БЭ. Кроликам (n=12) выполняли биопсию слизистой ротовой полости, выделяли клетки БЭ, культивировали и заселяли ими ПЛК-ПЛГ-скаффолды. Приготовленные ТИК использованы для заместительной уретропластики на модели острой травмы уретры кролика.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Результаты трансплантации оценивали через 12 недель, при ретроградной уретрографии нарушения проходимости уретры выявлено не было, а гистологическое исследование показало восстановление слизистой уретры.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Созданная ТИК обеспечила в большинстве случаев поддержание каркаса уретры кролика, необходимого для адекватного мочеиспускания. Данная конструкция может быть рекомендована для дальнейших клинических исследований.

**Ключевые слова:** уретра, тканеинженерные конструкции, клетки буккального эпителия, тканевая инженерия, уретропластика

**Для цитирования:** Горелова А. А., Муравьев А. Н., Виноградова Т. И., Горелов А. И., Юдинцева Н. М., Нащекина Ю. А., Самусенко И. А., Яблонский П. К. Экспериментальное применение тканеинженерных конструкций для уретропластики. *Вестник хирургии имени И. И. Грекова*. 2020;179(5):30–35. DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-5-30-35.

\* **Автор для связи:** Александр Николаевич Муравьев, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Минздрава России, 191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4. E-mail: urolog5@gmail.com.

## EXPERIMENTAL APPLICATION OF TISSUE ENGINEERED CONSTRUCTIONS FOR URETHROPLASTY

Anna A. Gorelova<sup>1, 2</sup>, Alexandr N. Muraviov<sup>1, 3\*</sup>, Tatiana I. Vinogradova<sup>1</sup>,  
 Andrey I. Gorelov<sup>2, 4</sup>, Natalia M. Yudintceva<sup>5</sup>, Yulia A. Nashchekina<sup>5</sup>, Igor A. Samusenko<sup>6</sup>,  
 Petr K. Yablonsky<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Saint-Petersburg Medico-Social Institute, Saint Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Pokrovskaya Municipal Hospital, Saint Petersburg, Russia

<sup>5</sup> Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

<sup>6</sup> Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine, Saint Petersburg, Russia

Received 09.06.20; accepted 07.10.20

**INTRODUCTION.** For diseases such as stricture and obliteration of the urethra, urethral hypospadias, reconstructive operations are required. The buccal mucosa is the material most commonly used for these operations. The search

for alternative materials, carried out in order to reduce trauma and complications in the donor area, is an urgent area of modern urology. Tissue engineered constructions (TEC) can be used as such material.

**OBJECTIVE.** Justification of the possibility of applying a TEC based on the biodegradable polymers and seeded with autologous buccal epithelium (BE) cells as an implantable material for urethroplasty in an experiment.

**METHODS AND MATERIALS.** TEC based on poly-L-lactide-caprolactone (PLC) and poly-L-lactide-glycolide (PLG) seeded with BCs was created. Rabbits (n=12) underwent a biopsy of the oral mucosa, BCs were isolated, cultured and PLC-PLG scaffold was seeded with cells. TECs seeded with autologous BCs were used on the model of acute trauma of rabbit urethra for replacement urethroplasty.

**RESULTS.** The results were evaluated after 12 weeks, according to the histological examination, there was a repair of the urethral mucosa. According to the data of retrograde urethrography, no impaired urethra patency was detected.

**CONCLUSION.** TEC (PLK-PLG) seeded with autologous BCs ensured the maintenance of the rabbit urethral lumen which is necessary for adequate urination. This TEC could be recommended for the further clinical studies.

**Keywords:** *urethra, tissue engineered constructions, buccal epithelial cells, tissue engineering, urethroplasty*

**For citation:** Gorelova A. A., Muraviov A. N., Vinogradova T. I., Gorelov A. I., Yudintceva N. M., Nashchekina Yu. A., Samusenko I. A., Yablonsky P. K. Experimental application of tissue engineered constructions for urethroplasty. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2020;179(5):30–35. (In Russ.). DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-5-30-35.

\* **Corresponding author:** Alexandr N. Muraviov, Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, 2-4, Ligovskiy pr., Saint Petersburg, 191036, Russia. E-mail: urolog5@gmail.com.

**Введение.** Заместительная, или аугментационная, уретропластика на сегодняшний день является операцией выбора при некоторых формах гипоспадий, протяженных стриктурах и облитерациях уретры. Гипоспадии встречаются с частотой 1 на 300 новорождённых мальчиков, а их хирургическое лечение подразумевает различные варианты пластик уретры, проводящихся, как правило, в детском возрасте [1, 2]. Распространенность стриктур уретры, по данным R. A. Santucci и et al. [3], составляет 229–627 случаев на 100 000 населения. Однако истинная частота данного заболевания неизвестна [4].

В качестве заместительного материала наиболее часто и с наилучшими результатами применяют буккальный графт [5]. Другие же виды слизистых широко не применяются в связи со сложностью и инвазивностью забора материала [6].

При буккальной уретропластике хирурги могут столкнуться с недостаточной длиной графта, а также с осложнениями в донорской зоне и увеличением длительности вмешательства. Поэтому актуальным направлением является создание тканеинженерной конструкции (ТИК) в качестве материала для уретропластики. Опубликован ряд доклинических и клинических исследований, но до сих пор ТИК не транслируются в рутинную практику. Самым крупным является многоцентровое перспективное исследование аутологичной ТИК, включавшее в себя 98 пациентов. Эффективность операций составила от 0 до 85,7 % (в среднем – 67,3 %) [7]. Кроме того, выполнены систематические обзоры [8]. Такие противоречивые данные указывают на необходимость дальнейших исследований в этой области [6, 8].

**Цель работы** – обоснование возможности использования ТИК, приготовленной на основе биодеградируемых полимеров и заселенной аутологичными клетками буккального эпителия (БЭ), в качестве имплантируемого материала для уретропластики в эксперименте.

**Методы и материалы.** В исследование были включены 12 кроликов породы «шиншилла». Содержание, отбор животных и процедура эксперимента проводились с соблюдением нормативных документов, действующих на территории Российской Федерации [9–14]. Трое животных составили контрольную группу, которым не проводилось хирургическое вмешательство, 9 – экспериментальную группу. Животным из экспериментальной группы сначала выполняли биопсию слизистой ротовой полости, затем синтезировали скаффолд на основе ПЛК-ПЛГ, который заселялся аутологичными культивированными клетками БЭ. После чего выполняли заместительную уретропластику ТИК на модели острой травмы уретры. Результаты оценивали через 12 недель.

**Биопсия слизистой ротовой полости кролика.** Под общей анестезией (тилетамин гидрохлорид/золазепам гидрохлорид в дозе 25 мг/кг массы тела внутримышечно, силасина гидрохлорида в виде 2 %-го раствора в объеме 1,0–1,5 мл внутримышечно) после обработки слизистой ротовой полости кролика 0,05 %-м водным раствором хлоргексидина проводили забор биоптата слизистой ротовой полости размером 3×5 мм, который в дальнейшем транспортировали в среде Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), содержащей раствор гентамицина в рабочей концентрации (100 мкг/мл).

**Выделение и культивирование клеток буккального эпителия.** Выделение клеток осуществляли по методике миграции из эксплантата с модификациями [15]. В экспериментах использовали клетки 2–3 пассажей.

**Интернализация наночастиц клетками БЭ и иммуофлуоресцентный анализ.** Клетки, достигшие состояния монослоя, инкубировали с суперпарамагнитными наночастицами оксида железа (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) размерами менее 50 нм, покрытыми декстраном, в концентрации 150 мкг/мл в течение 24 ч в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора.

**Приготовление скаффолда и заселение его клетками БЭ.** Двухслойный скаффолд приготовлен на основе полигидроксизифиров. Внутренний слой сформировали из поли-L-лактид-капролактона (ПЛК) (70/30) (h=3,8 дл/г, Purac). Сплошная и непроницаемая для жидкости структура обеспечивала барьерную функцию и механическую прочность всей конструкции. Второй слой, на который были посеяны клетки, приготовлен на основе поли-L-лактид-гликолида (ПЛГ) (85/15) (h=3,13 дл/г, Purac). Стерилизацию скаффолдов выполняли методом озонирования. Скаффолд помещали в чашку Петри, ориентируя ПЛГ-слоем вверх. Клетки, помеченные наночастицами, в объеме питательной среды 200 мкл и с концентрацией 1·10<sup>6</sup> наносили на поверхность скаффолда и помещали на 3–4 ч в условия

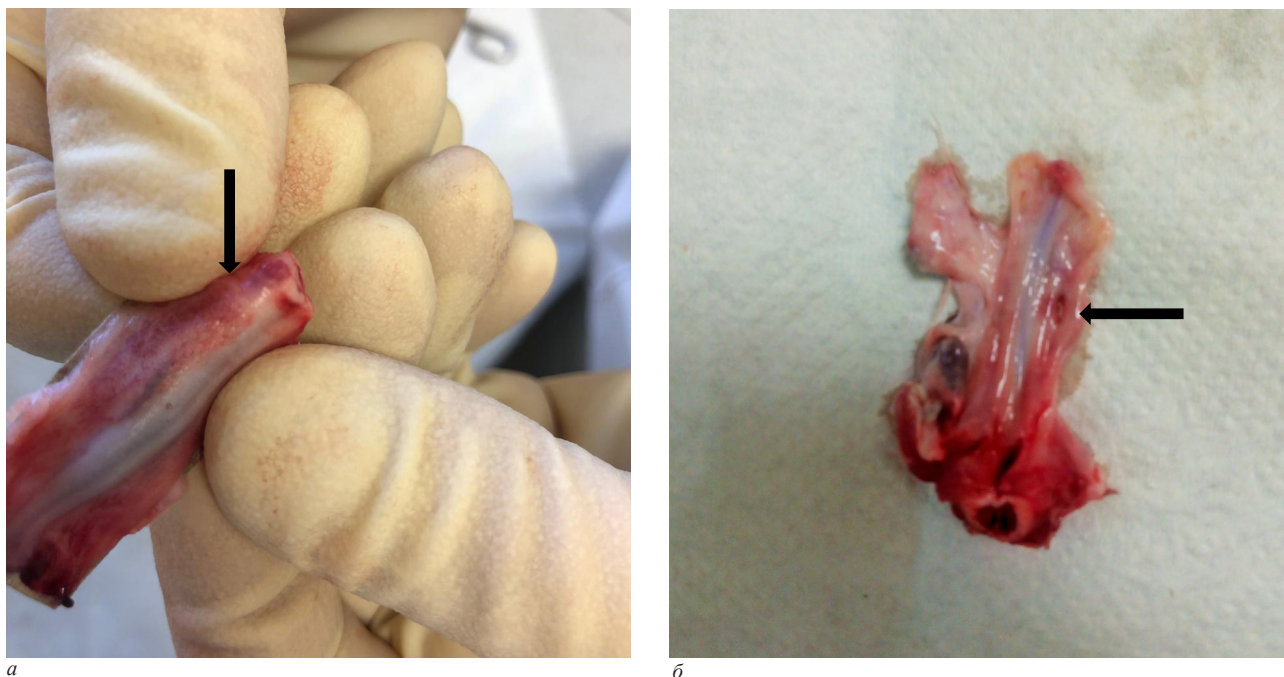


Рис. 1. Макроскопическая картина. Просвет уретры вскрыт продольно по вентральной поверхности: а – визуализируется зона имплантации ТИК; б – уретро-кожный свищ в зоне имплантации ТИК

Fig. 1. Macroscopic view. Urethra is opened by longitudinal incision in the ventral surface: а – the TEC implantation zone is visualized; б – urethrocutaneous fistula in the TEC implantation zone

#### Морфометрическая характеристика уретры кроликов через 3 месяца, мкм (M±m)

#### Morphometric characteristics of the urethra of rabbits 3 months later, $\mu\text{m}$ (M±m)

Показатель	Группа	
	интактные	ТИК с БЭ, 3 месяца
Толщина эпителия, мкм	(46,7±2,4)	(43,3±1,2)
Толщина слизистой оболочки, мкм	(276,7±13,2)	(433,3±62,6)*
Число сосудов в слизистой оболочке на 1 мм <sup>2</sup>	(10,3±0,2)	(10,7±1,0)
Диаметр сосудов слизистой оболочки, мкм	(28,3±2,4)	(36,7±2,4)
Толщина мышечной оболочки, мкм	(2666,7±170,6)	(1666,7±118,3)
Степень фиброза, баллы	(0,0±0,0)	(1,0±0,0)

\*\* – различия достоверны по сравнению с группой интактных кроликов  $p \leq 0,05$ .

СО<sub>2</sub>-инкубатора для адгезии. Оценку адгезии клеток осуществляли с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Japan). После адгезии аккуратно добавляли питательной среды и культивировали в условиях СО<sub>2</sub>-инкубатора в течение 3 суток, а затем имплантировали животным.

**Техника операции.** Под общей анестезией катетер Фолея № 6 по уретре заведен в полость мочевого пузыря, баллон раздут на 1,5 мл. Произведен продольный разрез кожи полового члена 3 см по вентральной поверхности, дорсолатерально слева выделена уретра со спонгиозным телом, по дорсальной поверхности создан дефект слизистой 7×2 мм. ТИК фиксирована к краям дефекта и белой оболочке кавернозных тел отдельными узловыми викриловыми швами 6/0. Гемостаз. Послойный шов раны. Асептическая наклейка. За 1 ч до операции проводили антибиотикопрофилактику: Цефазолин 10 мг/кг внутримышечно, в послеоперационном периоде также применяли Цефазолин 10 мг/кг 3 раза в сутки в течение 5 дней внутримышечно.

**Период наблюдения, эвтаназия и исследуемые данные (гистологические, уретрографии, исследование криосрезов).** Контроль массы тела животных проводили трехкратно: в день

забора биоптата, в день проведения уретропластики и через 12 недель после операции – перед эвтаназией. На 3-и сутки удаляли уретральный катетер. Кроликов выводили из эксперимента с использованием препаратов тилетамина гидрохлорид/золазепам гидрохлорид и миорелаксанта ксилазина гидрохлорида в дозах, в 5 раз превышающих терапевтическую.

После эвтаназии всем животным проводили ретроградную уретрографию, оценивали проходимость уретры, наличие или отсутствие сужения, дивертикула, а также экстрavasацию контрастного вещества. Исследование проводили на рентгенографическом цифровом аппарате АРЦ-«ОКО» по ТУ 9442-024-11150760-2008 (производства ЗАО «НИПК "Электрон"», Россия) с использованием контрастного вещества Омнипак 240 мг йода/мл. Производили макроскопическую оценку препарата – визуализировалась ли зона имплантации и непосредственно ТИК, участок сужения, наличие дивертикула или свища.

После окончания клинической фазы эксперимента стенку уретры от 3 кроликов фиксировали в 10 %-м растворе нейтрального формалина в течение 24 ч, далее были изготовлены парафиновые срезы 3–5 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином. При морфометрическом исследовании

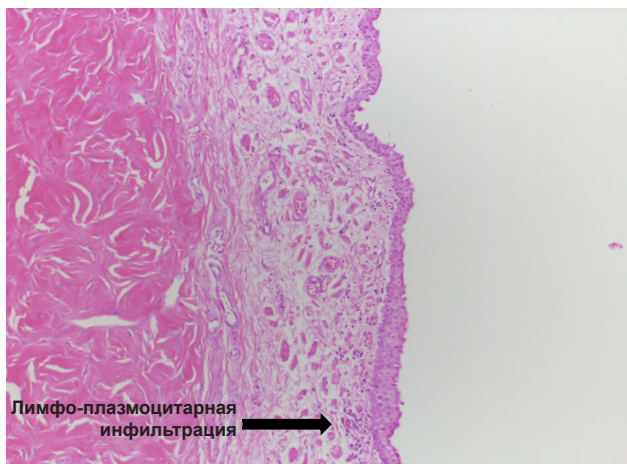


Рис. 2. Экспериментальная группа. Уретра. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 100$

Fig. 2. Experimental group. Urethra. Hematoxylin and Eosin staining, Magnification  $\times 100$

измеряли толщину эпителия, слизистой оболочки уретры, производили подсчет числа сосудов микроциркуляторного русла на  $1 \text{ мм}^2$  и диаметр просвета сосудов в подслизистой оболочке при помощи морфометрической линейки. Полуколичественно оценивали степень выраженности воспалительного инфильтрата лимфоцитами, гистиоцитами и плазматическими клетками. Морфологическое исследование проводили при помощи светооптического микроскопа Leica DM LS при увеличении 100 и 200. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Leica DC320.

Для обнаружения меченных наночастицами клеток образцы помещали в Tissue-Tek® (Sakura Finetek Europe BV, Alphen an den Rijn, Нидерланды) и хранили при температуре  $-80^\circ\text{C}$ . Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали, используя антитела, специфические для клеток уротелия (Anti-cytokeratin AE1/AE3 antibody, Clone AE1/AE3, Abcam, США) в разведении 1:100, также применяли окраску ядер DAPI. Флуоресцентные изображения получены с использованием конфокальной системы Olympus FV3000 (Япония).

Данные, полученные в результате исследования, подвергали статистической обработке методами вариационной статистики с определением показателей среднего значения (M), ошибки среднего (m), достоверности различий между группами сравнения с вычислением критерия Стьюдента (t) и уровня значимости ( $\alpha$ ), доверительного интервала (p). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Конфокальная микроскопия продемонстрировала высокий уровень интернализации клетками БЭ наночастиц. Все животные удовлетворительно перенесли имплантацию ТИК, заселенной аутологичными клетками БЭ, в дефект уретры. По данным ретроградной уретрографии, у 2 животных определялась экстравазация контрастного вещества за пределы просвета уретры. Других отклонений, таких как сужение и формирование дивертикула, выявлено не было. Макроскопическая картина уретры показана на рис. 1.

Зона имплантации визуализировалась у 8 животных, тогда как непосредственно ТИК не определялись (рис. 1, а). У 2 животных выявлены уретрокожные свищи в зоне имплантации ТИК (рис. 1, б).

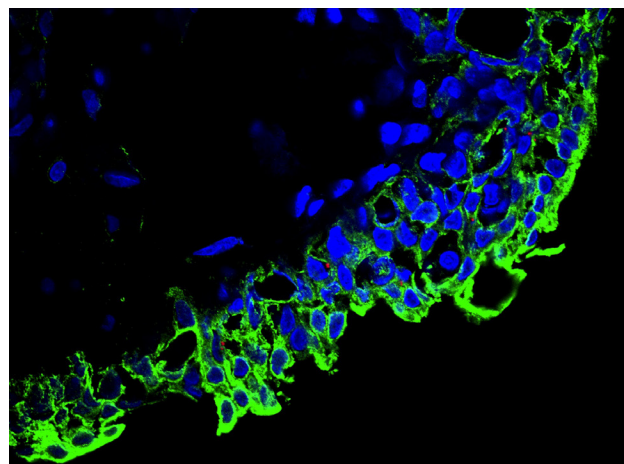


Рис. 3. Конфокальная микроскопия криосрезов (окраска на цитокератин – антитела Mouse anti Cytokeratin AE1/AE3, Biomedical systems)

Fig. 3. Confocal microscopy of cryoslices (staining for cytokeratin – Mouse anti Cytokeratin AE1/AE3, Biomedical systems)

Данные гистологического исследования уретры контрольной и экспериментальной групп кроликов приведены в таблице.

Из данных таблицы видно, что толщина слизистой оболочки и степень фиброза уретры в экспериментальной группе животных имели существенные отличия в сравнении с таковыми у интактных кроликов. По остальным оцениваемым параметрам достоверных отличий не обнаружено.

Наблюдалась слабовыраженная воспалительная инфильтрация, которая была представлена лимфоцитами, гистиоцитами и плазматическими клетками (рис. 2).

На рис. 2 продемонстрирована слабовыраженная лимфоплазматическая инфильтрация собственной пластинки слизистой.

С целью выявления присутствия в биоптате клеток, помеченных наночастицами, были приготовлены криосрезы (рис. 3).

Солокализация окрашенных на цитокератин и содержащих наночастицы клеток на сроке 12 недель свидетельствует о возможной дифференцировке клеток БЭ в клетки нео-уротелия (рис. 3). Подобной солокализации в мышечном слое не обнаружено.

**Обсуждение.** Создание клеточных ТИК в качестве материала для реконструктивных операций на уретре является одним из приоритетных направлений современной хирургии уретры. В нашем исследовании, основываясь на литературных данных и собственном опыте, для создания ТИК использовали скаффолд ПЛК-ПЛИГ, который не применялся ранее в других работах. В связи с тем, что на данный момент слизистая ротовой полости является оптимальным материалом для уретропластики, включение клеток БЭ в состав ТИК является обоснованным. Кроме того, применение ТИК с клетками БЭ показало свою эффективность в ряде

работ [7, 16–18]. К преимуществам использования клеток БЭ можно отнести малую травматичность и простоту забора материала, а также создание ТИК достаточного размера.

После имплантации ТИК в большинстве случаев имплантат обеспечил поддержание просвета уретры, необходимого для адекватного мочеиспускания. Наши результаты свидетельствуют, что клетки БЭ участвуют в восстановлении слизистой уретры, а скаффолд ПЛК-ПЛГ выполняет барьерную функцию, защищая их от воздействия агрессивной среды.

**Выводы.** 1. Разработанная тканеинженерная конструкция, заселенная клетками буккального эпителия, может быть рекомендована для дальнейших клинических исследований.

2. Данная конструкция может в будущем стать альтернативой буккального графта для уретропластики.

#### Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

#### Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Gallentine M. L., Morey A. F., Thompson I. M. Jr. Hypospadias : a contemporary epidemiologic assessment // *Urology*. 2001. Vol. 57, № 4. P. 788–790.
- Fossum M., Nordenskjöld A. Tissue-engineered transplants for the treatment of severe hypospadias // *Hormone research in paediatrics*. 2010. Vol. 73, № 2. P. 148–152.
- Santucci R. A., Joyce G. F., Wise M. Male urethral stricture disease // *The Journal of urology*. 2007. Vol. 177, № 5. P. 1667–1674.
- Incidence, causes, and complications of urethral stricture disease / M. Lazzeri, S. Sansalone, G. Guazzoni, G. Barbagli // *European Urology Supplements*. 2016. Vol. 15, № 1. P. 2–6.
- Gallegos M. A., Santucci R. A. Advances in urethral stricture management // *F1000Research*. 2016. Vol. 5. P. 2913.
- Chapple C. Tissue engineering of the urethra : where are we in 2019? // *World journal of urology*. 2019. Vol. 38. P. 2107.
- Ram-Liebig G., Barbagli G., Heidenreich A. et al. Results of use of tissue-engineered autologous oral mucosa graft for urethral reconstruction : a multicenter, prospective, observational trial // *EBioMedicine*. 2017. Vol. 23. P. 185–192.
- Versteegden L. R. M., Jonge P. K. de, Int'Hout J. et al. Tissue engineering of the urethra : a systematic review and meta-analysis of preclinical and clinical studies // *European urology*. 2017. Vol. 72, № 4. P. 594–606.
- СанПиН 2.2.1.3218-14. Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

- ГОСТ 33215-2014. Правила оборудования помещений и организации процедур при работе с лабораторными животными.
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 200н. Об утверждении правил надлежащей клинической практики.
- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 512н от 8 августа 2018 года. Об утверждении Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами.
- ГОСТ 33216-2014. Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами.
- ГОСТ Р 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики.
- Культирование клеток эпителия слизистой губы человека для аутологичной трансплантации при двустороннем синдроме лимбальной недостаточности роговицы / С. А. Борзенко, М. Ю. Герасимов, Д. С. Островский, Б. Э. Малугин // *Вестн. трансплантологии и искусств. органов*. 2019. Т. 21, № 3. С. 111–120. Doi: 10.15825/1995-1191-2019-3-111-120.
- Bhargava S., Patterson J. M., Inman R. D. et al. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty – clinical outcomes // *European Urology*. 2008. Vol. 53, № 6. P. 1263–1271.
- Mikami H., Kuwahara G., Nakamura N. et al. Two-layer tissue engineered urethra using oral epithelial and muscle derived cells // *The Journal of urology*. 2012. Vol. 187, № 5. P. 1882–1889.
- Горелова А. А., Муравьев А. Н., Виноградова Т. И. и др. Тканеинженерные технологии в реконструкции уретры // *Мед. Альянс*. 2018. № 3. P. 75–82.

#### REFERENCES

- Gallentine M. L., Morey A. F., Thompson I. M. Jr. Hypospadias: a contemporary epidemiologic assessment. *Urology*. 2001;57(4):788–790.
- Fossum M., Nordenskjöld A. Tissue-engineered transplants for the treatment of severe hypospadias. *Hormone research in paediatrics*. 2010;73(2):148–152.
- Santucci R. A., Joyce G. F., Wise M. Male urethral stricture disease. *The Journal of Urology*. 2007;177(5):1667–1674.
- Lazzeri M., Sansalone S., Guazzoni G., Barbagli G. Incidence, causes, and complications of urethral stricture disease. *European Urology Supplements*. 2016;15(1):2–6.
- Gallegos M. A., Santucci R. A. Advances in urethral stricture management. *F1000Research*. 2016;5:2913.
- Chapple C. Tissue engineering of the urethra: where are we in 2019? *World Journal of Urology*. 2019;38:2107.
- Ram-Liebig G., Barbagli G., Heidenreich A., Fahlenkamp D., Romano G., Rebmann U. et al. Results of use of tissue-engineered autologous oral mucosa graft for urethral reconstruction: a multicenter, prospective, observational trial. *EBioMedicine*. 2017;23:185–192.
- Versteegden L. R. M., de Jonge P. K., Int'Hout J., van Kuppevelt T. H., Oosterwijk E., Feitz W. F. et al. Tissue engineering of the urethra: a systematic review and meta-analysis of preclinical and clinical studies. *European urology*. 2017;72(4):594–606.
- Sanitary rules and norms 2.2.1.3218-14. Sanitary and epidemiological requirements for the design, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums). (In Russ.).
- State standard 33215-2014. Guidelines for accommodation and care of animals. Environment, housing and management. (In Russ.).
- Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of April 1, 2016 № 200n. On approval of the rules of good clinical practice. (In Russ.).
- Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 512n, August 8, 2018. On the approval of the rules of good practice for working with biomedical cellular products. (In Russ.).
- State standard 33216-2014 Guidelines for accommodation and care of animals. Species-specific provisions for laboratory rodents and rabbits (In Russ.).
- State standard P 33044-2014. Principles of good laboratory practice. (In Russ.).
- Borzenok S. A., Gerasimov M. Yu., Ostrovskiy D. S., Malyugin B. E. Culture of human labial mucosal epithelial cell for use in patients with bilateral limbal stem cell deficiency. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2019;21(3):111–120. (In Russ.). Doi: 10.15825/1995-1191-2019-3-111-120.
- Bhargava S., Patterson J. M., Inman R. D., MacNeil S., Chapple C. R. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty – clinical outcomes. *European Urology*. 2008;53(6):1263–1271.

17. Mikami H., Kuwahara G., Nakamura N., Yamato M., Tanaka M., Kodama S. Two-layer tissue engineered urethra using oral epithelial and muscle derived cells. *The Journal of urology*. 2012;187(5): 1882–1889.
18. Gorelova A. A., Muraviov A. N., Vinogradova T. I., Gorelov A. I., Yudin-  
ceva N. M., Orlova N. V., Nashchekina Yu. A., Hotin M. G., Lebedev  
A. A., Peshkov N. O., Yablonskij P. K. Tissue-engineered technologies  
in the urethra reconstruction. *Medical alliance*. 2018;3:75–82. (In Russ.).

### Информация об авторах:

**Горелова Анна Андреевна**, аспирант, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (Санкт-Петербург, Россия), ассистент, выполняющий лечебную работу, кафедра госпитальной хирургии, Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-7010-7562; **Муравьев Александр Николаевич**, кандидат медицинских наук, ученый секретарь, руководитель направления «Урология, гинекология и абдоминальная хирургия», Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (Санкт-Петербург, Россия), доцент кафедры хирургических болезней, Санкт-Петербургский медико-социальный институт (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6974-5305; **Виноградова Татьяна Ивановна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-5234-349X; **Горелов Андрей Игоревич**, доктор медицинских наук, профессор, зав. отделением урологии, Городская Покровская больница (Санкт-Петербург, Россия), профессор кафедры урологии Медицинского факультета, Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-2858-5317; **Юдинцева Наталия Михайловна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-7357-1571; **Нащекина Юлия Александровна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Институт цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-4371-7445; **Самусенко Игорь Алексеевич**, кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом высшей категории патолого-анатомического отделения, Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-0622-3515; **Яблонский Пётр Казимирович**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач Российской Федерации, директор, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (Санкт-Петербург, Россия), декан Медицинского факультета, Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-4385-9643.

### Information about authors:

**Gorelova Anna A.**, Postgraduate Student, Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (Saint Petersburg, Russia), Assistant performing medical work of the Department of Hospital Surgery, Saint Petersburg University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-7010-7562; **Muraviov Alexandr N.**, Cand. of Sci. (Med.), Academic Secretary, Supervisor in the field of «Urology, Gynecology and Abdominal Surgery», Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (Saint Petersburg, Russia), Associate Professor of the Department of Surgical Diseases, Saint-Petersburg Medico-Social Institute (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6974-5305; **Vinogradova Tatiana I.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Chief Research Fellow, Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-5234-349X; **Gorelov Andrey I.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Urology, Pokrovskaya Municipal Hospital (Saint Petersburg, Russia), Professor of the Department of Urology, Faculty of Medicine, Saint Petersburg state University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-2858-5317; **Yudin-tceva Natalia M.**, Cand. of Sci. (Biol.) Senior Research Fellow, Institute of Cytology RAS (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-7357-1571; **Nashchekina Yulia A.**, Cand. of Sci. (Biol.), Research Fellow, Institute of Cytology RAS (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-4371-7445; **Samusenko Igor A.**, Cand. of Sci. (Med.), Pathologist of the highest category of the Pathology Department, Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-0622-3515; **Yablonsky Petr K.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Director, Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (Saint Petersburg, Russia), Dean of the faculty of medicine, Saint Petersburg state University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-4385-9643.