

Ю.Г. Аляев,
д.м.н., профессор, член-корр. РАМН,
заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ
уронефрологии и репродуктивного здоровья человека,
заведующий кафедрой урологии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

А.З. Винаров,
д.м.н., заместитель директора по научной работе
НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья
человека, профессор кафедры урологии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

Н.А. Григорьев,
д.м.н., профессор кафедры урологии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

Е.А. Безруков,
д.м.н., доцент кафедры урологии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

М.И. Данилевский,
к.б.н., кафедра урологии первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

Д.В. Бутнару,
к.м.н., врач-уролог кафедры урологии Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

Г.А. Машин,
кафедра урологии первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

Yu.G. Alyaev,
MD, corresp. member of RAMS, prof., honored scientist
of Russia, director of the Research centre of uronephrology
and reproductive health, head of the chair of urology
of the First MSMU named after I.M. Sechenov

A.Z. Vinarov,
MD, deputy director for scientific work of the Research
centre of uronephrology and reproductive health,
prof. of the chair of urology of the First MSMU named
after I.M. Sechenov

N.A. Grigoriev,
MD, prof. of the chair of urology of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

E.A. Bezrukov,
MD, lecturer of the chair of urology of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

M.I. Danilevsky,
PhD, the chair of urology of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

D.V. Butnaru,
PhD, urologist of the chair of urology of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

G.A. Mashin,
the chair of urology of the First MSMU
named after I.M. Sechenov

ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ В ЛЕЧЕНИИ СТРИКТУР МОЧЕИСПУСКАТЕЛЬНОГО КАНАЛА

THE POSSIBILITIES OF TISSUE ENGINEERING IN THE TREATMENT OF URETHROSTENOSIS

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Андрей Зиновьевич Винаров, профессор кафедры урологии
Адрес: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 1 (Клиника урологии, 1 этаж)
Телефон: 8 (499) 248-72-66
E-mail: avinarov@mail.ru

Аннотация. В статье рассматриваются различные аспекты внедрения методов тканевой инженерии в клиническую практику лечения стриктур мочеиспускательного канала.

Annotation. The article deals with various aspects of the implementation methods of tissue engineering into clinical practice of treatment of urethral strictures.

Ключевые слова. Тканевая инженерия, стриктуры мочеиспускательного канала.

Key words. Tissue engineering, urethrostenosis.

Распространенность стриктур мочеиспускательного канала поддается лишь приблизительной оценке. В США стриктуры уретры диагностируют у 0,6% мужского населения, что приводит более чем к 5 тыс госпитализаций в год.

В период с 1992 по 2000 гг. было зарегистрировано около 1,5 млн обращений по поводу сужений уретры. Тем не менее по некоторым данным, заболеваемость стриктурами мочеиспускательного канала снижается, возможно, из-за общего сниже-

ния заболеваемости и возросшей эффективности анастомотических и замещающих уретропластик. Однако во многих неиндустриальных странах с развитым медицинским обслуживанием стриктуры уретры у мужчин имеют более выраженную распространенность [1].

Метаанализ литературы показал, что большинство стриктур (33%) имеют ятрогенное происхождение, идиопатические составляют 33%, травма — 19%, инфекционные стриктуры — 15% [2].

Стриктуры бульбозного отдела более частые и составляют 44–67% пациентов. Далее следуют стриктуры пенильного отдела — от 12 до 39%, пенильно-луковичные — от 6 до 28%, стриктуры наружного отверстия мочеиспускательного канала — около 23%, мембранозного отдела — около 20% и простатического — до 4% [3].

Стриктуры ладьевидной ямки чаще возникают в результате воспалительных процессов (33–47%), ятрогенные повреждения составляют 33–37%. Что касается стриктур висячего и бульбозного отдела, то идиопатические составляют 34%, ятрогенные — 32%, воспалительные — 20% и травматические — 14%. Стриктуры висячего отдела, как правило, нуждаются в заместительной уретропластике, в отличие от стриктур бульбозного отдела, которые обычно короче, что позволяет выполнить анастомоз конец в конец или увеличивающую анастомотическую уретропластику (Roof-strip) [3].

Внутренняя оптическая уретротомия (БОУ) и бужирование являются малоинвазивными методиками, которые могут оказаться эффективными для лечения коротких первичных стриктур — в основном луковичного отдела.

Успех лечения при использовании БОУ варьирует от 66 до 90%, но при анализе отдаленных результатах наблюдается прогрессивное снижение эффективности, что свидетельствует о нерадикальности метода. Риск возникновения рецидива возрастает при наличии предыдущего лечения, протяженных стриктурах (>2 см), сложных (сочетанных) стриктурах как бульбозного, так и пениального отдела, а также при наличии инфекции мочевых путей в предоперационном периоде [3].

Специфические противопоказания при БОУ включают в себя подозрения на карциному уретры, геморрагический диатез и острую инфекцию. Уровень рецидива может быть снижен благодаря обучению пациентов бужированию (Hydraulic Self-Dilation), катеризации или при выполнении регулярных последующих дилатаций в стационаре [3].

Stormont с коллегами [4] провели ретроспективное нерандомизированное исследование на 199 пациентах с короткими одиночными стриктурами бульбозного отдела уретры, которым была проведена бужирование или БОУ. Уровень успешного исхода за 3 года исследований составил 65% после

бужирования и 68% — после БОУ, что говорит о несущественных отличиях этих методик [4].

Изначально предполагалось, что лазерная абляция стриктуры может значительно сократить риск рецидива. Однако в последующем выяснилось, что уровень успешного исхода в различных исследованиях с применением лазера составил 90% после 6–12 месяцев и 75% — после 27 месяцев, или 76%, 67% и 54% после 6, 12 и 24 месяцев соответственно [5].

Поскольку вышепредставленные методы лечения не являются радикальными, предпочтение отдается различным видам уретропластик с использованием трансплантатов или лоскутов.

Начиная с конца XX века, большое распространение получила буккальная уретропластика, так как она имеет ряд преимуществ перед различными кожными трансплантатами. Буккальная уретропластика применяется в том числе при реконструкции коротких стриктур, благодаря относительной простоте в отношении хирургической техники, надежности и хорошим результатам.

В целом осложнения редко возникают после буккальной уретропластики. Послеоперационные осложнения могут проявиться в двух областях: в донорской зоне и в месте реконструкции уретры [6]. Потенциальные осложнения в месте забора трансплантата следующие: кровотечение, боль, отек тканей лица, повреждение протока околоушной слюной железы (Stensen) и/или губы, парестезии, а также ограничение подвижности в височно-нижнечелюстном суставе. Отеки лица и ограничения подвижности в височно-нижнечелюстном суставе самостоятельно проходят в течение первых трех месяцев [7, 8, 9, 10]. Гнойные осложнения в области послеоперационной раны промежности, гематомы, нарушения кожной чувствительности встречаются крайне редко [11].

Новый толчок для развития реконструктивной хирургии уретры дают современные возможности тканевой инженерии. Трансплантаты, сформированные с помощью искусственно выращенных тканей на основе собственных клеток, могут быть использованы для лечения сложных дефектов уретры. В частности, тубуляризированные тканеинженерные эквиваленты уретры, полученные с использованием аутологических клеток, демонстрируют гистологические и функциональные характеристики, сходные со свойствами неизменной уретры, и обеспечивают нормальный пассаж мочи в течение 6 лет наблюдений [12].

Уретра или ее часть, сформированная с помощью тканевой инженерии, может стать альтернативным материалом для пластики, что поможет избежать специфических осложнений в донорской зоне, связанных с использованием слизистой оболочки ротовой полости, а также решит вопрос с дефицитом ткани.

В процессе развития тканевой инженерии были разработаны различные методики, такие как реконструкция уретры с использованием готовых коллагеновых матриц [13], реконструкция уретры с использованием бесклеточного дермального трансплантата [14], восстановление дефектов уретры у кроликов с использованием бесклеточной подслизистой основы мочевого пузыря [15], а в 2007 году опубликована работа по замещению части уретры с использованием тубуляризированного коллагенового трансплантата с высеянными на него эпидермальными клетками [16].

В табл. 1 представлены, типы матриц, которые могут быть использованы для лечения стриктур мочеиспускательного канала.

Таблица 1

**Типы матриц,
используемых при лечении стриктур уретры**

Тип матрикса	Особенности	Пример использования (ссылка)
Бесклеточный моче-пузырный матрикс-bladder acellular matrix graft (BAMG)	Исследования in vitro, уротелиальные клетки и бесклеточный мочепузырный матрикс свиньи	[17]
	клетки слизистой оболочки ротовой полости кролика	[18]
	сравнительное исследование между использованием трансплантата слизистой оболочки щеки и бесклеточным матриксом мочевого пузыря	[20]
Стерильный донорский дермальный матрикс — sterilised donor de-epidermised dermis	5 пациентов со стриктурой уретры, клетки слизистой щеки	[19]
Поверхностно-модифицированный трехмерный рассасывающийся уретральный матрикс на основе поли-L-молочной кислоты (surface-modified three-dimensional poly-L-lactic acid (PLLA) scaffold) с моно-волоконном (non-knitted filaments)	Клетки уротелия	[21]
Рассасывающийся матрикс, на основе полигликолевой кислоты (polyglycolic acid:poly(lactide-co-glycolide acid) scaffolds)	Пять мальчиков, мышечные и эпителиальные клетки	[12]

В более ранних работах использовались только коллагеновые матрицы без высевания клеток [13].

Типы клеток, используемых в тканеинженерных конструкциях, для замещения дефектов уретры следующие:

- клетки слизистой оболочки ротовой полости;
- эпидермальные клетки;
- клетки уротелия.

В декабре 2008 года Lu MJ с соавт. [17] показали возможность формирования мочеиспускательного канала in vitro с использованием искусственно выращенных тканей.

В опыте использовались первичные клетки уротелия (UC), которые были получены из мочевого пузыря свиньи с помощью ферментной обработки (антигенные свойства были проверены при помощи ИФА и ПЦР). Далее клетки высевались на бесклеточный пузырный матрикс (BAMG). Через неделю культивирования in vitro клетки уротелия организовались в многослойную структуру на поверхности BAMG вдоль базальной мембраны.

Полученные авторами результаты позволили сделать вывод, что данная методика позволяет в короткие сроки создавать тканеинженерные конструкции, которые могут быть использованы для лечения таких дефектов уретры, как гипоспадия и стриктуры.

В 2008 году группой ученых (Li C. et al.) [18] проведено исследование на кроликах с целью оценки возможности замещения уретры путем использования клеток слизистой оболочки ротовой полости, высеянных на бесклеточный матрикс мочевого пузыря — bladder acellular matrix graft (BAMG).

Исследование показало, что клетки слизистой оболочки ротовой полости кролика могут быть культивированы in vitro в нужных количествах, и имеют хорошую биосовместимость с BAMG. Данный трансплантат, по мнению авторов, может быть новым материалом для реконструкции уретры.

В том же году другая группа ученых (Bhargava S. et al.) [19] опубликовала статью, в которой продемонстрированы клинические результаты уретропластики с использованием клеток слизистой щеки и донорского дермального трансплантата.

В исследовании участвовало пять пациентов со стриктурой уретры на фоне склеротического лихена (BXO — balanitis xerotica obliterans). Им произвели пластику с использованием аутологической слизистой щеки, полученную путем тканевой инженерии [autologous tissue-engineered buccal mucosa (TEBM)]. Из биоптатов слизистой щеки (0,5 см) были изолированы и культивированы кератиноциты и фибробласты, посаженные на стерильный донорский дермальный трансплантат (sterilised donor de-epidermised dermis). Через 7–10 дней удавалось получить нужную толщину трансплантатов. Данные трансплантаты были использованы для одно- или двух-этапной уретропластики (№ 2 и № 3 соответ-

ственно). Последующее динамическое наблюдение проводили через 2 и 6 недель, 3, 6, 9 и 12 месяцев, и каждые 6 месяцев после операции.

Длительность наблюдения в среднем составила 33,6 месяца (от 32 до 37 месяцев). При эндоскопическом осмотре первичная приживаемость трансплантата составила 100%. Впоследствии одному пациенту провели полное иссечение имплантированного мочеиспускательного канала, второму было проведено частичное иссечение трансплантата вследствие фиброза и гиперпролиферации тканей соответственно. Трое пациентов с ТЕВМ имели проходимую уретру, хотя все трое нуждались в проведении инструментальных вмешательств.

Также в 2008 году Atala A. et al. [20] провели рандомизированное сравнительное исследование между использованием трансплантата слизистой оболочки щеки и бесклеточным матриксом мочевого пузыря в лечении сложных стриктур переднего отдела уретры. 30 пациентов со стриктурами уретры в возрасте от 21 до 59 лет (в среднем 36,2) были включены в исследование. Длина стриктур колебалась от 2 до 18 см (в среднем 6,9); 11 пациентов имели стриктуру бульбарного отдела, 7 — стриктуры в пениальном отделе и 12 — комбинированные (луковично-пенильные) стриктуры. Из 30 больных 7 не имели в прошлом вмешательств по поводу заболеваний уретры, в то время как остальные 23 перенесли от 1 до 7 вмешательств (в среднем 1,9). Пациенты подверглись onlay-пластике с использованием либо слизистой оболочки щеки, либо бесклеточной матрицы мочевого пузыря.

Все пациенты, за исключением 2 (выбыли из исследования), наблюдались в течение 18–36 (в среднем 25) месяцев после выполненной уретропластики. У пациентов, перенесших менее двух операций, имеющих неизмененное уретральное ложе, результат применения трансплантата слизистой оболочки щеки был лучше (10 из 10). Подобные же результаты по проходимости уретры были получены при использовании бесклеточного пузырного матрикса (8 из 9). Среди пациентов с измененным уретральным ложем (более двух операций), только у 2 из 6 пациентов применение бесклеточной матрицы мочевого пузыря было успешным, в то время как у всех 5 пациентов с трансплантатом из слизистой оболочки щеки уретра была проходима. Урофлоуметрия показала значительное улучшение мочеиспускания в обеих группах. Биопсия трансплантата демонстрировала нормальное гистологическое строение уретры.

Данное исследование показало, что бесклеточный матрикс мочевого пузыря может быть использован для восстановления уретры. Лучшие результаты достигаются в применении бесклеточного матрикса мочевого пузыря у пациентов с неизмененным здоровым уретральным ложем, без спонгиоза и с хорошей слизистой оболочкой уретры.

В 2011 году появилось несколько работ, посвященных лечению стриктур уретры с использованием полимерных матриксов. Так, группа китайских авторов (Fu W.J. et al.) [21] опубликовала работу, в основе которой лежало применение поверхностно-модифицированного рассасывающегося уретрального матрикса, засеянного уретральными эпителиальными клетками. В исследовании использовалась слизистая оболочка уретры самцов новозеландских кроликов. Уротелий был разделен на единичные клетки и культивирован на клеточных средах. После формирования нужного объема клеточной массы клетки высевали на поверхностно-модифицированный трехмерный рассасывающийся уретральный матрикс на основе поли-L-молочной кислоты [surface-modified three-dimensional poly-L-lactic acid (PLLA) scaffold] с моно волокон (non-knitted filaments). После 3–5 дней культивирования отдельные эпителиальные клетки постепенно формировали скопления, напоминающие булжники. Волокна матрикса имели отличную биосовместимость, что позволяло уротелию расти, сохраняя его жизнеспособность. Через 3–7 дней клетки активно развивались, и ячейки матрикса заполнялись уротелием. Рассасывающийся уретральный матрикс на основе (PLLA) с моноволокон (non-knitted filaments) потенцирует рост уротелия и может служить новым материалом для реконструкции уретры.

Американские исследователи (Raya-Rivera A., Atala A. et al.) [12] опубликовали проспективное исследование, в котором была применена тканевая инженерия для создания аутологичных фрагментов мочеиспускательного канала. Пять мальчиков, у которых имелись те или иные дефекты уретры (стриктуры, облитерации) были включены в исследование. Каждому пациенту выполнялась открытая биопсия мочевого пузыря. Мышечные и эпителиальные клетки высевались на рассасывающийся матрикс на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA). Далее пациентам была проведена реконструкция мочеиспускательного канала с использованием тубуляризированной уретры (полученная путем тканевой инженерии). Цистоуретроскопию, цистоуретрографию и урофлоуметрию выполняли через 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 и 72 месяцев после операции. Эндоскопические биопсии осуществлялись через 3, 12 и 36 месяцев в разных отделах новой уретры. Пациенты были прооперированы в период с 19 марта 2004 года по 20 июля 2007 года. Период наблюдения был завершен 31 июля 2010 года. Средний возраст пациентов на момент операции составил 11 лет (от 10 до 14) и средний период наблюдения составил 71 месяц (от 36 до 76 месяцев). На этапе диагностики было подтверждено наличие клеток эпителиальной и мышечной линий во всех трансплантатах, скорость потока мочи составила 27,1 мл/с (диапазон 16–28), а рентгенологические и эндоскопические исследо-

вания показали нормальную проходимость уретры. Биопсия уретры выявила, что нормальная архитектура трансплантатов формируется на 3-й месяц после имплантации. Таким образом, тубуляризованные уретры, полученные путем тканевой инженерии, демонстрируют гистологические и функциональные характеристики, сходные с нормальной уретрой, и сохраняют нормальный пассаж мочи в течение 6 лет наблюдений.

Выводы. Применение методов тканевой инженерии в заместительной уретропластике является перспективным и активно развивающимся направлением. Их использование призвано сократить площадь донорской зоны, снизить частоту осложнений, получить трансплантат с характеристиками наиболее близкими к свойствам нормальной уретры. Тем не менее предстоит решить ряд проблем, прежде чем тканеинженерные конструкции найдут широкое применение в клинической практике.

Серьезным вопросом остается выбор оптимального матрикса, обеспечивающего эффективную адгезию клеток, отвечающего условиям биосовместимости и биodeградируемости. В конечном счете большинством авторов тканеинженерные трансплантаты рассматриваются как материал, временно закрывающий дефект, который со временем должен заместиться собственными тканями. С этой точки зрения наиболее перспективными представляются матриксы на основе биodeградируемых полимеров, таких как PLA (полимолочная кислота) и PLGA (сополимер молочной и гликолевой кислот).

Также остается проблема васкуляризации, особенно при закрытии протяженных дефектов, а ведь именно в этих случаях использование тканеинженерных конструкций является наиболее актуальным. Разные авторы предлагают свои решения данных проблем, прежде всего они заключаются в модификациях и обработке матриксов веществами, улучшающих прикрепление клеток, стимулирующих прорастание сосудов и регенерацию.

Всестороннее рассмотрение имеющихся проблем и их полноценное решение являются залогом успешного внедрения методов тканевой инженерии в клиническую практику лечения стриктур мочеиспускательного канала.

Список литературы

1. Santucci R.A., Joyce G.F., Wise M. Male urethral stricture disease // J. Urol. — 2007. — Vol. 177. — P. 1667–1674.
2. Pansadoro V., Emiliozzi P. Iatrogenic prostatic urethral strictures: classification and endoscopic treatment // Urology — 1999. — Vol. 53. — P. 784–789.
3. Steven B., Brandes M.D. FACS. — Washington, 2008.
4. Stormont T.J., Suman V.J., Oesterling J.E. Newly diagnosed bulbar urethral strictures: etiology and outcome of various treatments // J. Urol. — 1993. — Vol. 150. — P. 1725–1728.
5. Gurdal M., Tekin A., Yucebas E., Kirecci S., Sengor F. Contact neodymium: YAG laser ablation of recurrent urethral strictures using a side-firing fiber // J. Endourol. — 2003. — Vol. 17. — P. 791–794.
6. Andrich D.E., Mundy A.R. Substitution urethroplasty with buccal mucosal-free grafts // J. Urol. — 2001. — Vol. 165. — P. 1131–1133.
7. Bhargava S., Chapple C.R. Buccal mucosal urethroplasty: Is it the new gold standard? // BJU Int. — 2004. — Vol. 93. — P. 1191–1193.
8. Kane C.J., Tarman G.J., Summerton D.J., Buchmann C.E., Ward J.F., O'Reilly K.J. et al. Multi-institutional experience with buccal mucosa onlay urethroplasty for bulbar urethral reconstruction // J. Urol. — 2002. — Vol. 167. — P. 1314–1317.
9. Tolstunov L., Pogrel M.A., McAninch J.W. Intraoral morbidity following free buccal mucosal graft harvesting for urethroplasty // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. — 1997. — Vol. 84. — P. 480–482.
10. Eppley B.L., Keating M., Rink R. A buccal mucosal harvesting technique for urethral reconstruction // J. Urol. — 1997. — Vol. 157. — P. 1268–1270.
11. Zimmerman W., Richard A. Santucci. Buccal mucosa urethroplasty for adult urethral strictures // Britt. — 2011.
12. Raya-Rivera A., Esquiliano D.R., Yoo J.J., Lopez-Bayghen E., Soker S., Atala A. Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study. — 2011.
13. El-Kassaby A.W., Retik A.B., Yoo J.J., Atala A. Urethral stricture repair with an off-the-shelf collagen matrix // J. Urol. — 2003. — Vol. 169(1). — P. 170–173.
14. Lin J., Hao J.R., Jin J., Deng S.M., Hu J., Na Y.Q. Homologous dermal acellular matrix graft for urethral reconstruction in man (report of 16 cases) // Zhonghua Yi Xue Za Zhi — 2005. — Vol. 85(15). — P. 1057–1059.
15. Wang Y.Q., Li Y.Q., Liu L.Q., Xu J.J., Huo R., Li Q., Li S.K. Rabbit urethral defect repair with freeze-dried acellular bladder submucosa // BJU Int. — 2005. Vol. 21(1). — P. 62–65.
16. Fu Q., Deng C.L., Liu W., Cao Y.L. Urethral replacement using epidermal cell-seeded tubular acellular bladder collagen matrix // BJU Int. Zhonghua Yi Xue Za Zhi — 2007. — Vol. 99(5). — P. 1162–1165.
17. Lu M.J., Wang Z., Zhou G.D., Yu B., Liu W., Cao Y.L. Construction of urethra mucosa structure in vitro by tissue engineering. — Shanghai, 2008.
18. Li C., Xu Y., Song L., Cui L., Yin S. A preliminary experimental study on urethral reconstruction using tissue engineered oral mucosa. — Shanghai, 2008.
19. Patterson J.M., Inman R.D., MacNeil S., Chapple C.R. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes // Urodynamics and Female Urology — 2008.
20. El-Kassaby A., Shwareb T., Atala A. Randomized comparative study between buccal mucosal and acellular bladder matrix grafts in complex anterior urethral strictures. — Winston-Salem, 2008.
21. Fu W.J., Wang Z.X., Li G., Zhang B.H., Zhang L., Hu K., Hong B.F., Wang X.X., Cui F.Z., Zhang X. A surface-modified biodegradable urethral scaffold seeded with urethral epithelial cells. — Beijing, 2011.