

DOI: 10.15690/vramn771

И.А. Васютин, А.В. Люндуп, А.З. Винаров, Д.В. Бутнару, С.Л. Кузнецов

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
Москва, Российская Федерация

Реконструкция уретры с помощью технологий тканевой инженерии

Стриктура уретры — заболевание, характеризующееся патологическим сужением мочеиспускательного канала. Лечение, как правило, предполагает хирургическое вмешательство с использованием аутологических трансплантатов и лоскутов (уретропластика). Источниками трансплантатов обычно служат различные ткани самого пациента — генитальная и экстрагенитальная кожа, слизистая оболочка щęki, влагалищная оболочка яичка и др. Альтернативным, щадящим для пациента, подходом может быть использование технологии тканевой инженерии: создание трансплантатов для уретропластики в лабораторных условиях с использованием аутологических клеток пациента и биосовместимого матрикса. В обзоре представлены современные достижения тканевой инженерии для создания трансплантатов для уретропластики, обсуждаются преимущества и недостатки альтернатив при выборе как клеточного компонента, так и матрикса будущей конструкции. Представлен обзор клинических исследований, проведенных в области тканевой инженерии уретры.

Ключевые слова: тканевая инженерия, уретропластика, уретра, регенеративная медицина, матрица, аутологичные клетки.

(Для цитирования: Васютин И.А., Люндуп А.В., Винаров А.З., Бутнару Д.В., Кузнецов С.Л. Реконструкция уретры с помощью технологий тканевой инженерии. *Вестник РАМН.* 2017;72(1):17–25. doi: 10.15690/vramn771)

Введение

Стриктурой уретры является сужение уретры вследствие ишемического спонгиоза [1]. Это заболевание представляет собой значимую медицинскую проблему, а его распространенность в развитых странах может достигать 6 случаев на 1000 лиц мужского пола [2]. Выбор хирургического лечения зависит от протяженности и локализации стриктуры, выраженности спонгиоза, предшествующего лечения и других факторов. При хирургическом лечении чаще всего используется анастомотическая или, в случае протяженных стриктур, заместительная уретропластика. При заместительной уретропластике в качестве источника лоскутов и трансплантатов могут выступать различные ткани пациента — генитальная или экстрагенитальная кожа, буккальная слизистая, влагалищная оболочка яичка [3]. Несмотря на то, что уретропластика с использованием аутологических тканей пациента продемонстрировала достаточно высокую эффективность, существуют по крайней мере две проблемы, которые диктуют поиск альтернативных источников трансплантатов, а именно морбидность в донорской зоне и дефицит тканей при протяженных и рецидивных стриктурах мочеиспускательного канала.

Тканевая инженерия — это направление регенеративной медицины, основной целью которой является создание биоэквивалентов органов и тканей с использованием клеток, материалов и сигнальных молекул для клинического применения. За 30 лет существования инновационной технологии был достигнут прогресс в изучении подходов к созданию новых органов, а также проведен целый ряд клинических исследований [4]. Так, в случае поражения значительного участка уретры восполнить нехватку ткани для заместительной уретропластики можно при помощи методов тканевой инженерии путем создания трансплантата необходимого размера при наличии даже небольшого количества аутологичного клеточного материала [5].

В настоящей работе представлены не только основные компоненты, необходимые для создания инновационной конструкции для заместительной уретропластики, но и различные подходы в ее дизайне, а также обзор выполненных в этой области клинических исследований.

Гистология

Гистология уретры

Стенка уретры состоит из слизистой, подслизистой основы и мышечной оболочки. Эпителий слизистой

I.A. Vasyutin, A.V. Lyundup, A.Z. Vinarov, D.V. Butnaru, S.L. Kuznetsov

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Urethra Reconstruction with Tissue-Engineering Technology

Urethral stricture is a disease characterized by a pathological narrowing of the urethra. Treatment for this condition often requires surgery using autologous grafts (urethroplasty). It is common practice to use patient's own tissue like genital and extragenital skin, tunica vaginalis, buccal mucosa as a source of the graft. Alternative and safer approach is to use tissue-engineered graft created in a laboratory using patient's autologous cells and biocompatible matrix (scaffold). The article presents the up-to-date achievements in lab-created tissue-engineered graft, describes all components needed to build a tissue-engineered structure of the graft for urethroplasty, and summarizes authors' thoughts on advantages and disadvantages of various approaches to choose both cellular component and the matrix of future construction. The article reviews clinical studies conducted in the field of tissue engineering of the graft material for urethroplasty.

Key words: tissue engineering, urethra, reconstructive surgical procedures, regenerative medicine.

(For citation: Vasyutin IA, Lyundup AV, Vinarov AZ, Butnaru DV, Kuznetsov SL. Urethra Reconstruction with Tissue-Engineering Technology. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2017;72(1):17–25. doi: 10.15690/vramn771)

оболочки уретры — уротелий — имеет многообразную структуру в разных отделах: переходный — в предстательном, многорядный неороговевающий — в перепончатом и губчатом отделах до ладьевидной ямки, где он сменяется многослойным ороговевающим. Подслизистая уретры имеет развитую сеть широких венозных сосудов и содержит большое количество эластических волокон. Мышечная оболочка хорошо представлена в проксимальном отделе уретры, в то время как в губчатом отделе находятся только отдельные пучки гладких миоцитов [6, 7].

Гистоархитектоника тканеинженерной конструкции

Тканевая инженерия трубчатых органов, таких как уретра, в общем случае представляет собой создание двухслойной трубки [4]. Такая конструкция состоит из трех основных компонентов — эпителиальных клеток, клеток подслизистой основы и матрикса (скаффолд). Внутренний слой трубки выстлан эпителиальными клетками. Эти клетки должны быть хорошо прикреплены к матриксу и взаимодействовать друг с другом посредством плотных контактов для создания непроницаемого эпителиального барьера со стороны внутренней полости уретры. Внешний слой конструкции несет поддерживающую функцию и состоит из биоразлагаемого матрикса и клеточных элементов стромы. В тканевой инженерии трансплантата для уретропластики в качестве клеток стромы используются фибробласты или гладкомышечные клетки, при этом наиболее предпочтительны последние как обеспечивающие большую эластичность конструкции [8]. Одноэтапная круговая уретропластика, т.е. пластика трансплантатом трубчатой формы, сопряжена с высокой частотой рецидивов стриктур, особенно стриктур спонгиозной уретры, поэтому оперативное вмешательство, как правило, выполняется техникой накладки плоского трансплантата [3]. При изготовлении тканеинженерного трансплантата для пластики техникой накладки тубуляризации не требуется, и тканевая инженерия сводится к созданию плоского двухслойного эквивалента слизистой ткани, заселенного эпителиальными (на слизистой оболочке) и гладкомышечными клетками или фибробластами (в толще серозной оболочки) (рис. 1).

Источники клеток в тканевой инженерии трансплантата для уретропластики

Одним из преимуществ тканевой инженерии в сравнении с трансплантацией аллогенных органов является возможность создания новых тканей, используя собственные клетки реципиента. Аутологичные клетки в сочетании с биосовместимым матриксом минимизируют риск иммунологического отторжения трансплантата. Существует

несколько источников аутологичных клеток, которые могут быть использованы в тканевой инженерии трансплантата для уретропластики (табл. 1).

Уротелий и гладкомышечные клетки мочевого пузыря

Гистология мочевого пузыря очень схожа с гистологией уретры. Его стенка состоит из уротелия, тонкой подслизистой основы и слоя пучков гладких миоцитов [7]. Таким образом, небольшой кусок биопсии мочевого пузыря позволяет получить клетки обоих типов, необходимых для тканевой инженерии уретры. Затем эти клетки можно нарастить *in vitro* в течение 3–6 нед для получения количества, достаточного для создания конструкции. Существует несколько протоколов биопсии мочевого пузыря [19–21]. Несмотря на то, что эта процедура и была оптимизирована в последние годы, она остается достаточно болезненной и неприятной для пациентов [22]. Другим ограничением к использованию этого источника клеток служит несовершенство методов культивирования эпителиальных клеток мочевого пузыря. Так, современные протоколы требуют использования фидерного (питающего) слоя или среды после экспозиции фибробластоподобных клеток, что, с одной стороны, потенциально может быть небезопасным для клинического применения, а с другой — ассоциировано со значительными трудностями культивирования [21, 23].

Слизистая оболочка щеки

В последнее время слизистая оболочка щеки наиболее часто используется в качестве источника материала для заместительной уретропластики при протяженных стриктурах [24, 25]. Буккальная уретропластика применяется при множественных и рецидивных патологических сужениях внутреннего просвета мочеиспускательного канала, а также при стриктурах любой протяженности. Клинические исследования демонстрируют высокую эффективность буккальной уретропластики, которая зачастую превышает 90% [24]. Оральный эпителий функционально близок к уротелию: оба вида эпителия защищают подлежащие ткани от агрессивной жидкой среды. Гистологические исследования трансплантатов, полученных из слизистой оболочки щеки, показали их хорошее приживание в органах мочевой системы (мочевой пузырь и уретра) без развития осложнений в отделенном периоде и без метаплазии эпителия [26, 27]. Неудивительно, что одним из подходов тканевой инженерии трансплантатов для уретропластики стало изготовление инновационной конструкции слизистой оболочки щеки [28]. Хирургическая процедура забора ткани слизистой оболочки щеки, в сравнении с мочевым пузырем, менее инвазивна и болезненна, а культивирование оральных кератиноцитов *in vitro* значительно проще в сравнении с получением эпителиальных клеток уротелия [29]. В то же время слизистая

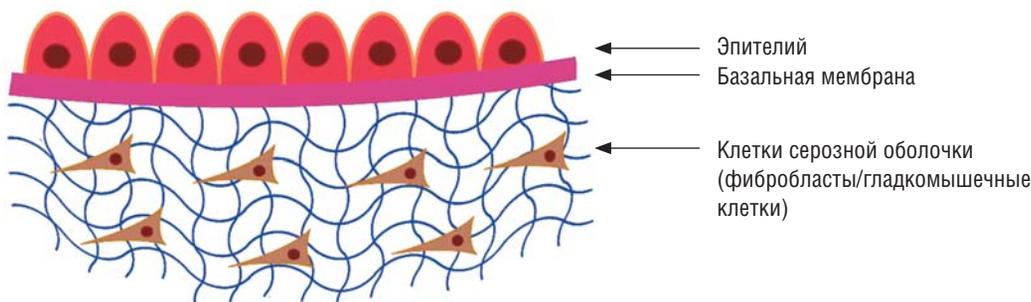


Рис. 1. Схема стенки тканеинженерной конструкции двухслойного трансплантата для уретропластики

Таблица 1. Источники аутологических клеток, которые могут быть использованы в тканевой инженерии трансплантата для уретропластики

Источник	Типы клеток для тканевой инженерии уретры	Преимущества использования	Ограничения	Примеры исследований тканеинженерных конструкций
Мочевой пузырь	Уротелий, гладкомышечные клетки	Возможность получения клеток того же типа, что и клетки нативной уретры	Необходимость болезненной биопсии, сложность культивирования уротелиальных клеток	1. Клиническое исследование конструкции, изготовленной из деэпителизированной дермы, заселенной уротелиальными клетками [9] 2. Клиническое исследование конструкции, изготовленной из полимерного матрикса, заселенного уротелиальными и гладкомышечными клетками [10] 3. Доклиническое исследование, проведенное на собаках, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного уротелиальными и гладкомышечными клетками [8] 4. Доклиническое исследование, проведенное на кроликах, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного уротелиальными и гладкомышечными клетками [11]
Слизистая оболочка щеки	Оральный эпителий, фибробласты	Относительная простота биопсии и протоколов культивирования клеток	Необходимость биопсии	1. Клиническое исследование конструкции, изготовленной из деэпителизированной дермы, заселенной оральными кератиноцитами и фибробластами [12] 2. Доклиническое исследование, проведенное на кроликах, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного оральными кератиноцитами [13] 3. Доклиническое исследование, проведенное на собаках, конструкции, изготовленной из коллагенового матрикса, заселенного оральными кератиноцитами и мышечными клетками [14] 4. Доклиническое исследование, проведенное на собаках, конструкции, изготовленной из фибринового матрикса, заселенного оральными кератиноцитами и фибробластами [15]
Стволовые клетки жировой ткани	Уротелий, гладкомышечные клетки	Возможность получения клеток того же типа, что и клетки уретры	Необходимость биопсии, дифференцировки	Доклиническое исследование, проведенное на кроликах, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного эпителиальными и гладкомышечными клетками, полученными после дифференцировки стволовых клеток жировой ткани [16]
Стволовые клетки, полученные из мочи	Уротелий, гладкомышечные клетки	Возможность получения клеток того же типа, что и клетки уретры; возможность получения клеток без биопсии; относительно простой протокол дифференцировки в клетки уротелия	Необходимость дифференцировки	1. <i>In vitro</i> исследование конструкции, изготовленной из слизистой оболочки тонкого кишечника, заселенного уротелиальными и гладкомышечными клетками, полученными после дифференцировки стволовых клеток, выделенных из мочи человека [17] 2. <i>In vitro</i> исследование конструкции, изготовленной из бактериальной целлюлозы, заселенной уротелиальными и гладкомышечными клетками, полученными после дифференцировки стволовых клеток, выделенных из мочи человека [18]
Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки	Уротелий, гладкомышечные клетки	Возможность получения клеток того же типа, что и клетки уретры	Сложный протокол дифференцировки, неразрешенные проблемы с безопасностью iPS	-

оболочка щеки не содержит в своей строме гладкомышечных клеток человека. Вместо них в тканеинженерной конструкции используются фибробласты. Эффективность самой конструкции слизистой оболочки щеки, в сравнении с конструкцией уретры, для заместительной уретропластики остается под вопросом, поскольку до сих пор не проведено исследований, сравнивавших бы два вида трансплантатов.

Стволовые клетки

Целью ряда исследований было получение клеток для тканевой инженерии органов мочевой системы и, в частности, уретры через дифференцировку постнатальных стволовых клеток. В качестве стловых клеток использовались относительно простые в получении стволовые клетки из жировой ткани, экспрессирующие на своей поверхности маркеры мезенхимальных стромальных кле-

ток. Во многих исследованиях показана возможность дифференцировки стволовых клеток, полученных из жировой ткани, в клетки костной, хрящевой, жировой ткани, кардиомиоциты и клетки эпителия [30–32]. J.G. Shi и соавт. проводили дифференцировку стволовых клеток, полученных из жировой ткани, в клетки уротелия, культивируя их на протяжении 14 дней в среде, кондиционированной культурой клеток нативного уротелия. После культивирования в таких условиях клетки приобретали форму эпителиоцитов и экспрессировали специфические маркеры уротелиальных клеток (cytokeratin-18, uroplakin-2) [33]. Дифференцировка постнатальных стволовых клеток в гладкомышечные клетки также возможна. В ряде исследований показано, что добавление к среде факторов роста PDGF и TGF- β 1 или культивирование в среде, кондиционированной гладкомышечными клетками, индуцирует дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток костного мозга или стволовых клеток, полученных из жировой ткани, в гладкие миоциты [34–36]. После культивирования в таких условиях клетки экспрессировали маркеры гладкомышечных клеток (α -SM actin, smoothelin, desmin).

Стволовые клетки для тканевой инженерии уретры могут быть получены через неинвазивную процедуру забора мочи. Недавно было показано, что нормальная моча человека содержит небольшую популяцию «рисоподобных» клеток с высоким пролиферативным потенциалом [37, 38], названных стволовыми клетками, полученными из мочи (СКМ) (рис. 2). Эти клетки экспрессируют традиционные маркеры мезенхимальных стромальных клеток (CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, CD105, CD166), имеют время удвоения популяции 20–30 ч и могут быть культивированы на протяжении 20 пассажей [39]. Предполагается, что стволовые клетки в моче являются париетальными стволовыми клетками клубочков почки: и те, и другие имеют одинаковые профили экспрессии маркеров коры почки (CD224, CD13, NR3C2 и рах8) [39]. Стволовые клетки, полученные из мочи, имеют широкий дифференцировочный потенциал, а в контексте тканевой инженерии уретры эти клетки могут быть дифференцированы в клетки уротелия и гладкие миоциты [39]. Культивирование стволовых клеток, полученных из мочи, в среде с высокой концентрацией эпидермального фактора роста на протяжении 14 дней индуцирует экспрессию уроплакинов Ia/III, СК-7, СК-13, СК-20. Также уротелиальная дифференцировка подтверждается функциональным тестом на способность полученных клеток

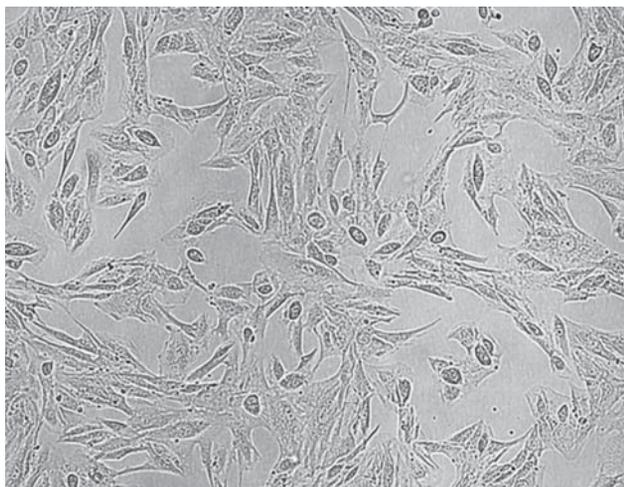


Рис. 2. Культуры человеческих стволовых клеток, полученных из мочи (микрофотография, световая микроскопия, $\times 100$)

образовывать барьер. Дифференцировка стволовых клеток, полученных из мочи, в гладкие миоциты проводится культивированием первичных клеток в среде с факторами роста PDGF и TGF- β 1 на протяжении 14 дней. Полученные клетки экспрессируют специфические маркеры гладких миоцитов и становятся способны к сокращению [39, 40].

Еще одним возможным способом получения клеток для тканевой инженерии уретры является дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPS-клетки) в клетки уротелия и гладкие миоциты [41, 42]. Для получения клеток уротелия S.L. Osborn и соавт. [41] вначале проводили *in vitro* дифференцировку iPS-клеток в клетки эндодермы, а затем дифференцировали полученные клетки в клетки уротелия, используя среду *uromedium*. Следует отметить, что протокол дифференцировки iPS-клеток в уротелий занимает длительное время — 33 дня [41]. Процесс дифференцировки iPS-клеток в гладкие миоциты происходит быстрее и занимает 14 дней [42]. Недостатком подхода получения клеток для тканеинженерной конструкции из iPS-клеток служит его трудоемкость, так как для выполнения требуется получение самих iPS-клеток из соматических клеток реципиента. Кроме того, для внедрения iPS-клеток в клинику до сих пор не решены вопросы безопасности, связанные с использованием онкогенов для их получения и риском образования тератом.

Матрицы

В тканевой инженерии матрицы не только играют роль временного структурного каркаса для адгезии и пролиферации клеток, но также несут механическую функцию до того момента, когда его материал будет замещен вновь созданным эндогенным межклеточным матриксом нативной ткани. Для выполнения этой функции матрицы, с одной стороны, должны иметь пористую структуру с поверхностью, позволяющей клеткам прикрепляться и пролиферировать, а с другой — не уступать в прочности нативной ткани. Тканеинженерная конструкция для уретропластики может быть изготовлена из плоского фрагмента пористого материала с помощью тубуляризации и заселения клеток: эпителиальных — на внутреннюю поверхность трубки, гладких миоцитов или фибробластов — на внешнюю. В случае формирования тканеинженерной заплатки (а не трубки) тубуляризация не нужна.

Перед выбором матрикса для тканевой инженерии уретры необходимо учесть следующие свойства материала:

- 1) биосовместимость: материал матрикса, а также продукты его деградации не должны вызывать антигенного и воспалительного ответа после имплантации;
- 2) клеточная совместимость: материал матрикса должен позволять рост и пролиферацию клеток на нем;
- 3) токсичность: матрикс и его продукты деградации должны быть безопасными и нетоксичными для реципиента;
- 4) деградация: материал матрикса должен быть биоразлагаемым и биорассасываемым, при этом процесс деградации должен происходить за определенный период времени — параллельно процессу формирования нативной ткани;
- 5) прочность: так как механические свойства конструкции в большинстве своем обусловлены матриксом, последний должен быть достаточно прочным для обеспечения механической функции трансплантата в первое

время после операции; кроме того, его целостность не должна страдать при сшивании и растягивании с целью удобства во время хирургических манипуляций;

- б) пористость: матрикс должен быть пористым, при этом поры должны иметь достаточные связи между собой, чтобы позволить клеткам расти внутри матрикса, а также обеспечивать обмен питательных веществ и продуктов жизнедеятельности.

Матрикс, используемые в тканевой инженерии, по типу тканей можно разделить на децеллюляризованные и созданные из натуральных и/или синтетических полимеров, при этом оба типа имеют свои преимущества и недостатки (табл. 2).

Децеллюляризованные ткани млекопитающих

Эти матриксы являются тканями млекопитающих, прошедшими процедуры децеллюляризации и стерилизации для того, чтобы удалить клеточный компонент и сделать матрикс биосовместимым и безопасным для применения в тканевой инженерии. Оставшийся после децеллюляризации матрикс состоит из различных типов коллагена, который не вызывает антигенного или воспалительного ответа [47, 48]. В тканевой инженерии уретры к наиболее часто используемым матриксам на основе децеллюляризованных тканей относятся децеллюляризованный мочевой пузырь, децеллюляризованное губчатое тело, слизистая оболочка тонкого кишечника (СТК) свиньи и децеллюля-

Таблица 2. Преимущества и недостатки матриксов, используемых в тканевой инженерии

Тип матрикса	Преимущества	Недостатки	Примеры исследований тканеинженерных конструкций
<i>Децеллюляризованные ткани</i>			
Децеллюляризованный мочевой пузырь	Высокое сходство с межклеточным матриксом уретры, высокая клеточная совместимость	Низкая доступность, сложность стандартизации получения, возможные проблемы с безопасностью	1. Доклиническое исследование, проведенное на собаках, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного уротелиальными и гладкомышечными клетками [8] 2. Доклиническое исследование, проведенное на кроликах, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного уротелиальными клетками [43] 3. Доклиническое исследование, проведенное на кроликах, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного мочевого пузыря, заселенного оральными кератиноцитами [13]
Децеллюляризованное губчатое тело	Идентичность межклеточным матриксам уретры, высокая пористость, высокая клеточная совместимость	Низкая доступность, сложность стандартизации получения, возможные проблемы с безопасностью	Доклиническое исследование, проведенное на кроликах, конструкции, изготовленной из децеллюляризованного губчатого тела, заселенного оральными кератиноцитами и гладкомышечными клетками [44]
Дезэпителизованная дерма	Доступность, высокое сходство с межклеточным матриксом слизистой оболочки щеки, высокая клеточная совместимость	Возможные проблемы с безопасностью	1. Клиническое исследование конструкции, изготовленной из дезэпителизованной дермы, заселенной уротелиальными клетками [9] 2. Клиническое исследование конструкции, изготовленной из дезэпителизованной дермы, заселенной оральными кератиноцитами и фибробластами [12]
Слизистая оболочка тонкого кишечника	Доступность	Низкая пористость, хрупкость, возможные проблемы с безопасностью	1. <i>In vitro</i> исследование конструкции, изготовленной из слизистой оболочки тонкого кишечника (СТК), заселенного уротелиальными и гладкомышечными клетками [45] 2. Конструкция из СТК, заселенная уротелиальными клетками в биореакторе [46]
<i>Матрикс на основе полимеров</i>			
Синтетические полимеры	Доступность, безопасность, прочность, вариабельность структурных и механических характеристик	Низкая клеточная совместимость	Клиническое исследование конструкции, изготовленной из PLGA, заселенной уротелиальными и гладкомышечными клетками [10]
Коллаген	Доступность, безопасность, клеточная совместимость	Низкая прочность	Доклиническое исследование, проведенное на собаках, конструкции, изготовленной из коллагенового матрикса, заселенного оральными кератиноцитами и мышечными клетками [14]
Гибридные матриксы	Доступность, безопасность, прочность, вариабельность структурных и механических характеристик, клеточная совместимость	Сложность изготовления	

ризированная дерма [49]. Децеллюляризованная основа тканей мочевого пузыря и губчатого тела для создания тканеинженерной конструкции уретры имеет значительные преимущества в сравнении с другими матриксами за счет схожих с уретрой структуры межклеточного матрикса и механических свойств. Кроме того, эти матриксы уже имеют базальную мембрану, которая играет важную роль в прикреплении эпителиальных клеток и организации эпителия [49]. В свою очередь, при создании тканеинженерной конструкции слизистой оболочки щеки, как правило, используется деэпителизованная дерма [19].

Прикрепление клеток к децеллюляризованным тканям и последующая пролиферация происходят быстрее, чем на матриксах, изготовленных из синтетических материалов [47]. Частично это обусловлено тем, что натуральный материал биологических матриксов содержит трипептидную последовательность аргинин-глицин-аспарат (RGD-последовательность). Было показано, что RGD-последовательности вследствие выполнения функции молекул адгезии значительно улучшают прикрепление клеток [47]. В дополнение к этому матриксы содержат ростовые факторы и цитокины, которые индуцируют рост и пролиферацию клеток [49–51]. Стоит отметить, что свойства этого типа матриксов сильно зависят от протокола децеллюляризации [47]. Слишком жесткие агенты децеллюляризации могут ухудшить механическую прочность матрикса, в то время как недостаточная децеллюляризация оставляет в толще матрикса клеточный дебрис (продукты распада клеток), который ухудшает биосовместимость материала. Приготовление децеллюляризованного матрикса — это сложный многостадийный процесс. Для клинического применения необходима его стандартизация, а также организация надежного контроля качества получаемого матрикса. Все это значительно увеличивает стоимость производства тканеинженерной конструкции из децеллюляризованной ткани, а также обуславливает другую потенциальную проблему — ограниченную доступность для массового применения.

Одним из наиболее распространенных и тщательно изученных матриксов из децеллюляризованной ткани является СТК: показано, что в отличие от децеллюляризованных тканей мочевого пузыря или губчатого тела он менее всего пригоден для тканевой инженерии уретры [52]. Более того, одно из проведенных исследований выявило, что СТК менее эффективен для создания тканеинженерной конструкции уретры, чем синтетические матриксы на основе PLLA и PLC [53]. Предполагается, что эти результаты обусловлены тем фактом, что СТК имеет низкую пористость материала, которая, между тем, может быть увеличена с помощью 5% раствора надуксусной кислоты. Такая модификация СТК позволяет значительно улучшить проникновение клеток внутрь матрикса после заселения [17].

Матриксы на основе полимеров

Матриксы для тканевой инженерии уретры могут быть изготовлены из различных материалов: так, например, полигликолид (PGA), полилактид (PLA), поликапролактон (PCL) и их сополимеры используются в хирургии для изготовления шовного материала уже много лет [54]. Эти материалы были одобрены для клинического использования во многих странах [54]. Благодаря своим свойствам они также широко распространены в тканевой инженерии. Сетки, изготовленные из синтетических материалов, прочны, широкодоступны и недороги [55]. Процесс изготовления синтетических матриксов значительно проще и дешевле для стандартизации, чем для матриксов на основе децеллюляризованных тканей. Синтетические

матриксы могут иметь разную форму, пористость, а также механические свойства. Большое количество методов может быть использовано для создания пористости матриксов, включая фазовую сепарацию, склейку волокна, газовое вспенивание, сублимационную сушку, электро-спиннинг и т.д. [54]. Плотность и размер пор — важные параметры синтетических матриксов. Они определяют множество других характеристик, включая возможность пролиферации клеток внутри конструкции, биосовместимость, прочность, время деградации. В отношении тканевой инженерии уретры также важным фактором может являться распределение пор по размеру в толще матрикса. Имеет смысл изготовление матрикса с малыми порами на внутренней поверхности конструкции для предотвращения проникновения эпителиальных клеток вглубь конструкции. Такие поры позволят питательным веществам и ростовым факторам диффундировать к внутреннему клеточному слою конструкции [55]. Синтетические полимеры для тканевой инженерии не индуцируют иммунного ответа, но они и не взаимодействуют с клетками, как это делают биологические матриксы, что может значительно ухудшать пролиферацию клеток на их поверхности [55]. Эта проблема может быть частично решена гибридизацией таких матриксов с натуральными полимерами, такими как фибрин и коллаген. Гибридный губчатый матрикс, созданный на основе синтетического полимера PLGA и коллагена, имеет такую же механическую прочность, что и матрикс из PLGA, однако гораздо более привлекателен для клеточной адгезии и пролиферации [56–58]. М. Magnan и соавт. [59] применили иной подход к созданию тканеинженерной конструкции трансплантата для уретропластики, который предполагает использование матрикса, изготовленного из коллагена, продуцируемого аутологичными фибробластами пациента. Такая конструкция является полностью безопасной и биосовместимой. Этот метод изготовления плоских имплантатов был впервые применен в тканевой инженерии кожных трансплантатов [58]. Получение коллагеновых листов производится культивированием фибробластов в среде, содержащей 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты. По истечении 4 нед культивирования в таких условиях образуется тонкий коллагеновый листок, содержащий в своей толще фибробласты. После этого листок может быть скручен или сложен для увеличения толщины конструкции и заселен аутологичными эпителиальными клетками [59].

Обзор клинических исследований

Первое клиническое исследование тканеинженерной уретры было проведено на 6 мальчиках, страдающих тяжелой гипоспадией [9]. Тканеинженерная уретра в этом исследовании была создана при помощи аутологичных уротелиальных клеток мочевого пузыря. Аллогенная деэпителизованная дерма была использована в качестве матрикса. Заместительная уретропластика была выполнена накладкой (onlay). Ширина заместительного трансплантата во всех шести случаях — 10 мм. На протяжении последующего периода наблюдения — 6–8 лет — все пациенты были удовлетворены результатами операции. Уретроскопия показала хорошо сформированную и широкую уретру. По результатам биопсии уротелий и подслизистый слой пениальной уретры были в нормальном состоянии без признаков воспаления [9].

Другое успешное клиническое исследование заместительной уретропластики с помощью тканеинженерной уретры выполнено с участием пяти мальчиков, страдаю-

ших тяжелой травмой задней уретры. У всех пациентов проведена биопсия мочевого пузыря для получения клеток для тканеинженерной уретры. Гладкие миоциты и уротелиальные клетки прокультивированы на протяжении 3–6 нед до получения достаточного для конструкции объема ($1-3 \times 10^7$ кл/см² поверхности матрикса). Матрикс был изготовлен из сетки, состоящей из PGA и PLGA в отношении 1:1, тубулирован; уротелиальные клетки посажены на внутреннюю поверхность, а гладкие миоциты — на внешнюю. Полученная конструкция была проинкубирована в культуральной среде в течение 7 дней. Длина трубчатой конструкции варьировала от 4 до 6 см. Клиническая эффективность уретропластики с использованием полученных конструкций продемонстрирована во всех случаях. Пациенты были удовлетворены результатам операции, а на протяжении периода наблюдения (составившего от 36 до 76 мес) не возникло осложнений. Полученные конструкции после трансплантации гистологически и функционально были схожи с нормальным органом [10].

Была предпринята попытка пластики тканеинженерной конструкции для лечения тяжелых форм стриктуры уретры — рецидивирующей стриктуры после склерозирующего лишая [12]. Пяти участникам, четырем из которых уже проводилось лечение стриктур, в том числе с помощью уретропластики, выполнена операция с использованием тканеинженерной конструкции из аутологичных клеток слизистой оболочки щеки самих пациентов (кэратиноцитов и фибробластов) и децеллюляризированной донорской дермы в качестве матрикса. Стриктуры находились в луковичном и губчатом отделах уретры. Через 8 мес после операции у одного пациента трансплантат пришлось полностью удалить из-за развившегося фиброза. У остальных четырех пациентов произошло приживление конструкции, однако в периоде наблюдения понадобились дополнительные вмешательства в виде дилатации и/или уретротомии для поддержания функции органа. Несмотря на то, что всем пациентам данного исследования после уретропластики понадобилось дополнительное лечение, в 4 из 5 случаев тканеинженерная конструкция прижилась без рецидива стриктуры на момент окончания периода наблюдения (32–37 мес).

Исследование тканеинженерной конструкции для лечения стриктуры уретры с участием одного пациента с патологическим сужением луковичного отдела мочеиспускательного канала протяженностью 2,5 см было проведено в России [60]. Конструкция представляла собой децеллюляризованную сосудистую матрицу, заселенную аутологичными клетками слизистой оболочки щеки. Ранний послеоперационный период прошел без осложнений. Через 12 мес после операции возник рецидив стриктуры уретры в середине тканеинженерной конструкции, который потребовал дополнительной операции в виде анастомотической уретропластики. В течение 5 мес после повторной операции признаков нарушения мочеиспускания не наблюдалось. Результаты гистологического исследования показали, что конструкция не вызвала воспалительного ответа, а матрикс конструкции был полностью резорбирован. Эффективность этой конструкции остается под вопросом, так как она была использована только у одного пациента, для которого потребовалась повторная уретропластика.

Заключение

По сложности конструкций тканевую инженерию можно разделить на инженерию тканей плоских, трубчатых, полых и паренхиматозных органов. В то время как создание тканей паренхиматозных органов, таких как поч-

ки и печень, до сих пор представляет собой большую сложность, трубчатые и полые органы, изготовленные с помощью методов тканевой инженерии, проходят первые клинические испытания. Тканевая инженерия уретры — это пример эволюционирования из теоретической концепции создания тканеинженерной конструкции до первых клинических исследований. Ее дальнейшее развитие и применение в клинической практике связано как с модификацией самих конструкций, так и с поиском оптимальных доклинических моделей. Действительно, большинство доклинических исследований проводятся на здоровых кроликах или собаках, у которых дефект уретры производится простым иссечением тканей. Последующая пластика тканеинженерным трансплантатом, состоящим из клеток и биосовместимого матрикса, как правило, заканчивается успешно даже в случае круговой одностадийной пластики. Между тем в клинической практике успех уретропластики зависит не только от выбора трансплантата, но и от состояния уретрального ложа в месте стриктуры — степени фиброза, а также этиологического фактора. В связи с этим для тестирования новых подходов к лечению различных типов стриктур необходима разработка доклинических моделей, повторяющих поражения мочеиспускательного канала, встречающихся в клинической практике.

Серьезным недостатком современных конструкций трансплантатов является отсутствие в их составе сосудистой сети. Трансплантаты из аутологичных тканей пациента имеют в своем составе сосуды, которые образуют анастомозы с сосудами уретрального ложа. Быстрое восстановление кровообращения трансплантата является одним из ключевых событий в успешной регенерации ткани мочеиспускательного канала после уретропластики. Тканеинженерные конструкции трансплантатов капиллярной сети не имеют, поэтому для их васкуляризации требуется прорастание сосудов губчатого тела после имплантации.

Остается открытым вопрос выбора оптимального матрикса для конструкции. Матрикс, изготовленные из децеллюляризованных тканей, имеют высокую клеточную и биологическую совместимость, однако их получение трудоемко и плохо поддается стандартизации. Более того, поскольку децеллюляризованные основы тканей мочевого пузыря и губчатого тела получают из органов мочевой системы свиней, то их клиническое использование может быть сопряжено с риском переноса опасных вирусных заболеваний, поэтому предпочтительнее применение матриксов на основе безопасных полимеров.

На наш взгляд, для новых исследований тканеинженерных конструкций трансплантатов для уретропластики перспективными являются гибридные пористые матриксы, сделанные на основе синтетических и натуральных полимеров, а также подход, основанный на использовании коллагеновых листов, произведенных аутологичными фибробластами.

Источники финансирования

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-15-00132 Новые фотополимеризующиеся биосовместимые композиции и скаффолды для регенеративной и реконструктивной урологии, создаваемые методом лазерного 3D-принтинга).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Latini JM, McAninch JW, Brandes SB, et al. SIU/ICUD Consultation On Urethral Strictures: Epidemiology, etiology, anatomy, and nomenclature of urethral stenoses, strictures, and pelvic fracture urethral disruption injuries. *Urology*. 2014;83(3 Suppl):S1–7. doi: 10.1016/j.urology.2013.09.009.
- Santucci RA, Joyce GF, Wise M. Male urethral stricture disease. *J Urol*. 2007;177(5):1667–1674. doi: 10.1016/j.juro.2007.01.041.
- Lee YJ, Kim SW. Current management of urethral stricture. *Korean J Urol*. 2013;54(9):561–569. doi: 10.4111/kju.2013.54.9.561.
- Atala A, Kasper FK, Mikos AG. Engineering complex tissues. *Sci Transl Med*. 2012;4(160):160rv12. doi: 10.1126/scitranslmed.3004890.
- Atala A, Danilevskiy M, Lyundup A, et al. The potential role of tissue-engineered urethral substitution: clinical and preclinical studies. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017;11(1):3–19. doi: 10.1002/term.2112.
- Young B, Lowe JS, Steven A, Heath JW. *Wheater's functional histology: a text and colour atlas*. 5th ed. Elsevier, Churchill Livingstone; 2006. 448 p.
- Кузнецов С.Л., Мушкхамбаров Н.Н. *Гистология, цитология и эмбриология. Учебник для студентов медицинских ВУЗов*. — М.: МИА; 2007. — 600 с. [Kuznetsov SL, Mushkhambarov NN. *Gistologiya, tsitologiya i embriologiya. Uchebnik dlya studentov meditsinskikh VUZov*. Moscow: MIA; 2007. 600 p. (In Russ).]
- Orabi H, AbouShwareb T, Zhang Y, et al. Cell-seeded tubularized scaffolds for reconstruction of long urethral defects: a preclinical study. *Eur Urol*. 2013;63(3):531–538. doi: 10.1016/j.eururo.2012.07.041.
- Fossum M, Skikuniene J, Orrego A, Nordenskjold A. Prepubertal follow-up after hypospadias repair with autologous in vitro cultured urothelial cells. *Acta Paediatr*. 2012;101(7):755–760. doi: 10.1111/j.1651-2227.2012.02659.x.
- Raya-Rivera A, Esquiliano DR, Yoo JJ, et al. Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study. *Lancet*. 2011;377(9772):1175–1182. doi: 10.1016/s0140-6736(10)62354-9.
- De Filippo RE, Kornitzer BS, Yoo JJ, Atala A. Penile urethra replacement with autologous cell-seeded tubularized collagen matrices. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015;9(3):257–264. doi: 10.1002/term.1647.
- Bhargava S, Patterson JM, Inman RD, et al. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes. *Eur Urol*. 2008;53(6):1263–1271. doi: 10.1016/j.eururo.2008.01.061.
- Li C, Xu YM, Song LJ, et al. Urethral reconstruction using oral keratinocyte seeded bladder acellular matrix grafts. *J Urol*. 2008;180(4):1538–1542. doi: 10.1016/j.juro.2008.06.013.
- Mikami H, Kuwahara G, Nakamura N, et al. Two-layer tissue engineered urethra using oral epithelial and muscle derived cells. *J Urol*. 2012;187(5):1882–1889. doi: 10.1016/j.juro.2011.12.059.
- Xie M, Xu Y, Song L, et al. Tissue-engineered buccal mucosa using silk fibroin matrices for urethral reconstruction in a canine model. *Surg Res*. 2014;188(1):1–7. doi: 10.1016/j.jss.2013.11.1102.
- Li H, Xu Y, Xie H, et al. Epithelial-differentiated adipose-derived stem cells seeded bladder acellular matrix grafts for urethral reconstruction: an animal model. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(3–4):774–784. doi: 10.1089/ten.tea.2013.0122.
- Wu S, Liu Y, Bharadwaj S, et al. Human urine-derived stem cells seeded in a modified 3D porous small intestinal submucosa scaffold for urethral tissue engineering. *Biomaterials*. 2011;32(5):1317–1326. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.10.006.
- Bodin A, Bharadwaj S, Wu S, et al. Tissue-engineered conduit using urine-derived stem cells seeded bacterial cellulose polymer in urinary reconstruction and diversion. *Biomaterials*. 2010;31(34):8889–8901. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.07.108.
- Beaghtler M, Grasso M 3rd. Flexible cystoscopic bladder biopsies: a technique for outpatient evaluation of the lower urinary tract urothelium. *Urology*. 1994;44(5):756–759. doi: 10.1016/s0090-4295(94)80223-8.
- Lamb CR, Trower ND, Gregory SP. Ultrasound-guided catheter biopsy of the lower urinary tract: technique and results in 12 dogs. *J Small Anim Pract*. 1996;37(9):413–416. doi: 10.1111/j.1748-5827.1996.tb02438.x.
- Cilento BG, Freeman MR, Schneck FX, et al. Phenotypic and cytogenetic characterization of human bladder urothelia expanded in vitro. *J Urol*. 1994;152(2 Pt 2):665–670. doi: 10.1016/s0090-4295(98)00161-7.
- Duffey B, Monga M. *Principles of endoscopy*. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Campbell MF, editors. *Campbell-Walsh urology*. 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2012. p. 192–203. doi: 10.1016/b978-1-4160-6911-9.00008-6.
- Zhang YY, Ludwikowski B, Hurst R, Frey P. Expansion and long-term culture of differentiated normal rat urothelial cells in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2001;37(7):419–429. doi: 10.1290/1071-2690(2001)037<0419:ealtco>2.0.co;2.
- Bhargava S, Chapple CR. Buccal mucosal urethroplasty: is it the new gold standard? *BJU Int*. 2004;93(9):1191–1193. doi: 10.1111/j.1464-410x.2003.04860.x.
- Peterson AC, Webster GD. Management of urethral stricture disease: developing options for surgical intervention. *BJU Int*. 2004;94(7):971–976. doi: 10.1111/j.1464-410x.2004.05088.x
- Filipas D, Fisch M, Fichtner J, et al. The histology and immunohistochemistry of free buccal mucosa and full-skin grafts after exposure to urine. *BJU Int*. 1999;84(1):108–111. doi: 10.1046/j.1464-410x.1999.00079.x.
- Souza GF, Calado AA, Delcelo R, et al. Histopathological evaluation of urethroplasty with dorsal buccal mucosa: an experimental study in rabbits. *Int Braz J Urol*. 2008;34(3):345–354. doi: 10.1590/s1677-55382008000300012.
- Osman NI, Hillary C, Bullock AJ, et al. Tissue engineered buccal mucosa for urethroplasty: progress and future directions. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;82–83:69–76. doi: 10.1016/j.addr.2014.10.006.
- Bhargava S, Chapple CR, Bullock AJ, et al. Tissue-engineered buccal mucosa for substitution urethroplasty. *BJU Int*. 2004;93(6):807–811. doi: 10.1111/j.1464-410x.2003.04723.x.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211–228. doi: 10.1089/107632701300062859.
- van Dijk A, Niessen HW, Zandieh Doulabi B, et al. Differentiation of human adipose-derived stem cells towards cardiomyocytes is facilitated by laminin. *Cell Tissue Res*. 2008;334(3):457–467. doi: 10.1007/s00441-008-0713-6.
- Brzoska M, Geiger H, Gauer S, Baer P. Epithelial differentiation of human adipose tissue-derived adult stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;330(1):142–150. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.02.141.
- Shi JG, Fu WJ, Wang XX, et al. Transdifferentiation of human adipose-derived stem cells into urothelial cells: potential for urinary tract tissue engineering. *Cell Tissue Res*. 2012;347(3):737–746. doi: 10.1007/s00441-011-1317-0.
- Yang B, Zheng JH, Zhang YY. Myogenic differentiation of mesenchymal stem cells for muscle regeneration in urinary tract. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(15):2952–2959.
- Kanematsu A, Yamamoto S, Iwai-Kanai E, et al. Induction of smooth muscle cell-like phenotype in marrow-derived cells among regenerating urinary bladder smooth muscle cells. *Am J Pathol*. 2005;166(2):565–573. doi: 10.1016/s0002-9440(10)62278-x.
- Jack GS, Zhang R, Lee M, et al. Urinary bladder smooth muscle engineered from adipose stem cells and a three dimensional synthetic composite. *Biomaterials*. 2009;30(19):3259–3270. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.02.035.
- Васютин И.А., Люндуп А.В., Кузнецов С.Л. Моча как источник стволовых клеток для регенеративной медицины мочевыводящих путей. / II Национальный конгресс по регенеративной медицине; Декабрь 3–5, 2015; Москва. — С. 41. [Vasyutin IA, Lyundup AV, Kuznetsov SL. Mocha, kao istochnik stvolovykh kletok dlya regenerativnoi meditsiny mochevvyvodyashchikh putei. (Conference proceedings) II Natsional'nyi kongress po regenerativnoi meditsine; 2015 dec 3–5; Moscow. p. 41. (In Russ).] Доступно по: http://www.mediexpo.ru/fileadmin/user_upload/content/pdf/thesis/thesis_nkrm2015.pdf. Ссылка активна на 21.01.2017.
- Zhang Y, McNeill E, Tian H, et al. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction. *J Urol*. 2008;180(5):2226–2233. doi: 10.1016/j.juro.2008.07.023.
- Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, et al. Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells: potential for therapeutic applica-

- tions in urology. *Stem Cells*. 2013;31(9):1840–1856. doi: 10.1002/stem.1424.
40. Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, et al. Characterization of urine-derived stem cells obtained from upper urinary tract for use in cell-based urological tissue engineering. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(15–16):2123–2132. doi: 10.1089/ten.tea.2010.0637.
 41. Osborn SL, Thangappan R, Luria A, et al. Induction of human embryonic and induced pluripotent stem cells into urothelium. *Stem Cells Transl Med*. 2014;3(5):610–619. doi: 10.5966/sctm.2013-0131.
 42. Yang L, Geng Z, Nickel T, et al. Differentiation of human induced-pluripotent stem cells into smooth-muscle cells: two novel protocols. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147155. doi: 10.1371/journal.pone.0147155.
 43. De Filippo RE, Yoo JJ, Atala A. Urethral replacement using cell seeded tubularized collagen matrices. *Urology*. 2002;168(4 Pt 2):1789–1793. doi: 10.1016/s0022-5347(05)64414-x.
 44. Feng C, Xu YM, Fu Q, et al. Reconstruction of three-dimensional neourethra using lingual keratinocytes and corporal smooth muscle cells seeded acellular corporal spongiosum. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(23–24):3011–3019. doi: 10.1089/ten.tea.2011.0061.
 45. Wu S, Liu Y, Bharadwaj S, et al. Human urine-derived stem cells seeded in a modified 3D porous small intestinal submucosa scaffold for urethral tissue engineering. *Biomaterials*. 2011;32(5):1317–1326. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.10.006.
 46. Davis NF, Mooney R, Piterina AV, et al. Construction and evaluation of urinary bladder bioreactor for urologic tissue-engineering purposes. *Urology*. 2011;78(4):954–960. doi: 10.1016/j.urolgy.2011.06.036.
 47. Keane T, Saldin L, Badylak S. *Decellularization of mammalian tissues: preparing extracellular matrix bioscaffolds*. In: Tomlins P, editor. *Characterisation and design of tissue scaffolds*. Woodhead Publishing; 2015. p. 75–103. doi: 10.1016/B978-1-78242-087-3.00004-3.
 48. Feng C, Xu YM, Fu Q, et al. Evaluation of the biocompatibility and mechanical properties of naturally derived and synthetic scaffolds for urethral reconstruction. *J Biomed Mater Res A*. 2010;94(1):317–325. doi: 10.1002/jbm.a.32729.
 49. Ralston DR, Layton C, Dalley AJ, et al. The requirement for basement membrane antigens in the production of human epidermal/dermal composites in vitro. *Br J Dermatol*. 1999;140(4):605–615. doi: 10.1046/j.1365-2133.1999.02758.x.
 50. Martino MM, Briquez PS, Ranga A, et al. Heparin-binding domain of fibrin(ogen) binds growth factors and promotes tissue repair when incorporated within a synthetic matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(12):4563–4568. doi: 10.1073/pnas.1221602110.
 51. Catelas I, Dwyer JF, Helgerson S. Controlled release of bioactive transforming growth factor beta-1 from fibrin gels in vitro. *Tissue Eng Part C Methods*. 2008;14(2):119–128. doi: 10.1089/ten.tec.2007.0262.
 52. de Kemp V, de Graaf P, Fledderus JO, et al. Tissue engineering for human urethral reconstruction: systematic review of recent literature. *PLoS One*. 2015;10(2):e0118653. doi: 10.1371/journal.pone.0118653.
 53. Kundu AK, Gelman J, Tyson DR. Composite thin film and electrospun biomaterials for urologic tissue reconstruction. *Biotechnol Bioeng*. 2011;108(1):207–215. doi: 10.1002/bit.22912.
 54. Tomlins P, editor. *Characterisation and design of tissue scaffolds*. Woodhead Publishing; 2015. 294 p. doi: 10.1016/c2013-0-16452-5.
 55. Chen G, Kawazoe N. *Preparation of polymer-based porous scaffolds for tissue engineering*. In: Tomlins P, editor. *Characterisation and design of tissue scaffolds*. Woodhead Publishing; 2015. p. 105–125. doi: 10.1016/B978-1-78242-087-3.00005-5.
 56. Nakanishi Y, Chen G, Komuro H, et al. Tissue-engineered urinary bladder wall using PLGA mesh-collagen hybrid scaffolds: a comparison study of collagen sponge and gel as a scaffold. *J Pediatr Surg*. 2003;38(12):1781–1784. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2003.08.034.
 57. Salem SA, Hwei NM, Bin Saim A, et al. Poly(lactic-co-glycolic acid) mesh coated with fibrin or collagen and biological adhesive substance as a prefabricated, degradable, biocompatible, and functional scaffold for regeneration of the urinary bladder wall. *J Biomed Mater Res A*. 2013;101(8):2237–2247. doi: 10.1002/jbm.a.34518.
 58. Auger FA, Remy-Zolghadri M, Grenier G, Germain L. A truly new approach for tissue engineering: the LOEX self-assembly technique. *Ernst Schering Res Found Workshop*. 2002;(35):73–88. doi: 10.1007/978-3-662-04816-0_6.
 59. Magnan M, Levesque P, Gauvin R, et al. Tissue engineering of a genitourinary tubular tissue graft resistant to suturing and high internal pressures. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(1):197–202. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0303.
 60. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Николенко В.Н., и др. Заместительная уретропластика с использованием тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной сосудистой матрицы и аутологичных клеток слизистой оболочки шейки: первый опыт // *Урология*. — 2015. — №3 — С. 4–10. [Glybochko PV, Alyaev JuG, Nikolenko VN, et al. Tissue-engineered substitution urethroplasty based on decellularized vascular matrix and autologous cells of the buccal mucosa: the first experience. *Urologiya*. 2015;(3):4–10. (In Russ).]

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Васютин Игорь Алексеевич, аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии лечебного факультета, младший научный сотрудник Института регенеративной медицины ФГБОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел.: +7 (336) 955-90-07, e-mail: ivasyutin@yahoo.com,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0594-7423>, SPIN-код: 1872-8347

Людуп Алексей Валерьевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделом передовых клеточных технологий Института регенеративной медицины ФГБОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: lyundup@gmail.com,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0102-5491>, SPIN-код: 4954-3004

Винаров Андрей Зиновьевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека ФГБОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
 Адрес: 119435, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 1, e-mail: avinarov@mail.ru,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9510-9487>, SPIN-код: 5174-2233

Бутнару Денис Викторович, кандидат медицинских наук, директор Института регенеративной медицины ФГБОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: butnaru_dv@mail.ru,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2173-0566>, SPIN-код: 2408-5133

Кузнецов Сергей Львович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии лечебного факультета, ФГБОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
 Адрес: 125009, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 3, e-mail: vakmedbiol@rambler.ru,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0704-1660>, SPIN-код: 3824-2646