

UROLOGIIA

УРОЛОГИЯ

Selected articles 2015

Сборник избранных
статей за 2015 год

Moscow
Москва

2016



РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО УРОЛОГОВ

UROLOGIA

УРОЛОГИЯ

SELECTED ARTICLES 2015

СБОРНИК ИЗБРАННЫХ СТАТЕЙ ЗА 2015 ГОД

Editor-in-Chief – Corr.-Member of the RAS, Dr.Med.Sci., Prof. Yu.G. Alyaev
International editorial board – Prof., MD, Ch. Chapple; Corr.-Member of the RAS, Dr.Med.Sci., Prof. P.V. Glybochko;
Dr.Med.Sci., Prof. A.G. Martov; Prof., MD, M. Wirth; Prof., MD, K. Naber
Project Leader – Dr.Med.Sci., Prof. M.A. Gazimiev
Scientific consultants – Dr.Med.Sci., Prof. A.Z. Vinarov; Dr.Med.Sci., Prof. I.A. Korneev
Science Editor – MD Z.K. Gadzhieva
Translators – MD, PhD V.A. Aksenov, N.M. Alekseeva, Yu.A. Ignashov, PhD M.A. Rybalov, D.A. Fedorov
Managing Editor – E.V. Polyakova
Designer – Yu.V. Doroshina

Главный редактор – член-корр. РАН, д.м.н., проф. Ю.Г. Аляев
Редакционный совет – д.м.н., проф. К. Чаплл; член-корр. РАН, д.м.н., проф. П.В. Глыбочко;
д.м.н., проф. А.Г. Мартов; д.м.н., проф. М. Вирт; д.м.н., проф. К. Набер
Руководитель проекта – д.м.н., проф. М.А. Газимиев
Научные консультанты – д.м.н., проф. А.З. Винаров, д.м.н., проф. И.А. Корнеев
Научный редактор – д.м.н. З.К. Гаджиева
Переводчики – к.м.н. В.А. Аксенов, Н.М. Алексеева, Ю.А. Игнашов,
к.м.н. М.А. Рыбалов, Д.А. Федоров
Выпускающий редактор – Е.В. Полякова
Дизайнер – Ю.В. Дорошина

Адрес редакции:

117420 МОСКВА, УЛ. ПРОФСОЮЗНАЯ, Д. 57, 3-Й ПОДЪЕЗД
ТЕЛ./ФАКС: +7(495)334-43-88
E-MAIL: UROLOGY@BIONIKA-MEDIA.RU

Editor office address:

PROFSOJUZNAYA ST., 57, P.3, 117420 MOSCOW
RUSSIAN FEDERATION
TEL. (FAX): +7(495) 334-43-88
E-MAIL: UROLOGY@BIONIKA-MEDIA.RU



ООО "БИОНИКА МЕДИА"

CONTENTS

K.B. Kolontarev, A.V. Govorov, T. A. Osipova, A.V. Sidorenkov, D. Yu. Pushkar. Value of the -2proPSA index and the prostate health index in patients with prostate cancer: review of literature and data of Russian prospective study	4
A. Mangera, C. Chapple. An evidence based update on the investigation and management of male lower urinary tract symptoms	8
A.I. Nejmark, B.A. Nejmark, M.A. Tachalov, D.D. Arzamascev, D.V. Torbik. Superselective prostatic artery embolization as a preparatory step before turp in the treatment of benign prostatic hyperplasia in patients with large prostates	15
Ju.G. Aljaev, E.S. Sirota, D.N. Fiev, A.V. Proskura. Computer-assisted surgery for renal tumors	19
M.I. Kogan, V.V. Krasulin, V.V. Mitusov, A.V. Shangichev, V.P. Gluhov, S.V. Naranov. Surgical treatment of strictures or obliterations of urethra	23
P.V. Glybochko, Ju.G. Aljaev, V.N. Nikolenko, A.B. Shehter, A.Z. Vinarov, L.P. Istranov, E.V. Istranova, R.K. Abojanc, A.V. Ljundup, M.I. Danilevskij, A.E. Guller, P.A. Elistratov, D.V. Butnaru, D.F. Kantimerov, G.A. Mashin, A.S. Titov, A.V. Proskura, K.V. Kudricheskaja. Tissue-engineered substitution urethroplasty based on decellularized vascular matrix and autologous cells of the buccal mucosa: the first experience	30
G.G. Krivoborodov, E.F. Kolesanova, E.I. Tur, N.S. Efremov. Nerve growth factor in the urine of patients with idiopathic detrusor overactivity and overactive bladder without detrusor overactivity	36
V.N. Pavlov, A.A. Bakirov, I.R. Kabirov, A.A. Izmajlov, L.M. Kutlijarov, R.I. Safiullin, M.F. Urmancev, I.M. Sultanov, R.V. Abdrahimov. Pelvic floor reconstruction after pelvic visceration using gracilis musculocutaneous flap	39
M.E. Chalyj, V.A. Grigorjan, M.V. Epifanova, A.O. Krasnov. The effectiveness of intracavernous autologous platelet-rich plasma in the treatment of erectile dysfunction	42
O.B. Loran, M.I. Kogan, L.A. Sinjakova, A.G. Ivanov, A.Z. Vinarov3, L.G. Spivak3, K.L. Lokshin, A.V. Zajcev, I.I. Korsunskaja, F.P. Kapsargin, E.Ju. Hlebnova. Rational therapy for recurrent infections of the lower urinary tract. The results of a prospective observational program to assess the effectiveness and safety of Ceforal®, Solutab®* and Uro-Vaksom® in patients with recurrent uncomplicated lower urinary tract infections (FLORA)	50
Ju.G. Aljaev, V.S. Saenko, S.V. Pesegov. The role of 3d-computer simulation in improving the staghorn nephrolithiasis treatment results	54
O.I. Apolihin, A.V. Sivkov, O.V. Konstantinova, P.A. Slominskij, T.V. Tupicyna, D.N. Kalinichenko. Genetic Risk Factors for Multiple Kidney Stone Formation in the Russian Population	57
E. I. Veliev, E. A. Sokolov, O. B. Loran. Comparative Analysis of Positive Surgical Margin Rates in Patients Undergoing Robot-Assisted or Retropubic Radical Prostatectomy for Prostate Cancer	60
A.G. Martov, S.V. Dutov, A.S. Andronov, Z.I. Kil'chukov, R.A. Tahaev. New options of endoscopic treatment for kidney and ureter stones in obese patients	66
V.N. Pavlov, A.M. Pushkarev, Ya.V. Kondratenko, R.I. Safiullin, A.V. Alekseev. Markers of kidney damage and nephroprotective therapy in radical cystectomy	70
D.S. Mikhaylenko, D.V. Perepechin, M.V. Grigoryeva, T.A. Zhinzilo, N.Yu. Safronova, G.D. Efremov, A.V. Sivkov. PCA3 and TMPRSS2:erg genes expression in biopsies of benign prostate hyperplasia, intraepithelial neoplasia, and prostate cancer	75
A.G. Martov, I.A. Solomatnikov, N.A. Baykov, A.S. Andronov, O.A. Khalmurzaev. Narrowed spectrum diagnostics and computer chromoendoscopy in the diagnosis of epithelial neoplasms of the lower and upper urinary tract	79
V.V. Bazaev, A.N. Shibaev, Yu.V. Pavlova. Validation of the russian version of the questionnaire to assess the effectiveness of surgical treatment of patients with anterior urethral stricture (patient-reported outcome measure for urethral stricture surgery (PROM-USS): a pilot study	86
P.V. Glybochko, Yu.G. Alyaev, A.B. Shekhter, A.Z. Vinarov, L.P. Istranov, E.V. Istranova, R.K. Aboyants, A.V. Lyundup, M.E. Krashennnikov, A.E. Guller, D.V. Butnaru, L.V. Marisov, D.F. Kantimerov, A.V. Kurkov, E.I. Safronova, E.A. Vorob'eva, M.M. Iritsyan. Plga mesh-collagen hybrid scaffold and tissue-engineered product in substitution urethroplasty: experimental validation	93
A.Yu. Kulibin, E.A. Malolina, S.P. Jacyk, Je.K. Zhamynchiev, G.V. Kuzin. Spermatogenesis recovery following allogeneic transplantation of undifferentiated Sertoli cells in experimental model of bilateral abdominal cryptorchidism	99
V.I. Rudenko, L.M. Rapoport., M.A. Gazimiev, Yu.L. Demidko, A.M. Bayduvaliev. 3Initial experience with shock wave therapy in men with chronic pelvic pain syndrome	100
M. E. Chaliy, P. V. Glybochko, M. V. Epifanova, A. O. Krasnov. Prospects for application of stem cells from adipose tissue in treating erectile dysfunction	103
M.B. Chibichyan, M.I. Kogan, T.O. Lapteva, I.I. Belousov, A.G. Ivanov, E.A. Chernogubova. Periprosthetic inflammation as a risk factor for the development of vesico-urethral stenosis after radical prostatectomy	108

СОДЕРЖАНИЕ

К. Б. Колонтарев, А. В. Говоров, Т. А. Осипова, А. В. Сидоренков, Д. Ю. Пушкарь. Значение показателя -2проПСА и индекса здоровья простаты для больных раком предстательной железы: обзор литературы и данные Российского проспективного исследования ...	112
A. Mangera, Ch. Chapple. Научно обоснованное обновление рекомендаций по обследованию и лечению мужчин с симптомами нижних мочевыводящих путей	117
А. И. Неймарк, Б. А. Неймарк, М. А. Тачалов, Д. Д. Арзамасцев, Д. В. Торбик. Суперселективная эмболизация простатических артерий как подготовительный этап перед трансуретральной резекцией простаты в лечении больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы больших размеров	126
Ю. Г. Аляев, Е. С. Сирота, Д. Н. Фиев, А. В. Проскура. Компьютер-ассистированные операции при опухоли почки	130
М. И. Коган, В. В. Красулин, В. В. Митусов, А. В. Шангичев, В. П. Глухов, С. В. Наранов. Оперативное лечение стриктур и облитераций уретры	135
П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, В. Н. Николенко, А. Б. Шехтер, А. З. Винаров, Л. П. Истратов, Е. В. Истратова, Р. К. Абоянц, А. В. Ляндуп, М. И. Данилевский, А. Е. Гуллер, П. А. Елистратов, Д. В. Бутнару, Д. Ф. Кантимеров, Г. А. Машин, А. С. Титов, А. В. Проскура, К. В. Кудричевская. Заместительная уретропластика с использованием тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной сосудистой матрицы и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки: первый опыт.	142
Г. Г. Кривобородов, Е. Ф. Колесанова, Е. И. Тур, Н. С. Ефремов. Фактор роста нервов в моче у больных с идиопатической детрузорной гиперактивностью и гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности.	149
В. Н. Павлов, А. А. Бакиров, И. Р. Кабиров, А. А. Измаилов, Л. М. Кутляров, Р. И. Сафиуллин, М. Ф. Урманцев, И. М. Султанов, Р. В. Абдрахимов. Реконструктивно-пластическое восстановление тазового дна после эквисцерации малого таза с использованием кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы бедра	153
М. Е. Чалый, В. А. Григорян, М. В. Епифанова, А. О. Краснов. Эффективность интракавернозного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в лечении эректильной дисфункции	157
О. Б. Лоран, М. И. Коган, Л. А. Синякова, А. Г. Иванов, А. З. Винаров, Л. Г. Спивак, К. Л. Локшин, А. В. Зайцев, И. Л. Корсунская, Ф. П. Капсаргин, Е. Ю. Хлебнова. Рациональная терапия рецидивирующих инфекций нижних мочевыводящих путей. Результаты проспективной наблюдательной программы по оценке эффективности и безопасности применения препаратов Цефторал® Солютаб® и Уро-Ваксом® у пациенток с рецидивирующими неосложненными инфекциями нижних мочевыводящих путей (FLORA) ..	161
Ю. Г. Аляев, В. С. Саенко, С. В. Песегов. Роль 3D-компьютерного моделирования в улучшении результатов лечения коралловидного нефролитиаза	166
О. И. Аполихин, А. В. Сивков, О. В. Константинова, П. А. Сломинский, Т. В. Тупицына, Д. Н. Калининченко. Генетические факторы риска образования множественных камней почек в российской популяции.	170
Е. И. Велиев, Е. А. Соколов, О. Б. Лоран. Сравнительный анализ частоты позитивных хирургических краев у пациентов, перенесших роботассистированную или позадилодную радикальную простатэктомию по поводу рака предстательной железы	173
А. Г. Мартов, С. В. Дутов, А. С. Андронов, З. И. Кильчуков, Р. А. Тахаев. Новые возможности эндоскопического лечения камней почек и мочеточников у пациентов с ожирением.	177
В. Н. Павлов, А. М. Пушкарев, Я. В. Кондратенко, Р. И. Сафиуллин, А. В. Алексеев. Маркеры повреждения почек и нефропротективная терапия при радикальной цистэктомии	185
Д. С. Михайленко, Д. В. Перепечин, М. В. Григорьева, Т. А. Жинжило, Н. Ю. Сафронова, Г. Д. Ефремов, А. В. Сивков. Экспрессия генов <i>PCA3</i> и <i>TMPPSS2:ERG</i> в биоптатах при доброкачественной гиперплазии, интраэпителиальной неоплазии и раке предстательной железы	189
А. Г. Мартов, И. А. Соломатников, Н. А. Байков, А. С. Андронов, О. А. Халмурзаев. Узкоспектральная диагностика и компьютерная хромоэндоскопия в диагностике эпителиальных новообразований нижних и верхних мочевыводящих путей	194
В. В. Базаев, А. Н. Шибяев, Ю. В. Павлова. Валидация русскоязычной версии опросника для оценки эффективности хирургического лечения пациентов со стриктурами передней уретры patient-reported outcome measure for urethral stricture surgery (PROM-USS): результаты пилотного исследования	198
П. В. Глыбочко, Ю. Г. Аляев, А. Б. Шехтер, А. З. Винаров, Л. П. Истратов, Е. В. Истратова, Р. К. Абоянц, А. В. Ляндуп, М. Е. Крашенинников, А. Е. Гуллер, Д. В. Бутнару, Л. В. Марисов, Д. Ф. Кантимеров, А. В. Курков, Е. И. Сафронова, Е. А. Воробьева, М. М. Ирицян. Экспериментальное обоснование создания гибридной матрицы и тканеинженерной конструкции на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена с целью последующей заместительной уретропластики	205
А. Ю. Кулибин, Е. А. Малолина, С. П. Яцык, Э. К. Жамынчиев, Г. В. Кузин. Восстановление сперматогенеза путем аллогенной трансплантации недифференцированных клеток Сертоли в экспериментальной модели двустороннего абдоминального крипторхизма.	213
В. И. Руденко, Л. М. Рапопорт, М. А. Газимиев, Ю. Л. Демидко, А. М. Байдувалиев. Первый опыт применения ударно-волновой терапии у мужчин с синдромом хронической тазовой боли	220
М. Е. Чалый, П. В. Глыбочко, М. В. Епифанова, А. О. Краснов. Перспективы применения стволовых клеток из жировой ткани в лечении эректильной дисфункции.	223
М. Б. Чибичян, М. И. Коган, Т. О. Лаптева, И. И. Белоусов, А. Г. Иванов, Е. А. Черногубова. Перипростатическое воспаление как фактор риска развития стеноза везико-уретрального анастомоза после радикальной простатэктомии.	228

IMPLICATIONS OF THE -2PROPSA INDEX AND THE PROSTATE HEALTH INDEX IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER: REVIEW OF LITERATURE AND DATA OF RUSSIAN PROSPECTIVE STUDY

¹Department of Urology, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; ²Scientific center «EfIS»

Corresponding author: K.B. Kolontarev — PhD, Teaching Assistant at the Department of Urology, MSUMD; e-mail: kolontarev@me.com

The article presents the analysis of the fundamental studies on the -2proPSA and prostate health index (PHI) and the determination of their field of use in patients with prostate cancer (PCa). The main aspects of use of the new markers studied include improvement of detection of prostate cancer, increase of specificity and reduction of the number of unnecessary biopsies, identification of aggressive forms of prostate cancer, as well as determination of the progression of the disease. The results of numerous studies, as well as preliminary data of Russian study on the assessment of new indicators are promising and today allow to recommend the use of the test to determine the values of the -2proPSA and prostate health index (PHI) in routine urological practice.

Key words: prostate cancer, prostate health index (PHI), -2proPSA, prostate specific antigen

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Kolontarev K.B., Govorov A.V., Osipova T.A., Sidorenkov A.V., Pushkar D.Yu. Implications of the -2proPSA index and the prostate health index in patients with prostate cancer: review of literature and data of Russian prospective study. Urologiia. 2015;1:49–53.

Introduction. Prostate-specific antigen (PSA) was first mentioned at the end of the 1960s when Japanese scientists isolated a protein from human seminal plasma and called it gamma seminoprotein. A few years later the same protein was isolated from seminal fluid and according to its mobility in conventional electrophoresis was called «E1 protein». In 1978 Sensabaugh [1] conducted a biochemical analysis of this semen protein and called it p30, because of its molecular mass, as determined by electrophoresis. Taking into account p30 stability in vitro, and its specificity, it was used in legal proceedings to identify sex offenders.

In 1977, M. Wang discovered PSA in the prostate gland and later isolated it [2]. Since the PSA was isolated from a prostate tissue, it was referred to as “prostatic specific antigen” (PSA). M. Wang [3] proved the identity of the PSA of seminal fluid and prostate tissue, so the names of p30 and E1 were abandoned. Once the organ specificity of PSA has been proven, studies were initiated to explore relationship between its level and prostate diseases. It soon became apparent that PSA levels tended to increase in prostate malignancies. These data triggered several scientific research in this area, and today PSA remains the most commonly used biomarker for prostate cancer (PCa) [4, 5]. Prostate-specific antigen is a monomeric molecule with a single polypeptide chain of 237 amino acids and several disulfide bridges; it is a glycoprotein (33 kD) composed of 93% amino acids and 7% carbohydrates which is produced by both normal and neoplastic epithelial cells of the prostate gland excretory ducts [6, 7]. Admixture of sugar varies slightly within several isoelectric units. PSA gene is localized to the long arm of chromosome 19; it contains 5 exons, 4 introns, 2 triggering portions and 3 undeciphered endings. One of the triggering points includes androgen responding site, and increase of PSA transcription may be caused by androgen through androgen receptors. Several studies provided

evidence on the role of growth factors in increased PSA transcription.

Multiple RNA of PSA were discovered, but only one of them is responsible for the protein production. PSA gene (known as KLK3) is by 80% homologous to human glandular kallikrein 1 gene (known as KLK2) and by 68% to renal-pancreatic kallikrein gene (KLK1) [8]. High homology of KLK2 and KLK3 suggests cross-reaction with PSA antibodies and hence a false increase in serum PSA titer. Source of KLK2 has not been identified, but it has been found in seminal plasma. Recent studies have shown that some antibodies to PSA have cross activity with KLK2, while others do not. Antibodies to KLK2 have not yet been found, but it is known that

KLK2 is present in blood plasma at very low concentrations. Among all kallikreins (currently 15 are known) at least 8 were found in different amounts in the prostate tissue. However, only KLK2 and KLK3 may be registered in men by available methods, thus enabling application of these proteins as biomarkers [9].

There are two main forms of serum prostate-specific antigen, together making up the «total PSA» (tPSA):

- A complex PSA or PSA bound up with α 1-chymotrypsin (its fraction in the tPSA is 70–90%);

- Free PSA (fPSA; its fraction in tPSA is 10–30%), which in turn is represented by the following isoforms:

- benign PSA (BPSA), associated with BPH;
- intact isoform, least active and least studied to date;
- PSA pre-protein (proPSA), associated with malignant transformation of prostate tissues.

A minor fraction of PSA is bound up with α 2-macroglobulin, but it has low immunoreactivity and cannot be determined by simple immune methods, as antigenic determinants of PSA molecules are located inside the complex and inaccessible to antibodies.

It has previously been shown that measuring %fPSA% (fPSA / tPSA 100%) allows improving prostate cancer detection especially in patients with tPSA levels in «gray

zone» between 4 to 10 ng/ml. Higher % fPSA significantly correlates with low probability of having prostate cancer, and % fPSA less than 10% more likely to be associated with prostate cancer.

According to [10], the strongest possibility (56%) of PCa was observed at %fPSA less than 10%, and the lowest likelihood of PCa (8%) was associated with % fPSA greater than 25%. In the range of 10 to 25% chance of having PCa is 16-28%. Thus, this PSA derivate also has «gray zone» complicating selection of further patient-management strategy.

proPSA. When searching for the most specific PCa marker, researchers' attention was specifically directed to fPSA isoforms. In 2001, S. Mikolajczyk et al. [11] using immunohistochemical studies found that proPSA (isoform of fPSA) is concentrated in the tissue the prostatic peripheral zone, where aggressive forms of prostate cancer were most frequently detected, while BPSA isoform was found in the tissue of transition zone associated with benign hyperplasia. It has been shown that the epithelial cells of the prostatic peripheral zone secrete a molecule - a precursor of PSA (proPSA). The native form of proPSA molecule is PSA bounded up with pro-leader peptide comprising 7 amino acids (-7proPSA). Further, influenced by the enzymes of human kallikrein-like peptidase (hK2) and trypsin, the detachment of the mature form of PSA molecule occurs. On the other hand, pro-peptide can be detached by portions to form, for example, -4proPSA and ultimately -2proPSA. Thus, there are shortened forms of pro-leader peptides.

These forms consist mainly of proPSA with pro-leader peptide of 5 amino acids (-5proPSA), 4 amino acids (-4proPSA) and 2 amino acids (-2proPSA). -2proPSA molecule has the greatest clinical significance compared with other proPSA molecules. -2proPSA isoform was first discovered in extracts of tumors; it shows more intense staining by immunochemical dyes in prostate tumor tissue compared to benign tissue and is the most stable form *in vitro*. -2proPSA Isoform cannot be converted into PSA, which is one of the factors of its clinical application [12].

Prostate Health Index (PHI). Studies have shown that in men undergoing PCa screening a set of indicators - -2proPSA, tPSA and fPSA combined by Prostate Health Index (PHI) formula has the greatest prognostic value. This conclusion results from multidirectional dynamics of PSA fractions that was noticed in malignant prostate tumor. In PCa patients the percentage of fPSA in tPSA decreases and the fraction of proPSA in fPSA, on the contrary, grows. This pattern was taken into account in the PHI formula: $PHI = (-2proPSA / fPSA) \sqrt{tPSA}$ (developed by Beckman Coulter, Incorporated). Prostate health index calculation is recommended for patients with tPSA levels from 2 to 10 ng/ml (Hybritech calibration).

The literature suggests that the use of the index, combining different dynamic of the three serum PCa markers and including a specific PCa indicator (-2proPSA) is becoming more common in clinical practice. Prostate Health Index is a potentially important adjunctive option on tPSA, improving cancer detection rates [13]. Besides PHI, a new indicator has been designed based on -2proPSA - % p2PSA: $\%p2PSA = -2proPSA / fPSA \times 100\%$, which together with the PHI is used as a prognostic factor in early PCa detection.

Clinical application of -2proPSA and Prostate Health Index. In clinical practice, these indicators can be

used to solve several problems, such as improving PCa detection, enhancing specificity and reducing the number of unnecessary biopsies, identifying aggressive forms of PCa, and monitoring disease progression. The research results confirm improved accuracy for cancer detection using PHI compared to tPSA and %fPSA.

Specifically, it was shown during a multicenter study [14] including 1362 patients who had tPSA values of 1.6–8.0 ng/mL of WHO calibration (which corresponds to 2-10 ng/mL for Hybritech calibration) and negative digital rectal examination (DRE). Prostate biopsies of 10 cores performed on all included patients detected PCa in 668 of 1362 patients. PHI had the largest area under the ROC curve (AUC) (AUC= 0.74) compared with other indicators and provided significantly better clinical performance for predicting PCa compared with %p2PSA (AUC=0.72), p2PSA (AUC = 0.63), %fPSA (AUC = 0.61) or tPSA (AUC = 0.56). At that, the maximum area under the curve (AUC = 0.75) was found when using a multifactorial approach taking into account age, prostate volume, the result of DRI, tPSA, % fPSA and PHI [14].

Another work [15] studied the relationship between different isoforms and PSA indicators, including -2proPSA, in blood serum of 123 men. Among them PCa was detected in 51% of cases and tPSA was 0.48–33.18 ng/mL. The authors found that diagnostic value of % -2proPSA significantly outperformed that of %fPSA in patients with prostate cancer. tPSA levels ranging from 2 to 10 ng/ml (the «gray zone») were studied separately. The findings made it apparent that in this «controversial» patients' population % -2proPSA was also the best predictor of PCa detection compared with other indicators. In the 2-10 ng/mL PSA range, % -2proPSA had the largest AUC (0.73) compared to 0.53 for %fPSA.

The next publication [16] was devoted to the potential clinical utility of -2proPSA in detecting aggressive forms of the disease. The study findings suggested greater correlation between -2proPSA and PCa compared with that of %fPSA among 526 patients who took part in the study both with tPSA levels ranging from 0.29 to 310.6 ng/ml and in a subgroup of patients with tPSA levels between 2 and 4 ng/ml. Regarding detecting more aggressive forms of PCa, adding % -2proPSA to other indicators in a multivariate prediction model comprising clinical, demographic and personal data significantly improved the performance. Overall, % -2proPSA increased with increasing Gleason score and was higher in aggressive cancers, which undoubtedly opened up new horizons in clinical application of -2proPSA and PHI.

Assuming a correlation between -2proPSA increase and progression of the disease, T. Rhodes et al. [17] examined the changes of this parameter in the frozen serum samples of 420 patients randomly selected during PCa screening. The authors conducted a multivariate analysis of changes in -2proPSA depending on patient age, prostate volume, and the presence of PCa. It was noted that the increase in -2proPSA correlated with increasing age and enlarging prostate volume. However, the highest correlation was observed with the development of prostate cancer. The rate of increase in -2proPSA was significantly greater for men who developed PCa compared to those who did not develop PCa. Median follow-up in this study was 7 years.

B. Le et al. [18] for the first time studied the predictive value of PHI in a prospective study of 2034 patients

undergoing PCa screening. A total of 322 patients, who had tPSA greater than 2.5 ng/ml were offered a prostate biopsy and it was performed in 74 of them. In this group of patients, 63 men had tPSA between 4 to 10 ng/ml. No statistically significant difference was observed between tPSA levels in groups with positive and negative prostate biopsy results (mean tPSA 5.37 and 5.14 ng/ml; $p = 0.88$). On the other hand, PCa patients had greater mean values of %p2PSA, but PHI with the greatest area under curve (AUC 0.77) had the best predictive value.

It has been shown that PHI allows reducing the number of biopsies due to its higher specificity compared to tPSA and %fPSA, but with the same sensitivity threshold. For example, according to W. Catalona et al. [19], with a sensitivity threshold of 95% specificity for %fPSA was 8%, while for PHI - 16%. In the study by C. Stephan et al. with a sensitivity of 90 and 95%, the highest specificity was noted for RHI (35.4 and 15% respectively), followed by %p2PSA (33.6 and 13.3%), tPSA (16.1 and 8.5%) and fPSA% (7.5 and 15%).

Thus, when using an absolute PHI cutoff of 24 (Hybritech calibration; corresponds to the cutoff value of 31 WHO calibration), the advantage of specificity as compared with % fPSA was about 20% (sensitivity - 90%), which might reduce unnecessary biopsies by 20% [14].

One of the most promising areas of clinical application of PHI is the ability to detect aggressive, i.e., potentially lethal forms of PCa. According to [14], the difference in median values between groups of patients with aggressive (Gleason score > 7) and non-aggressive forms (Gleason score < 7) of PCa was observed for many of the indicators, however, PHI was the best in differentiating PCa from benign disease: median 53.1 and 59.7, respectively ($p=0.002$).

W. Catalona et al. [19] showed that at PHI greater than 50, the number of patients with Gleason score > 7 on biopsy increases, reaching 50% of all diagnosed PCa cases. With increasing PHI increases the relative risk (RR) of having highly differentiated PCa: at PHI between 0-24.9, 25.0-34.9, 35-54.0 and over 55, RR was 1.00; 1.08; 1.18 and 1.61, respectively [19].

G. Guazzoni et al. in the study, including 350 men who underwent radical prostatectomy showed that preoperative %p2PSA and PHI had a high predictive value regarding the subsequent histological findings. It has been shown that adding PHI in the multivariate model allows predicting aggressive PCa (Gleason score > 7) with optimum balance of sensitivity and specificity [20].

Determination of a marker cutoff is implemented by identifying the optimal balance between sensitivity and specificity. Studies of PHI cutoff conducted by W. Catalona et al. [19] showed that at 95% sensitivity, the specificity of PHI was 16.0%, at that PHI cutoff was 21.3, at 90% sensitivity - 26 and 24.1% and at 80% sensitivity - 45 and 29.3%, respectively (Hybritech calibration) [19]. The authors found a relationship between the probability of having prostate cancer and PHI value. It was shown that for patients with a PHI below 25 the chance of having prostate cancer was as low as 11%. Increasing PHI was associated with increased risk of PCa: at PHI above 55 RR of having prostate cancer increased by 4.7 times compared with patients with PHI below 25 and amounted to 52.1% [19].

Determining cutoffs of malignant tumor markers is an important task that will define their implementation in clinical practice. Based on the analysis of multicenter studies, researches established PHI cutoffs, which were stated in the instruction to the reagent for determining -2proPSA. Thus, 90% sensitivity, which is the reference standard in using one or another laboratory method, corresponds to PHI cutoff of 23.82 (Hybritech calibration). The final decision on the optimal cutoff for the Russian population can be defined based on the results of the ongoing Russian study on the diagnostic value of -2proPSA and PHI. Preliminary results of the study were presented at the Congress of the Russian Society of Urology 2014 in Saratov [21].

The study aimed to determine PCa detection rates using PHI (Beckman Coulter) and results of transrectal prostate biopsy. For this purpose urology clinic of A.I. Evdokimov MSUMD from September 2013 to June 2014 conducted biomaterial sampling from 147 patients. Serum levels of tPSA, fPSA and -2proPSA were tested using immunochemical analyzer Beckman Coulter UniCel DxI by Hybritech PSA, Hybritech free PSA, and Hybritech p2PSA methods at the Scientific Center «Efis». PHI was calculated automatically by the analyzer software.

Criteria for including patients to the study were: age 45–75 years, the tPSA level of 2.5–10 ng/mL, negative DRI finding and no history of prostate biopsy. From all collected samples 128 samples were examined. All patients underwent transrectal prostate biopsy by a standard technique of 12 cores, the material was examined by the clinic pathologists, histology report was provided according to the modern reporting guidelines.

In accordance with the histopathological findings, all patients were divided into 3 groups: with verified PCa, with benign prostatic hyperplasia (BPH) and with chronic prostatitis (CP). The mean age of the patients was 58.2 (50–77) years. The mean serum tPSA level in all study population was 6.16 (3.63–9.98) ng/ml, in PCa group 6.52 (4.13–9.3) ng/ml, in BPH group 5.71 (3.63–9.98) ng/ml, and in HP group 6.22 (3.7–9.8) ng/mL. Gleason score 6 (3+3) 7 (3+4), 7 (4+3), 8 (4+4) were found in 26, 14, 4 and 3 patients respectively. The mean PHI score in PCa patients was 42.69 (17.82–115.33), in BPH patients 30.84 (12.17–86.14), in HP patients 30.33 (10.38–50.83). Analysis of the study findings revealed a statistically significant difference of PHI scores between PCa and BPH groups ($p<0.01$), and between PCa and CP groups ($p<0.003$). Difference in PHI scores between BPH and CP groups was not statistically significant ($p=0.18$).

There was a pronounced trend for increase in PHI score with increasing Gleason score: Median PHI score in the group with Gleason score 6 was 34.3, Gleason score 7–43.3 and Gleason score 8 – 49.3. At that, there was no statistically significant relationship between tPSA, %fPSA and the increase in Gleason score. Medians for groups with a Gleason score of 6, 7 and 8 were for tPSA 6.8, 6.5 and 7.5 ng/ml and for %fPSA 10.8% 9.9% and 11%, respectively. The study findings imply that further studies are advisable to elucidate the diagnostic value of PHI. It has been planned to collect sufficient material to produce statistically significant results, undertake analysis, define indications and produce guidelines for PHI application in Russia.

Conclusion. Not so much time has passed since the confirmation of the hypothesis of differential expression of PSA isoforms in prostate tissue, but there currently exists a growing evidence base for greater significance of -2proPSA and PHI as predictors of PCa in patients with tPSA levels in the “gray zone” of 4–10 ng/ml. Numerous studies also have shown the importance of these indicators in identifying aggressive forms of PCa, which will undoubtedly lead to a substantial reduction in the number of prostate biopsies in patients with clinically insignificant form of the disease. Moreover, there is evidence suggesting a role for PHI in monitoring disease progression in patients on active surveillance, which also has important medical, social and economic implications.

Literature cited in this article and preliminary results of the Russian research have already allowed including -2proPSA test and PHI in a number of clinical guidelines of professional associations in the world. For example, NCCN (Clinical Practice Guidelines in Oncology, USA) recommends using PHI in men with total PSA in the range from 3 to 10 ng/ml and a negative first biopsy for deciding on the need to re-biopsy, and determine PHI over 6-12 months if the primary biopsy was not carried out. PHI can serve as a guide in assessing the risks of PCa before the initial biopsy and PHI values above 35 show a high probability of prostate cancer [22]. Moreover, PHI test is included in the Russian clinical guidelines, presented recently at the annual Congress of the RSU in Saratov [23]. The guidelines describe PHI, sampling requirements, the data on sensitivity and specificity for PCa detection at different PHI cutoffs and the likelihood of having PCa, depending on PHI level.

The results of numerous studies on the new indicators are promising and nowadays accumulating evidence allows us to recommend application of -2proPSA and PHI in daily urological practice.

REFERENCES

1. *Sensabaugh G.F.* Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J. Forensic. Sci.* 1978;23:105–115.
2. *Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P. et al.* Publication of a human prostate specific antigen. *J. Urol.* 1996;155:1705.
3. *Wang M.C., Kuriyama M., Papsidero L.D. et al.* Prostate antigen of human cancer patients. In: *Methods in cancer research.* H. Busch, L. Yeoman, eds. N.Y., 1982. P. 179–197.
4. *Loran O.B., Pushkar' D.Yu., Frank G.A.* Prostate-specific antigen and morphological characteristics of prostate cancer. *Guidelines for physicians.* M., 1999.
5. *Kogan M.I., Yakimchuk T.P., Medvedev V.L.* The appropriateness of including a biopsy of the transition zone and seminal vesicles in the scheme of multifocal biopsy of the prostate under trans-rectal ultrasound guidance. *Proceedings of the Plenum of the Russian Society of Urologists.* Omsk, 1999, pp. 70–71.
6. *Lilja H.* A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J. Clin. Invest.* 1985; 76:1899–1903.
7. *Watt K.W.K., Lee P.-J., M'Timkulu, et al.* Human prostate-specific antigen: Structural and functional similarity with serine proteases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1986;83:3166–31670.
8. *Yousef G.M., Diamandis E.P.* An overview of the kallikrein gene families in humans and other species: Emerging candidate tumor markers. *Clin. Biochem.* 2003;36:443–452.
9. *Stephan C., Jung K., Diamandis E.P. et al.* Prostate-specific antigen, its molecular forms, and other kallikrein markers for detection of prostate cancer. *Urology.* 2002;59:208.
10. *Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M., et al.* Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease. A prospective multicenter clinical trial. *JAMA.* 1998;279:1542–1547.
11. *Mikolajczyk S.D., Marker K.M., Millar L.S. et al.* A truncated precursor form of prostate-specific antigen is a more specific serum marker of prostate cancer. *Cancer Res.* 2001;61:6958–6963.
12. *Semjonow A., Köpke T., Eltze E. et al.* Pre-analytical in-vitro stability of [-2]proPSA in blood and serum. *Clinical Biochemistry.* 2010;43:926–928.
13. *Mikolajczyk S.D., Catalona W.J., Evans C.L. et al.* Proenzyme forms of prostate specific antigen in serum improve the detection of prostate cancer. *Clinical Chemistry.* 2004;50(6): 1017–1025.
14. *Stephan C., Vincendeau S., Houlgatte A. et al.* Multicenter Evaluation of [-2]Prostate-Specific Antigen and the Prostate Health Index for Detecting Prostate Cancer. *Clinical Chemistry.* 2013;59:306–314.
15. *Sokoll L.J., Wang Y., Feng Z. et al.* [-2]proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a national cancer institute early detection research network validation study. *J. Urol.* 2008;180: 539–543.
16. *Sokoll L.J., Sanda M.G., Feng Z. et al.* A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of [-2]proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19:1193–1200.
17. *Rhodes T., Jacobson D.J., McGree M.E. et al.* Longitudinal changes of benign prostate-specific antigen and [-2]prostate-specific antigen in seven years in a community-based sample of men. *Urology.* 2012;79:655–661.
18. *Le B.V., Griffin C.R., Loeb S. et al.* [-2]Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total and free prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study. *J. Urol.* 2010;183:1355–1359.
19. *Catalona W.J., Partin A.W., Sanda M.G. et al.* A multicenter study of [-2]Pro-Prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *J. Urol.* 2011;185:1650–1655.
20. *Guazonni G., Lazzeri M., Nava L. et al.* Preoperative prostate-specific antigen isoform p2PSA and its derivatives, %p2PSA and prostate health index, predict pathologic outcomes in patients undergoing radical prostatectomy for prostate cancer. *Eur. Urol.* 2012;61:455–466.
21. *Sidorenkov A.V., Govorov A.V., Pushkar' D.Yu.* The diagnostic value of [-2] proPSA and PHI index. Own results. *Proceedings of RSU Congress.* Saratov. S. 75–76.
22. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.* http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site.
23. *Urology. Russian clinical guidelines.* Ed. Yu.G. Alyaev, P.V. Glybochko, D.Yu. Pushkar'. M., 2015. 480 p.

Received 09.12.14.

AN EVIDENCE BASED UPDATE ON THE INVESTIGATION AND MANAGEMENT OF MALE LOWER URINARY TRACT SYMPTOMS

Sheffield Teaching Hospitals, UK

Corresponding Author: A. Mangera – Clinical Research Fellow Sheffield Teaching Hospitals; e-mail: mangeraaltaf@hotmail.com

In this review, we aim to summarise the evidence regarding the diagnosis and management of male Lower urinary tract symptoms (LUTS). It is inevitable that with an ageing population the prevalence of male LUTS is likely to increase. Thus symptom prevention and preservation of quality of life (QoL) feature as high priorities for clinicians and patients alike. There are now a number of different pharmacological options available to men with LUTS which lead to significant improvements in symptom scores, flow rate and QoL. Meta-analyses have shown the benefits for 5- α reductase inhibitors, antimuscarinics, alpha blockers and more recently the phosphodiesterase-5 inhibitors. High level evidence also exists for combinations of all of the above agents with alpha blockers except phosphodiesterase-5 inhibitors and so men with concomitant storage symptoms, prostate volume >30ml/ PSA >1.4 or erectile dysfunction may be considered for combination treatment.

The last few years have seen an increase in the data regarding less invasive methods of cystometry. Although these do not provide the same information as cystometry, they may have a role in answering specific questions and counselling men with BPH/LUTS. The key to incorporating these newer techniques in the assessment of men will lie with standardisation and use for specific indications. In an era of personalised medicine, appropriate patient selection is likely to provide the key to the most effective clinical investigative and management strategy.

Key words: Male lower urinary tract symptoms; cystometry; bladder outflow obstruction; alpha antagonist; antimuscarinic; 5- α reductase; phosphodiesterase-5 inhibitors; bladder wall thickness

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Mangera A., Chapple C. An evidence based update on the investigation and management of male lower urinary tract symptoms. Urologia. 2015;2:94–102.

Epidemiology and natural history of male Lower urinary tract symptoms (LUTS)

Prevalence estimates for an elevated International prostate symptom score (IPSS) above eight range from 16 to 52% [1–4]. With advancing age prevalence has been shown to increase from 21% to 32% for elderly men in a pooled analysis of 126 studies [5]. The prevalence of daily urinary incontinence in this analysis was reported at 9%.

More recent studies have assessed the individual symptoms captured in the IPSS with a more detailed analysis of storage, voiding and post micturition symptoms as defined by the International Continence Society (ICS) [6] [7]. Nocturia and terminal dribbling are the most commonly reported storage and voiding symptoms. However, LUTS more often occur in clusters than in isolation, with the overactive bladder (OAB) symptom complex accounting for a prevalence of 10% to 25% as a constellation of urgency, frequency with or without nocturia [8]. Over an 11 year period, the mean annual incidence of OAB and incontinence has been shown to increase by 3.7% and 0.8% respectively [9]. Urinary flow rates have also been shown to decrease from age 50 [10].

More importantly, the importance of these symptoms in relation to effects on quality of life QoL and treatment seeking has been reported to be 50% and 20% respectively [11]. This suggests that not all symptoms require treatment from the individual's perspective and prevalence data may over-estimate true symptomatic burden.

The most significant risk factor associated with the development of LUTS is age [12]. Although LUTS are often considered a part of ageing, certain modifications to the behaviour of older men have been shown to alter

this risk. Physical activity has been found to reduce risk by 29%, whereas a body mass index above 30 raises the risk of LUTS in men by 41% [13]. Associations between metabolic syndrome and LUTS have shown mixed correlations with more recent studies reporting no significant association [14] [15]. Foods associated with LUTS include, high doses of vitamin C, dietary sodium, and a high alcohol intake [16] [17]. A recent meta-analysis has assessed genetic polymorphisms associated with male LUTS [18]. The rs731236 variant of the Vitamin D receptor was found to have a consistent protective effect against LUTS in different populations. The genomic approach is only beginning to reveal the potential inherited risks in developing LUTS which are likely to be multifactorial.

Patient assessment

The cornerstone of medical assessment relies upon a careful patient history. We would advocate a description of the patients symptoms based on the standardisation terminology reported by the International Continence Society (ICS) [19]. Symptoms may be categorised as storage, voiding and post micturition (*Table*). Patient reported outcome measures (PROMS) and questionnaires lack high level evidence but may be of use in some patients. Although standardised and validated questionnaires exist in different languages, they are mostly used as research tools to quantify change [20]. In any case, if questionnaires are utilised they should be, psychometrically evaluated and sensitive to change and these changes should reflect effects on quality of life (QoL) and bother. After a focussed history, examination of the abdomen- assessing

for a palpable bladder (overflow incontinence), a digital rectal examination and examination of the external genitalia is considered mandatory.

In our opinion, an invaluable tool in the assessment of men with LUTS is a frequency volume chart/ bladder diary. This only requires completion for 3–4 days [21] and has the added benefit of providing evidence for or excluding polyuria and nocturnal polyuria which would otherwise be missed. The bladder diary also provides a useful baseline to which symptoms may be compared following treatment.

In addition to this, a urinalysis is also considered to be essential to exclude urinary tract infection (UTI), glucosuria and haematuria. In our opinion, PSA testing is acceptable in men after appropriate counselling. Clearly, an abnormal feeling prostate is an indication for recommending PSA testing. In patients with greater than 10 year life expectancy, a PSA test may be useful in identifying prostatic malignancy as well as deciding upon 5-alpha reductase inhibitor therapy.

Evidence from the MTOPS, ALTESS and PLESS studies [22] [23] [24] suggests that a PSA of greater than 1.4 (suggesting a larger prostate) is deemed to predict a higher rate of disease progression and these patients are more likely to benefit from 5-alpha reductase inhibitor therapy. Therefore in addition to its use relating to prostate cancer detection, a PSA may be performed to risk stratify patients for BPH disease progression. However, it must be borne in mind that there is no genetic, aetiological or epidemiologically proven relationship between LUTS and prostate cancer. Thus the PSA test should not be considered as a screening test of a higher risk population simply because the man has LUTS [25].

The MTOPS study has shown that the risk of developing renal impairment from LUTS is <1% and therefore it is recommended that serum renal function and abdominal ultrasound should not be assessed routinely in men with LUTS [26]. Post void residual volume assessment and uroflowmetry are simple non-invasive office based assessments which are also recommended. Neither can distinguish between detrusor underactivity and bladder outflow obstruction. However, a significantly elevated post void residue may lead to harmful sequelae and is therefore useful as a diagnostic tool, to suggest either severe obstruction or a poorly functioning detrusor. The pattern of flow may reveal staccato voiding or a plateau pattern which may indicate detrusor sphincter dyssynergia or a urethral stricture respectively.

A myriad of investigative modalities have been reported to be useful in the assessment of the male with LUTS. These include cystometry, ultrasound assessment of prostate size, intravesical prostatic protrusion/angle, bladder weight and penile cuff test. The most widely used and

standardised procedure is cystometry. It is unlikely that cystometry will be of great benefit in the uncomplicated patient as the aforementioned less invasive investigations are usually sufficient, to guide initial therapy.

Urodynamic assessment should always be performed according to the good urodynamic practice guidelines produced by the ICS (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/nau.10066/pdf>). Due to its invasiveness it should be restricted to men where a diagnosis is required as the findings will change management. We would consider cystometry in patients resistant to pharmacotherapy, with mixed symptoms and in the neuropathic population. The main categories of cystometric abnormality in men include detrusor overactivity, bladder outflow obstruction and detrusor underactivity.

In a report of 1418 men clinically suspected of bladder outflow obstruction, 61% had detrusor overactivity [27]. It is known that 60% of OAB dry and 84% of OAB wet men have detrusor overactivity [28]. Also 15% of healthy individuals will show this sign on urodynamic assessment [29]. The finding, if associated with bladder outflow obstruction may resolve in 50–70% of cases after a TURP [30].

The more decisive use of urodynamics is in the differentiation of bladder outlet obstruction and detrusor underactivity. The ICS nomogram is recommended for distinguishing these with the bladder outflow obstruction index being the important calculated parameter. The International Continence Society has standardised the calculation of bladder outflow obstruction with the use of the bladder outflow obstruction index (BOOI). This is calculated with the following formula $BOOI = p_{det}Q_{max} - 2Q_{max}$ [31]. $BOOI > 40 \text{ cm H}_2\text{O}$ suggests obstruction, $20\text{--}40 \text{ cm H}_2\text{O}$ is equivocal and $<20 \text{ cm H}_2\text{O}$ is unobstructed. This may be plotted onto a nomogram such as the ICS nomogram. During repeat testing only 1% of men changed category from obstructed to non-obstructed, emphasising the test /retest reliability of this technique.

The contractility of the bladder can also be objectified. In order for voiding to occur the contraction must be sufficiently strong and sustained to allow complete emptying. The bladder contractility index (BCI) = $p_{det}Q_{max} + 5Q_{max}$ and gives an indication of contraction strength. A strong contraction is $>150 \text{ cm H}_2\text{O}$, and a weak contraction $<100 \text{ cm H}_2\text{O}$, with $100\text{--}150 \text{ cm H}_2\text{O}$ being described as normal contractility. The bladder voiding efficiency gives an indication of sustainment of contraction. This is calculated by dividing the total voided volume by the total bladder capacity $\times 100$. The higher the post void residual the lower the voiding efficiency.

The diagnosis of detrusor underactivity is reported to be under-recognised. In a study of 2066 neurologically normal individuals 224 were shown to have this urodynamic finding [32]. These men were shown not

Table

Lower urinary tract symptoms		
Storage Symptoms	Voiding symptoms	Post void symptoms
Frequency	Slow/splitting/ intermittent stream	Feeling of incomplete emptying
Urgency	Hesitancy	Post-micturition dribble
Incontinence	Straining	
Increased/reduced/ absent/ painful bladder sensation	Terminal dribble	
Nocturia		

to benefit from bladder outflow obstruction surgery. Men suspected of having BOO may therefore instead have detrusor underactivity and this has been shown in 11–40% of those undergoing cystometry for presumed bladder outflow obstruction [33]. The major benefit of cystometry therefore seems to be in excluding men who have poor detrusor function and who will be unlikely to benefit from bladder outflow surgery [34]. Since cystometry is invasive researchers have looked at other less invasive measures which may help predict outcomes of bladder outflow obstruction surgery.

The prostate volume and also the transitional zone volume have been shown to correlate poorly with urodynamic findings of bladder outflow obstruction [35]. Intravesical prostatic protrusion, however, has been suggested as a less invasive measure [36]. If the length of prostate protrusion from its base is greater than 10mm then it has been shown that alpha blockers may be less effective in relieving symptoms [37] [38], and surgery is likely to be more effective [39]. A recent study has reported an area under the ROC curve (AUC) of 0.71 for predicting BOO symptoms [40]. Another study reported an AUC compared to the bladder outflow obstruction index of 0.84 [41]. Also there is a higher likelihood of TWOC failure in men with AUR if the IPP is >10mm [42].

The prostatic urethral angle is located between the membranous and prostatic urethra. When correlated with the bladder outflow obstruction index, the area under the ROC curve was 0.63 in one study [43]. An angle of >35° was shown to correlate with BOO; but an increasing angle did not correlate with degree of BOO. The limitations of the above investigations are that they arise from the notion of prostatic obstruction and cannot provide information on bladder contractility. If detrusor compensation or decompensation has occurred secondary to prostatic obstruction, or in cases of detrusor underactivity these studies will in theory not be useful in deciding who is likely to benefit from surgery for bladder outflow obstruction.

Bladder wall thickness (BWT) and detrusor wall thickness (DWT) may be measured via ultrasound. BWT has been suggested to correlate less with BOO than DWT as the mucosal layer of the bladder may be affected by other pathologies and it is the detrusor which is most affected by BOO [44]. This may explain why there is some discrepancy in the reports correlating BWT with pressure flow studies. Manieri showed a significant correlation ($r>0.6$) with a cut off of 5mm, with 63% of men with a thickness less than this being unobstructed and 88% above this being obstructed [45]. On the other hand Hakenberg et al showed that BWT increases slightly with age and the cut off for men with LUTS was only 0.3mm greater than men without symptoms [46].

Oelke et al have prospectively compared anterior DWT >2mm with a 7.5 MHz ultrasound at functional bladder capacity to standard urodynamics. The technique had a sensitivity of 83%, specificity of 95%, positive and negative predictive values of 94% and 86% respectively [47]. The AUC for DWT was found to be 0.723 for successful TURP in 239 men [48]. DWT decreases continuously with increasing bladder filling up to only 250ml, but thereafter remains unchanged until bladder capacity. There is however an Interobserver variability reported of 4–12.3% [49], but the majority may be due to technical variations such as bladder filling volume,

place of measurement and ultrasound probe frequency [50]. Other problems with this technique are that minimal changes need to be interpreted i.e. < 2mm. Kessler et al have reported a 100% sensitivity and positive predictive value with a higher cut off of > 2.9 mm but this led to a lower specificity of 43% and negative predictive value of 54% in a study of 102 men [51]. Using a higher cut off may at least allow the inclusion of men most likely to benefit for surgery, whereby those excluded may then progress to cystometry thus avoiding cystometry in a proportion of men. A fundamental question which needs to be posed is the extent to which DWT is related to obstruction per se versus the high prevalence of DO which is seen in patients with BOO and where increased DWT may in fact be explained by the regular isometric contractions seen in the context of DO.

Another reported technique is the use of a penile cuff, whereby, a pneumatic cuff is placed around the penis and with cuff inflation the flow is interrupted. The pressure of the fluid column in the urethra is equated to the intravesical pressure assuming a continuous fluid column connecting both points. Two methods of measurement have been described. The deflation technique involves inflating the cuff, after which permission to void is given against a closed cuff and the cuff is released when the patient feels urine in the urethra [52]. The other technique is known as the interruption technique, where voiding is halted mid flow and then the cuff deflated rapidly resulting in a surge of urine (Q_{surge}), followed by steady state flow (Q_{ss}) [53]. This cycle may be repeated multiple times. The penile compression release index is calculated as $(Q_{\text{surge}} - Q_{\text{ss}}) / Q_{\text{ss}}$. With this technique, good reproducibility and inter-observer agreement has been shown on repeat testing especially if voided volumes are > 150 ml [54] [55].

The maximum value of cuff interruption pressure plotted on a non-invasive pressure flow nomogram has been proposed to provide the best diagnostic accuracy [56]. A positive predictive value of 82% and a negative predictive value of 88% have been reported [57]. More interestingly, men deemed to be obstructed by the penile cuff test had an 87% chance of a good outcome after TURP compared to only 56% who were deemed unobstructed [58]. This differentiation may be useful in excluding men who are obstructed and therefore do not need invasive urodynamics. The limitations include a high trace exclusion rate secondary to technical problems, abdominal straining is unaccounted for and there is a high equivocal outcome rate in which patients have a success of 78% with TURP [58].

Overall, the evidence base relating to the assessment of men with LUTS is poor and is based primarily upon either expert opinion or cohort studies for the less invasive assessments. Evidence for cystometry is selective and although there is a meta-analysis for its use in women with stress urinary incontinence, the same cannot be said for the assessment of BOO in men. Due to its widespread use and utility to urologists; cystometry has attained gold standard status in LUTS assessment especially in complex cases and therefore less invasive measures of lower urinary tract function will be compared against it. Until evidence to the contrary is produced these newer methods still require more substantial evidence to be accrued before they can be incorporated in the assessment algorithm of men with LUTS.

Medical treatments for male LUTS

Phytotherapies are sometimes used for the treatment of male LUTS and also reported in numerous studies but unfortunately the majority of these suffer from a lack of scientific rigor. Of the phytotherapies, *Serenoa repens* (Saw palmetto) is the most investigated. A meta-analysis which included 14 RCT's showed Saw palmetto led to a reduction in IPSS of 4.8, increase in $Q_{\max}$ of 1.2 ml/s without changes in prostate volume or PSA [59]. *Pygeum Africanum* has been compared to placebo in 18 RCT's. It is shown to lead to improvements in symptoms and flow rate. However, the majority of RCT's were of a low quality and the results were not reported in a manner which permitted meta-analysis [60]. Similarly, *Secale cereale* has been reported in two RCT's of poor quality and a meta-analysis was withdrawn from the literature in 2011 [61].

The use of α_1 and α_d selective antagonists have been advocated due to reduced systemic side effects. It is postulated that the α_1 antagonists work on the prostate and bladder neck and the α_d on the bladder and spinal cord. Twelve meta-analyses have shown the efficacy of α blockers [62]. Data on efficacy and adverse events exists out to beyond five years. A new selective α_1 blocker – Silodosin – has shown significant improvement over placebo in IPSS, $Q_{\max}$ but no better improvement in voiding symptoms over tamsulosin albeit with potentially better cardiovascular safety but a higher incidence of the α_1 effect of failure of ejaculation [63]. Urodynamically α antagonists lead to reduction in Pdet $Q_{\max}$ of 10–20 cmH₂O and increase $Q_{\max}$ by 2–3 ml/s [64]. They should be used in men with predominantly voiding symptoms, they work rapidly and do so in prostates of all sizes.

Chapple Ch. et al. have conducted a meta-analysis of multiple antimuscarinic agents and found a reduction in frequency, urgency and voided volumes [65]. There was a concern regarding the theoretical risk of precipitating acute urinary retention in men with LUTS with antimuscarinic agents however, this has not been borne out in the literature provided that men with post voiding residuals of greater than 200ml are excluded and therefore can be safely used in men in predominant storage LUTS.

A meta-analysis has also shown significant improvements with mirabegron in improving incontinence episodes and micturition frequency with a low side effect profile [66]. However, it must be recognised that the majority of patients in OAB trials are women and although collectively combining all studies a large number of men are investigated, the response in men may be overshadowed by the effect of the large number of women.

Recently the beta 3 agonist mirabegron has been introduced into clinical practice and whilst this carries the potential advantages of not being likely to increase the post-voiding residual. Whilst anecdotal evidence would support its use, the evidence base for the treatment of male LUTS does not exist yet.

Combination therapy of alpha blockers and antimuscarinics is considered a useful treatment option in men with both storage and voiding symptoms. Seven RCT's have shown the superiority of combination treatment over single agent treatment and placebo. It is argued that the symptomatic differences are small but significant. However, a trial powered to assess perception of treatment benefit showed a significant difference suggesting this difference is still important to patients

[67]. It should also be noted that these trials have selected men with a predominance of storage symptoms which should not be generalised to all men with LUTS. In addition, the majority of exclusion criteria for these trials include men with a post void residue <250 ml and it must be recognised that men with larger residuals have not been investigated.

Androgens are implicated in the development of BPH and it has long been known that bilateral orchidectomy may relieve urinary retention. The use of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) agonists has been shown to reduce prostate volume by 25%, improve the IPSS score and $Q_{\max}$ but requires long term continuation [68]. This is often met with the side effects of androgen deprivation such as reduced libido, impotency and hot flashes. On the other hand, LHRH antagonists (cetorelix and ozarelix) have failed to show significant differences to placebo. Degarelix has not been studied in a placebo controlled RCT in men with LUTS/BOO. Thus it can be recommended that LHRH agonists may be used in carefully selected men who are not candidates for surgery and LHRH antagonists are not recommended.

Multiple large RCT's have demonstrated the efficacy and safety of finasteride [69] [70]. The studies quote a 6–10% risk of sexual dysfunction. Long term safety up to 10 years has also been shown [71]. With finasteride a reduction of 3 points on the IPSS score, and an improvement in $Q_{\max}$ of 2ml/s is seen from 6 months through to 4 years. However, it has been shown that not all men benefit from finasteride. Meta-analysis has revealed men with a PSA >1.4 or prostate volume >30ml are more likely to obtain benefit [72]. The mean change in prostate volume is 20% and a 50% reduction in PSA after 6 months is noted. Long term studies have shown a reduction in acute urinary retention rates from 2.7% to 1.1%. The PLESS study revealed a risk reduction of requiring TURP from 10% to 5% [73]. Clearly, the reduction of risk for acute retention and need for surgery will depend on the characteristics of the included population and those with a poorer flow rate, larger prostate and higher PSA are at increased risk of progression and thus more likely to benefit from this therapy [74].

Dutasteride inhibits both isoenzymes of 5- α reductase and thus a more profound reduction in intraprostatic dihydrotestosterone levels is seen (95% Vs. 70%) [75]. Similarly multiple RCT's have demonstrated efficacy in symptom improvement, flow rate and QoL up to two years and is summarised in a meta-analysis [76]. An open label study, where the placebo group was switched to dutasteride and the dutasteride group continued follow up, showed lesser improvements in the group which was switched compared to the group already taking dutasteride suggesting earlier commencement of the drug leads to greater benefit than later initiation [22]. All men selected for the dutasteride studies had a prostate volume >30 ml and/or a PSA >1.5 ng/ml. This may explain differences between the findings in these trials compared to those for finasteride. A recently reported clinical study after 1 y of finasteride or dutasteride therapy did not demonstrate any difference between the therapeutic efficacy of the two agents [77].

Another important study looked at the effect of discontinuation of finasteride and dutasteride [78]. All participants took either finasteride or dutasteride with tamsulosin for one year and then stopped the 5- α

reductase inhibitor. After one year of discontinuation prostate volume and PSA levels returned to 90–95% of baseline. Therefore discontinuation is not recommended. The PCPT and REDUCE trials reported a relative risk reduction of 40% of developing LUTS associated with BPH with the use of finasteride over 7 years or dutasteride over 4 years respectively [79].

The combination of alpha antagonists and 5- α reductase has been reviewed in a recent systematic review [80]. Three studies have investigated combination treatments Vs. placebo. The largest studies are the MTOPS and CombAT [81]. The former assessed the risk of progression in 3047 men with moderate to severe LUTS. The use of doxazosin alone reduced this risk by 39%, finasteride by 34% and combination therapy by 66%. However, the risk of requiring invasive treatment was only seen to be delayed by doxazosin compared to finasteride which reduced the risk. The latter study randomised 4500 patients to one of placebo, tamsulosin, dutasteride or combination. The major difference between this and the MTOPS study was the inclusion of only men with prostate volumes greater than 30ml in the CombAT study. In this study, dutasteride was superior to tamsulosin but only after 18 months. Combination was however superior to both individual therapies and placebo.

Phosphodiesterase-5 inhibitors may also be used in men with benign prostatic obstruction. Four RCT's have assessed tadalafil, one sildenafil and one vardenafil. Improvements are shown in IPSS, Q_{max} and IIEF scores. Only one study has compared tadalafil to tamsulosin and shown similar improvements in IPSS and flow rate between the drugs [82]. One open label study has shown continued improvements up to one year [83]. Adverse events are reported in a meta-analysis and include flushing, gastro-oesophageal reflux, headache, dyspepsia, back pain and sinusitis [84]. Phosphodiesterase-5 inhibitors are a good option in men with concomitant erectile dysfunction and voiding LUTS.

There are five non-placebo controlled randomised studies assessing the use of alpha blockers and PDE5 inhibitors as combination therapy which were compared in a meta-analysis [84]. Improvements in IPSS and Q_{max} were significantly greater than alpha blockers alone. The combination was reported to be safe with no reported serious adverse events. It must be remembered that these are non-randomised studies and long term efficacy and safety data for this combination is still awaited [85].

Patients individual circumstances should dictate if combination therapy is required and if so which combination therapy is recommended. With the availability of a number of pharmacotherapies, it is all the more important to obtain a good history about bothersome symptoms. This will allow for an individualised approach towards treatment of male LUTS in patients and avoid the need for trial and error and also reduce side effects and symptom progression.

REFERENCE

- Haidinger G, Waldhor T, Madersbacher S, Schatzl G, Vutuc C. Prevalence Of Lower Urinary Tract Symptoms In Austrian Males: Update 2009. *Urol Int* 2011; 87:385-391.
- Tuncay AF, Aygun C, Bilir N, Erkan I, Ozen H. Prevalence Of Lower Urinary Tract Symptoms In A Community-Based Survey Of Men In Turkey. *Int J Urol* 2003; 10:364-370.
- Boyle P, Robertson C, Mazzetta C, Keech M, Hobbs FD, Fourcade R, Kiemeny L, Lee C. The Prevalence Of Lower Urinary Tract Symptoms In Men And Women In Four Centres. The Urepik Study. *BJU Int* 2003; 92:409-414.
- Seim A, Hoyo C, Ostbye T, Vatten L. The Prevalence And Correlates Of Urinary Tract Symptoms In Norwegian Men: The HUNT Study. *BJU Int* 2005; 96:88-92.
- Shamlilyan TA, Wyman JF, Ping R, Wilt TJ, Kane RL. Male Urinary Incontinence: Prevalence, Risk Factors, And Preventive Interventions. *Rev Urol* 2009; 11:145-165.
- Homma Y, Yamaguchi O, Hayashi K. Epidemiologic Survey Of Lower Urinary Tract Symptoms In Japan. *Urology* 2006; 68:560-564.
- Coyne KS, Sexton CC, Thompson CL, Milsom I, Irwin D, Kopp ZS, Chapple CR, Kaplan S, Tubaro A, Aiyer LP, Wein AJ. The Prevalence Of Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS) In The USA, The UK And Sweden: Results From The Epidemiology Of LUTS (Epiluts) Study. *BJU Int* 2009; 104:352-360.
- Irwin DE, Milsom I, Kopp Z, Abrams P, Artibani W, Herschorn S. Prevalence, Severity, And Symptom Bother Of Lower Urinary Tract Symptoms Among Men In The EPIC Study: Impact Of Overactive Bladder. *Eur Urol* 2009; 56:14-20.
- Malmsten UG, Molander U, Peeker R, Irwin DE, Milsom I. Urinary Incontinence, Overactive Bladder, And Other Lower Urinary Tract Symptoms: A Longitudinal Population-Based Survey In Men Aged 45-103 Years. *Eur Urol* 2010; 58:149-156.
- Fukuta F, Masumori N, Mori M, Tsukamoto T. Natural History Of Lower Urinary Tract Symptoms In Japanese Men From A 15-Year Longitudinal Community-Based Study. *BJU Int* 2012; 110:1023-1029.
- Irwin DE, Milsom I, Kopp Z, Abrams P. Symptom Bother And Health Care-Seeking Behavior Among Individuals With Overactive Bladder. *Eur Urol* 2008; 53:1029-1037.
- Braun MH, Sommer F, Haupt G, Mathers MJ, Reifenrath B, Engelmann UH. Lower Urinary Tract Symptoms And Erectile Dysfunction: Co-Morbidity Or Typical «Aging Male» Symptoms? Results Of The «Cologne Male Survey». *Eur Urol* 2003; 44:588-594.
- Parsons JK, Messer K, White M, Barrett-Connor E, Bauer DC, Marshall LM. Obesity Increases And Physical Activity Decreases Lower Urinary Tract Symptom Risk In Older Men: The Osteoporotic Fractures In Men Study. *Eur Urol* 2011; 60:1173-1180.
- Martin SA, Haren MT, Marshall VR, Lange K, Wittert GA. Prevalence And Factors Associated With Uncomplicated Storage And Voiding Lower Urinary Tract Symptoms In Community-Dwelling Australian Men. *World J Urol* 2011; 29:179-184.
- Ohgaki K, Hikima N, Horiuchi K, Kondo Y. Association Between Metabolic Syndrome And Male Lower Urinary Tract Symptoms In Japanese Subjects Using Three Sets Of Criteria For Metabolic Syndrome And International Prostate Symptom Score. *Urology* 2011; 77:1432-1438.
- Maserejian NN, Giovannucci EL, Mcvary KT, Mckinlay JB. Dietary, But Not Supplemental, Intakes Of Carotenoids And Vitamin C Are Associated With Decreased Odds Of Lower Urinary Tract Symptoms In Men. *J Nutr* 2011; 141:267-273.
- Rohrmann S, Crespo CJ, Weber JR, Smit E, Giovannucci E, Platz EA. Association Of Cigarette Smoking, Alcohol Consumption And Physical Activity With Lower Urinary Tract Symptoms In Older American Men: Findings From The Third National Health And Nutrition Examination Survey. *BJU Int* 2005; 96:77-82.
- Cartwright R, Mangera A, Tikkinen KA, Rajan P, Pesonen J, Kirby AC, Thiagamoorthy G, Ambrose C, Gonzalez-Maffe J, Bennett PR, Palmer T, Walley A, Jarvelin MR, Khullar V, Chapple C. Systematic Review And Meta-Analysis Of Candidate Gene Association Studies Of Lower Urinary Tract Symptoms In Men. *Eur Urol* 2014.
- Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van KP, Victor A, Wein A. The Standardisation Of Terminology Of Lower Urinary Tract Function: Report From The Standardisation Sub-Committee Of The International Continence Society. *Neurourol Urodyn* 2002; 21:167-178.
- Khullar V. Patient-Reported Outcomes And Different Approaches To Urinary Parameters In Overactive Bladder: What Should We Measure? *Int Urogynecol J* 2012; 23:179-192.
- Yap TL, Cromwell DC, Emberton M. A Systematic Review Of The

- Reliability Of Frequency-Volume Charts In Urological Research And Its Implications For The Optimum Chart Duration. *BJU Int* 2007; 99:9-16.
22. McConnell JD, Roehrborn CG, Bautista OM, Andriole GL, Jr., Dixon CM, Kusek JW, Lepor H, Mcvary KT, Nyberg LM, Jr., Clarke HS, Crawford ED, Diokno A, Foley JP, Foster HE, Jacobs SC, Kaplan SA, Kreyer KJ, Lieber MM, Lucia MS, Miller GJ, Menon M, Milam DF, Ramsdell JW, Schenkman NS, Slawin KM, Smith JA. The Long-Term Effect Of Doxazosin, Finasteride, And Combination Therapy On The Clinical Progression Of Benign Prostatic Hyperplasia. *N Engl J Med* 2003; 349:2387-2398.
 23. Roehrborn CG. Alfuzosin 10 Mg Once Daily Prevents Overall Clinical Progression Of Benign Prostatic Hyperplasia But Not Acute Urinary Retention: Results Of A 2-Year Placebo-Controlled Study. *BJU Int* 2006; 97:734-741.
 24. Roehrborn CG, Boyle P, Bergner D, Gray T, Gittelman M, Shown T, Melman A, Bracken RB, Devere WR, Taylor A, Wang D, Waldstreicher J. Serum Prostate-Specific Antigen And Prostate Volume Predict Long-Term Changes In Symptoms And Flow Rate: Results Of A Four-Year, Randomized Trial Comparing Finasteride Versus Placebo. PLESS Study Group. *Urology* 1999; 54:662-669.
 25. Miah S, Catto J. BPH And Prostate Cancer Risk. *Indian J Urol* 2014; 30:214-218.
 26. McConnell JD, Roehrborn CG, Bautista OM, Andriole GL, Jr., Dixon CM, Kusek JW, Lepor H, Mcvary KT, Nyberg LM, Jr., Clarke HS, Crawford ED, Diokno A, Foley JP, Foster HE, Jacobs SC, Kaplan SA, Kreyer KJ, Lieber MM, Lucia MS, Miller GJ, Menon M, Milam DF, Ramsdell JW, Schenkman NS, Slawin KM, Smith JA. The Long-Term Effect Of Doxazosin, Finasteride, And Combination Therapy On The Clinical Progression Of Benign Prostatic Hyperplasia. *N Engl J Med* 2003; 349:2387-2398.
 27. Oelke M, Baard J, Wijkstra H, De La Rosette JJ, Jonas U, Hofner K. Age And Bladder Outlet Obstruction Are Independently Associated With Detrusor Overactivity In Patients With Benign Prostatic Hyperplasia. *Eur Urol* 2008; 54:419-426.
 28. Hashim H, Abrams P. Is The Bladder A Reliable Witness For Predicting Detrusor Overactivity? *J Urol* 2006; 175:191-194.
 29. Wyndaele JJ, De WS. Cystometrical Sensory Data From A Normal Population: Comparison Of Two Groups Of Young Healthy Volunteers Examined With 5 Years Interval. *Eur Urol* 2002; 42:34-38.
 30. Kageyama S, Watanabe T, Kurita Y, Ushiyama T, Suzuki K, Fujita K. Can Persisting Detrusor Hyperreflexia Be Predicted After Transurethral Prostatectomy For Benign Prostatic Hypertrophy? *Neurourol Urodyn* 2000; 19:233-240.
 31. Abrams P. Bladder Outlet Obstruction Index, Bladder Contractility Index And Bladder Voiding Efficiency: Three Simple Indices To Define Bladder Voiding Function. *BJU Int* 1999; 84:14-15.
 32. Thomas AW, Cannon A, Bartlett E, Ellis-Jones J, Abrams P. The Natural History Of Lower Urinary Tract Dysfunction In Men: The Influence Of Detrusor Underactivity On The Outcome After Transurethral Resection Of The Prostate With A Minimum 10-Year Urodynamic Follow-Up. *BJU Int* 2004; 93:745-750.
 33. Jeong SJ, Kim HJ, Lee YJ, Lee JK, Lee BK, Choo YM, Oh JJ, Lee SC, Jeong CW, Yoon CY, Hong SK, Byun SS, Lee SE. Prevalence And Clinical Features Of Detrusor Underactivity Among Elderly With Lower Urinary Tract Symptoms: A Comparison Between Men And Women. *Korean J Urol* 2012; 53:342-348.
 34. Rodrigues P, Lucon AM, Freire GC, Arap S. Urodynamic Pressure Flow Studies Can Predict The Clinical Outcome After Transurethral Prostatic Resection. *J Urol* 2001; 165:499-502.
 35. Witjes WP, Aarnink RG, Ezz-El-Din K, Wijkstra H, Debruyne EM, De La Rosette JJ. The Correlation Between Prostate Volume, Transition Zone Volume, Transition Zone Index And Clinical And Urodynamic Investigations In Patients With Lower Urinary Tract Symptoms. *Br J Urol* 1997; 80:84-90.
 36. Lieber MM, Jacobson DJ, McGree ME, St Sauver JL, Girman CJ, Jacobsen SJ. Intravesical Prostatic Protrusion In Men In Olmsted County, Minnesota. *J Urol* 2009; 182:2819-2824.
 37. Cumpnans AA, Botoca M, Minciur R, Bucuras V. Intravesical Prostatic Protrusion Can Be A Predicting Factor For The Treatment Outcome In Patients With Lower Urinary Tract Symptoms Due To Benign Prostatic Obstruction Treated With Tamsulosin. *Urology* 2013; 81:859-863.
 38. Seo YM, Kim HJ. Impact Of Intravesical Protrusion Of The Prostate In The Treatment Of Lower Urinary Tract Symptoms/ Benign Prostatic Hyperplasia Of Moderate Size By Alpha Receptor Antagonist. *Int Neurourol J* 2012; 16:187-190.
 39. Lee JW, Ryu JH, Yoo TK, Byun SS, Jeong YJ, Jung TY. Relationship Between Intravesical Prostatic Protrusion And Postoperative Outcomes In Patients With Benign Prostatic Hyperplasia. *Korean J Urol* 2012; 53:478-482.
 40. Aganovic D, Hasanbegovic M, Prcic A, Kulovac B, Hadziosmanovic O. Which Is A Better Indicator Of Bladder Outlet Obstruction In Patients With Benign Prostatic Enlargement--Intravesical Protrusion Of Prostate Or Bladder Wall Thickness? *Med Arh* 2012; 66:324-328.
 41. Franco G, De NC, Leonardo C, Tubaro A, Ciccariello M, De DC, Miano L, Laurenti C. Ultrasound Assessment Of Intravesical Prostatic Protrusion And Detrusor Wall Thickness--New Standards For Noninvasive Bladder Outlet Obstruction Diagnosis? *J Urol* 2010; 183:2270-2274.
 42. Syazarina SO, Zulkifli MZ, Hamzaini AH. Predicting Outcome Of Trial Of Voiding Without Catheter In Acute Urinary Retention With Intravesical Prostatic Protrusion. *Malays J Med Sci* 2013; 20:56-59.
 43. Ku JH, Ko DW, Cho JY, Oh SJ. Correlation Between Prostatic Urethral Angle And Bladder Outlet Obstruction Index In Patients With Lower Urinary Tract Symptoms. *Urology* 2010; 75:1467-1471.
 44. Bright E, Oelke M, Tubaro A, Abrams P. Ultrasound Estimated Bladder Weight And Measurement Of Bladder Wall Thickness--Useful Noninvasive Methods For Assessing The Lower Urinary Tract? *J Urol* 2010; 184:1847-1854.
 45. Manieri C, Carter SS, Romano G, Trucchi A, Valenti M, Tubaro A. The Diagnosis Of Bladder Outlet Obstruction In Men By Ultrasound Measurement Of Bladder Wall Thickness. *J Urol* 1998; 159:761-765.
 46. Hakenberg OW, Linne C, Manseck A, Wirth MP. Bladder Wall Thickness In Normal Adults And Men With Mild Lower Urinary Tract Symptoms And Benign Prostatic Enlargement. *Neurourol Urodyn* 2000; 19:585-593.
 47. Oelke M, Hofner K, Jonas U, De La Rosette JJ, Ubbink DT, Wijkstra H. Diagnostic Accuracy Of Noninvasive Tests To Evaluate Bladder Outlet Obstruction In Men: Detrusor Wall Thickness, Uroflowmetry, Postvoid Residual Urine, And Prostate Volume. *Eur Urol* 2007; 52:827-834.
 48. Huang T, Qi J, Yu YJ, Xu D, Jiao Y, Kang J, Chen YQ, Zhu YK. Predictive Value Of Resistive Index, Detrusor Wall Thickness And Ultrasound Estimated Bladder Weight Regarding The Outcome After Transurethral Prostatectomy For Patients With Lower Urinary Tract Symptoms Suggestive Of Benign Prostatic Obstruction. *Int J Urol* 2012; 19:343-350.
 49. Kessler TM, Gerber R, Burkhard FC, Studer UE, Danuser H. Ultrasound Assessment Of Detrusor Thickness In Men-Can It Predict Bladder Outlet Obstruction And Replace Pressure Flow Study? *J Urol* 2006; 175:2170-2173.
 50. Oelke M. International Consultation On Incontinence-Research Society (ICI-RS) Report On Non-Invasive Urodynamics: The Need Of Standardization Of Ultrasound Bladder And Detrusor Wall Thickness Measurements To Quantify Bladder Wall Hypertrophy. *Neurourol Urodyn* 2010; 29:634-639.
 51. Kessler TM, Gerber R, Burkhard FC, Studer UE, Danuser H. Ultrasound Assessment Of Detrusor Thickness In Men-Can It Predict Bladder Outlet Obstruction And Replace Pressure Flow Study? *J Urol* 2006; 175:2170-2173.
 52. Gleason DM, Bottaccini MR, Mcrae LP. Noninvasive Urodynamics: A Study Of Male Voiding Dysfunction. *Neurourol Urodyn* 1997; 16:93-100.
 53. Griffiths CJ, Rix D, Macdonald AM, Drinnan MJ, Pickard RS, Ramsden PD. Noninvasive Measurement Of Bladder Pressure By Controlled Inflation Of A Penile Cuff. *J Urol* 2002; 167:1344-1347.
 54. McIntosh SL, Drinnan MJ, Griffiths CJ, Robson WA, Ramsden PD, Pickard RS. Noninvasive Assessment Of Bladder Contractility In Men. *J Urol* 2004; 172:1394-1398.
 55. Drinnan MJ, McIntosh SL, Robson WA, Pickard RS, Ramsden PD, Griffiths CJ. Inter-Observer Agreement In The Estimation Of Bladder Pressure Using A Penile Cuff. *Neurourol Urodyn* 2003; 22:296-300.

56. *Harding CK, Robson W, Drinnan MJ, Ramsden PD, Griffiths C, Pickard RS.* Variation In Invasive And Noninvasive Measurements Of Isovolumetric Bladder Pressure And Categorization Of Obstruction According To Bladder Volume. *J Urol* 2006; 176:172-176.
57. *Borrini L, Lukacs B, Ciofu C, Gaibisso B, Haab F, Amarenco G.* [Predictive Value Of The Penile Cuff-Test For The Assessment Of Bladder Outlet Obstruction In Men]. *Prog Urol* 2012; 22:657-664.
58. *Harding C, Robson W, Drinnan M, Sajeel M, Ramsden P, Griffiths C, Pickard R.* Predicting The Outcome Of Prostatectomy Using Noninvasive Bladder Pressure And Urine Flow Measurements. *Eur Urol* 2007; 52:186-192.
59. *Boyle P, Robertson C, Lowe F, Roehrborn C.* Updated Meta-Analysis Of Clinical Trials Of Serenoa Repens Extract In The Treatment Of Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia. *BJU Int* 2004; 93:751-756.
60. *Wilt T, Ishani A, Mac DR, Rutks I, Stark G.* Pygeum Africanum For Benign Prostatic Hyperplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;CD001044.
61. *Wilt TJ, Macdonald R, Ishani A, Rutks I, Stark G.* WITHDRAWN: Cernilton For Benign Prostatic Hyperplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;CD001042.
62. *Yuan J, Liu Y, Yang Z, Qin X, Yang K, Mao C.* The Efficacy And Safety Of Alpha-1 Blockers For Benign Prostatic Hyperplasia: An Overview Of 15 Systematic Reviews. *Curr Med Res Opin* 2013; 29:279-287.
63. *Kawabe K, Yoshida M, Homma Y.* Silodosin, A New Alpha1a-Adrenoceptor-Selective Antagonist For Treating Benign Prostatic Hyperplasia: Results Of A Phase III Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study In Japanese Men. *BJU Int* 2006; 98:1019-1024.
64. *Bosch JL.* Urodynamic Effects Of Various Treatment Modalities For Benign Prostatic Hyperplasia. *J Urol* 1997; 158:2034-2044.
65. *Chapple CR, Khullar V, Gabriel Z, Muston D, Bitoun CE, Weinstein D.* The Effects Of Antimuscarinic Treatments In Overactive Bladder: An Update Of A Systematic Review And Meta-Analysis. *Eur Urol* 2008; 54:543-562.
66. *Wu T, Duan X, Cao CX, Peng CD, Bu SY, Wang KJ.* The Role Of Mirabegron In Overactive Bladder: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Urol Int* 2014; 93:326-337.
67. *Macdiarmid SA, Peters KM, Chen A, Armstrong RB, Orman C, Aquilina JW, Nitti VW.* Efficacy And Safety Of Extended-Release Oxybutynin In Combination With Tamsulosin For Treatment Of Lower Urinary Tract Symptoms In Men: Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Mayo Clin Proc* 2008; 83:1002-1010.
68. *Oesterling JE.* Endocrine Therapies For Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia. *Urology* 1994; 43:7-16.
69. *Tenover JL, Pagano GA, Morton AS, Liss CL, Byrnes CA.* Efficacy And Tolerability Of Finasteride In Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia: A Primary Care Study. Primary Care Investigator Study Group. *Clin Ther* 1997; 19:243-258.
70. *Andersen JT, Ekman P, Wolf H, Beisland HO, Johansson JE, Kontturi M, Lehtonen T, Tveter K.* Can Finasteride Reverse The Progress Of Benign Prostatic Hyperplasia? A Two-Year Placebo-Controlled Study. The Scandinavian BPH Study Group. *Urology* 1995; 46:631-637.
71. *Vaughan ED.* Long-Term Experience With 5-Alpha-Reductase Inhibitors. *Rev Urol* 2003; 5 Suppl 5:S22-S27.
72. *Roehrborn CG, Boyle P, Bergner D, Gray T, Gittelman M, Shown T, Melman A, Bracken RB, Devere WR, Taylor A, Wang D, Waldstreicher J.* Serum Prostate-Specific Antigen And Prostate Volume Predict Long-Term Changes In Symptoms And Flow Rate: Results Of A Four-Year, Randomized Trial Comparing Finasteride Versus Placebo. PLESS Study Group. *Urology* 1999; 54:662-669.
73. *McConnell JD, Roehrborn CG, Bautista OM, Andriole GL, Jr., Dixon CM, Kusek JW, Lepor H, Mcvary KT, Nyberg LM, Jr., Clarke HS, Crawford ED, Diokno A, Foley JP, Foster HE, Jacobs SC, Kaplan SA, Kreder KJ, Lieber MM, Lucia MS, Miller GJ, Menon M, Milam DF, Ramsdell JW, Schenkman NS, Slawin KM, Smith JA.* The Long-Term Effect Of Doxazosin, Finasteride, And Combination Therapy On The Clinical Progression Of Benign Prostatic Hyperplasia. *N Engl J Med* 2003; 349:2387-2398.
74. *Roehrborn CG, McConnell JD, Lieber M, Kaplan S, Geller J, Malek GH, Castellanos R, Coffield S, Saltzman B, Resnick M, Cook TJ, Waldstreicher J.* Serum Prostate-Specific Antigen Concentration Is A Powerful Predictor Of Acute Urinary Retention And Need For Surgery In Men With Clinical Benign Prostatic Hyperplasia. PLESS Study Group. *Urology* 1999; 53:473-480.
75. *Amory JK, Wang C, Swerdloff RS, Anawalt BD, Matsumoto AM, Bremner WJ, Walker SE, Haberer LJ, Clark RV.* The Effect Of 5alpha-Reductase Inhibition With Dutasteride And Finasteride On Semen Parameters And Serum Hormones In Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1659-1665.
76. *O'Leary MP, Roehrborn C, Andriole G, Nickel C, Boyle P, Hofner K.* Improvements In Benign Prostatic Hyperplasia-Specific Quality Of Life With Dutasteride, The Novel Dual 5alpha-Reductase Inhibitor. *BJU Int* 2003; 92:262-266.
77. *Nickel JC, Gilling P, Tammela TL, Morrill B, Wilson TH, Rittmaster RS.* Comparison Of Dutasteride And Finasteride For Treating Benign Prostatic Hyperplasia: The Enlarged Prostate International Comparator Study (EPICS). *BJU Int* 2011; 108:388-394.
78. *Parsons JK, Schenk JM, Arnold KB, Messer K, Till C, Thompson IM, Kristal AR.* Finasteride Reduces The Risk Of Incident Clinical Benign Prostatic Hyperplasia. *Eur Urol* 2012; 62:234-241.
79. *Toren P, Margel D, Kulkarni G, Finelli A, Zlotta A, Fleschner N.* Effect Of Dutasteride On Clinical Progression Of Benign Prostatic Hyperplasia In Asymptomatic Men With Enlarged Prostate: A Post Hoc Analysis Of The REDUCE Study. *BMJ* 2013; 346:F2109.
80. *Fullhase C, Chapple C, Cornu JN, De NC, Gratzke C, Kaplan SA, Marberger M, Montorsi F, Novara G, Oelke M, Porst H, Roehrborn C, Stief C, Mcvary KT.* Systematic Review Of Combination Drug Therapy For Non-Neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms. *Eur Urol* 2013; 64:228-243.
81. *Roehrborn CG, Barkin J, Tubaro A, Emberton M, Wilson TH, Brotherton BJ, Castro R.* Influence Of Baseline Variables On Changes In International Prostate Symptom Score After Combined Therapy With Dutasteride Plus Tamsulosin Or Either Monotherapy In Patients With Benign Prostatic Hyperplasia And Lower Urinary Tract Symptoms: 4-Year Results Of The Combat Study. *BJU Int* 2014; 113:623-635.
82. *Oelke M, Giuliano F, Mirone V, Xu L, Cox D, Viktrup L.* Monotherapy With Tadalafil Or Tamsulosin Similarly Improved Lower Urinary Tract Symptoms Suggestive Of Benign Prostatic Hyperplasia In An International, Randomised, Parallel, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Eur Urol* 2012; 61:917-925.
83. *Donatucci CF, Brock GB, Goldfischer ER, Pommerville PJ, Elion-Mboussa A, Kissel JD, Viktrup L.* Tadalafil Administered Once Daily For Lower Urinary Tract Symptoms Secondary To Benign Prostatic Hyperplasia: A 1-Year, Open-Label Extension Study. *BJU Int* 2011; 107:1110-1116.
84. *Gacci M, Corona G, Salvi M, Vignozzi L, Mcvary KT, Kaplan SA, Roehrborn CG, Serni S, Mirone V, Carini M, Maggi M.* A Systematic Review And Meta-Analysis On The Use Of Phosphodiesterase 5 Inhibitors Alone Or In Combination With Alpha-Blockers For Lower Urinary Tract Symptoms Due To Benign Prostatic Hyperplasia. *Eur Urol* 2012; 61:994-1003.
85. *Fullhase C, Chapple C, Cornu JN, De NC, Gratzke C, Kaplan SA, Marberger M, Montorsi F, Novara G, Oelke M, Porst H, Roehrborn C, Stief C, Mcvary KT.* Systematic Review Of Combination Drug Therapy For Non-Neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms. *Eur Urol* 2013; 64:228-243.

Received 09.02.15

SUPER-SELECTIVE PROSTATIC ARTERY EMBOLIZATION AS A PREPARATORY STEP BEFORE TURP IN THE TREATMENT OF BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA IN PATIENTS WITH LARGE PROSTATES

Department of Urology and Nephrology (Head of Department – Ph.D., Prof. A.I. Nejmark of Altai State Medical University of Minzdrav of Russia, Barnaul)

Corresponding author: D.V. Torbik – Doctoral Student of Department of Urology and Nephrology of ASMU; e-mail: demid.tor@yandex.ru

The study included 59 patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) and high risk of anesthesia who underwent super-selective embolization of prostatic arteries. The examination included a survey on the International Prostate Symptom Score (IPSS), assessment of quality of life (QoL), estimation of prostate and node size with transrectal ultrasound, determination of prostate-specific antigen level; in doubtful cases a needle prostate biopsy was performed. To analyze the quality of urination- uroflowmetry was conducted. The effectiveness of the treatment was evaluated after 6, 12 and 24 months follow-up. By the 6th month of observation IPSS score significantly decreased, while the maximum urinary flow rate increased. This trend kept up during the subsequent six-month follow-up. The results of 24 months follow-up after embolization showed stable effect. Prostate and node volumes and reduced on average by 53% and 47%, respectively; the maximal reduction of prostate volume was 82%. 17 (28.8%) patients with prostate size reduction to less than 80 cm³ underwent transurethral resection of the prostate. In conclusion, prostatic artery embolization may be considered as a method of preoperative treatment of BPH patients with large prostates and multiple comorbidities, providing them with the possibility of endoscopic treatment. Further study will allow working out the methodology of embolization, to accurately determine the indications and contraindications for this treatment modality and to introduce it to clinical practice.

Key words: benign prostatic hyperplasia, prostatic artery embolization, transurethral resection of the prostate

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Nejmark A.I., Nejmark B.A., Tachalov M.A., Arzamascev D.D., Torbik D.V. Super-selective prostatic artery embolization as a preparatory step before turp in the treatment of benign prostatic hyperplasia in patients with large prostates. Urologiia. 2015;2:60–64.

Introduction. Benign prostatic hyperplasia (BPH) is one of the most common urological problems in elderly male [1]. Despite the capabilities of modern medical therapy, up to 30% of men undergo surgery for BPH between 40 to 80 years [2]. In Russian urological clinics 65–70% of BPH patients treated surgically with standard surgical options still including traumatic open prostatectomy (27.2% of operations) associated with a high risk of intra- and postoperative complications, and transurethral resection of the prostate (TURP) - 27.8%. The latter is most effective and is indicated in patients with prostate volume (PV) of 30 to 80 cm³ [3, 4].

Some new technologies provide opportunity of performing surgery in men with very large prostates. For example, plasma kinetic TURP, in which a plasma corona is generated around the loop such that tissue molecules are vaporized creating a cutting effect. This enables a surgeon to quickly and precisely remove tissue while sealing the underlying tissue to stop bleeding. Effective intraoperative hemostasis allows resecting a greater volume of tissue. However, all this does not spare the risks associated with anesthesia [5]. Because BPH is a disease occurring in the age when every year increases the number of co-morbidities, the issue of the surgical option for BPH patients with prostates greater than 80 cm³ remains relevant.

In recent years there has been increasing interest of clinicians of different specialties in endovascular surgery. The advantages of endovascular interventions include minimal invasiveness, low surgical risk, and quick patient

recovery; there is no need for anesthesia care, and it can be used in the elderly and in patients with severe comorbidities.

Initially, endovascular embolization in oncology was used to control major life-threatening bleeding from the bladder and pancreas [6]. In 2010, Portuguese researchers led by J. Pisco reported results of the new method for treating BPH – prostatic artery embolisation. The method proved technically successful in 14 (93.3%) of 15 patients [7]. Domestic researchers [8] in 2010 reported data on 40 high-risk patients who underwent prostatic artery embolization. Embolization resulted in improved clinical signs and symptoms, 50% and 43% decrease in prostate volume and volume of adenomatous nodule respectively. The high effectiveness of embolization was reported by other authors [9–11].

In 2014, we published the results of comparative studies evaluating the effectiveness of endovascular embolization ($n=57$) and transurethral resection ($n=57$) for BPH. The treatment effect was achieved in 100% of cases of TURP group and 94.7% – in embolization group [12].

The aim of this study was to evaluate the efficacy and safety of super-selective prostatic artery embolization as an independent modality for the management of BPH, and as a method of preoperative preparation before TURP.

Materials and methods. From 2004 to 2014, 59 patients with BPH were examined and treated in the Radiology Department for Diagnostics and Treatment of Regional Hospital. The age of patients was 68.2 ± 6.2 years, prostate

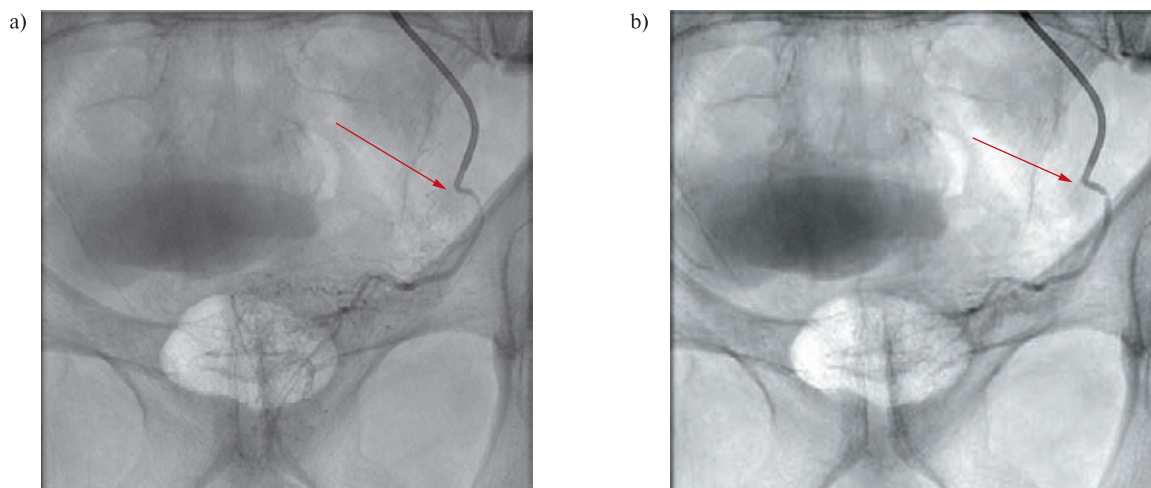


Fig. 1. Intraoperative angiogram

a - the angiographic catheter is brought superselectively to prostatic artery branches of the left inferior vesical artery; arrow shows the distal end of the catheter; b - after embolization of prostatic arteries: the blood flow is blocked; the arrow shows the distal end of the catheter.

volume ranged from 35 to 296 cm³. All patients were informed about the benefits and possible complications during the procedure, alternative treatment options. The vast majority of patients had co-morbidities – diabetes, obesity, cardiovascular diseases, which greatly increased the risk of conventional surgical treatment.

Patient data were collected from the interview with the patients using the International Prostate Symptom Score (I-PSS) and quality of life (QoL) questionnaires. Prostate volume and nodule volume were measured during transrectal ultrasound (TRUS) examination. Prostate-specific antigen (PSA) was determined preoperatively in all patients; in suspicious cases prostate biopsy was carried out. Uroflowmetry was performed to test voiding function.

Exclusion criteria for embolization:

- sensitivity to radiopaque contrast agents;
- acute infectious and inflammatory diseases;
- decompensated internal diseases (cardiovascular system, parenchymal organs);
- decompensated endocrine diseases;
- arrhythmia, regardless of the cause;
- severe bronchial asthma;
- post-infarction period or acute cerebrovascular event within 6 months;
- floating thrombus of lower extremity vessels;
- severe or moderate anemia;

- occlusive-stenotic lesions of the iliac arteries;
- anatomical anomalies of the iliac arteries, precluding the intervention.

Prostatic artery embolization was performed under local anesthesia via femoral or brachial artery access using the Seldinger technique. Under the X-ray guidance super-selective catheterization of internal iliac artery branches was carried out (Fig. 1a).

Then embolization of arteries supplying the prostate was conducted using micro-catheter techniques by infusion of EmboGold microspheres (Merit Medical Systems Inc., USA) with microsphere size of 100-300 microns, or 300–500 microns until complete blockade of the blood flow is achieved (Fig. 1b).

The diameter of the microspheres is defined by diameter of arteries supplying the prostate. For catheterization Roberts5F or Cobra5F catheters were used as guiding catheters. Through the lumen of the guiding catheter a micro-catheter on, a guide-wire was introduced. After embolization of prostatic arteries on one side, 5F guiding catheter was inserted in contra- or ipsilateral artery depending on the access, and the procedure was repeated. In some cases, a puncture of both femoral arteries was required to introduce the guiding catheter contra laterally.

Treatment efficacy was assessed at 6, 12 and 24 months after the procedure. NSAIDs in standard doses were

The results of examination of BPH patients after super-selective embolization of prostatic arteries

Table

Parameter/Follow-up	at 6 months	at 12 months
Residual volume, ml	62,2±11,51	28,0±5,72
IPSS, score	6,2±2,11	4,0±1,72
PSA (total), ng/ml	1,3±0,421	1,08±0,322
Q _{max} , ml/s	14,7±4,51	15,9±3,72
Prostate volume, cm ³	83,4±8,31	54,29±5,372
Nodule volume, cm ³	52,9±5,171	33,26±6,672

Note. IPSS – the International Prostate Symptom Score, PSA – prostate specific antigen, Q_{max} – maximum urinary flow rate.

1 – statistically significant difference compared to baseline ($p < 0,01$), 2 – statistically significant difference compared to data at 6 months follow-up ($p < 0,01$).

administered for 7 days before surgery and after surgery to prevent and reduce pain. The data were statistically analyzed using Statistica 10.0 and Microsoft Excel 2010 software.

Results. At presentation, all patients had lower urinary tract symptoms of varying severity, not responding to medications. Mean I-PSS index was 18, total PSA level – 1.52 ng/ml. Uroflowmetry findings showed «obstructive» curve type, maximum urinary flow rate (Q_{max}) was 5.9 ml/s, prostate volume estimated with TRUS – $104,56 \pm 53,7$ cm³, nodule volume – $70,34 \pm 21,2$ cm³.

Postoperatively, 63% of patients developed so-called post-embolization syndrome, manifested by mild pain in the perineal region, sharp urethral pain during urination, in a small percentage of cases there were subfebrile temperatures of less than one day duration. In the rest (47%) of the patients the postoperative period was uneventful. One patient developed postoperative acute urinary retention, which required trocar cystostomy.

By the 6th month of follow-up there was a significant decrease in I-PSS score and an increase in maximum urinary flow rate (see *Table*). This trend persisted during the subsequent six-month follow-up. The results of 24 month follow-up after embolization suggested stable effect. Prostate and nodule volumes decreased on average by 53 and 47%, respectively; maximum effect – reduction of prostate volume by 82%.

At the end of follow-up, a group of 17 (28.8%) patients was separated. The somatic status of these patients precluded open surgery, but prostatic artery embolization made it possible to perform TURP due to a reduction of the prostate volume to less than 80 cm³. In addition to the prostate volume reduction, the inclusion criteria in this group were the following factors, or a combination thereof: persistence of severe LUTS (I-PSS greater than 15), QoL greater than 3, Q_{max} less than 12 ml/s.

All patients in this group restored urination no later than 2 days after the intervention, the results of long-term follow-up (6 and more months) did not differ significantly from those after standard TURP according to other studies.

Here we present a clinical observation.

Patient S., 74 years old, was admitted to the Radiology Department for Diagnostics and Treatment of Altai Regional Hospital. He reported having nocturia, weak urine stream and sense of incomplete bladder emptying. His examination in the outpatient setting revealed prostate volume of 116 cm³, nodule volume of 58.81 cm³, with moderate vascularization. Multiple bladder diverticula were found. Residual volume was 299.4 ml, total PSA level of 4.4 ng/mL.

Conservative therapy for more than 6 months was ineffective. Concurrent diseases: stage II hypertension of III grade, risk 4, left ventricular hypertrophy. Duodenal ulcer in remission. The patient refused trans-vesical prostatectomy and was offered super-selective embolization of prostatic arteries.

The procedure was successfully completed according to the technique described above. There were no signs of post-embolization syndrome. On the first day after embolization the patient developed acute urinary retention. Conservative methods to restore normal voiding were unsuccessful, and the patient underwent the trocar cystostomy. The examination at 2 months showed prostate volume reduction from 116 to 54 cm³. Taking into account the clinical improvement, cystostomy fistula was healed, voiding function restored,

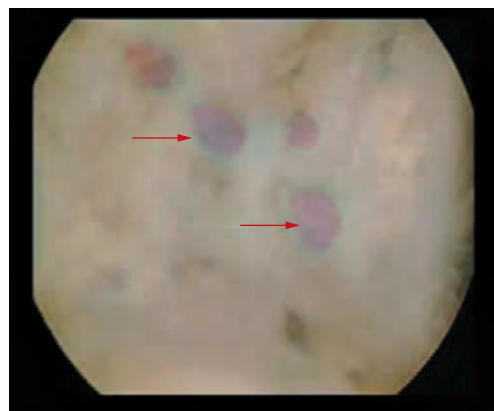


Fig. 2. Intraoperative photo during TURP

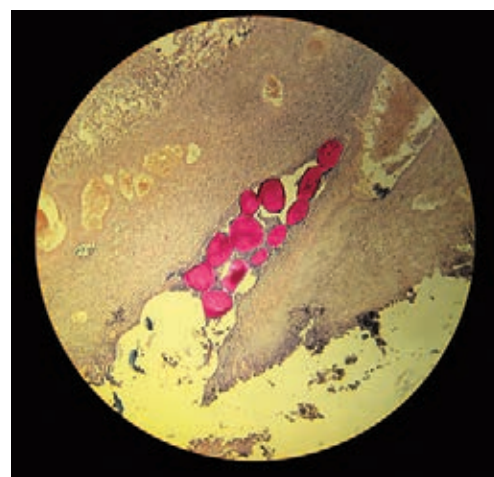


Fig. 3. Histology of the resected prostatic tissue ($\times 200$ magnification). Microemboli are seen in the lumen of the vessel.

but in spite of the significant improvement (I-PSS score decreased from 25 to 12), it did not suit the patient. Considering the reduced prostate volume the patient was offered TURP. The operation was performed with minimal blood loss, in the resected tissue micro-emboli filling the lumen of blood vessels were occasionally seen (Fig. 2). Histology report: benign glandular-stromal prostatic hyperplasia. Some vessels contain emboli, epithelium of the acini is desquamated, necrotic; focal necrosis of fibrous tissue with lympho-leukocyte infiltration (Fig. 3). The results of examination at 2 months follow-up: Q_{max} 18 ml/s, I-PSS score 3, QoL 1. Presently the patient is under dynamic observation.

Discussion. Prostatic artery embolization to treat BPH is a relatively new and effective treatment modality enhancing the provision of medical care to different groups of patients. Moreover, it has shown its efficacy and safety, not only as a method to treat BPH, but also as a way of preoperative preparation of patients with large prostates thus making it possible to perform endoscopic procedures. In addition, according to overseas researchers, prostatic artery embolization is not associated with retrograde ejaculation, a typical side effect of other surgical options. This allows us to consider this method as the method of choice in the

treatment of young patients wishing to preserve the physiological reproductive function [11].

Future studies on the current topic are therefore needed. Further study of this method will permit to work out the methodology to accurately specify the indications and contraindications, and to implement it in clinical practice.

REFERENCES

1. Gorilovskii L.M., Zingerenko M. Benign prostatic hyperplasia. Therapist. 2003; 7: 32–34.
2. Kuz'menko V.V., Kochetov M.V., Semenov B.V. Benign prostatic hyperplasia: Monograph. Voronezh: Novyi Vzgl'yad, 2008. 141 p.
3. Diseases of the prostate gland. Ed. Yu.G. Alyaev.: GEOTAR Media, 2009. 240 p.
4. Sevryukov F.A. The use of bipolar transurethral enucleation for the treatment of benign prostatic hyperplasia of large size. Modern medical technology. 2012; 3: 33–37.
5. Neimark B.A., Torbik D.V. Features of endoscopic treatment of large prostate adenomas. Medicine and education in Siberia. 2014;3 Http: //www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php id = 1385.
6. Jeong C.W., Park Y.H., Ku J.H., Kwak C., Kim H.H. Minimally invasive management of postoperative bleeding after radical prostatectomy: transarterial embolization. J. Endourol. 2010;24(9):1529–1533.
7. Pisco J.M., Pinheiro L.C., Bilhim T., Duarte M., Mendes J.R., Oliveira A.G. Prostatic arterial embolization to treat benign prostatic hyperplasia. J. Vasc. Interv. Radiol. 2011;22(1):11–19.
8. Yakovets E.A., Neimark A.I., Karpenko A.A., Yakovets Ya.V. Embolization of arteries in the treatment of prostate patients with prostatic adenoma with high surgical risk. Andrology and Genital Surgery. 2010; 1: 38–43.
9. Carnevale F.C., Antunes A.A., da Motta Leal Filho J.M., de Oliveira Cerri L.M., Baroni R.H., Marcelino A.S., Freire G.C., Moreira A.M., Srougi M., Cerri G.G. Prostatic artery embolization as a primary treatment for benign prostatic hyperplasia: preliminary results in two patients. Cardiovasc. Intervent. Radiol. 2010;33:355–361.
10. Carnevale F.C., da Motta Leal Filho J.M., Antunes A.A., Baroni R.H., Marcelino A.Z., Cerri L.M., Yoshinaga E.M., Cerri G.G., Srougi M. Quality of life and symptoms relief support prostatic artery embolization for patients with acute urinary retention due to benign prostatic hyperplasia. J. Vasc. Interv. Radiol. 2013;24(4): 535–542.
11. Pisco J.M., Rio Tinto H., Campos Pinheiro L., Bilhim T., Duarte M., Fernandes L., Pereira J., Oliveira A.G. Embolisation of prostatic arteries as treatment of moderate to severe lower urinary symptoms (LUTS) secondary to benign hyperplasia: results of short- and mid-term follow-up. Eur. Radiol. 2013;23(9):2573–2574.
12. Gao Y.A., Huang Y., Zhang R., Yang Y.D., Zhang Q., Hou M., Wang Y. Benign prostatic hyperplasia: prostatic arterial embolization versus transurethral resection of the prostate – a prospective, randomized, and controlled clinical trial. Radiology. 2014;270(3):920–928.

Received 29.01.15

COMPUTER-ASSISTED SURGERY FOR RENAL TUMORS

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia Research Institute of Uro nephrology and Human Reproductive Health

Correspondence author: E.S. Sirota — Ph.D., Urologist at the Urology Clinic of First Moscow State Medical University; e-mail: essirota@mail.ru

The main objective of this article is to show the role of modern computer technology in performing virtual and real surgical procedures for renal tumors. At the present time, 3D based modeling makes it possible to preoperatively identify individual strategy and tactics of treatment of a patient.

Key words: three-dimensional technology, virtual planning, navigation, three-dimensional printed patterns

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Aljaev Ju.G., Sirota E.S., Fiev D.N., Proskura A.V. Computer-assisted surgery for renal tumors. Urologiia. 2015;2:4–8.

Introduction. In 1985, American inventor Charles Hull was granted a patent for the solid imaging process known as stereolithography and founded the 3D-Systems company, thus launching virtual technology. However, the development of three-dimensional technology would be impossible without computed tomography – the method of X-rays imaging of organs and tissue, proposed in 1972 by the American physicist A. McCormick and British engineer-physicist G. Hounsfield. In 1979, these scientists were awarded the Nobel Prize in Physiology and Medicine. In recent decades, computer technology has been firmly established in all areas of human activity, including medicine, and surgery, in particular. The first laparoscopic surgery using virtual reality was performed in 1989. In Russia, the greatest experience in using virtual technologies in surgery was gained by Vishnevsky Institute of Surgery. Specifically, in 2003, among the 349 patients with various abdominal diseases, 16 operations were performed on the kidney tumor [1].

Urologists and gynecologists have used three-dimensional modeling for surgery planning over the last 5–7 years [2–6]. In this paper, we would like to show the relevance of the three-dimensional modeling in urological practice, both in general and by the example of the Urology Clinic of Sechenov First MSMU experience.

Materials and methods. We reviewed records of 206 patients with kidney tumors who underwent surgery either through laparoscopic ($n=133$) and open ($n=71$) approach during 2014 at the Urology Clinic of Sechenov First MSMU. Two patients of the laparoscopic group had a single kidney. The patients with functionally or anatomically single kidney, and those in whom tumor localization was impossible to estimate, three-dimensional computer modeling was performed ($n=118$).

An integral three-dimensional image was gained by superposing the four main phases of contrast enhancement multislice computed tomography (MSCT): arterial, parenchymal, venous and excretory (Fig. 1).

The resulting integral image was carefully analyzed to decide on the feasibility of the surgery as such, applicability of organ-sparing intervention and to choose the best access and the type of the operation.

Consider the analysis of three-dimensional models of the pathological process in more detail. Special software makes it possible to download the data into Dicom / Dacs

format, thereby producing 3D-images of virtual reality. After building the solid model, a radiologist, a surgeon and a programmer select the required images, arrange them in the proper order and position, and make subtraction and the connection of the chosen fragments. The easiest option of the virtual surgery is near-tumor resection or enucleation, which can be done because of possibility of detailed examination of three-dimensional models in various projections, both in static and dynamic modes.

All this allows evaluating the individual characteristics of both extra-organ and intrarenal blood supply taking into account the relationship with the pyelocaliceal system. To get the most complete information, three-dimensional anatomical reconstruction should be examined in different modes: transparency (intrarenal structures in «a glass» – parenchyma virtually deleted), translucency (intra-organ structures visualized between the anterior or posterior surface of the kidney (Fig. 2), performing one or another type of virtual operation.

The most possibly detailed image captured from different angles is the basis for the next process – virtual operations, which can be repeatedly carried out to test every option and determine the most appropriate. For example, «cross section» of the parenchyma by conventional planar kidney resection in an individual patient may pose high risk of damage to the calyx, and the «wedge» parenchymal resection does not lead to such complications, so the choice should be made in favor of the latter option.

Examination of the wound surface after a particular type of resection enables planning the most efficient of them. Possibility of the virtual cross section in any plane is a tremendous opportunity for optimal planning for the actual operation.

Results. Laparoscopic nephrectomy for renal cancer was performed in 60 patients, kidney resection (including 8 retroperitoneoscopic) – in 73 patients. Open nephrectomy and open kidney resection for renal cancer was performed in 60 and 11 patients respectively. The mean age of patients who underwent laparoscopic organ-sparing interventions was 55.7 years, organ-removing operations – 59.8 years, open nephrectomy and resection – 72 years and 65 years respectively.

Among patients who underwent laparoscopic interventions, 73 patients underwent organ-sparing

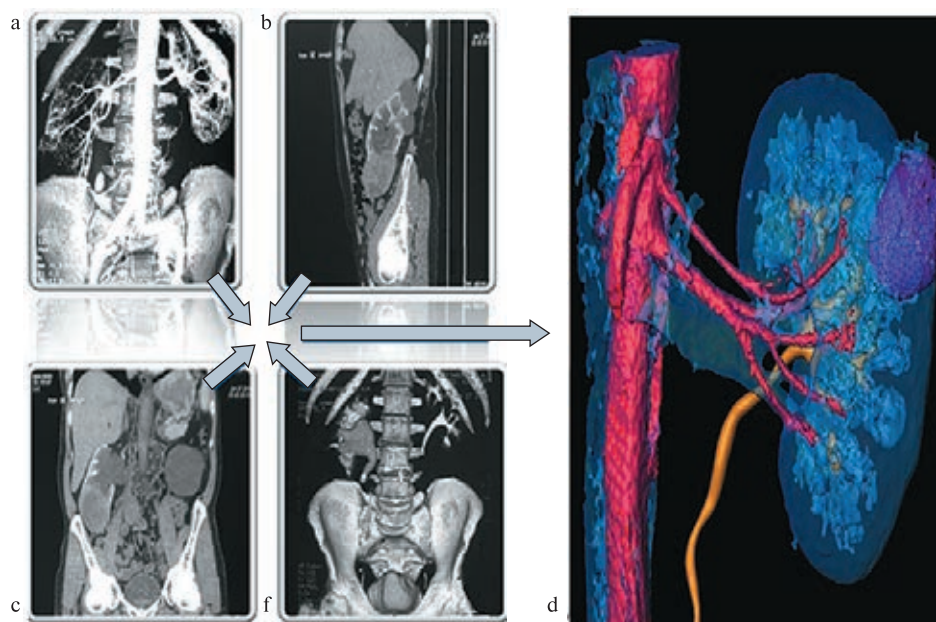


Fig. 1. Acquisition of the integral image (d) by superposing arterial (a), parenchymal (b), venous (c) and excretory (f) phases of MSCT

surgery, of whom 59 (80.8%) had pT1a disease, 7 (9.6%) – pT1b and 7 (9.6%) – pT3a. In 60 patients, because of unfavorable anatomical tumor location or severe comorbidities, laparoscopic nephrectomy was carried out, of whom 7 (11.66%) had pT1a disease, 19 (31.66%) – pT1b, 10 (16.66%) – pT2a, 3 (5%) – pT2b, 21 (35%) – pT3a.

Among patients who underwent open interventions, nephrectomy was performed in 1 (1.6%) patient with tumor stage pT1a, in 4 (6.7%) – pT1b, in 41 (68.3%) – pT3a, in 7 (11.7%) – pT3b and in 7 (11.7%) – pT4. Kidney resection was carried out in 7 (63.6%) patients with stage pT1b and 4 (36.4%) – pT3a.

The mean duration of laparoscopic kidney resection was 140 min., open resection – 180 min. Organ-removing

interventions were of similar duration – 159 and 183 min., respectively.

The mean warm ischemia time in laparoscopic and open resection was 15 and 14 min., respectively.

As we have mentioned above, to get the most accurate information about the tumor localization, blood supply characteristics and clinical anatomy of renal hilum elements, MSCT with three-dimensional reconstruction of images was used. A detailed analysis of three-dimensional reconstructions allowed not only choosing the optimal procedure type of for the patient, but in deciding on operability or unoperability for locally advanced process, and on resectability in local disease.

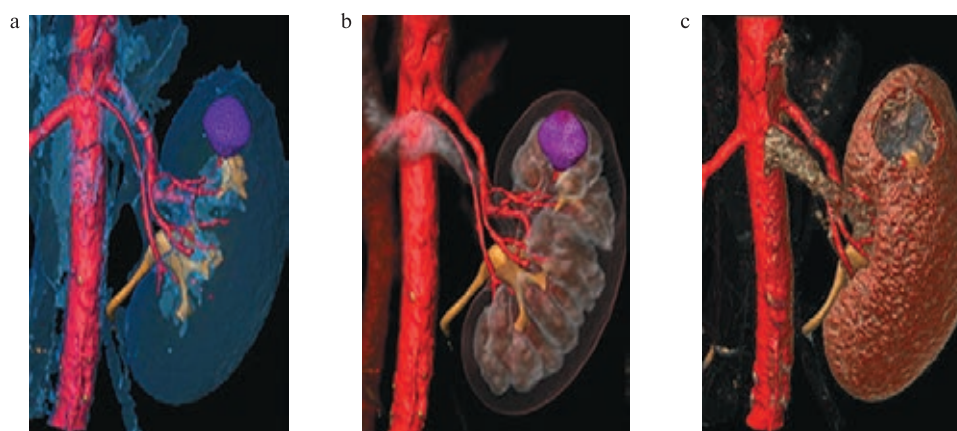


Fig. 2. Visualization capacity in acquiring three-dimensional reconstruction

a – "parenchymal transparency" mode; b – "multisection tissue transparency" mode;
c – renal tumor is virtually removed.

It is difficult to overestimate the implications of three-dimensional modeling in solving issues related to the technical performance of an extended operation for kidney tumor with resection of adjacent organs. To illustrate this statement, we present a clinical observation.

Patient K. 59 y. o., was admitted to the Urology Clinic with right kidney tumor stage T4N0M0 (liver invasion) and a renal cyst of the same kidney. It was obvious that the patient needed organ-removing intervention, but the extent of surgery on the liver still remained to be decided. Findings of various imaging modalities did not provide reliable information on if there was tumor invasion in VI-VIII liver segments, what was the depth of invasion and, consequently, what should be the extent of the forthcoming surgery. However, a detailed analysis of three-dimensional reconstructions of the pathological process gave answers to all these questions. The patient's kidney tumor penetrated into the liver at a depth of 3.7 cm only in segment VII. In addition, the three-dimensional model could accurately calculate the maximum distance from the tumor edge to the liver major arterial branches (Fig. 3). Thus, it is a virtual technology showed feasibility of liver resection along with nephrectomy in the patient who was previously found unoperable in another hospital (Fig. 4).

In some situations, examining three-dimensional models enabled us to avoid surgery that could have negative consequences for a patient.

A convincing example is the medical history of the patient B. 64 y. o. with stage 4 tumor right kidney with invasion into the liver. The three-dimensional reconstruction of a pathological process in this patient showed that the tumor was situated in the close vicinity of the large veins of the liver, and therefore liver resection was impossible, because of the risk of damaging blood vessels (Fig. 5).

In an attempt to prolong the patient's life, it was decided at the first stage to biopsy the kidney tumor and then to conduct embolization of right renal vessels. Then it was planned to deliver a course of targeted chemotherapy and re-evaluate the possibility of the organ-removing intervention.

The widespread introduction of organ-sparing operations for localized renal tumors requires evaluation of so-called tumor resectability. There is a tendency to save the kidney by removing the tumor by resection or enucleation of the tumor, using all technically feasible interventions, including in patients with a healthy opposite kidney. The data accumulated as a result of pre-operative evaluation, raises the question: is the real organ-saving surgery workable? The answer needs to be based on data from virtual operations with a detailed analysis of the options, that is, not on the subjective assessment, but on the objective data. The virtual operation becomes vital in cases of renal tumors in solitary kidney patients. A comprehensive analysis of topographic and anatomical nuances, planning non-ischemic partial nephrectomy, providing renal wound hemostasis, maintaining or restoring the integrity of the intrarenal urinary tract, kidney surgical wound exploration after removal of the tumor – these and other issues require the most reliable information on the preoperative stage of surgery. It is the virtual planning and intervention enables resolving these issues on the preoperative stage. This comprehensive analysis of the virtual operation will allow for the real operation in each patient, focusing on the image on the PC display directly in the operating room. This approach to the planning of surgery in patients with cancer of the right kidney is shown in Fig. 6, 7.

Conclusion. In this report we have tried to show that three-dimensional reformation of anatomical

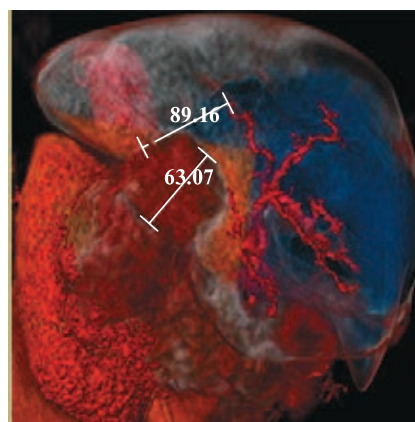


Fig. 3. The image of computer simulation results in patient K. 59 (front view); mode "multi-section tissue transparency" of the liver parenchyma

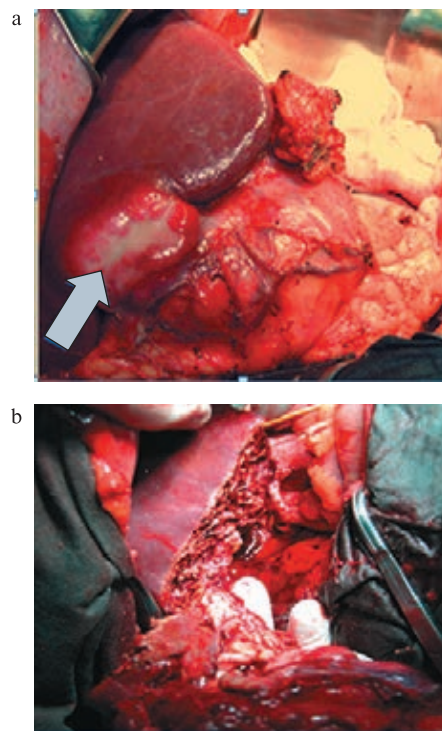


Fig. 4. The same patient. Intraoperative picture

a – tumor conglomerate, including the right kidney tumor, liver parenchyma and anterior peritoneal layer; b – the stage of atypical liver resection.

structures and «virtual rehearsal» of the planned real-life intervention is necessary and vital to the patient. In a situation where the surgeon performs the operation repeatedly in different versions and finds that surgery carries a risk for the patient's life, no one will blame him if he refuses to perform surgery, referring to its complexity and risk. At the same time, recognizing unoperability of a patient, the surgeon faces a huge responsibility, because the most effective treatment of renal cancer patients is surgery and the abandonment of

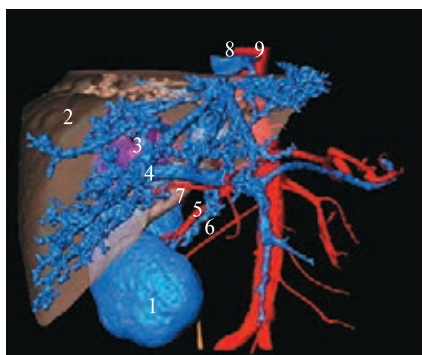


Fig. 5. The images of computer simulation results in patient B. 64 y. o.: the right kidney tumor invading liver parenchyma (front view)

1 — kidney; 2 — liver; 3 — kidney tumor; 4 — the veins of the liver; 5 — renal artery; 6 — renal vein; 7 — right hepatic artery; 8 — inferior vena cava; 9 — aorta.

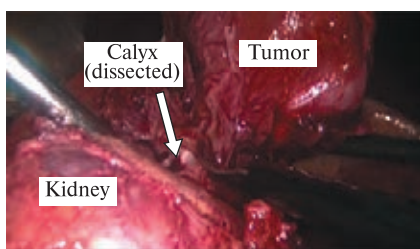


Fig. 7. The same patient. The stage of kidney resection and removal of the tumor

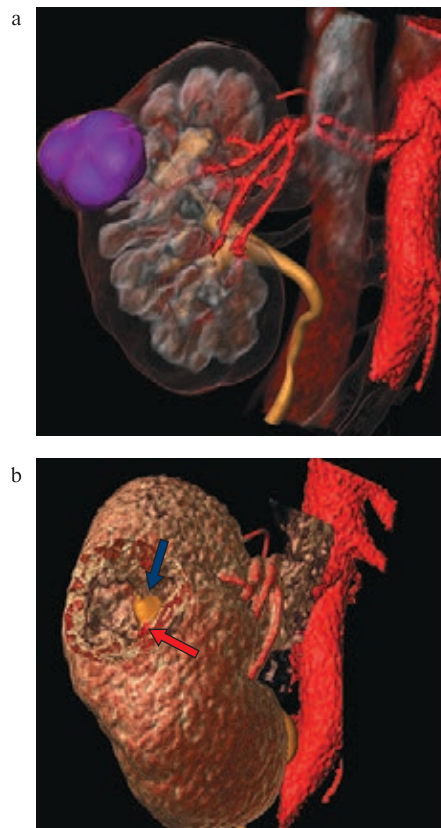


Fig. 6. The image of computer simulation results, patient P. 61 y. o., diagnosed with a tumor of the left kidney T1aN0M0

a — multi-section tissue transparency mode (tumor of the right kidney — front view); b — right kidney: tumor is virtually removed, providing detailed information about the anatomical structures located in the resected tumor bed.

Blue arrow — upper calyx; red arrow — arterial branch.

intervention virtually deprives the patient of hope of a cure or at least an extension of life. If the same surgeon decides on surgery, despite its high-risk, he needs the arguments to support the decision. And more weighty argument than the virtual implementation of operations in different ways is unlikely to be found. Recently, there have been reports of personalized 3D printed model of kidney tumor anatomy.

The 3D printed kidney model has lost its abstraction (in the words of one of the co-authors, «it was snatched out of virtual clutches»), had a material structure (special transparent material), and resisted the impact of surgical instruments. Observation was presented at the EAU Congress in Stockholm in 2014. Although the 3D printed kidney is not functional, it provides the tactile feelings of manipulating and allows performing rational «virtual-manual-real» intervention for kidney tumors. It opens new perspectives in organ engineering and makes us think about the meaning of the quote by famous philosopher R. Young, «If you are not lazy, the future is now». The deep meaning of the phrase can be understood in different ways, but it calls for adequate assessment of the achievements and creative approach to implementing plans. Applied to the subject of kidney surgery, it makes

the surgeon, IT-technologist and radiologist together to create a three-dimensional kidney image and pathological process, creatively plan and carry out a virtual operation and test the results of their «creativity».

REFERENCES

1. Coll D.M., Herts B.R., Davros W.J., Uzzo R.G., Novick A.C. Preoperative use of 3D volume rendering to demonstrate renal tumors and renal anatomy. *Radiographics*. 2000;20:431–438.
2. The virtual surgical simulation on the basis of computer tomography data. Ed. Fedorov V.D. M., 2003. 184 p..
3. Lasser M.S., Doscher M., Keehn A., Chernyak V., Garfein E., Ghavarian R. Virtual surgical planning: a novel aid to robot-assisted laparoscopic partial nephrectomy. *J. Endourol*. 2012;26(10):1372–1379.
4. 3D-technology in kidney surgery: from virtual surgery to real surgery. Ed. Glybochko P.V., Alyaev Yu.G. M.: GEOTAR- Media 2014.
5. Komai Y., Sakai Y., Gotohda N., Kobayashi T., Kawakami S., Saito N. A novel 3-dimensional image analysis system for case-specific kidney anatomy and surgical simulation to facilitate clampless partial nephrectomy. *Urology*. 2014;83(2):500–506.
6. Alyaev Yu.G., Ternovoi S.K., Akhmediani N.D., Fiev D.N. Innovative diagnosis of urological diseases. *Doctor*. 2010; 6: 2.

Received 12.02.15

SURGICAL TREATMENT OF STRICTURES OR OBLITERATIONS OF URETHRA

Department of Urology and Human Reproductive Health with Course of Pediatric Urology-Andrology, Faculty for Advanced Training and Professional Retraining of Specialists (Head – Prof. M.I. Kogan) of Rostov State Medical University

Correspondence author: V.P. Gluhov – PhD, Teaching Assistant at the Department of Urology and Human Reproductive Health with Course of Pediatric Urology-Andrology; e-mail: glukhovladimir@rambler.ru

The article introduces the clinical and statistical analysis of 113 patients treated for urethral strictures (US) in the urological clinic of the Rostov State Medical University in 2013. 58% of patients experienced a recurrent course of the disease. Radical curative surgery was possible in 93 (82.3%) patients. In other cases, non-invasive strategy was indicated (13.3%) or surgery for urethral stricture was impossible due to comorbidities (4.4%). Resection with urethral end-to-end anastomosis, which is the most effective approach to the treatment of patients with US, was possible in only half of the patients (51.8%). In the rest of the patients, one-, two- or more stage urethroplasty substitution was carried out. By the end of 2013, treatment of 84 (90.3%) patients was completed with a total of 110 operations. 9 (9.7%) patients were scheduled for operation in 2014.

Keywords: urethral stricture, radical surgery, resection of the urethra, one-, two- and multi-stage urethroplasty

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Kogan M.I., Krasulin V.V., Mitusov V.V., Shangichev A.V., Gluhov V.P., Naranov S.V. Surgical treatment of strictures or obliterations of urethra. Urologiia. 2015;2:17–23.

Introduction. One of the most common causes of obstructive urination in men, second only to benign prostatic hyperplasia are acquired narrowing (stricture) and obliteration of the urethra [1–3]. Statistically, they do not include meatal stenosis and primary bladder neck stenosis that are usually associated with a sclerotic balanitis and sclerosis of the prostate, respectively.

The most common causes of the stricture and obliteration of urethra are:

- pelvic fracture with displacement of the bone fragments, resulting in urethral disruption at the level of pelvic diaphragm;
- open and closed perineal trauma;
- iatrogenic urethral damage following transurethral procedures on the prostate, bladder and upper urinary tract;
- ineffective antibiotic therapy of acute urethritis (gonorrheal, chlamydial and others);
- long-term indwelling catheters in intensive care wards (so-called catheter stricture);
- using palliative treatments for short US, mainly internal optical urethrotomy (IOU) [1, 3–7].

It's a widely accepted and proven fact that because of US recurrence or following repeated surgical resections, the length of urethral defect increases by 2–3 cm or more [1, 8–10]. The main cause of such a «deficit growth» of urethral tissue is a distinctive feature of the spongy body anatomy, a vast and extensive venous plexus with typical phlebitic inflammation resulting in spongiofibrosis [1]. These two factors - chronic inflammation and deficiency of natural urethral tissue – result in the difficulty of repeated surgery, increase the risk of poor outcome and often force a surgeon to choose the multi-stage surgical treatment [1, 11–13].

The aim of this study was the clinical and statistical «one-year cutoff» analysis of surgery for urethral strictures and obliteration of various etiologies in urology center

with 60 year experience of treating more than 5500 patients with US.

Materials and methods. In 2013, 113 men aged 18–80 years were hospitalized to treat urethral stricture and obliteration. *Tables 1* and *2* show characteristics of patients' age and disease duration depending on the etiology. Only 23 patients were residents of the city of Rostov-on-Don and Rostov region, 78 patients were Russians from other regions of the country, and 12 patients – the citizens of CIS countries.

According to current clinical guidelines on diagnosis of US, all patients underwent retrograde and voiding urethrocystography. Uroflowmetry was possible in patients with preserved natural urination. To determine the prevalence and severity of spongiofibrosis with recurrent spongy lesions, MRI of the urethra and penile corpora cavernosa were performed by the original method [14].

Surgical treatment was not provided to 20 (17.7%) patients for the following reasons:

- 5 patients had contraindications due to somatic comorbidities;
- examination of 15 patients revealed that their US do not require surgical correction. They were advised to carry out programmed self-dilation with catheters on their own under outpatient medical supervision.

Of the 113 patients 93 (82.3%) underwent surgery.

46.2% ($n=43$) of patients at the time of urethral reconstructive surgery had cystostomy drainage for urinary diversion. In 18 (19.4%) patients, surgical treatment of US was performed without cystostomy; and 9 out of 43 patients with a cystostomy required repeated cystostomy.

Table 3 provides the basic characteristics of patients with US who were treated in 2013.

Results and discussion. The main factors that determine the choice of surgical modality to treat US, were as follows:

- cause of the US;
- localization of US and its length;

Table 1

Traumatic US	Iatrogenic US	Inflammatory US	Idiopathic US
39,96±15,23 (18–76)	59,05±15,04 (29–80)	50,73±12,47 (40–75)	41,1±15,39 (19–60)

Table 2

Traumatic US	Iatrogenic US	Inflammatory US	Idiopathic US
10,57±13,6 (0,5–52)	6,05±7,92 (0,5–30)	8,28±8,1 (0,5–24)	4,98±3,5 (0,6–25)

- whether US was primary or recurrent.

93 patients underwent 110 operations (table 4), i.e. 1.18 operations per patient.

Surgical treatment strategies were as follows:

- single-stage surgery – 70.9%;
- two-stage surgery – 23.6%;
- multi-stage surgery – 3.6%;
- Internal optical urethrotomy (IOU) – 1.8%.

Types of single-stage interventions are shown in Table 5.

One-stage operations mainly comprised urethral resections with end-to-end anastomosis, and just a third of them were substitution urethroplasty. The complexity of urethra resection was due to the fact that 28 (49%) patients had recurrent US. In 2 cases along with urethral repair suturing of the rectum was carried out, and in 2 patients anastomosis of the bulbar urethra with the neck of

the bladder (ureterovesical anastomosis) was performed. In particularly difficult cases we used our proprietary tools «semiautomatic needle» and «needle-bougie» [15] for suturing the proximal end of urethra with bladder neck. Fig. 1–4 presented retrograde urethrogram and voiding cysto-urethrogram of patients who underwent single-stage surgery for US.

The two-stage interventions were carried out in two ways (tab. 6). The first option was substitution urethroplasty using a buccal mucosal grafting. In the second approach, the patient's own urethral plate was used from the neo – urethra with Johanson's marsupialization at the first stage.

The main reasons for choosing the two-stage strategy was not so much long length of urethral damage, as the active inflammation both in the urethral and para-

Table 3

Cause of US	Number of patients	No surgery	Surgical treatment	Number of patients and length of US	
				primary US	recurrent US
Traumatic	n=53 46.9%	n=4 7.6%	n=49 92.4%	n=21 (1.0–4.0 cm)	n=28 (2.0–15 cm; s/t)⁺
Distraction rupture	40	1	39	1–4 cm	2.0–15 cm; s/t
Direct traumatic impact	11	3	8	2–3 cm	5–8 cm
Gunshot injury	2	–	–	8; 9 cm	–
Iatrogenic	20 17.7%	8 40%	12 60%	n=5 (2.0 cm – m/f)*	n=7 (2.0 cm – m/f)
Adenomectomy	2	–	2	3; 4 cm	–
TURP	5	1	4	–	3; 3; 3; 4 cm
Urethrocystoscopy	1	–	1	2 cm	–
Repeated bougienage	6	4	2	m/f (?)	6 cm
Urethral injury due to catheterization	3	2	1	–	2 cm
Burn of urethra	3	1	2	m/f	m/f
Inflammatory	26 23%	7 27%	19 73%	n=7 (3.0–10.0 cm; s/t)	n=12 (4.0–9.0 cm)
Balanitis xerotica obliterans	3	1	2	10 cm	8 cm
Purulent urethritis, gonorrhea	19	5	14	5.5; 7; 7.5 cm; s/t	4. 5, 5, 5, 5. 6, 6. 8, 8. 9 cm
Long- indwelling catheterization in patients with neurologic disorders	4	1	3	3; 4 cm	8 cm
Unknown (idiopathic US)	14 12.4%	1 7.2%	13 92.8%	n=6 (2.5–5.5 cm)	n=7 (0.5–8.0 cm)
TOTAL	113	20–17.7%	93–82.3%	39–42%	54–58%

Note. m/f* – multifocal US; s/t⁺ – subtotal US.

Table 4

Types of surgical interventions		
Resection of urethra with "end-to-end" anastomosis	57	51,8%
Substitution urethroplasty:		45,5%
single-stage	20 (40%)	
multi-stage	30 (60%)	
IOU	2	1,8%
Removal of urethral stones	1	0,9%
TOTAL	110	100%

Table 5

Single-stage surgery for US		
Type of surgery	n	Percent, %*
Resection of urethral stricture with end-to-end anastomosis, including:	57	51,8
formation of ureterovesical anastomosis	2	
closure of recto-urethral fistula	2	
Urethroplasty with dorsal buccal mucosal grafting (Asopa technique)	14	12,7
Skin urethroplasty (Orandi technique)	3	2,7
Glandular urethroplasty (Asopa, Jordan technique)	3	2,7
TOTAL	77	69,9

* – percent of the total number of operations (110=100%).

urethral tissues. In the presence of these factors, one-stage urethroplasty was extremely risky. In 12 cases it was the determining factor for performing on the first stage Johanson's marsupialization to form 2 neo-meatuses to spare the patients' cystostomy drainage for urinary diversion and restore natural urination through the newly formed proximal neo-meatus in the perineum or penoscrotal corner.

Complete spongiofibrosis with total urethral obliteration, which required its fragmented resection (2 cases) or total removal of the urethral plate over a long length (1 case), also defined the choice of two-stage surgery.

Clinical observation

Patient S. 42 y. o. was hospitalized 02/11/2013. Presenting complaints included inability to urinate naturally and the presence of a suprapubic vesical fistula.

He started experiencing difficulty urinating 4 years ago after acute urethritis. Examination revealed urethral stricture for which he underwent bougienage and optical urethrotomy. From September to November 2012 the patient experienced disease progression, and in December he developed acute urinary retention. Due to failed catheterization, the patient underwent trocar cystostomy.

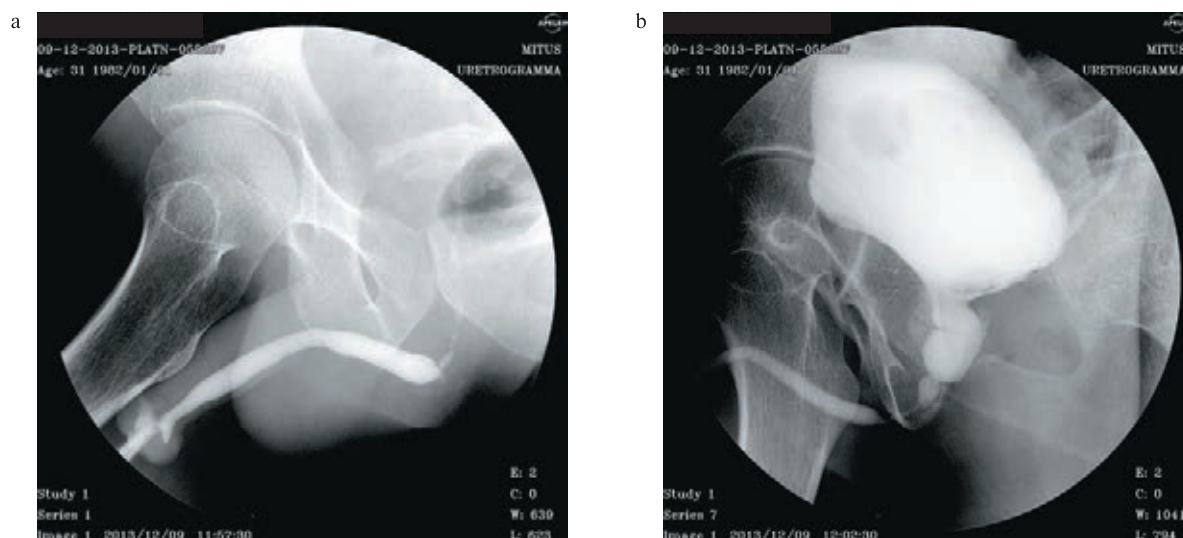


Fig. 1. a – retrograde urethrogram of recurrent traumatic stricture of bulbar-membranous urethra; b – voiding cystourethrogram of the same patient. Type of surgery – urethral resection with end-to-end anastomosis

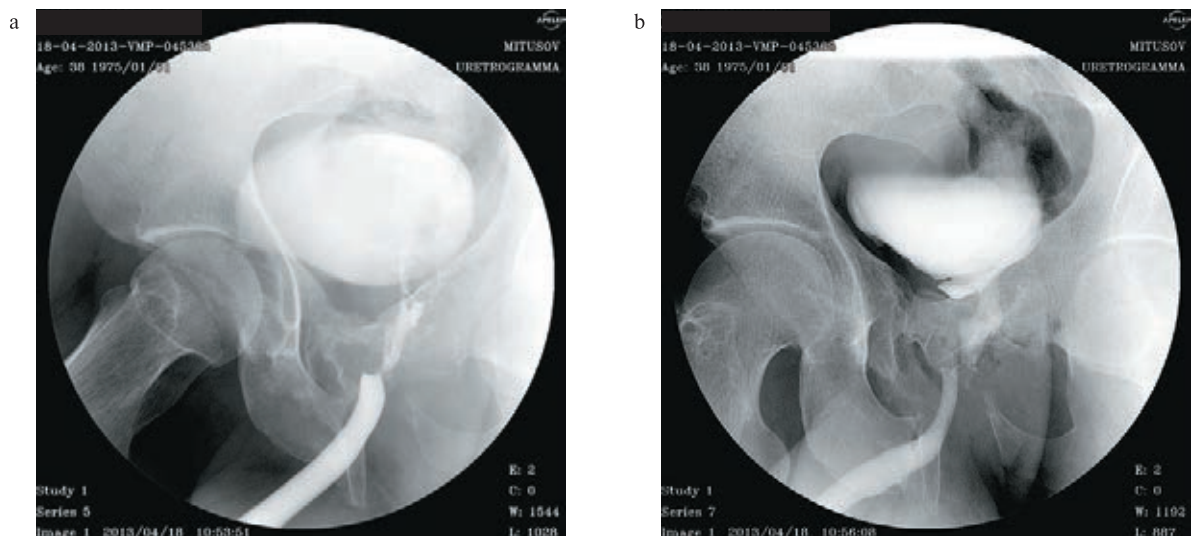


Fig. 2. a — retrograde urethrogram of iatrogenic stricture (TURP) of prostatic urethra; b — voiding cystourethrogram of the same patient. Type of surgery — urethral resection with ureterovesical anastomosis

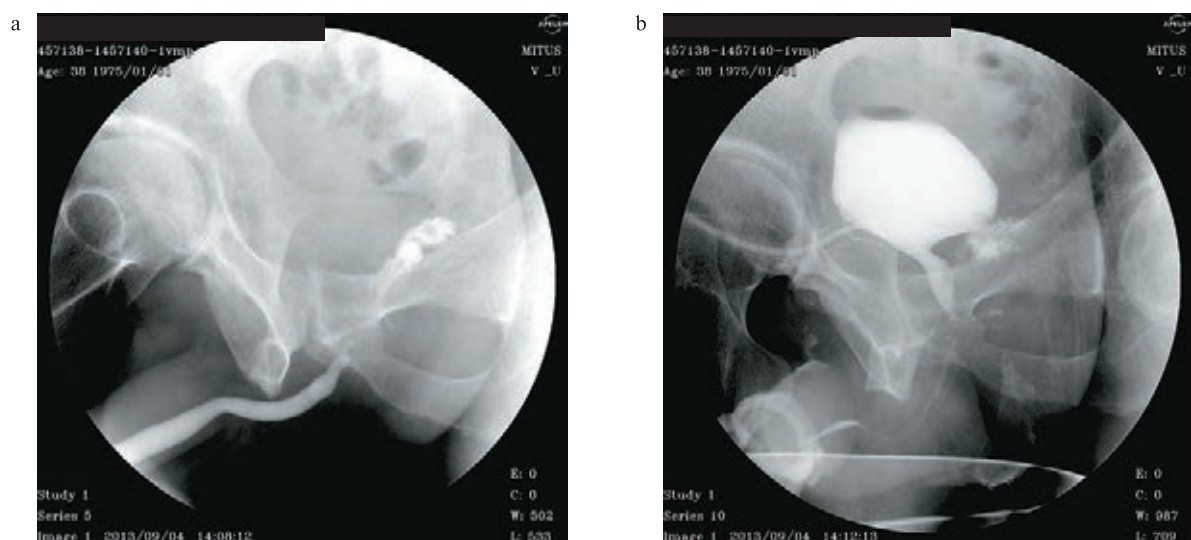


Fig. 3. a — retrograde urethrogram of recurrent traumatic stricture of the membranous urethra; recto-urethral fistula; b — voiding cystourethrogram of the same patient. Type of surgery — urethral resection with end-to-end anastomosis and suturing of the rectum

Two-stage surgery for US

Table 6

	Type of surgery	n	Percent, %*
The 1st variant	Stage I - Formation of urethral plate using buccal graft:	6	5,4
	without removal of urethral plate	3	
	with fragmented resection of urethral plate	2	
	with the total removal of urethral plate	1	
	Stage II - Formation of neo-urethra (Duplay technique)	3	2,7
The 2nd variant	Stage I - Marsupialization by Johanson with formation of 2 neomeatuses	12	10,9
	Stage II - Substitution urethroplasty of the bulbar urethra (Browne technique)	5	4,5
TOTAL		26	23,6

* — percent of the total number of operations (110=100%).

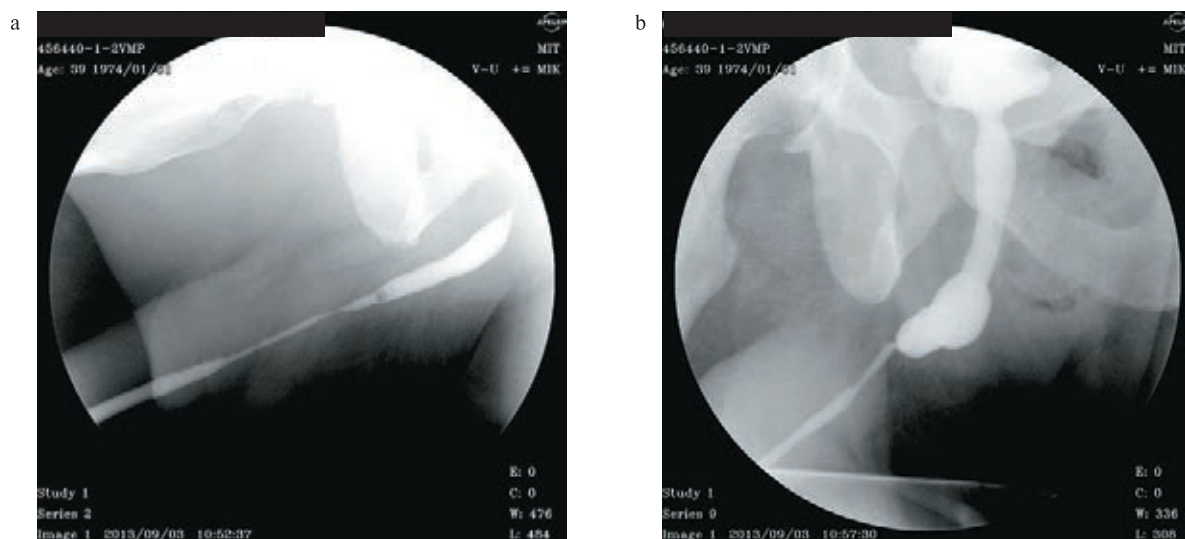


Fig. 4. a – retrograde urethrogram of extended stricture of penile-bulbar urethra; b – voiding cystourethrogram of the same patient. Type of surgery – urethroplasty with dorsal buccal grafting (L=10 cm) (Asopa technique)

At examination bougie number 16 at a distance of 1,5 cm from the urinary meatus encounters an impassable occlusion. In retrograde urethrogram showed extended stricture of glandular and penile urethra (Figure 5).

On 14/02/2013 the patient was operated on with resection of 5 cm of the penile urethra. Substitution of glandular and penile urethra with buccal graft 11 cm of length was done. Neomeatus was formed in penoscrotal corner.

The type of the intervention was determined intraoperatively when a complete spongiositis with total absence of urothelial plates within 5 cm of urethra was found which precluded single-stage urethroplasty. The view of the penis after the first stage of urethroplasty is shown in Fig. 6a.

The postoperative period was uneventful. On the 7th day the patient was discharged to outpatient treatment without cystostomy drainage, but with urine diversion by urethral catheter. Recommendations at discharge were:

- removal of the urethral catheter on days 14–18 after surgery;
- the next stage of urethroplasty in 5–6 months.



Fig. 5. Retrograde urethrogram of extended stricture of glandular and penile urethra



Fig. 6. View of the penis (a) immediately after the operation, (b) 6 months after the operation, and (c) after the second stage urethroplasty



Fig. 7. Retrograde urethrogram 3.5 months after urethroplasty

On 09.05.2013 patient was hospitalized for urethroplasty. The patient urinated freely through neomeatus located in penoscrotal corner. The appearance of the graft, that was supposed to become the dorsal wall of the future neo-urethra, was satisfactory (Fig. 6b).

On 09.09.2013 the patient was operated on with a modified Duplay urethroplasty by using penile skin and buccal graft; the end result is shown in Fig. 6.

The postoperative period was uneventful. Urethral catheter was removed on the 14th day. The patient was discharged with restored urinating on the 15th day after the operation.

Control examination 12.25.2013 – the patient has no complaints. He urinated freely, with a good stream. No erectile dysfunction. Maximum urinary flow rate was 22 ml/sec.

Urethrogram is shown in Fig. 7.

Multi-stage surgery to restore durable urethral patency in patients with US is always non-standard, really difficult and requires an individual approach, both in the choice of sequence of surgery stages, and in a clear understanding of the tasks that need to be solved at each stage of the surgery.

Table 7 presents data on the number of US observations where initial treatment implied a multi-stage strategy of surgical treatment.

It should be emphasized that the interval between surgical stages for two- or multi-stage approach must be at least 4–6 months.

Infrequent endoscopic procedures in our clinic (2 operations per year) are because we have over the years adhered to well-defined principles of using this method of US treatment, which are shared by many studies in recent years [16–19].

These include the following:

- IOU as an attempt to cure US can be used only once and when the extent of the stricture is not more than 0.5 cm;
- treatment might be considered successful when there is no need for urethral dilatation during the year after IOU;
- increasing symptoms of bladder outlet obstruction over a year after IOU indicate the need for open surgery as resection or urethroplasty.

By the end of 2013, 84 (90.3%) patients in whom 101 operations were performed, completed their treatment in our clinic; 9 (9.7%) patients are scheduled to continue surgical treatment in 2014.

As with any surgical activity, we observed some short-term complications associated with the specifics of some of US cases:

- No complications were observed after urethral resection and end-to-end anastomosis; there was one early (after 4 months) recurrent urethral stricture;
- One-stage urethroplasty:
 - Superficial phlegmon of the wound – 1 observation;
 - Urethrocuteaneous perineal fistula – 1 observation;
- Multi-stage urethroplasty:
 - Superficial phlegmon of the wound – 5 observations;
 - Urethrocuteaneous perineal fistula – 1 observation;
 - Diastasis of postoperative wound edges with secondary healing – 3 observations.

All inflammatory complications were treated conservatively. In 2 cases of urethrocuteaneous perineal fistula, long-term urinary catheter drainage (32 and 38 days) resulted in the healing of fistulas, without compromising urethroplasty results.

Conclusions. Clinical and statistical analysis of one-year outcomes of surgical treatment of the strictures and obliterations of urethra shows the following:

1. A significant fraction (58%) of patients has recurrent US both as a consequence of failed previous surgery, and because of the progressive course of the disease.
2. Radical surgery for US was performed in 93 (82.3%) patients. In other cases, non-invasive strategy (13.3%) was indicated or surgical treatment was contraindicated because of comorbidities (4.4%).
3. Urethral resection with end-to-end anastomosis is the most effective treatment for US, but it is feasible only in 51.8% of patients with US.
4. Urethroplasty for US most times is a multivariate surgery, which requires the use of various surgical techniques.

Multi-stage surgery for US

Table 7

Type of surgery	n	Percent, %*
Multi-stage urethroplasty	2	1,8
Stage I – Formation of the tubular neo-urethra from the skin flap and buccal graft		
Stage II – Substitution urethroplasty of bulbar urethra of previously formed neo-urethra	2	1,8
TOTAL	4	3,6

* – percent of the total number of operations (110=100%).

REFERENCES

1. Kogan M.I. Urethral strictures in men. Reconstructive surgery. M.: Practical Medicine, 2010.
2. Hampson L.A., McAninch J.W., Breyer B.N. Male urethral strictures and their management. *Nat. Rev. Urol.* 2014;11(1):43–50.
3. Latini J.M., McAninch J.W., Brandes S.B., Chung J.Y., Rosenstein D. 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):1–7.
4. Lumen N., Hoebeke P., Willemsen P., De Troyer B., Pieters R., Oosterlinck W. Etiology of Urethral Stricture Disease in the 21st Century. *J. Urol.* 2009;182(3):983–987.
5. Sidorenko S.V. The trends in the spread of antibiotic resistance among gram-positive microorganisms and prospects of its overcoming. *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* 2006; 2: 7–13.
6. Tenke P., Kovacs B., Bjerklund Johansen T.E., Matsumoto T., Tambyah P.A., Naber K.G. European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2008;3:201–216.
7. Martov A.G., Fakhredinov G.A., Maksimov V.A., Kornienko S.I., Ergakov D.V. Complications and failures transurethral operations on the urethra. *Bulletin RSCR of Health Ministry in 2011;* 11.
8. Rusakov V.I. Urethral surgery. Rostov on Don: Phoenix, 1998.
9. Rusakov V.I., Krasulin V.V. Reconstructive operations for large defect of the urethra in men. Tashkent: Medicine 1968.
10. Schreiter F., Jordan G.H. Urethral Reconstructive Surgery. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006.
11. Loran O.B., Veliev E.I., Zhivov A.V., Belomytsev S.V., Kotov S.V. Morphological features of urethral strictures. *Proceedings of Plenum of RUA.* 2010. 163 p.
12. Kogan M.I., Mitusov V.V., Dement'eva I.Yu., Pakus S.M. The risk of recurrent urethral strictures, depending on the morphology of the surgical margins, resected spongy body. *Proceedings of the Russian scientific conference with international participation «Fundamental research in uronephrology».* 2009. pp. 189–192.
13. Da Silva E.A., Schiavini J.L., Santos B.P., Damião R. Histological Characterization of the Urethral Edges in Patients Who Underwent Bulbar Anastomotic Urethroplasty. *Am J Urol.* 2008;180(5): 2042–2046.
14. Banchik E.L., Dombrovskii V.I., Kogan M.I., Mitusov V.V. Dynamic magnetic resonance imaging in the diagnosis of diseases of the urethra in men (complex pulse sequences). *Journal of Radiology.* 2013; 4: 33–40.
15. Krasulin V.V., Serebrennikov S.M., Zhul'nev A.P., Chibichyan M.B. Surgical treatment of urethral strictures and obliterations. Rostov on Don, 2000.
16. Santucci R., Eisenberg L. Urethrotomy has a much lower success rate than previously reported. *J. Urol.* 2010;183:1859.
17. Morey A. Urethral strictures is now an open surgical disease. *J. Urol.* 2009;181:953.
18. Wessells H. Cost-effective approach to short bulbar urethral strictures supports single internal urethrotomy before urethroplasty. *J. Urol.* 2009;181:954.
19. Kogan M.I., Mitusov V.V., Krasulin V.V., Shangichev A.V., Glukhov V.P., Ametov R.E., Mitusova E.V. Internal optical urethrotomy in urethral stricture disease complicates subsequent urethral reconstructive surgery. *Urologiia.* 2012;3:27–30.

Received 08.10.14

TISSUE-ENGINEERED SUBSTITUTION URETHROPLASTY BASED ON DECELLULARIZED VASCULAR MATRIX AND AUTOLOGOUS CELLS OF THE BUCCAL MUCOSA: THE FIRST EXPERIENCE

¹Sechenov First Moscow State Medical University, ²Research Institute of Molecular Medicine,

³Research Institute of Urology and Human Reproductive Health, Moscow

Corresponding author: D.F. Kantimerov — e-mail: kantimeroff@gmail.com

Urethral strictures and anomalies remain a challenging urological problem. Reconstructive plastic surgery has been shown to be the most effective way to treat them. There are two main types of urethroplasty: anastomosis (anastomotic urethroplasty) and expansion of the urethral lumen using of flaps and grafts (substitution urethroplasty). Currently the ideal material for substitution urethroplasty does not exist. Tissue engineering of the urethra seems to be one of the most promising approaches to address this problem. Various tissues-engineering techniques were proposed for substitution urethroplasty. In this study, tissue-engineering design was based on the decellularized cadaveric arterial wall. The study results demonstrated the feasibility of creating stable tissue-engineered structures with autologous cultured epithelial cells of the buccal mucosa and decellularized matrix from human cadaveric arterial wall (DMCAW). There was a complete engraftment of tissue-engineering design based on DMCAW and buccal mucosa cells, used for substitution urethroplasty in a patient with the bulbar urethral stricture. Postoperatively (within 4 months after surgery) no complications and/or adverse events were observed. However, in the late postoperative period (12 months) there was recurrence of urethral stricture in the middle of the tissue-engineering design and the native urethra that warranted another surgery. Tissue-engineering design based on DMCAW and autologous buccal mucosa is safe as a material for substitution urethroplasty. Further research is required to ascertain the effectiveness of the method.

Key words: urethral stricture, urethroplasty, regenerative medicine, tissue engineering, tissue-engineering design, matrix, decellularization, epithelial cells

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Glybochko P.V., Aljaev Ju.G., Nikolenko V.N., Shehter A.B., Vinarov A.Z., Istranov L.P., Istranova E.V., Abojanc R.K., Ljundup A.V., Danilevskij M.I., Guller A.E., Elistratov P.A., Butnaru D.V., Kantimerov D.F., Mashin G.A., Titov A.S., Proskura A.V., Kudrichevskaja K.V. Tissue-engineered substitution urethroplasty based on decellularized vascular matrix and autologous cells of the buccal mucosa: the first experience. Urologiia. 2015;3:4–10.

Introduction. Urethral strictures and hypospadias continue to be one of the most challenging urologic conditions. At present there are no universally accepted algorithms for surgical treatment of these diseases, although some progress has certainly been made [1–3]. The incidence of urethral strictures in developed countries is lower than in the developing world. For example, in the United States the incidence of urethral strictures in potentially predisposed population has been estimated at 0.6% and accounts for about 5000 primary inpatient visits per year [4].

The treatment of urethral strictures, as a rule, is only surgical. Minimally invasive techniques include urethral dilation and optical urethrotomy [5]. However, these approaches are associated with the recurrence rate of at least 50% [6]. Different types of open surgery on the urethra (urethroplasty) provide a much higher effectiveness with success rates ranging from 73 to 98%, and in some cases amounting to 100% (with a long term follow-up) [7–11]. In short bulbar urethral strictures, the most effective and suitable option is anastomotic urethroplasty [3, 11].

If the stricture recurs, or it is longer than 2 cm, or the stricture is located in the penile urethra, different types of substitution urethroplasty are used. In these cases the diameter of the urethra is increased by the «insert» of

a tissue fragment in the dissected edges of the urethra. The inserted tissue may be a pedicled flap or graft (tissue without its own blood supply). The flap can be made from the foreskin, the skin of the penis or scrotum (currently not recommended), the tunica albuginea of testis, and others. Several types of tissue can be used as grafts, including retroauricular skin, bladder mucosa, oral mucous membranes, particularly buccal mucosa, et al. [12–16].

As a rule, substitution urethroplasty is performed using planar grafts, not tubularized ones due to very high risk of failure (50%) associated with tubularized grafts [17].

Considering the fact that substitution urethroplasty involves the use of flaps or grafts, attempts have been made to introduce alternative materials to replace the narrowed part of the urethra [18, 19]. One of the most promising approaches to creating optimal material for substitution urethroplasty is tissue engineering.

The present work is a logical continuation of the previously published experimental study on designing tissue-engineered matrix based on the decellularized blood vessel wall [20]. The experiment resulted in obtaining a matrix with properties allowing it to be offered as a material for substitution urethroplasty.

Objective: To evaluate the safety and efficacy of substitution urethroplasty in men with urethral strictures

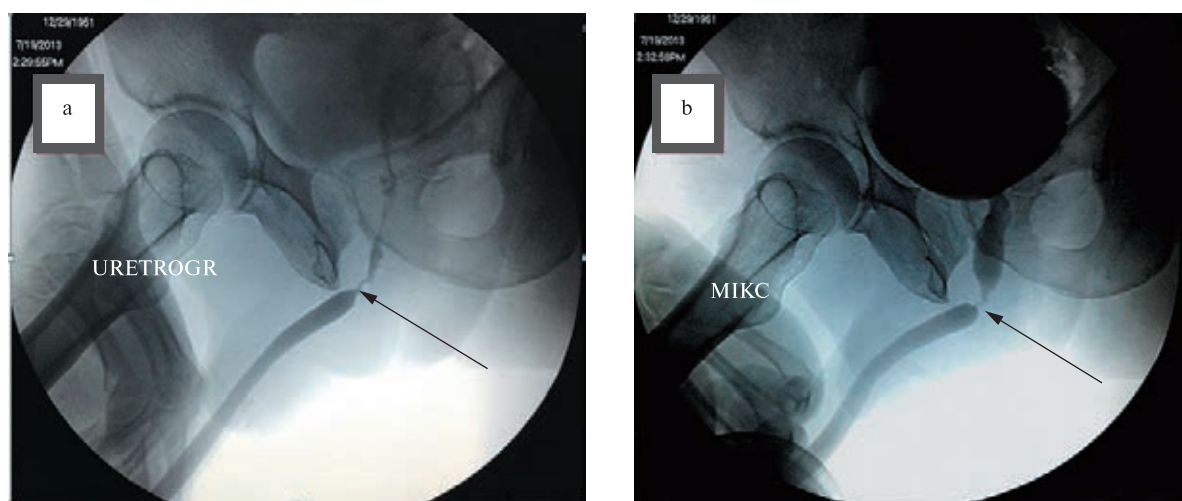


Fig. 1. Retrograde urethrography (a) and voiding cystourethrography (b) images. Arrow shows stricture site.

using tissue-engineered structure based on decellularized matrix from human cadaveric arterial wall (DMCAW) and autologous cultured epithelial cells of the buccal mucosa.

To achieve this goal, the following tasks have been set and solved:

- to create a tissue-engineered structure based on DMCAW and the buccal mucosa epithelial cells;
- to perform substitution urethroplasty for bulbar urethral strictures using tissue-engineered structure based on DMCAW and autologous buccal mucosa epithelial cells.

Materials and methods. Patient B., born in 1951. In 2003 he started experiencing difficulty urinating. In 2005 he was diagnosed with benign prostatic hyperplasia and underwent retropubic prostatectomy. After removal of the urethral catheter he regained normal urinary voiding. However, two months after surgery, he reported progressive difficulty in urinating. An examination revealed urethral stricture. From 2005 to 2013, he underwent multiple urethral dilations and optical urethrotomy with a positive but transitory result. Contrast radiologic examinations (retrograde urethrography, voiding cystourethrography) showed, that the length of the stricture of the proximal part of the bulbar urethra was 2.5 cm (Fig. 1).

Given the history of the present disease, non-traumatic etiology, and the length of urethral stricture we decided to perform substitution urethroplasty. Tissue-engineered structure was chosen as the substitution material. The patient signed an informed consent form for surgery and examinations; local independent ethics committee approved the study.

The DMCAW-derived structure obtained by previously described method was used as the matrix [20]. Upon retrieving a human cadaver artery, periarterial tissue and fascial sheath were mechanically removed and the divergent vessels were separated off. Then the artery was washed with various solutions and treated enzymatically with a terrilitin solution in 40°C for 4 hours in phosphate buffer pH 7.5–8.0 and enzyme consumption of 15–25 PU/g of wet tissue. Control of decellularization was done morphologically (by the absence of cells in histological

sections of the artery). The washed blood vessels were wrung out by gauze pads to remove excess moisture and subjected to radiation sterilization (2.5 Mrad).

Next, the fragment of buccal mucosa 5×5 mm was harvested under local anesthesia with lidocaine 2% solution. The donor site wound healed by primary intention (without sutures). Cells from this fragment were isolated using 0.2% dispase solution («Sigma», USA). The obtained cells were cultured in complete culture medium, consisting of serum-free medium Keratinocyte-SFM (Life Technologies», USA) supplemented with insulin at a concentration 5 µg/ml, hydrocortisone 5 µg/ml, epidermal growth factor 10 ng/ml, cholera toxin 10×10^{-10} M, transferrin 5mg/ml, adenine 1.8×10^{-4} M, liothyronine 2×10^{-11} M in a humidified environment at 37°C in a CO₂ incubator at 5% CO₂. Nutrient medium was changed every 48 hours. The duration of cell cultivation before seeding on the matrix was 5 weeks. When planting on the prepared 17×43 mm matrix, the third epithelial passage of 3×10^6 cells per 1 cm² was used, followed by culturing which continued for 5 days prior to implantation of the structure. The tissue-engineered structure was delivered in the urology clinic in a special thermal container. The resulting tissue-engineered structure was implanted in the proximal part of the bulbous urethra by Asopa technique (dorsal inlay).

Surgical technique. Through a midline perineal incision, bulbous urethra was accessed without transecting bulbospongiosus muscles (muscle- nerve-sparing technique; Figure 2a.). Dorsal and ventral urethrotomy over the stricture was sequentially made (Fig. 2b, c), and further by 1 cm (proximally and distally) within the visually unchanged urethral tissues. Fixing of the tissue-engineered structure to the edges of the native urethral mucosa, and to the underlying tunica albuginea of the corpora cavernosa (the dorsal fixation) was carried out with single interrupted sutures Vicryl 6-0 (Fig. 2d). The integrity of the ventral surface of corpus spongiosum was restored over previously inserted silicone urethral Foley catheter № 16 Ch with single interrupted sutures Vicryl 5-0 and 4-0 in two rows.

The bladder was drained with cystostomy drainage. On the 28th day after surgery, urethral catheter was removed,

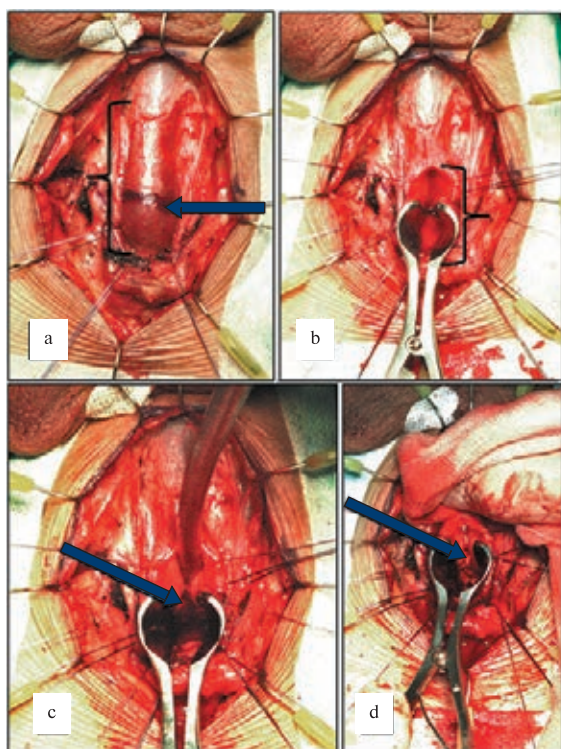


Fig. 2. Operation stages

a - access to the bulbous urethra (bulbospongiosus muscles are preserved); b - ventral urethrotomy is performed; c - dorsal urethrotomy is performed; d - tissue-engineered structure is fixed to the urethral plate on the dorsal surface of the urethra.

retrograde and voiding cystourethrography, uroflowmetry were performed, residual urine volume was measured. The fragments of the tissue-engineered structure, obtained during its adaptation to the urethral construction site were subjected to histological examination.

Results. Histological examination of sections of the epithelized matrix showed that epithelial cells formed a layer on the inner (intimal) surface of the matrix (Fig. 3).

The postoperative period was uneventful. Four weeks after the surgery urethral catheter was removed. Retrograde urethrography and voiding cystourethrography did not show strictures and streaks of contrast agent in the surgery area (Fig. 4).

Maximum urinary flow rate was 24.6, the average urinary flow rate 16.3 mL/s at a volume of 132 ml without residual urine. Four months after surgery the patient was diagnosed with the recurrence of the urethral stricture. He underwent ureteroscopy, optical urethrotomy. Ureteroscopy revealed that stricture recurred outside the tissue-engineered structure (on the border of the distal portion of tissue-engineered structure and the native urethra). Over the next 8 months the patient twice underwent urethral dilation due to weak urine stream. The patient's examination a year after the tissue-engineered urethroplasty revealed recurrence of the stricture of the bulbous urethra (Fig. 5a). The length of the recurrent stricture was 0.5 cm (including the zone of obliteration). Repeated surgery was carried out: excision of the narrowed portion of the urethra with urethra-urethral anastomosis (Khol'tsov technique). Postoperative period was uneventful. Urethral catheter was removed at day 10

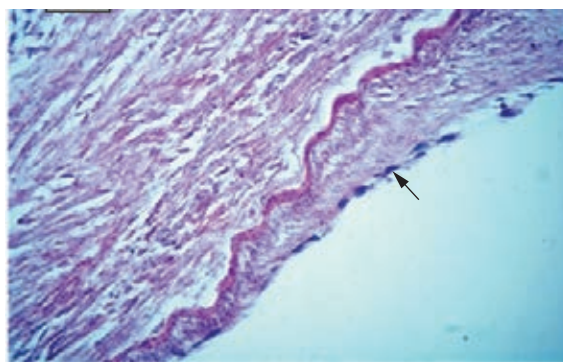


Fig. 3. Fragment of tissue-engineered structure: epithelial cells form a layer on the inner (intimal) surface of the matrix.

after surgery. Voiding cystourethrography did not show any abnormalities (Fig. 5b). Five months after re-operation no deterioration of urinary symptoms was noted.

Histological examination of the urethra fragments resected during re-operation revealed the following. **Obliteration area:** this part of the urethra is a massive block of rough scar connective tissue of varying structure. In the center of the biopsy material (possibly in the former urethral lumen) tissue consists of randomly interlaced, but relatively thin collagen fibers; cells are presented by fibroblasts, lymphocytes, macrophages and sparse polymorphonuclear leukocytes. In addition, thin-walled vessels are visualized in the tissue: capillaries, arterioles and venules (Fig. 6). Fibro-connective scar tissue surrounding the above central portion, consists of tightly packed bundles of thick collagen fibers. Fibroblasts, sparse lymphocytes and macrophages can be seen between the fibers, no inflammatory infiltration is noted. Thus, in the obliteration area the lumen of the urethra and surrounding tissues were almost completely replaced by scar connective tissue of varying degrees of maturity. However, a portion of tissue at the periphery of the sample was found to be covered with multilayer flat epithelium (Fig. 7).

The proximal area, next to the site of obliteration. The tissue section taken in this area contains rough scar connective tissue partially lined by stratified squamous epithelium (Fig. 8). This indicates that the lumen of the urethra in this area is preserved. There is fibrous scar tissue outside this area, but it is less dense.

Thus, these histological findings indicate that:

- tissue-engineered structure, having a matrix made of devoid of cells arterial wall, is completely resorbed and replaced by fibrous tissue;
- in the area of obliteration, the connective tissue that fills the lumen of the urethra has a more loose and immature character than surrounding fibrous scar tissue;
- inflammatory infiltration is virtually absent, which indicates negligible immunogenicity of the tissue-engineered structure;
- the part of the urethra adjacent to the area of obliteration preserves urethral lumen; its inner surface is epithelized, indicating the viability of the tissue-engineered structure and/or regeneration of this part of the urethra.

Discussion. As noted above, the present clinical study is the second part of a single scientific work. In the first part

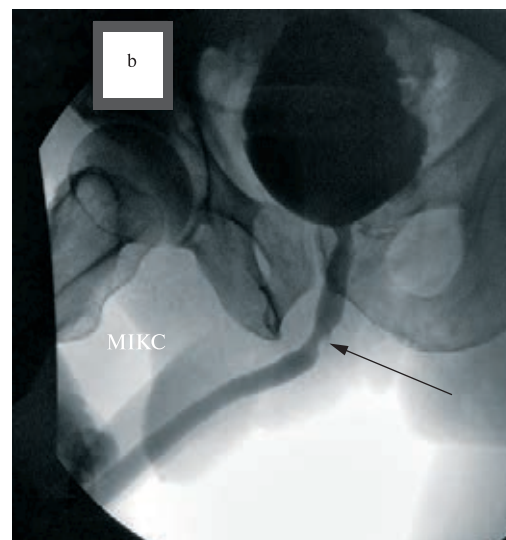
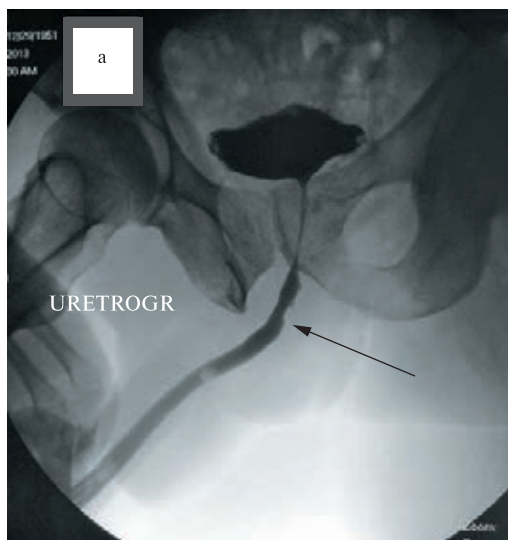


Fig. 4. Retrograde urethrography (a) and voiding cystourethrography (b) images after the operation. Arrow shows the site of the operation

tissue-engineered structure based on decellularized matrix from cadaveric arterial wall (DMCAW) was obtained. Duration and the nature of the matrix biodegradation were evaluated in the rats experiment. Next the tabularized DMCAW was used to fill the defect of the urethra in the male rabbits.

The results of the experiments mentioned above led to the conclusions:

1. The collagen matrix based on decellularized human cadaveric artery has a low biological activity and is safe as a material for substitution urethroplasty.
2. In the rats experiment, biodegradation of vascular matrix (DMCAW) occurs within 60–90 days.
3. In the rabbit experiment, vascular matrix (DMCAW) was found to have slow degradation of the matrix

and progressive epithelialization of connective tissue capsule.

4. Application of DMCAW as material for substitution urethroplasty in the rabbit experiment showed good structural and functional results.

These data suggested that this matrix may be offered as a base for tissue-engineered structure which (after approval of the ethics committee) was to be used for substitution urethroplasty in this clinical study.

The literature reports several works regarding the clinical use of recellularized matrices for substitution urethroplasty in humans. The monoculture of cells was used in two of them [21, 22], the others used the coculture [23–25].

M. Fossum et al. [22] obtained urothelial cells by washing the bladder. The cells were cultured and

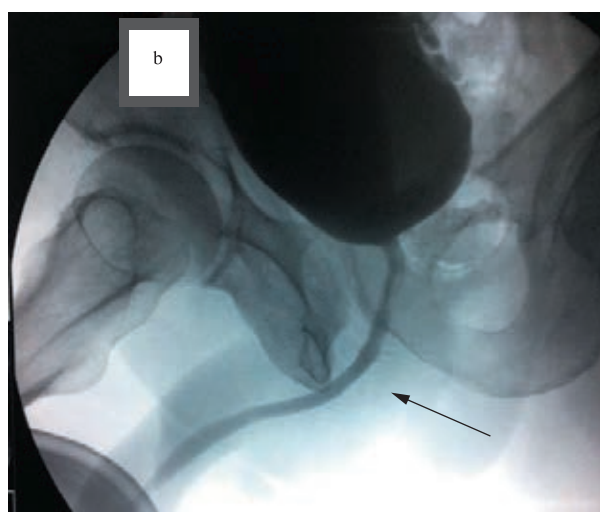
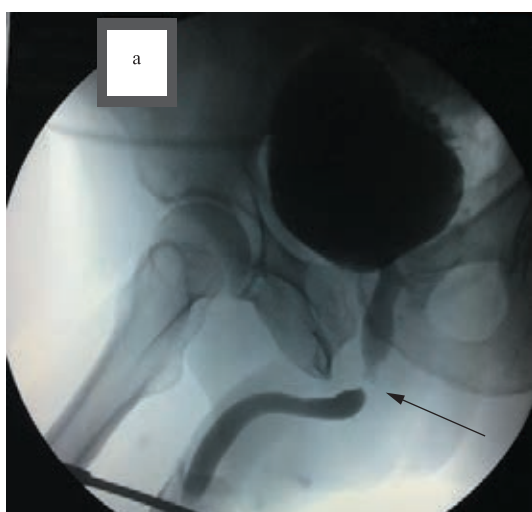


Fig. 5. Voiding cystourethrography images.

a - one year after the tissue-engineered urethroplasty (arrow shows stricture site); b - 10 days after the second operation (arrow shows the site of the operation).

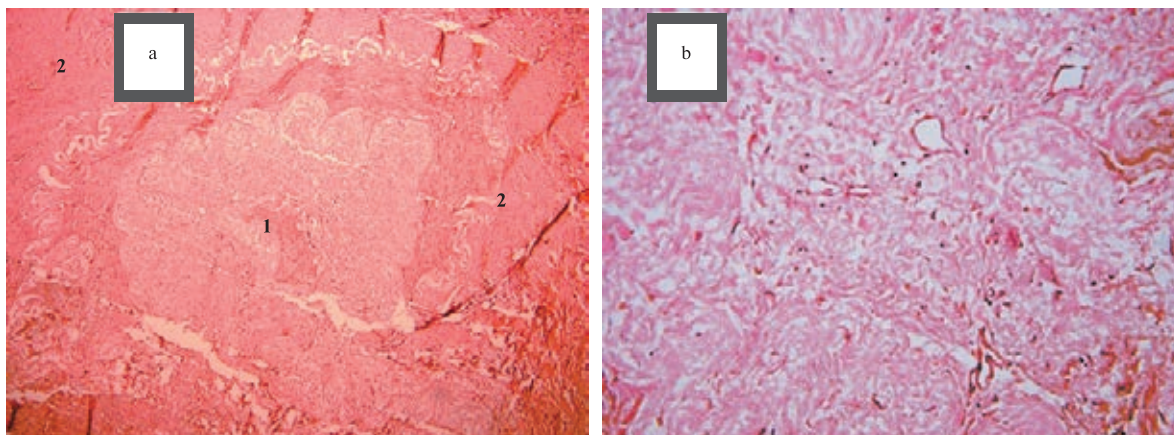


Fig. 6. The site of obliteration. H & E stain.

a - in the center - the connective tissue that fills the lumen of the former urethra (1), around it - fibrous connective tissue (2). $\times 100$; b - the same specimen at $\times 400$ magnification: in the central part relatively thin bound collagen fibers, fibroblasts, lymphocytes, macrophages and thin-walled vessels are visible.

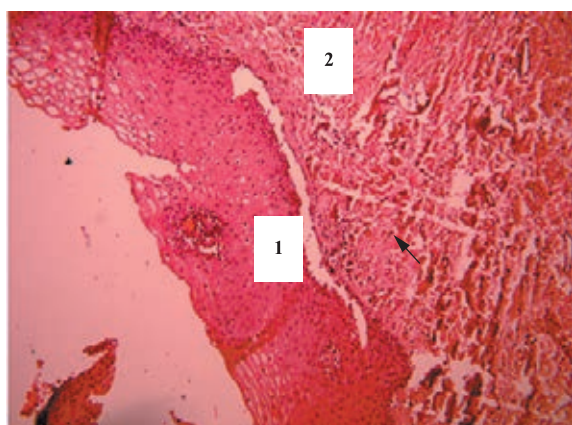


Fig. 7. Hypertrophied stratified squamous epithelium (1) lining the cavity in the scar tissue (2) (patent urethral lumen). H & E stain. $\times 200$.

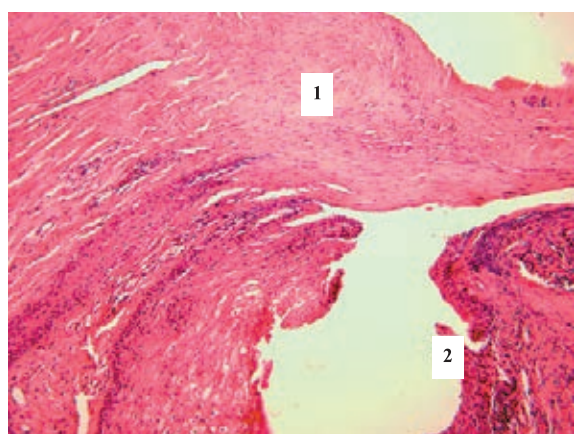


Fig. 8. Proximal area next to obliteration. H & E stain. $\times 200$.

Dense fibrous tissue (1), at the bottom - stratified squamous epithelium, framing the urethral lumen (2).

deposited on a decellularized dermal matrix, which was used to create neourethra in 6 boys with scrotal or perineal hypospadias. With a median follow-up (87 months), only one boy underwent optical urethrotomy to restore normal urination.

O. Engel et al. [21] presented a paper in which collagen-based matrix of their own manufacture (MukoCell®) was used. The matrix was seeded with cultured buccal mucosa epithelial cells. The resulting tissue-engineered structure was implanted in the stricture site. The effectiveness was 90%, but the authors did not mention follow-up period.

Bhargava et al. [23] first used tissue-engineered structure to reconstruct the urethra in men. To create a matrix, keratinocytes and fibroblasts were isolated and cultured, and seeded onto sterilized deepidermised donor dermis. The study included five patients with urethral stricture secondary to lichen sclerosis. Urethroplasty was performed as a one-stage procedure in 2 patients and as a two-stage procedure in 3 patients.

Two patients required complete or partial excision of the grafted urethra for fibrosis and hyper-proliferation of tissue, respectively. Three patients required some form of instrumentation to correct recurrent strictures.

A. Raya-Rivera et al. [24] used tabularized matrix made of polyglycolic acid (PGA) polymer. Cultured epithelial cells and smooth muscle cells of the bladder were seeded onto the inner and outer surfaces of the scaffold, respectively. All patients had post-traumatic obliteration of the membranous urethra. Implantation of the tissue-engineered urethra was performed after excision of scar tissue. With an average follow-up of 71 months, there was 100% effectiveness.

In the present study, we have successfully cultured buccal mucosa epithelial cells, seeded onto the matrix obtained by decellularization of the cadaveric arterial wall. The resulting tissue-engineered structure was used for substitution urethroplasty. It should be noted that the early postoperative period was not accompanied by any complications and side effects. The absence of streaks of contrast agent during voiding cystourethrography (on removal of the urethral catheter) indicated full engraftment of the tissue-engineered structure and freedom from rejection reaction.

In the late postoperative period (4 months after surgery), recurrent stricture occurred in the middle of the tissue-engineered structure. Relapse could occur both because of the use of specific tissue-engineered structure, and due to the natural course of the urethral stricture disease. It is noted that the length of recurrent urethral strictures (with obliteration area) was 0.5 cm, while the length of the tissue-engineered structure was 4.5 cm, and the length of the stricture before surgery was 2.5 cm. Accordingly, it is possible to assume that the local limited recurrence of urethral stricture was associated with inadequate vascularization of tissue-engineered structure in the area of contact with resident tissue (fibrosis), or with its ischemia and post-ischemic sclerosis.

Given the patient's medical history, multiple transurethral interventions (optical urethrotomy, urethral dilation, catheterization) may have contributed to the sclerotic process in the area of the stricture which indirectly confirms the assumption made above. Nevertheless, the stable patent urethral lumen, coated with the epithelial lining in the zone adjacent to recurrent stricture, indicates the functionality of the structure. The absence of the matrix elements in the resected tissues indicates high biodegradation of the tissue-engineered structure.

Tissue engineering of the urethra is a clinical reality. Further preclinical and clinical studies regarding the optimal type of matrix and cells need to be carried out to maximize the use of tissue-engineered structures in reconstructive surgery of the urethra.

Conclusions

1. The collagen matrix based on decellularized human cadaveric arterial wall forms stable tissue-engineered structure with cultured autologous oral mucosal epithelial cell.
2. The tissue-engineered structure based on DMCAW and autologous buccal mucosa epithelial cells is safe as a material for substitution urethroplasty. The effectiveness of the method need to be explored in further research.

Acknowledgements The authors would like to express their deepest gratitude for their contributions to this project to the Head of Vivarium A.V. Luzin, Head of the Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy prof. S.S. Dydykin, Head of the Department of Foreign Languages I.Yu. Markovina, Head of the Department of Clinical Research I.I. Ermolaeva, Chairman of the Independent Ethics Committee Prof. D.A. Balalykin, independent experts Prof. N.A. Grigor'ev and Prof. E.A. Bezrukov.

Financial support for this study was provided by RFBR (project №13-02-01363 A – Tissue-engineered constructs for urethroplasty) and RSF (project №15-15-00132 – New photopolymerization biocompatible compositions and scaffolds for regenerative and reconstructive urology, created by laser 3D printing).

REFERENCES

1. Chapple C. Anterior urethral surgery: current concepts and future directions. *Eur Urol.* 2010;58(1):42–45.
2. Chapple C., Andrich D., Atala A., Barbagli G., Cavalcanti A., Kulkarni S., Mangera A., Nakajima Y. et al. SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: The management of anterior urethral stricture disease

- using substitution urethroplasty. *Urology.* 2014;83(3 Suppl.):S31–47.
3. Morey A.F., Watkin N., Shenfeld O., Eltahawy E., Giudice C. SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: Anterior urethra – primary anastomosis. *Urology.* 2014;83(3 Suppl):S23–26.
4. Santucci R.A., Joyce G.F., Wise M. Male urethral stricture disease. *J Urol.* 2007;177(5):1667–1674.
5. Boccon Gibod L., Le Portz B. Endoscopic urethrotomy: does it live up to its promises? *J Urol.* 1982;127(3):433–435.
6. Wong S.S., Aboumarzouk O.M., Narahari R., O'Riordan A., Pickard R. Simple urethral dilatation, endoscopic urethrotomy, and urethroplasty for urethral stricture disease in adult men. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;12:CD006934.
7. Santucci R.A., Mario L.A., McAninch J.W. Anastomotic urethroplasty for bulbar urethral stricture: analysis of 168 patients. *J Urol.* 2002;167(4):1715–19.
8. Barbagli G., Palminteri E., Guazzoni G., Montorsi F., Turini D., Lazzeri M. Bulbar urethroplasty using buccal mucosa grafts placed on the ventral, dorsal or lateral surface of the urethra: are results affected by the surgical technique? *J Urol.* 2005;174(3):955–57; discussion 957–958.
9. Alsikafi N.F., McAninch J.W. Long-term outcomes of penile skin graft versus buccal mucosal graft for substitution urethroplasty of the anterior urethra. *J Urol.* 2005;173(87).
10. Barbagli G., Palminteri E., Bartoletti R., Selli C., Rizzo M. Long-term results of anterior and posterior urethroplasty with actuarial evaluation of the success rates. *J Urol.* 1997;158(4):1380–1382.
11. Andrich D.E. The long-term results of urethroplasty. *J Urol.* 2003;170(1):90–92.
12. Dubey D., Vijan V., Kapoor R., Srivastava A., Mandhani A., Kumar A., Ansari M.S. Dorsal onlay buccal mucosa versus penile skin flap urethroplasty for anterior urethral strictures: results from a randomized prospective trial. *J Urol.* 2007;178(6):2466–2469.
13. Godwin R.J. Urethral stone formation following urethroplasty. *Br J Radiol.* 1977;50(590):113–115.
14. Mangera A., Chapple C.R. Tissue engineering in urethral reconstruction – an update. *Asian J Androl.* 2013;15(1):89–92.
15. Bhargava S., Chapple C.R. Buccal mucosal urethroplasty: is it the new gold standard? *BJU Int.* 2004;93(9):1191–1193.
16. Barbagli G., Vallasciani S., Romano G., Fabbri F., Guazzoni G., Lazzeri M. Morbidity of oral mucosa graft harvesting from a single cheek. *Eur Urol.* 2010;58(1):33–41.
17. Mangera A., Patterson J.M., Chapple C.R. A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2011;59(5):797–814.
18. el-Kassaby A., AbouShwareb T., Atala A. Randomized comparative study between buccal mucosal and acellular bladder matrix grafts in complex anterior urethral strictures. *J Urol.* 2008;179(4):1432–1436.
19. Fiala R., Vidlar A., Vrtal R., Belej K., Student V. Porcine small intestinal submucosa graft for repair of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2007;51(6):1702–08; discussion 1708.
20. Glybochko P.V., Alyaev Yu.G., Nikolenko V.N., Shekhter A.B., Vinarov A.Z., Istranov L.P., Istranova E.V., Aboyants R.K., Lyundup A.V., Danilevskii M.I., Guller A.E., Elistratov P.A., Butnaru D.V., Kantimerov D.F., Mashin G.A., Titov A.S., Proskura A.V., Kudricheskaya K.V. Experimental validation of the developing a matrix based on decellularized vascular wall for subsequent substitution urethroplasty. *Urologia.* 2014;6:41–46.
21. Engel O., Reiß P., Schwaiger B., Pfälzgraf D., Dahlem R., Fisch M. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty. Outcome of our first 10 patients. *J Urol.* 2012;187(4):e6.
22. Fossum M., Skikuniene J., Orrego A., Nordenskjöld A. Prepubertal follow-up after hypospadias repair with autologous in vitro cultured urothelial cells. *Acta Paediatr.* 2012;101(7):755–760.
23. Bhargava S., Patterson J.M., Inman R.D., MacNeil S., Chapple C.R. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes. *Eur. Urol.* 2008;53(6):1263–1269.
24. 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. *Lancet.* 2011;377(9772):1175–1182.
25. Rogovaya O.S., Vasil'ev A.B., Faizulin A.K., Demin N.V. The use of cell technologies for the reconstruction of the urethra in pediatric urology. *Andrology and Genital Surgery.* 2009;4:36–39.

Received 15.03.15

NERVE GROWTH FACTOR IN THE URINE OF PATIENTS WITH IDIOPATHIC DETRUSOR OVERACTIVITY AND OVERACTIVE BLADDER WITHOUT DETRUSOR OVERACTIVITY

¹Department of Urology (Deputy Head of Department — Ph.D., Prof. A.K. Chepurov), Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow; ²V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry

Correspondence author: G.G. Krivoborodov — Dr.Med.Sci., Prof.; e-mail: dr.krivoborodov@yandex.ru

The purpose was to determine the concentration of the neurotrophin nerve growth factor in urine to assess its possible role as a marker in the diagnosis of various forms of overactive bladder. The study included patients with urinary frequency and urgency: 21 patients with idiopathic detrusor overactivity, 18 — with overactive bladder without detrusor overactivity and 11 healthy volunteers (control group). The level of nerve growth factor in the urine was determined in all participants of the study by the enzyme immunoassay (ELISA). In the control group the average ratio of nerve growth factor level to the level of urine creatinine was 0.2 ± 0.06 , in patients with overactive bladder without detrusor overactivity — 0.33 ± 0.06 ($p > 0.05$). In patients with idiopathic detrusor overactivity the ratio was significantly higher and amounted to 6.04 ± 0.9 ($p < 0.05$). Therefore, measurement of the concentration of nerve growth factor in the urine may be used for differential diagnosis of the presence or absence of detrusor overactivity in patients with overactive bladder.

Key words: overactive bladder, detrusor overactivity, nerve growth factor, urgency, overactive bladder without detrusor overactivity

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Krivoborodov G.G., Kolesanova E.F., Tur E.I., Efremov N.S. Nerve growth factor in the urine of patients with idiopathic detrusor overactivity and overactive bladder without detrusor overactivity. Urologia. 2015;3:19–23.

Introduction. Overactive bladder without detrusor overactivity is a form of overactive bladder characterized by frequency, but without involuntary detrusor contractions during filling cystometry. According to different authors, the prevalence of the condition among patients with overactive bladder ranges between 10 and 30% [1, 2]. Overactive bladder without detrusor overactivity is the least-studied form of the disease which negatively affects treatment outcomes among patients in this category. In recent years, experimental and clinical studies have been actively carried out aiming to clarify the etiology and pathogenesis and develop methods of diagnosis and treatment of overactive bladder without detrusor overactivity. Much attention has been paid to studying the role of the urothelium in the development of this disease. It should be noted that, historically, it was considered as a simple barrier between the urine and detrusor. However, it has turned out that the urothelium is a highly specialized structure capable of metabolic secretion, taking part in the micturition reflex [3] and having features characteristic of the nervous tissue. Specifically, urothelial cells have been found able to respond to mechanical and chemical stimuli, producing their own neurotransmitters and growth factors.

These substances, on the one hand, directly affect the detrusor muscle cells, causing them to relax, on the other hand, they cause the sensory suburothelial nerves to increase the sensitivity of nerve fibers and start the micturition reflex. One of these «active» substances is a nerve growth factor (NGF). Using highly sensitive and specific methods, this protein have been successfully isolated from the urine. There is evidence that levels of NGF in functional urinary disorders, specifically in overactive bladder, may differ from normal concentrations [4–6]. For instance, changes in urine NGF levels have been reported in patients with overactive bladder both

with and without detrusor hyperactivity [7, 8]. Answering this question could help in the diagnosis and treatment of patients with various forms of overactive bladder.

The aim of this work was to determine the urine concentration of NGF in overactive bladder patients with and without detrusor overactivity who were examined and treated at our institution.

Materials and methods. The study included 39 patients (23 females and 16 males) presenting with signs and symptoms of overactive bladder. The average age of patients was 50.2 years (range 19 to 75 years). The patients experienced urinary urgency, episodes of urgency incontinence and urinary frequency at all times.

Initial assessment included blood count, biochemical blood tests, urine microscopy and urine culture, kidney, bladder and prostate (in men) ultrasound with post-void residual urine volume measurement and a complex urodynamic study. The latter was performed according to the standards recommended by the International Continence Society. [9] The number of voids, voiding volume, the number of urgency episodes and episodes of urge incontinence were assessed using urinary diary for a period of at least 72 hours.

The patients were divided into 2 groups according to their filling cystometry findings. The first group included 18 overactive bladder patients without detrusor overactivity (11 females and 7 males), the second — 21 patients with idiopathic detrusor overactivity (12 females and 9 males). The control group comprised 11 persons (8 males and 3 females) without lower urinary tract symptoms; their average age was 36.8 years (range 25 to 49 years). Findings of clinical blood and urine tests, biochemical analysis of urine in the three groups were not significantly different.

Written informed consent was obtained from all patients enrolled in the study.

Method of measuring urinary NGF concentration.

Urinary NGF levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using the Emax ImmunoAssay System (Promega, USA), the sensitivity of NGF detection – 7,8 pg / ml.

Fasting urine samples were collected in the morning, immediately placed on ice, but not frozen. The cooled urine was centrifuged at 3000g and 4°C for 10 min. Two aliquots of at least 1 ml of the supernatant was placed in a test tube such as «Eppendorf» 1.5 ml and subjected to shock freezing at a temperature not higher than -80°C. Samples were stored frozen at -35°C. Another part of the urine was separated from the precipitate and retained for measuring creatinine in these samples. Frozen urine aliquots were thawed at 4°C with subsequent measurement of NGF concentrations using ELISA according to the kit manual. The calibration curve to calculate NGF concentration was plotted using a standard sample supplied with the kit with a known concentration of NGF in dilution according to the manual. NGF levels were normalized to mg of urinary creatinine. Between-group comparison of NGF/creatinine ratio was performed for all three groups. Data analysis was carried out on the basis of Student's t test using Statistica ver. 10.0

Results. Eight patients with urinary frequency and urgency (5 patients with idiopathic detrusor overactivity and 3 – overactive bladder without detrusor overactivity) and one control group participant had abnormally high urinary NGF levels (from 167 to 191 pg/ml).

These findings suggest either a disease associated with abnormally high production and excretion of NGF, or an error in sample preparation. In this regard, the data of these participants were excluded from analysis.

Thus, urinary NGF levels were analyzed in 31 patients (15 with overactive bladder without detrusor overactivity [9 females and 6 males] and 16 with idiopathic detrusor overactivity [10 females and 6 males]) and in 10 control group participants (8 males and 2 females).

The lowest levels of NGF/creatinine ratio were found in the control group (mean 0.2 ± 0.06 pg/ml). In overactive bladder patients without detrusor overactivity NGF/creatinine ratio was 50% greater than the control level of 0.33 ± 0.06 pg/ml, but the difference was not statistically significant ($p > 0.05$). The highest mean levels of urinary NGF/creatinine ratio were seen in patients with idiopathic detrusor overactivity – 6.04 ± 0.9 pg/ml. These levels differed significantly from that of the other two groups ($p < 0.05$).

Discussion. Nerve growth factor is a polypeptide belonging to the neurotrophin group. It is known to be necessary to promote growth and survival of sympathetic axons, and largely determines the presence or absence of sympathetic innervation [10].

In recent years, NGF has been considered as a mediator, triggering pathological urinary reflex, which involves unmyelinated afferent C-fibers. This reaction is known to result in urinary frequency and urgency [11, 12]. Elevated levels of NGF in the dorsal roots and ganglia of the lumbosacral spinal cord in animals after experimental spinal cord injury were associated with high urinary NGF concentrations and detrusor hyperactivity [11, 13, 14]. This observation confirms the fact that long-term «residence» of NGF in the urine somehow provokes involuntary detrusor contractions [13–17].

The findings of our study showed that in patients with idiopathic detrusor overactivity, urinary NGF/creatinine ratio was significantly higher than in healthy controls ($p < 0.05$), whereas in overactive bladder patients without detrusor overactivity it did not differ from them ($p > 0.05$).

Our findings regarding NGF/creatinine levels in patients with idiopathic detrusor overactivity are consistent with those of other investigators [18]. Thus, NGF levels have been shown to be elevated in the urine of patients with detrusor hyperactivity due to a variety of neurological disorders and idiopathic nature [19].

In [20], the authors examined the urinary NGF concentration in 23 patients with overactive bladder due to idiopathic detrusor overactivity and compared it with urinary NGF concentration in 22 people in the control group. The NGF / creatinine ratio in the urine of patients with detrusor overactivity was found to be significantly greater than in controls.

Few published studies have examined NGF levels in overactive bladder patients without detrusor overactivity. H. Kuo et al. [19] showed that urinary NGF/creatinine ratio in patients with sensory urgency (former definition of overactive bladder without detrusor overactivity) (0.033 ± 0.02) was even lower than that in the control group (0.041 ± 0.026).

Taking into account that NGF/creatinine ratio is low in overactive bladder patients without detrusor overactivity, we can assume that this category of patients have other, different from patients with detrusor overactivity, mechanisms of urgency. On the other hand, it is necessary to take into account the fact that as a symptom of urgency is difficult to describe both by clinicians involved in this field and by patients with complaints about a strong urge to urinate sometimes resulting in incontinence. Perhaps patients with overactive bladder with and without detrusor overactivity differently assess strong desire to urinate. Therefore, patients with detrusor overactivity have true urgency due to involuntary contractions of the detrusor. At the same time, patients without detrusor overactivity have a reduced threshold for the reflective excitability of the bladder with the advent of urination which is regarded by them as urgency. We cannot exclude that such an urge to urinate has nothing to do with the urgency caused by detrusor overactivity.

Considering our findings and other authors' data, we can also assume that the irritative symptoms in overactive bladder patients without detrusor overactivity are not related to the overproduction of NGF by autonomic neurons of the urinary bladder. In other words, today we have to consider overactive bladder patients without detrusor overactivity as patients with a condition unknown to modern medicine. Perhaps they have nothing in common with patients suffering from detrusor overactivity.

Evidence in favor of this view is presented in several studies that showed a clear correlation between the urinary NGF level and detrusor overactivity. This hypothesis is also confirmed by a positive effect of anticholinergic drugs, various types of neuromodulation and botulinum toxin type A injections into the detrusor [20–22].

Conclusion. Taking into account the literature and the results of this study, we can conclude the following: measuring the urinary NGF concentration can be an adequate and promising method for the differential diagnosis of various forms of overactive bladder, and

a marker of treatment effectiveness. Further research is needed to determine the mechanism responsible for the increase in urinary NGF concentration in patients with functional urinary disorders. Hopefully, having this process completely studied, we will be able to uncover the role of NGF in urgency, and possibly in other forms of bladder dysfunction.

REFERENCES

1. Guralnick M.L., Grimsby G., Liss M., Szabo A., O'Connor R.C. Objective differences between overactive bladder patients with and without urodynamically proven detrusor overactivity. *Int. Urogynecol. J.* 2010;21:325–329.
2. Haylen B.T., Chetty N., Logan V., Schulz S., Verity L., Law M., Zhou J. Is sensory urgency part of the same spectrum of bladder dysfunction as detrusor overactivity? *Int. Urogynecol. J. Pelvic Floor. Dysfunct.* 2007;18:123–128.
3. Southgate J., Varley C.L., Garthwaite M.A., Hinley J., Marsh F., Stahlschmidt J., Trejdosiewicz L.K., Eardley I. Differentiation potential of urothelium from patients with benign bladder dysfunction. *BJU Int.* 2007;99(6):1506–1516.
4. Steers W.D., Kolbeck S., Creedon D., Tuttle J.B. Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. *J. Clin. Invest.* 1991;88:1709–1715.
5. Okragly A.J., Niles A.L., Saban R., Schmidt D., Hoffman R.L., Warner T.F., Moon T.D., Uehling D.T., Haak-Frendscho M. Elevated tryptase, nerve growth factor, neurotrophin-3 and glial cell line-derived neurotrophic factor levels in the urine of interstitial cystitis and bladder cancer patients. *J. Urol.* 1999;161:438–441.
6. Lowe E.M., Anand P., Terenghi G., Williams-Chestnut R.E., Sinicropi D.V., Osborne J.L. Increased nerve growth factor levels in the urinary bladder of women with idiopathic sensory urgency and interstitial cystitis. *Br. J. Urol.* 1997;79:572–577.
7. Tuttle J.B., Steers W.D., Albo M., Nataluk E. Neural input regulates tissue NGF and growth of the adult urinary bladder. *J. Auton. Nerv. Syst.* 1994;49:147–158.
8. Dupont M.C., Spitsbergen J.M., Kim K.B., Tuttle J.B., Steers W.D. Histological and neurotrophic changes triggered by varying models of bladder inflammation. *J. Urol.* 2001;166:1111–1118.
9. Abrams P., Cardozo L., Fall M., Griffiths D., Rosier P., Ulmsten U., van Kerrebroeck P., Victor A., Wein A.; Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol. Urodyn.* 2002;21(2):167–178.
10. Rodionov I.M. Nerve growth factor, hypertrophy and destruction of the sympathetic system in the experiment. *Soros Educational Journal.* 1996; 3: 17–22.
11. Vizzard M.A. Changes in urinary bladder neurotrophic factor mRNA and NGF protein following urinary bladder dysfunction. *Exp. Neurol.* 2000;161:273–284.
12. Yoshimura N. Bladder afferent pathway and spinal cord injury: possible mechanisms inducing hyperreflexia of the urinary bladder. *Prog. Neurobiol.* 1999;57:583–606.
13. Seki S., Sasaki K., Igawa Y. et al. Detrusor overactivity induced by increased levels of nerve growth factor in bladder afferent pathways in rats. *Neurourol. Urodyn.* 2003;22:375–377.
14. Vizzard M.A. Neurochemical plasticity and the role of neurotrophic factors in bladder reflex pathways after spinal cord injury. *Prog. Brain Res.* 2006;152:97–115.
15. Lamb K., Gebhart G.F., Bielefeldt K. Increased nerve growth factor expression triggers bladder overactivity. *J. Pain.* 2004;5:150–156.
16. Yoshimura N., Bennett N.E., Hayashi Y., Ogawa T., Nishizawa O., Chancellor M.B., de Groat W.C., Seki S. Bladder overactivity and hyperexcitability of bladder afferent neurons after intrathecal delivery of nerve growth factor in rats. *J. Neurosci.* 2006;26:10847–10855.
17. Zvara P., Vizzard M.A. Exogenous overexpression of nerve growth factor in the urinary bladder produces bladder overactivity and altered micturition circuitry in the lumbosacral spinal cord. *BMC Physiol.* 2007;7:9.
18. Liu H.T., Kuo H.C. Urinary nerve growth factor level could be a potential biomarker for diagnosis of overactive bladder. *J. Urol.* 2008;179: 2270–2274.
19. Kuo H.C., Liu H.T., Chancellor M.B. Can urinary nerve growth factor be a biomarker for overactive bladder? *Rev. Urol.* 2010;12(2–3):e69–77.
20. Shalom D.F., Pillalamarri N., Xue X., Kohn N., Lind L.R., Winkler H.A., Metz C.N. Sacral Nerve Stimulation reduces elevated urinary nerve growth factor levels in women with symptomatic detrusor overactivity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014;211(5):561.
21. Knippschild S., Frohme C., Olbert P., Hofmann R., Hegele A. Value of nerve growth factor levels in overactive bladder syndrome: alterations after botulinum toxin therapy. *Urologe A.* 2012;51(3):379–383.
22. Kim J.C., Park E.Y., Seo S.I., Park Y.H., Hwang T.K. Nerve growth factor and prostaglandins in the urine of female patients with overactive bladder. *J. Urol.* 2006;175:1773–1776.

Received 01.04.15

PELVIC FLOOR RECONSTRUCTION AFTER PELVIC EVISCERATION USING GRACILIS MUSCULOCUTANEOUS FLAP

Bashkir State Medical University of Minzdrav of Russia, Ufa

Correspondence author: I.R. Kabirov – Teaching Assistant at the Department of Urology with Course of Postgraduate Studies; e-mail: ildarkabirov@gmail.com

Evisceration of the pelvic organs (EPO) is a fairly uncommon surgical treatment that removes all organs from a patient's pelvic cavity. We use gracilis musculocutaneous flap to repair pelvic floor after EPO. Over the period from November 2013 to December 2014 we carried out EPO with reconstructive repair of the pelvic floor with gracilis musculocutaneous flap in 10 patients with locally advanced pelvic tumors. We describe the surgical procedure and surgical outcomes in these patients. Mean age of the patients was 55 years. Mean duration of EPO with the pelvic floor repair was 285 min., mean blood loss – 595 mL and the average length of hospital stay – 19 days. Gracilis musculocutaneous flap has a sufficient arterial supply and mobility for pelvic floor reconstruction. Necrosis of flap's distal edge occurred in one of the 10 clinical cases, while the remaining flaps were fully preserved. Complete healing of wounds with no signs of weakening of the pelvic floor muscles was observed in all cases. Pelvic floor reconstruction is an essential procedure in order to reduce complications associated with the evisceration of the pelvic organs. The gracilis musculocutaneous flap is the logical alternative to repair pelvic floor defect. It does not contribute to complications like functional deficiency of the lower limbs, complications of stoma formation or weakening of the muscles of the anterior abdominal wall.

Key words: pelvic evisceration, pelvic floor, gracilis musculocutaneous flap

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Pavlov V.N., Bakirov A.A., Kabirov I.R., Izmajlov A.A., Kutlijarov L.M., Safiullin R.I., Urmancev M.F., Sultanov I.M., Abdrahimov R.V. Pelvic floor reconstruction after pelvic evisceration using gracilis musculocutaneous flap. Urologia. 2015;3:39–42.

Introduction. For the majority of patients with locally advanced primary or recurrent malignant pelvic tumors, evisceration remains the best treatment option. The total evisceration of the pelvic organs (EPO) is defined as en-bloc removal of the pelvic contents, including the reproductive tract, the bladder, and rectosigmoid colon. It ends by forming colostomy and ureterostomy on the anterior abdominal wall (in exceptional cases, orthotopic cystoplasty and low rectal anastomosis [1–4]). In 1950 Bricker developed an ureteroileostomy technique, which is still one of the most commonly used reconstructions of the distal urinary tract after EPO [1, 2].

In cases where the tumor involves female reproductive organs (the vaginal wall and labia majora), the surgery produces large perineal defects, which are impossible to close by bringing the wound edges together. Modern methods for reconstructing the pelvic floor are necessary to reduce the morbidity associated with EPO [1, 2, 5, 6].

Using musculocutaneous flaps or transplantation of free flap on microvascular anastomosis opens new possibilities in the closure of almost any soft tissue defect.

The literature describes several options for musculocutaneous flap to replace the perineal defect. Surgical restoration of the pelvic floor in these patients has been closely examined previously [4]; the reconstruction of the vagina offered a possibility to preserve sexual function and improve the quality of life in select patients [5, 8].

Materials and methods. From November 2013 to December 2014, ten patients with locally advanced pelvic tumors underwent EPO with reconstructive repair of the pelvic floor using gracilis musculocutaneous flap at the Department of Oncology of BSMU Clinic. The

most frequent diagnosis was cervical cancer (see. *Table*). Mean age of the patients was 55 years. Mean duration of EPO with the pelvic floor repair was 285 min., mean blood loss – 595 mL and the average length of hospital stay – 19 days. All patients were informed about the forthcoming operation and received guidance from specialists about early and late postoperative complications. The follow-up period was 12 months after surgery. No early complications associated with healing of musculocutaneous flap were noted; necrosis of the distal part of the flap was observed in one patient. The healing of the wound defect in this patient occurred by secondary intention.

Clinical case

One of the patients was diagnosed with recurrent vaginal cancer with the tumor disintegration (see. *Figure a*), which entailed the need for a wide resection of perineal skin.

Patient X., 54 y. o., admitted to the Department of Oncology BSMU Clinic with a diagnosis: Vulvar tumor T3N1M0. Tumor invasion into the uterus, the rectum and the urinary bladder. Condition after combined chemoradiotherapy.

The history of presenting disease: in 2008 she was diagnosed with a malignant neoplasm of the vagina; in the same year she underwent the tumor excision, followed by external beam radiation therapy to the inguinal lymph nodes in total dose 44.5 Gy, and 39 Gy to the tumor bed. In 2010, 2011, 2012 she had relapses treated with tumor excisions; in 2012 with external beam radiotherapy (inguinal lymph nodes total dose 30 Gy, tumor bed 33 Gy).

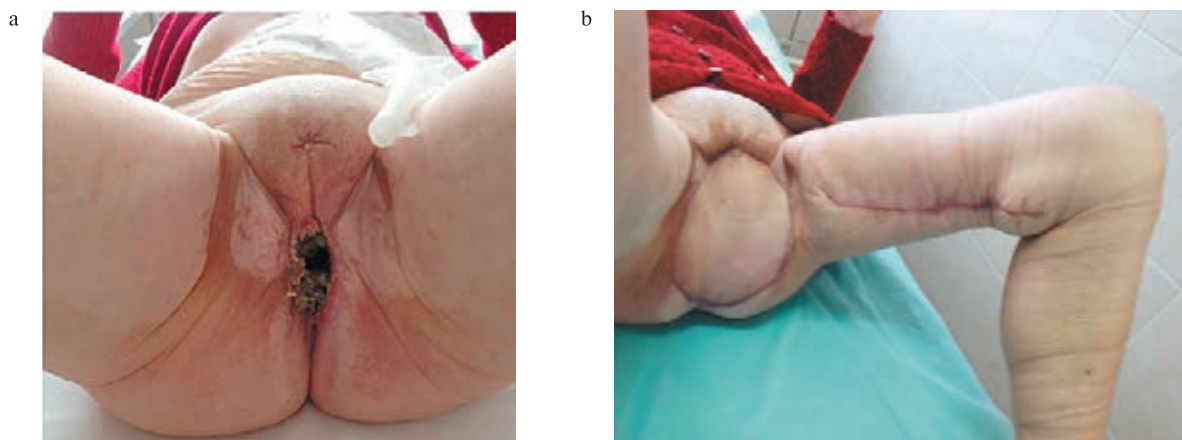


Fig. The appearance of the patient X. 54 y. o.

a — on admission: recurrent vaginal cancer; b — 1 month after reconstructive surgery using gracilis musculocutaneous flap

In 2013, on the recurrence of the tumor, she was treated with chemoradiation and local chemotherapy using napkins using Coletex napkins with 5-fluorouracil 3 mg/cm. In September 2014, CT imaging revealed tumor invasion into the uterus, the rectum and the bladder. Exploratory laparotomy was done with double barrel sigmoidostomy. After further examination in November 2014, she underwent EPO with reconstructive repair of the pelvic floor using gracilis musculocutaneous flap.

Surgical techniques and results. EPO was carried out in accordance with the recommendations provided in the current literature, and included the removal of the distal urinary tract, uterus with adnexa and rectum [1, 2, 12, 13]. At the final stage the labia majora, perineal soft-tissue and perianal area were resected en bloc.

Because of the resection, the size of the perineal skin defect was 250x160 mm. Musculocutaneous flap of the right gracilis muscle 110 x 220 mm was formed as vertical islets by the standard technique from the proximal to the distal end. The pedicle was dissected into components to increase its length and to prevent twisting of supplying arteries. A tunnel in the subcutaneous tissue of inguinal region was formed to bring musculocutaneous flap to the perineal defect. Then the flap

was rotated 18° to completely cover the defect. The donor site defect formed when harvesting musculocutaneous flap was sutured with drainage. Besides standard postoperative care procedures, the patient was placed in the supine position with the abduction of the left leg by 20°.

The state of musculocutaneous flap was evaluated relying on signs of microcirculation: color, surface temperature. Perforating arteries in the flap were visualized using Doppler ultrasound scan. Microvascular blood flow was measured by laser Doppler flowmetry. Postoperative preventive measures comprised prostaglandin E1 (vazaprostan 40 mg IV 1 once daily), low molecular weight heparin (Clexane 40 mg SC 1 once daily). The patient was ambulated on the 5th day after the operation. The wound healed at day 20 after surgery. The flap engrafted completely at the site of perineal defect and the healing of the donor site defect on the left thigh was without complications. Currently, the patient receives radiation therapy, so oncological results were not evaluated (see. Figure b).

Discussion. Gracilis musculocutaneous flap has been described by Schoeller et al. for breast reconstruction and as a free flap for defects in other sites [10, 11]. It has long been used by reconstructive and plastic surgeons and is

Characteristics of patients who underwent EPO with reconstructive repair of the pelvic floor

Table

Diagnosis	Age, years	Surgery duration, min.	Blood loss, mL	The length of hospital stay, days
Vulvar tumor	54	270	500	16
Cervical cancer	66	300	550	21
Ovarian cancer	52	255	400	18
Cervical cancer	58	315	600	17
Cervical cancer	63	285	1100	23
Vulvar tumor	59	290	700	16
Cervical cancer	49	315	350	28
Cervical cancer	50	305	400	20
Rectal cancer	48	280	700	14
Cervical cancer	57	275	650	16

widely used at present [3–5, 12]. That said, the current literature is lacking sufficient coverage of using gracilis musculocutaneous flap for reconstruction of large defects similar to those for which musculocutaneous flaps of the rectus abdominis or latissimus dorsi have been used. [11, 12]. Gracilis muscle has been applied in reconstructive surgery as a free flap and as a vascular pedicle flap. Gracilis musculocutaneous flap has been used for the pelvic floor and vaginal reconstruction after cancer surgery and in the treatment of recurrent vesicovaginal, rectovaginal fistulas. In recent years vertical and transverse gracilis musculocutaneous flaps have been used as a free flap for breast reconstruction with the skin islets 5–9 cm long and 10–18 cm wide [9, 11].

Due to the proximity of the donor site to pelvis and genitals it seems quite reasonable to reconstruct perineal defects with gracilis musculocutaneous flap after EPO. Harvesting of the flap does not create functional problems for patients, does not weaken the anterior abdominal wall and is not associated with complications of stoma formation on the anterior abdominal wall.

Complete healing of the wound defect occurred in all patients in our small series. But one should not forget about the very high risk of necrosis of the skin of the flap associated with impaired microcirculation in the skin of the complex flap. In our opinion, these complications are associated with chemo-radiotherapy preceding surgery.

Conclusion. Evisceration of the pelvic organs and its modifications are considered one of the treatment options for patients with locally advanced pelvic tumors. Advances in patient selection, surgical technique and perioperative care has led to a decrease in postoperative complications. Pelvic floor reconstruction after EPO remains a serious issue in the global surgical practice. Using gracilis musculocutaneous flap for reconstructive repair is an essential option in a surgeon's armamentarium. Our experience has shown that the muscular part of the flap is a good basis for the blood supply to the skin island reducing the risk of cutaneous microcirculation impairment. This is because muscle as a part of the flap always remains viable. Together with subcutaneous fat it ensures healing of the wound defect that accounts for widespread use of musculocutaneous flaps in plastic reconstructive surgery. We consider reconstruction of the pelvic floor using gracilis musculocutaneous flap a valid

treatment option and encourage professionals to use this technique in the patients undergoing EPO.

REFERENCES

1. *Hinman's Atlas of Urologic Surgery*. Eds. Yu.G. Alyaev, V.A. Grigoryan. M.: GEOTAR Media, 2007. 1192 p.
2. Wechselberger G. Versatility of the free gracilis muscle flap for coverage of soft tissue defects. *Oper. Orthop. Traumatol.* 2008; 20(2):119–127.
3. Aglullin I.R., Didakunan F.I., Ziganshin M.I., Aglullin T.I. Pelvic evisceration – a way to increase resectability of locally advanced rectal cancer. *Proceedings of the Fifth International Conference «Multidisciplinary approach in the treatment of colorectal cancer.»* 2011. P. 85.
4. Davydov M.I., Odaryuk T.S., Nechushkin M.I. et al. Surgical management of locally advanced tumors of the pelvic organs with invasion into the bladder. *Oncourology.* 2006;2:26–30.
5. Petrov L.O., Alekseev B.Ya., Sidorov D.V. et al. The possibilities of reconstruction of the urinary system after total pelvic exenteration in patients with locally advanced primary and recurrent tumors of the rectum. *Oncourology.* 2011; 1: 95–100.
6. Salom E.M., Penalver M.A. Pelvic exenteration and reconstruction. *Cancer J.* 2003;9:415–424.
7. Berek J.S., Howe C., Lagasse L.D., Hacker N.F. Pelvic exenteration for recurrent gynecologic malignancy: survival and morbidity analysis of the 45-year experience at UCLA. *Gynecol. Oncol.* 2005;99(1):153–159.
8. Schmidt V.J., Horch R.E., Dragu A., Weber K., Göhl J., Mehlhorn G., Kneser U. Perineal and vaginal wall reconstruction using a combined inferior gluteal and pudendal artery perforator flap: a case report. *J. Plast. Reconstr. Aesthetic. Surg.* 2012;65(12):1734–1737.
9. Kind G.M., Foster R.D. The longitudinal gracilis myocutaneous flap, broadening options in breast reconstruction. *Ann. Plast. Surg.* 2008;61(5):513–520.
10. Schoeller T., Huemer G.M., Wechselberger G. The transverse musculocutaneous gracilis flap for breast reconstruction: guidelines for flap and patient selection. *Plast. Reconstr. Surg.* 2008;122(1): 29–38.
11. Arnez Z.M., Pogorelec D., Planinsek F., Ahcan U. Breast reconstruction by the free transverse gracilis (TUG) flap. *Br. J. Plast. Surg.* 2004;57:20–26.
12. Giordano P.A., Abbes M., Pequignot J.P. Gracilis blood supply: anatomical and clinical re-evaluation. *Br. J. Plast. Surg.* 1990;43:266–272.
13. Hussey A.J., Laing A.J., Regan P.J. An anatomical study of the gracilis muscle and its application in groin wounds. *Ann. Plast. Surg.* 2007;59:404–409.

Received 13.03.15

THE EFFECTIVENESS OF INTRACAVERNOUS AUTOLOGOUS PLATELET-RICH PLASMA INJECTIONS IN THE TREATMENT OF ERECTILE DYSFUNCTION

¹Research Institute of Urology and Human Reproductive Health;

²Department of Urology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Corresponding author: M.V. Epifanova; e-mail: epifanova_maya@mail.ru

This article deals with using autologous platelet-rich plasma (APRP) as a new treatment for erectile dysfunction in men. In recent years there was a significant interest in regenerative medicine technology due to its high effectiveness with a good safety and low cost. Currently APRP has been used successfully in various fields of medicine (surgery, traumatology and orthopedics, sports medicine, cosmetics). However, until now there have been no studies consistent with evidence-based medicine verifying the effectiveness and long-term results of APRP application for ED treatment. This article presents the results of a clinical study on the use of APRP in men with ED with a comparative effectiveness analysis of different ways of APRP administration and in combination with PDE5 inhibitors. Possible mechanisms of action of APRP in restoring erectile function are discussed.

Key words: autologous platelet-rich plasma, platelet-rich plasma, erectile dysfunction, PDE5 inhibitors, growth factors, angiogenesis, regenerative medicine

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Chalyj M.E., Grigorjan V.A., Epifanova M.V., Krasnov A.O. The effectiveness of intracavernous autologous platelet-rich plasma injections in the treatment of erectile dysfunction. Urologiya. 2015;4: 76–79.

Introduction. A recent epidemiological study conducted in Russia revealed that among 1225 men aged 20 to 75 years only 10% had no signs of erectile dysfunction (ED) [1]. To date, the «gold standard» of ED pharmacotherapy is phosphodiesterase inhibitors of type 5 (PDE5). These drugs have been used since the late 1990's and have proven to be highly effective. Despite this, there are ED patients not responding to any drug treatment. According to the literature, the efficacy of inhibitors of PDE5 reaches 71% [2] and 62% and 78% of men continue to take PDE5 inhibitors after the first and second intakes respectively [3]. It has been proven that 38–51% of patients discontinue PDE5 inhibitors during the 2.5 year after initiating PDE5 therapy [4].

The major reason for discontinuing therapy was lack of efficacy (74%) [5]. Also, the study revealed that at least 23% of men were at least once disappointed by the results of PDE5 inhibitor therapy [6].

The cause for reduced effectiveness of PDE5 inhibitors for different people can be non-compliance with directions for taking medications, physiological features and some disorders. The delayed evacuation of gastric contents, increase or decrease in hepatic metabolism, poor circulation, lack of neuronal and endothelial nitric oxide synthase (after radical prostatectomy, diabetes mellitus), differences in permeability of the cell membrane to PDE5 inhibitors, the differences in sensitivity to the phosphodiesterase at the molecular level determine the potential reduction in the efficacy of the drug. To address these problems, searching for new treatments of ED remains relevant.

Preparation and clinical application of autologous platelet-rich plasma (APRP) is a promising direction based on using growth factors contained in platelets that activate regenerative and reparative capacities of the human body.

The normal number of platelets in the blood is 150–300 thousand platelets per microliter (k/ μ L). It has been proven that the stimulating effect of APRP manifests itself if the platelet concentration exceeds 750 k/ μ L [8]. The higher the platelet concentration, the more platelets growth factors are released. Growth factors belong to the family of

natural polypeptides, which are similar to hormones. Like hormones, they have a broad spectrum of biological effects on many cells, stimulating and inhibiting mitogenesis, chemotaxis and cell differentiation.

However, unlike hormones, growth factors act locally and do not circulate in the free form. Since APRP is obtained from the patient's own blood, its injection is safe in terms of transmitting infectious diseases, such as HIV or hepatitis. Growth factors of autologous platelet-rich plasma stimulate the formation of collagen, speed up skin and mucous membrane regeneration, induce vascular and endothelial growth, provide hemostasis, reduce pain and have anti-inflammatory effect [9, 10].

The aim of this work: to evaluate the efficacy and safety of intra-cavernous administration of APRP in treating ED.

Materials and methods. The study involved 75 patients with erectile dysfunction referred to the Clinic of Urology of Sechenov First MSMU from 2013 to 2015. Patients' age was 43.7 ± 13.1 years, the duration of ED – 2.96 ± 1.6 months.

All patients were randomized into 3 groups. Patients of group 1 ($n=30$) received injections of activated APRP, patients of group 2 ($n=30$) were treated with injections of activated APRP co-administered with PDE5 inhibitors and patient of group 3 ($n=15$) received non-activated APRP injections.

Autologous plasma enriched with platelet derived growth factors was obtained by two-step centrifugation of 72 mL of autologous blood for maximum platelet concentrations up to 2400 k/ μ L.

To release platelet growth factors, 10% solution of calcium chloride (CaCl₂) was used (activated APRP). Injections of 4 mL of APRP in insulin syringe were performed into each corpus cavernosum on the lateral surface of the penis. The total volume of APRP was 8 mL. The procedure was repeated three times in 1-week intervals [11].

Evaluation of the treatment effectiveness was conducted using IIEF-5 questionnaire, SEP (Sexual Encounter Profile), Pharmaco-Doppler sonography of penile arteries (PDS) with prostaglandin E1 (PGE1) and measuring

vascular endothelial function with Angioscan-01 complex at days 28, 90 and 180 after the first injection. The results of refinement medical history, clinical examination, Pharmaco-Doppler sonography of penile arteries, baseline and follow-up data of APRP application were processed using descriptive statistics.

Results. The follow-up examination of patients in group 1 revealed a significant increase in IIEF-5 score ($p=0.046$). Similarly, there was improvement in SEP score showing increased ability to achieve minimal erection throughout the follow-up period ($p=0.001$), improved ability to penetrate ($p=0.001$), a significant increase in the number of patients able to maintain erection long enough ($p=0.001$). In addition, more patients were satisfied with the hardness of their erections ($p=0.001$), significantly increased overall satisfaction with sexual performance ($p=0.001$).

The group showed a significant increase in the number of patients with 30 cm/sec or more increase in the maximum blood flow rate after injection of prostaglandin E1 with a resistance index of 0.8 or more ($p=0.001$). There were no statistically significant changes in the occlusion index and the phase shift module ($p=0.144$).

Injections of activated APRP co-administered with PDE5 inhibitors (group 2) resulted in a significant increase in the total IIEF-5 score ($p=0.046$). There was a statistically significant improvement in SEP score showing increased ability to achieve minimal erection throughout the follow-up period ($p=0.001$). Also noted was increased ability to penetrate ($p=0.026$) greater number of patients who were able to maintain an erection long enough ($p=0.021$). Significantly increased the number of patients who were satisfied with the hardness of erection ($p=0.001$), significantly increased overall satisfaction with sexual performance ($p=0.003$). PDS of penile arteries showed significant increase in the number of patients with 30 cm/sec or more increase in the maximum blood flow rate after injection of PGE1 ($p=0.028$) with an index of resistance of 0.8 or more. Statistically significant changes in the occlusion index ($p=0.001$) and the phase shift module were registered with «Angioscan-01» complex ($p=0.006$).

Follow-up data of the patients of group 3 showed a significant increase in IIEF-5 score ($p=0.002$). SEP score indicated a statistically significant increase in the ability to achieve minimal erection during the follow-up period ($p=0.001$). There was a statistically significant increase in SEP score showing improved ability to achieve minimal erection throughout the follow-up period ($p=0.001$). The ability to penetrate changed slightly ($p=0.392$) while the number of patients who were able to maintain an erection long enough significantly increased ($p=0.058$). Also, there were significantly more patients, who was satisfied with the hardness of erection ($p=0.003$), significantly increased overall satisfaction with sexual performance ($p=0.003$). According to PDS of penile arteries with PGE1, changes in the number of patients with 30 cm/sec or more increase in the maximum blood flow rate with a resistance index of 0.8 or more were not statistically significant ($p=0.261$ and $p=0.872$), respectively. No statistically significant changes were found in the occlusion index and the phase shift module ($p=0.95$).

The total IIEF-5 score changed significantly at day 28 of follow-up in patients treated with activated APRP co-administered with PDE5 ($p=0.001$), and at day 90 in patient treated with non-activated APRP ($p=0.001$). At day 180 of

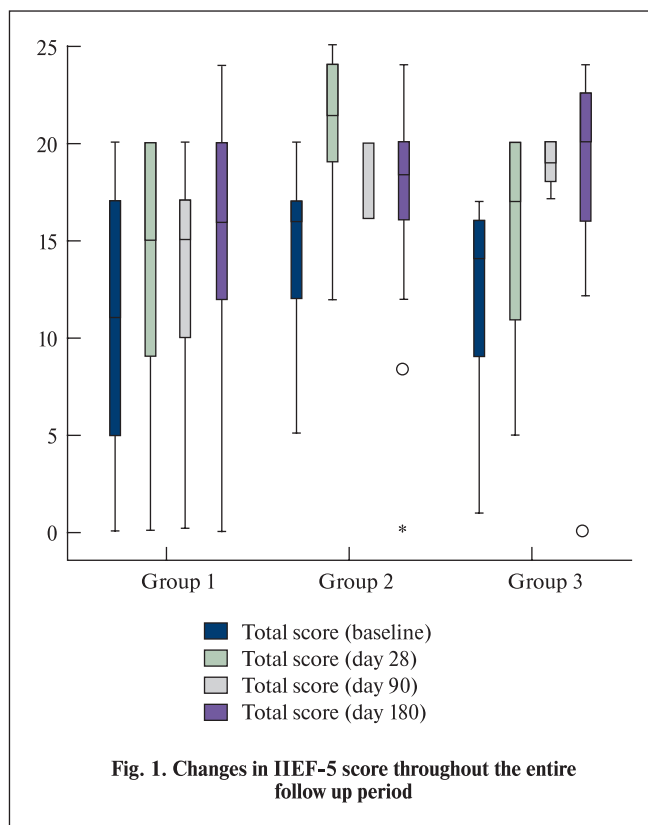


Fig. 1. Changes in IIEF-5 score throughout the entire follow up period

follow-up, no significant differences were found between the groups ($p=0.331$; Figure 1).

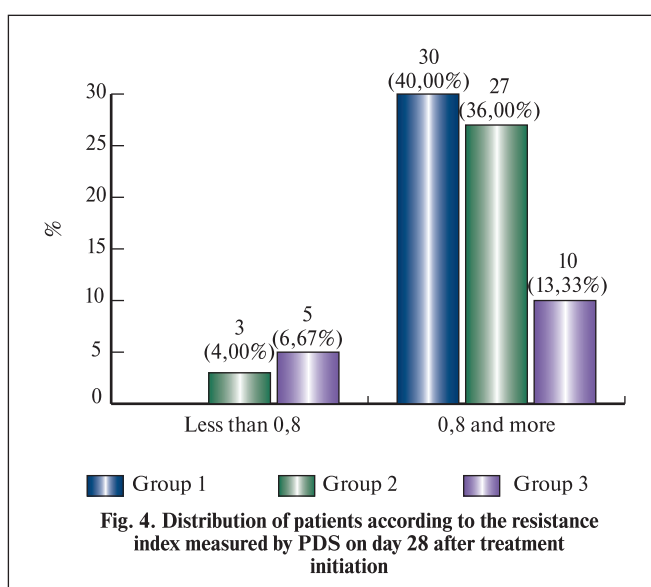
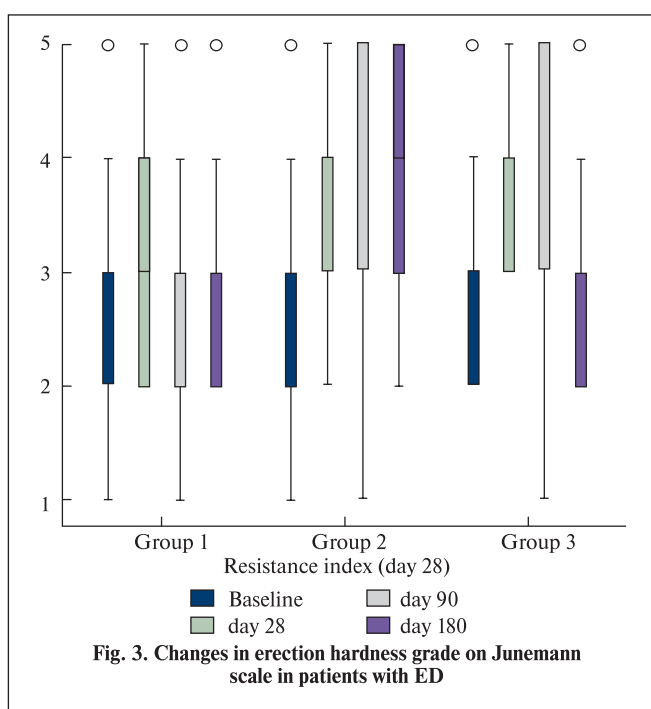
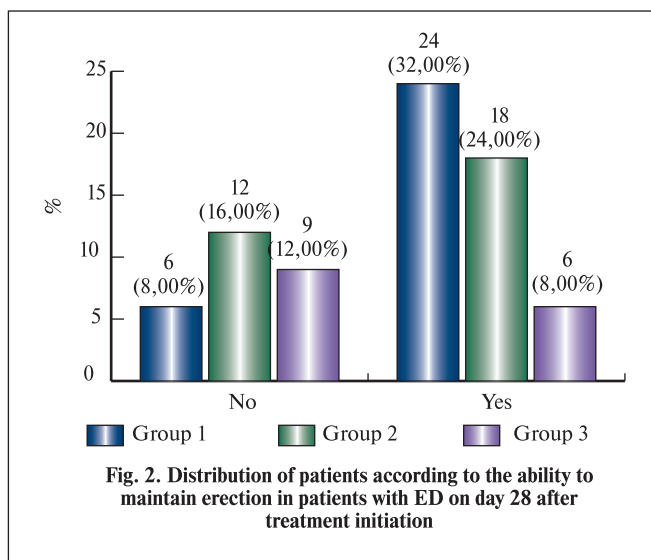
At day 28 of follow-up no significant differences between the groups were observed in the ability to achieve minimal erection in patients receiving different types of treatment ($p=0.443$). Also, there was no difference in the ability to penetrate ($p=0.123$). There was a significant increase in the number of patients who were able to maintain an erection long enough after injections of activated APRP ($p=0.026$; Fig. 2).

No significant differences between groups ($p=0.337$) were found in erection grades after administration of PGE1 at day 28. At day 90 of follow-up significantly greater erection grades were observed in the group treated with activated APRP co-administered with PDE5 inhibitors ($p=0.002$). At day 180 of follow-up, the most marked clinical response was observed in the third group treated with non-activated APRP ($p=0.001$; Fig. 3).

On day 28 of follow-up there was more patients with resistance index of 0.8 or more in the group treated with activated APRP ($p=0.003$; Fig. 4).

Discussion. Application of APRP, activated and non-activated, both alone and in combination with PDE5 inhibitors, resulted in significant improvement of erectile dysfunction. There was a marked increase in the total IIEF-5 and SEP scores, maximum blood flow rate and resistance index according to PDS of penile arteries. However, significant improvement in endothelial function was observed only in group 2, treated with activated APRP co-administered with PDE5 inhibitors.

Comparing treatment effectiveness, more significant increase in IIEF-5 score can be seen in patients treated with injections of activated APRP compared to those receiving non-activated APRP. No significant differences were observed in SEP scores. Also, no differences were found in the increase in the maximum blood flow rate in resistance index dynamics measured by PDS of penile arteries.



Significant increase in IIEF-5 score was seen in the patients treated with activated APRP co-administered with PDE5 inhibitors compared with those treated with injections of activated APRP alone. SEP scores had no significant differences as there was no difference in the maximum blood flow rate with resistance index dynamics measured by PDS of penile arteries.

Conclusion. Combined use of APRP and PDE5 inhibitors can increase the effectiveness of ED treatment. The findings show the effectiveness of autologous plasma enriched with platelet derived growth factor, allowing us to recommend this treatment modality for the management of ED.

In this paper, we showed the role of platelet-derived growth factors in restoring erectile function. Follow-up data of ED patients treated with APRP produced promising results testifying the improvement of erectile function both subjectively (IIEF-5, SEP) and objectively (PDS of penile arteries, Angioscan-01).

Considering the comparative efficacy of three methods of APRP application, we suggest that APRP co-administered with PDE5 inhibitors could be recommended. The mechanism of synergistic action of the two methods is not fully understood. However, it can be assumed that improvement of endothelial function of the of penile blood vessels following APRP injection, increases the level of neuronal and endothelial nitric oxide synthase, which results in increased levels of cGMP, relaxation of smooth muscles of the corpora cavernosa, and inflow of the blood into them.

REFERENCES

1. Pushkar' D.Yu., Kamalov A.A., Al'-Shukri S.Kh., Erkovich A.A., Kogan M.I., Pavlov V.N., Zhuravlev V.N., Bernikov A.N. An epidemiological study of the prevalence of erectile dysfunction in the Russian Federation. Ural medical journal. 2012; 3: 75–79.
2. Ferguson J.E. Phosphodiesterase type 5 inhibitors as a treatment for erectile dysfunction: Current information and new horizons. AJU. 2013;11(3):222–229.
3. Fagelman E., Fagelman A., Shabsigh R. Efficacy, safety, and use of sildenafil in urologic practice. Urology. 2001;57:1141–1144.
4. Gonzalgo M.L., Brotzman M., Trock B.J., Geringer A.M., Burnett A.L., Jarow J.P. Clinical efficacy of sildenafil citrate and predictors of long-term response. J. Urol. 2003;170:503–506.
5. Souverein P.C., Egberts A.C., Meuleman E.J., Urquhart J., Leufkens H.G. Incidence and determinants of sildenafil (dis) continuation: the Dutch cohort of sildenafil users. Int. J. Impot. Res. 2002;14: 259–265.
6. Eardley I., Rosen R., Fisher W., Niederberger C., Sand M. Attitudes toward treatment of erectile dysfunction: results from the MALES study. Eur. Urol. 2003;42(2).
7. Glybochko P.V., Chalyi M.E., Epifanova M.V., Krasnov A.O. Application of autoplasm enriched with platelet derived growth factor in the treatment of erectile dysfunction. Urologia. 2015; 1: 100–103.
8. Lee J.W., Kwon O.H., Kim T.K., Cho Y.K., Choi K.Y., Chung H.Y., Cho B.C., Yang J.D., Shin J.H. Platelet-Rich Plasma: Quantitative Assessment of Growth Factor Levels and Comparative Analysis of Activated and Inactivated Groups. Arch. Plast. Surg. 2013;40: 530–535.
9. Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M., Schimmele S.R., Strauss J.E., Georgeff K.R. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 1998;85:638–646.
10. Weiser L., Bhargava M., Attia E., Torzilli P.A. Effect of serum and platelet-derived growth factor on chondrocytes grown in collagen gels. Tissue Eng. 1999;5:533e44.
11. Chalyi M.E., Epifanova M.V. A method for treating erectile dysfunction, RF patent number 2514639 on 27/04/2014.

Received 05.06.15

RATIONAL THERAPY FOR RECURRENT INFECTIONS OF THE LOWER URINARY TRACT. THE RESULTS OF A PROSPECTIVE OBSERVATIONAL PROGRAM TO ASSESS THE EFFECTIVENESS AND SAFETY OF CEFORAL®, SOLUTAB® AND URO-VAKSOM® IN PATIENTS WITH RECURRENT UNCOMPLICATED LOWER URINARY TRACT INFECTIONS (FLORA)

¹Russian Medical Academy of Postgraduate Education of Minzdrav of Russia, ²Rostov State Medical University,

³Sechenov First Moscow State Medical University, ⁴Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Evdokimov,

⁵Krasnoyarsk State Medical University n. a. V.F. Voyno-Yasenetsky

Correspondence author: L.A. Sinjakova — Prof. at Department of Urology and Surgical Andrology, RMAPE; e-mail: l.a.sinyakova@mail.ru

Remaining generally unchanged, urinary tract infection (UTI) treatment protocols require continuing monitoring due to growing antibiotic resistance and lowered immune status of the majority of patients. The article presents the results of a prospective observational program carried out in the Russian Federation in to assess the effectiveness and safety of Ceforal®, Solutab® and Uro-Vaksom® in patients with recurrent uncomplicated lower urinary tract infections (FLORA). The results of the program suggest that Ceforal®, Solutab® and Uro-Vaksom® administered as a part of routine clinical practice contribute to a significant reduction in the number of UTI recurrences and have a good safety profile. These findings support recommendation to use this treatment protocol in patients with recurrent UTI, taking into account individual and epidemiological features.

Key words: recurrent cystitis, urinary tract infection, antibiotic therapy, immunoprophylaxis, cefixime, Uro-Vaksom

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Loran O.B., Kogan M.I., Sinjakova L.A., Ivanov A.G., Vinarov A.Z., Spivak L.G., Lokshin K.L., Zajcev A.V., Korsunskaja I.L., Kapsargin F.P., Hlebnova E.Ju. Rational therapy for recurrent infections of the lower urinary tract. the results of a prospective observational program to assess the effectiveness and safety of Ceforal®, Solutab® and Uro-Vaksom® in patients with recurrent uncomplicated lower urinary tract infections (FLORA). Urologiya. 2015;4:12–18.

In Russia, recurrent lower urinary tract infections affect about 10% of women. The core treatment for bacterial infections, including the UTIs, is antimicrobial therapy. Antibiotic resistance, which has traditionally been a problem only in hospital-acquired and complicated UTIs, is now moving to the foreground in community-acquired and uncomplicated UTIs [1].

In recent decades, there have been several global trends in antibiotic resistance of uropathogenic *E. coli*, forcing to reconsider the requirements for antibiotic selection to treat UTIs. First of all, it is the spread of strains resistant to aminopenicillins with cotrimoxazole, and in some countries to fluoroquinolones [2, 3].

In European Association of Urology (EAU) 2008 Guidelines on the Management of Urinary and Male Genital Tract Infections, the studies cited from the literature were rated according to the level of evidence and the recommendations were graded accordingly (tables 1, 2) [4].

Future medicine should be not only preventive but also evidence-based. Any theoretical postulate needs to be confirmed by clinical studies to determine the level of evidence of this thesis before introducing into routine practice.

Currently, both domestic and international recommendations suggest that the choice of antimicrobial therapy to treat recurrent UTIs should be based on urine culture with sensitivity testing, local resistance pattern and include preventive immuno-modulating drugs with the highest grades of recommendations [4, 5].

Given, on the one hand, the rising incidence of resistance to fluoroquinolones, and, on the other, modern

epidemiological features of cystitis with expanding ranges of pathogens and changes in their antigenic properties, we need an antibacterial drug effective both against *E. coli*, and other most common etiological agents of cystitis, including opportunistic.

The results of an international study ARES (2003–2006) and a Russian study DARMIS (2010–2011) [6] suggest that patients with recurrent lower UTIs should be treated with a full course of antibacterial therapy using fosfomycin trometamol, furazidin potassium in combination with basic magnesium carbonate, cefixime, ceftibuten, levofloxacin or ciprofloxacin [5, 7, 8].

The narrower are the indications for the antibiotic, the longer is the sensitivity of pathogens to the drug. Safety is an important requirement for an antibiotic to treat cystitis, which is largely determined by its pharmacokinetics, namely the ability to selectively create high concentrations, primarily in urine. These requirements are met by the III generation cephalosporin cefixime (Suprax® Solutab® previously Ceforal® Solutab®, «Astellas Pharma Europe BV») [9, 10].

Besides, in persistently recurrent UTIs the treatment strategy should aim to increase relapse-free period through adequate prevention of relapse. Currently, available evidence supports the drug Uro-Vaksom® — lyophilized lysate 18 uropathogenic strains of *E. coli* (LE: 1a, GR: B) [11–14], which is presented in the Russian market, as a means to prevent relapse.

In order to analyze the effectiveness and safety of cefixime (Ceforal® Solutab®) and Uro-Vaksom® in uncomplicated recurrent UTI in women in routine

Table 1

Levels of evidence

Level	Type of evidence
Ia	Evidence obtained from meta-analysis of randomized trials
Ib	Evidence obtained from at least one randomized trial
IIa	Evidence obtained from at least one well-designed controlled study without randomization
IIb	Evidence obtained from at least one other type of well-designed quasi-experimental study
III	Evidence obtained from well-designed non-experimental studies, such as comparative studies, correlation studies and case reports
IV	Evidence obtained from expert committee reports or opinions or clinical experience of respected authorities

Table 2

Grades of recommendations

Grade	Nature of recommendations
A	Based on clinical studies of good quality and consistency addressing the specific recommendations and including at least one randomized trial
B	Based on well-conducted clinical studies, but without randomized clinical studies
C	Made despite the absence of directly applicable clinical studies of good quality

clinical practice, the prospective observational FLORA program was conducted in Russia.

Materials and methods. The study was designed and conducted as a prospective observational program with no interference with existing practices of clinicians-participants of the study. It was fully consistent with the generally accepted treatment strategies in management of cystitis used in clinical centers. The study was conducted under the ethical principles of the observational programs. The initial selection of patients was made in 5 centers in the Russian Federation: the Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Sechenov First Moscow State Medical University, Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Rostov State Medical University.

The program included patients diagnosed with recurrent UTIs, who were treated with Ceforal® Solutab® and Uro-

Vaksom®, satisfied the inclusion and exclusion criteria and signed an informed consent to take part in the study.

The patients' work-up, diagnostic examination and treatment efficacy monitoring procedures were determined by the attending physicians within the routine practice adopted by health care institutions and the Russian Federation.

Inclusion criteria comprised a history of at least two exacerbations of recurrent UTI within 6 months, clinical signs of acute UTI during at least the last two days and bacteriuria $\geq 10^3$ CFU/ml. Exclusion criteria were continuing antimicrobial prophylaxis or any immunostimulation therapy for 3 months prior to enrollment in the study.

Over the course of the study each patient, except those who dropped out before completing the study, made 5 clinical visits (Table. 3).

Table 3

The scheme of the study procedures

Procedure	The period of receiving the study therapy				Follow-up
	visit 1	visit 2	visit 3	visit 4	visit 5
Informed consent	X				
Collect demographic data	X				
Evaluation of medical history ¹	X				
Clinical data ²	X	X	X	X	X
Inclusion/Exclusion Criteria	X				
Evaluation of frequency of exacerbations ³	X			X	X
Evaluation of duration of exacerbations ³	X			X	X
Evaluation of duration of antibacterial therapy ³	X			X	X
Urinalysis	X	X	X	X	X
Urine culture	X	X	X	X	X
Administration of Ceforal® Solutab® и Uro-Vaksom®	X				
Adverse events		X	X	X	X

¹The data of history needed to fill individual registration card (IRC), included the duration of the disease and the date of the current exacerbation;

²clinical assessment of UTI included evaluation of dysuria; ³at visit 1 frequency of exacerbations, duration of exacerbations, duration of antibiotic therapy for UTI exacerbations were evaluated for 6 months prior to inclusion in the study based on medical history and medical records, at visit 4 for 3 months of the study, at visit 5 for 6 months of the study.

At visit 1 the patients were offered to sign informed consent to take part in the program. Physicians-investigators evaluated patients' conformity to inclusion/exclusion criteria, recorded medical history and demographic data, assessed clinical manifestations of UTI and laboratory findings (urinalysis, urine culture) and decided on administering Ceforal® Solutab® and Uro-Vaksom®. At visit 2, 10±2 days after visit 1, physician assessed the effect of the prescribed therapy, recorded changes in treatment regimen (if it was made for some reason) and registered adverse events. At visit 3, 1 month ± 1 week after visit 1 the same parameters as at visit 2 were evaluated.

At visit 4, at 3 months ± 2 weeks after visit 1, along with data of visit 2 and 3 the researcher registered the number of UTI relapses during the past three-month of follow-up, the total duration of relapses and the total duration of antibiotic therapy. The purpose of the final visit 6 months 5 ± 4 weeks after visit 1 was to evaluate the outcomes of prescribed therapy, according to the same parameters as at visit 4, but for the 6-month follow-up. In general, clinical and diagnostic procedures were conducted according to current medical practice in the centers.

Assessment of the treatment efficacy and safety was made using endpoints. The primary end point was the rate of exacerbations of recurrent UTI per one patient for 6 months after enrollment in the study (total number of UTI relapses, compared with baseline). Secondary endpoints were duration of UTI exacerbations per one patient for 6 months after enrollment in the study, compared with the initial data, the duration of antibiotic therapy of UTI exacerbations per one patient for 6 months after enrollment in the study compared to the baseline, and the incidence of adverse reactions.

Statistical analysis of the efficiency was conducted using an intention-to-treat (ITT) approach, i.e. of all patients who received at least one dose of Ceforal® Solutab® or Uro-Vaksom®, had data suitable for evaluation and at least one treatment outcome result. Safety was evaluated in all study participants who received at least one dose of Ceforal® Solutab® and/or Uro-Vaksom®. Standard descriptive statistical analysis was performed, including the calculation of mean, standard deviation, median and quartile ranges.

Results. Informed consent to take part in the study was signed by 52 patients included in the analysis of safety and clinical and demographic data.

Clinical and demographic data and information about the disease. All patients ($n=52$) included in the study were female. The average age of patients was $42,4 \pm 16,2$ years, mean duration of disease (cystitis) – $1,1 \pm 2,6$ years, the average number of recurrences for 6 months prior to enrollment in the study was $2,9 \pm 1,0$ and the average the duration of relapse – $8,6 \pm 2,7$ days. During the 6 months prior to enrollment in the study, the average number of days of antibiotic therapy was $10,0 \pm 4,5$ days. Clinical manifestations of dysuria were reported in all 52 (100%) patients. Baseline urinalysis and urine culture revealed that 51 (98.1%) of patients had leukocyturia, 11 (21.2%) hematuria and 48 (92.3%) bacteriuria $\geq 10^3$ CFU/ml.

All patients included in the study were assigned to therapy with Ceforal® Solutab® and Uro-Vaksom®. The average duration of treatment with Ceforal® Solutab®, which was administered at a dose of 400 mg once daily was $8,3 \pm 1,1$ days (data available for 51 patients, one patient had no date of completion of therapy). Uro-Vaksom® was administered at the first visit to all patients at a dose of 6 mg once daily, the average duration of treatment was $95,2 \pm 17,9$ days. Reasons for discontinuing the medications are shown in Table. 4.

Five patients were coadministered Furamag® – 1 (1.9%), doxycycline – 1 (1.9%), Vaginorm S® – 1 (1.9%), Ecofemin® – 1 (1.9 %) Vesicare® – 1 (1.9%).

Assessment of effectiveness. The primary end point was the rate of exacerbations of recurrent UTI per one patient for 6 months after enrollment in the study (total number of UTI relapses, compared with baseline, i.e. total number of UTI relapses during 6 months before enrollment).

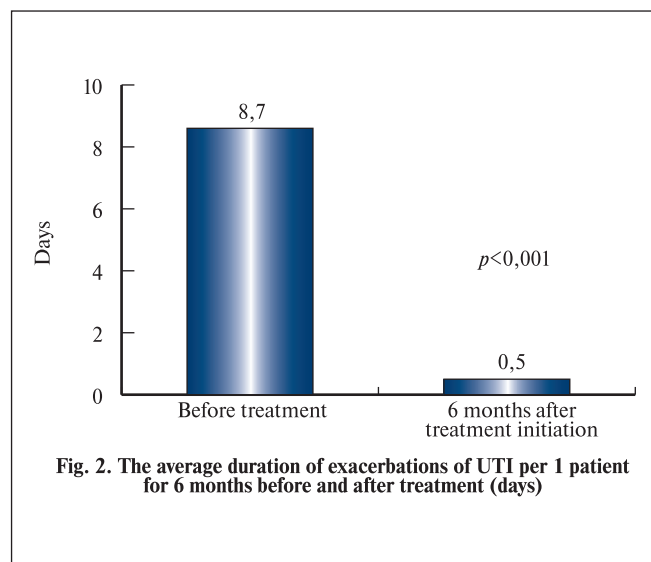
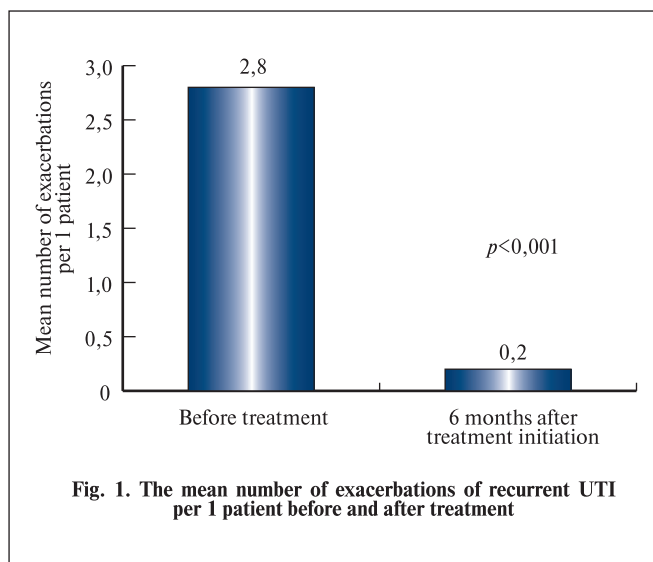
The average number of relapses for 6 months before enrollment, and for 6 months after enrollment in the study is shown in Fig. 1.

The number of relapses for 6 months was found to be significantly reduced (median difference in the number of exacerbations of UTI for 6 months before and after enrollment was statistically significantly [$p < 0,001$] different from 0 [Wilcoxon signed rank test for paired samples]). Secondary endpoints included duration of exacerbations of recurrent UTI in one patient after 6 months after enrollment in the study compared to baseline, and the duration of antimicrobial therapy and the number of adverse events. The average duration of exacerbations of recurrent UTI is shown in Fig. 2. Change

Reasons for discontinuing Ceforal® Solutab® и Uro-Vaksom®

Table 4

Medication	Reasons for discontinuing the first treatment course	Number of patients	
		n	%
Ceforal® Solutab®	Attainment of treatment goals	25	48,0
	Completion of the treatment	12	23,1
	According to the treatment plan	8	15,4
	Unknown	7	13,5
	Total	52	100,0
Uro-Vaksom®	Completion of the treatment	29	55,7
	According to the treatment plan	8	15,4
	Unknown	8	15,4
	Attainment of treatment goals	7	13,5
	Total	52	100,0



in the average duration of relapse after 6 months of follow up compared with baseline was -8.0 ± 3.0 , median change was $-8.0 [-10.0, -7.0]$ which was significantly ($p < 0,001$) different from 0 (Wilcoxon signed rank test for paired samples).

The average duration of antibiotic therapy of recurrent UTI exacerbations before and 6 months after enrollment in the study is presented in Fig. 3. The change in the average duration of antibiotic therapy was -9.3 ± 5.0 , median was $-8.0 [-11.0; -7.0]$, which was significantly ($p < 0,001$) different from 0 (Wilcoxon signed rank test for paired samples).

Fig. 4 shows the changes in clinical and laboratory parameters during treatment.

Safety assessment. There were no adverse events during the study among patients who at least once received Ceforal® Solutab® and/or Uro-Vaksom®.

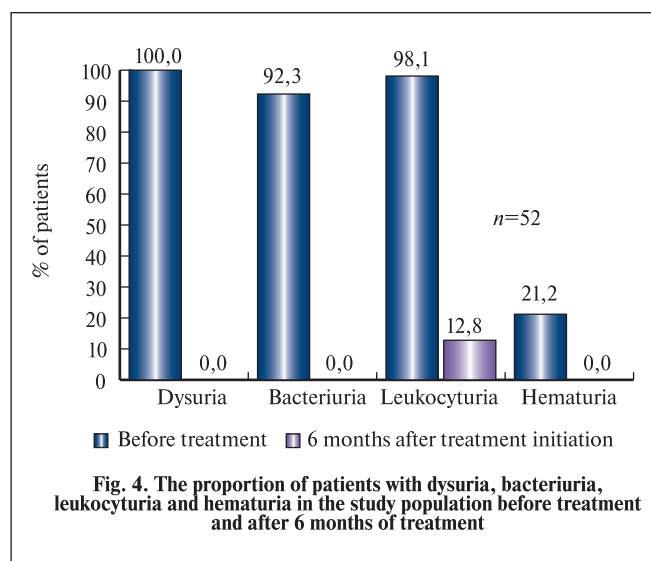
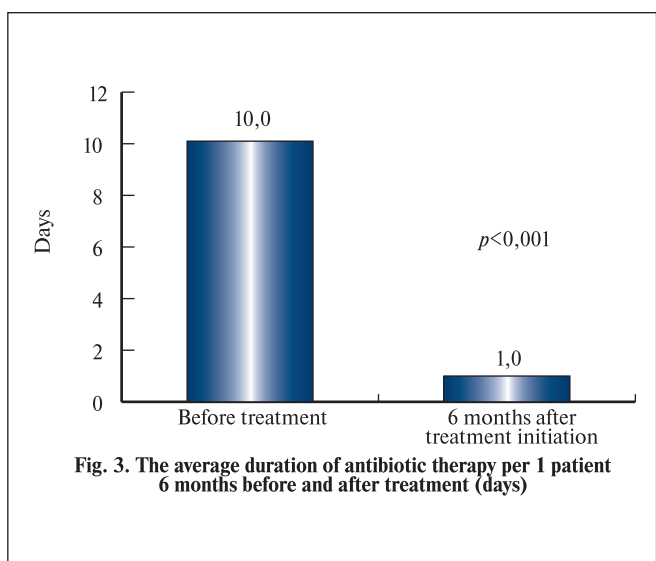
Discussion. The results of FLORA observation program support the following conclusion: treatment regimen with concurrent administration of Ceforal® Solutab® and Uro-Vaksom® in patients with recurrent UTI significantly reduces the number of UTI recurrences. For 6 months of the study, the average number of exacerbations decreased by 93% compared with baseline ($2,8 \pm 1,0$ versus $0,2 \pm 0,4$). In similar studies [15, 16] there was 62–76% reduction

in the number of exacerbations in patients treated for 6 months with Uro-Vaksom® after 3 months of the standard course of antibiotic therapy. These differences may be related to the fact that the effectiveness of cystitis treatment may be equally associated with both the antibacterial drug, providing timely and complete eradication of the pathogen, and with immunoprophylaxis restoring local and systemic defense mechanisms aimed against the main the causative agent of cystitis – *E. coli*. It should be noted that due to the difference between the planned ($n=250$) and the actual number of patients included in the study ($n=52$), extrapolating the results to the population is limited.

In patients with recurrent infections of the lower urinary tract, the choice of antibiotic should be based on urine culture and analysis of prior antibiotic therapy.

Patients presenting with acute cystitis should be treated with full dosages of antimicrobial agents [7]:

- Fosfomycin trometamol 3 g every 10 days for 3 months or
- Furazidin potassium in combination with basic magnesium carbonate 100 mg bid for 7 days, or
- Levofloxacin 500 mg od for 5 days, or
- Ciprofloxacin 500 mg bid for 5 days, or
- Cefixime 400 mg od for 7 days, or
- Ceftibuten 400 mg od for 7 days.



Cefixime may be one of the drugs of choice, taking into account regional sensitivity pattern of causative agents of recurrent UTI (DARMIS, 2010–2011) [6].

The results of the FLORA observational program suggest that combined administration of Ceforal® Solutab® and Uro-Vaksom® to treat recurrent UTI in urological practice are effective and have a good safety profile.

Conclusion. The results of the FLORA observational program suggest that the treatment regimen for recurrent cystitis, including cefixime 400 mg once daily for 5–7 days and Uro-Vaksom® 1 capsule once daily for 3 months (simultaneously with the initiation or after antibiotic therapy) is effective and well tolerated.

This study was conducted with the support of «Astellas Pharma Europe BV.»

REFERENCES

1. Rafal'skii V.V., Khodnevich L.V. The impact of resistance of pathogens of urinary tract infections on the outcomes of antibiotic therapy. *Urologiia*. 2008; 4: 3–9.
2. Talan D.A. Urinary tract infections. *N. Engl. J. Med.* 2003;349(17):612–618.
3. Hooton T., Besser R., Foxman B., Fritsche T., Nicole L. Acute Uncomplicated Cystitis in Era of Increasing Antibiotic Resistance: A Proposed Approach. *Clin. Infect. Dis.* 2004;39(1):75–80.
4. Naber K.G., Bergman B., Bjerklund-Johansen T.E., Botto H., Label B., Jimines Cruz F., Selvaggi F.P. Guidelines on urinary and male genital tract infections. European Association of Urology, 2001.
5. Loran O.B., Zaitsev A.V., Godunov B.N. Modern aspects of diagnosis and treatment of chronic cystitis in women. *Urology and Nephrology*. 1997; 6: 7–14.
6. Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnich A.V., Eidel'shtein M.V., Shevelev A.N., Grinev A.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S., «DARMIS» research group. Antibiotic-resistant pathogens of community-acquired urinary tract infections in Russia. *KMAC* 2012; 14 (4): 280–302.
7. Antimicrobial therapy and prevention of infections of the kidneys, urinary tract and the male reproductive organs. Russian national guidelines. Ed. Perepanova T.S., Kozlov R.S., Rudnov V.A., Sinyakova L.A. M., 2014. 63 p.
8. Loran O.B. Sinyakova L.A. Inflammatory diseases of the urinary system. Topical issues. Manual for physicians. M.: MIA, 2014. 84 p.
9. The strategy and tactics of the rational use of antimicrobial drugs in outpatient practice. Russian Guidelines. Ed. Yakovlev S.V., Sidorenko S.V., Rafal'skii V.V., Spichak T.V.: Presto, 2014. 121 p.
10. Rafal'skii V.V., Belokrysenko S.S., Malev I.V., Derevitskii A.V., Galkin V.V., Ostroumova M.V., Lyakhova O.A. The sensitivity of the causative agents of urinary tract infections identified in the Russian Federation to oral cefixime – III generation cephalosporin. *Therapist*. 2008;8:27–29.
11. Grabe M. et al. European Association of Urology Guidelines on Urological Infections 2014. www.uroweb.org.
12. Galkin V.V., Dovgan' E.V., Kozlov S.N., Rafal'skii V.V. Cefixime compared to ciprofloxacin in acute uncomplicated cystitis: clinical and economic research. *KMAC*. 2012;1:50–66.
13. Naber K.G., Cho Y.H., Matsumoto T., Schaeffer A.J. Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a meta-analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2009;33(2):111–119.
14. Bauer H.W., Rahlfs V.W., Lauener P.A., Blessmann G.S. Prevention of recurrent tract infections with immuno-active E. coli fractions: a meta-analysis of five placebo-controlled double-blind studies. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2002;19:451–456.
15. Tammen H., Frey Ch. Treatment of recurrent urinary tract infections with Uro-Vaxom®. Open multicenter study with 521 patients. *Urologe B*. 1988;28:294–296.
16. Baertschi R., Balmer J.A., Eduah S.B., Liechti A., Lurie D., Schams H. Bacterial extract for the prevention of recurrent urinary tract infections in pregnant women: a pilot study. *Int. J. Immunother*. 2003;19:25–31.

Received 16.06.15

THE ROLE OF 3D-COMPUTER SIMULATION IN IMPROVING THE STAGHORN NEPHROLITHIASIS TREATMENT RESULTS

Department of Urology, Faculty of Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University;
Urology Clinic, Clinical Center, Sechenov First Moscow State Medical University

Corresponding author: S.V. Pesegov — e-mail: s_pesegov@mail.ru

This article presents the experience of applying 3D-computer simulation for treatment planning in patients with coral staghorn kidney stones. The impact of the kidney internal structure and the nephrolithiasis stage on the treatment results of the patients with staghorn stones are analyzed on the basis of authors' own experience. They note the usefulness of computer modeling in preoperative planning for improving the treatment results and preventing intraoperative complications.

Key words: urolithiasis, staghorn nephrolithiasis, computer simulation, virtual operation, structure of pelvicalyceal system, percutaneous nephrolithotripsy, combined treatment

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Aljaev Ju. G., Saenko V.S., Pesegov S.V. The role of 3D-computer simulation in improving the staghorn nephrolithiasis treatment results. Urologiia. 2015;4:7–11.

Introduction. Urolithiasis is one of the most common disorders of the urinary tract. It continues to be a significant health care problem due to the high prevalence of the disease showing a steady increase over time. Globally, the annual incidence of urolithiasis varies from 0.5 to 5.3% [1]. According to official statistics of the Ministry of Health of the Russian Federation, for the period of 2002–2010 the incidence of urolithiasis increased from 440.5 to 535.7 per 100 thousand of the adult population. In absolute terms, the number of registered nephrolithiasis patients increased from 629 453 to 760 237 [2].

One of the most debated and controversial issues regarding the choice of treatment strategy is the management of the most severe form of nephrolithiasis – staghorn stones [3].

The factors determining treatment strategy are not limited to only the shape of staghorn calculus, individual stereo-anatomy of pelvi pyelocaliceal system (PCS), angio-architectonics of normally developed kidneys and their spatial relationships [4]. One also needs to be aware of anatomical variations, anomalies of kidney development and comorbidities [5].

The desire to improve the results of surgery prompts a surgeon to search for new technologies for diagnosis and treatment. Typically, diagnosis of nephrolithiasis is based on ultrasonic and radiographic imaging. However, despite their objectivity and informativeness when determining a treatment strategy and planning the forthcoming surgery, data obtained by these methods do not always provide full and correct answer to these questions.

It is obvious that only a comprehensive analysis of the situation ensures high-quality outcome. Invaluable help in this respect provides advanced computer imaging modalities – multi-slice spiral computed tomography with three-dimensional reconstruction, 3D-computer simulation, allowing to obtain a detailed individual characteristics of the organ structure and the course of the disease [6, 7].

In the past, treatment planning occurred only in the urologist mind using imaginary visualization of topographic and anatomical relationships, the course of the disease and the forecast of the upcoming treatment outcome. Today, the new technologies of computer graphics can not only confirm these assumptions, but offer a preliminary assessment of the efficacy and safety of the planned operations [8]. An important advantage of computer simulation over standard imaging techniques is the ability to perform virtual planning of manipulations according to the individual topographic anatomical features of the organ in relation with the pathological process (Fig. 1).

The computer model of the kidney enables a surgeon to virtually analyze the structure of PCS and the type of calix rotation that plays an important role in testing technical aspects of planned intervention and predicting

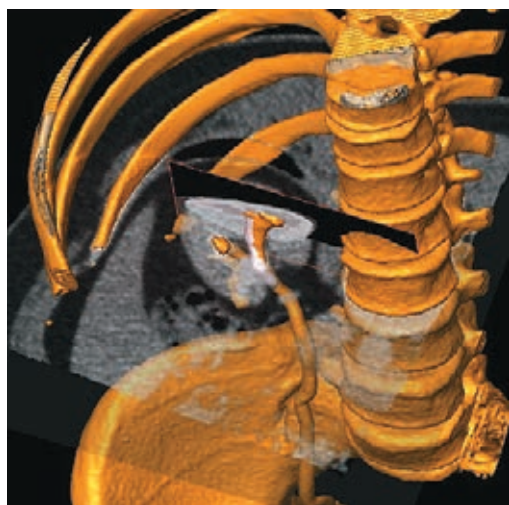


Fig. 1. Computer simulation. Identification of topographic anatomical features under the projection of three-dimensional model of the urinary tract in the axial and frontal CT scans when planning access.



Fig. 2. Computer simulation. Defining the type of pyelocaliceal system (a) and the type of calyx rotation (b)

The arrow shows the frontal plane and the direction of the calyx axes.

the effectiveness of treatment of staghorn nephrolithiasis (SN) (Fig. 2).

The other aspect of computer simulations is the ability to analyze the effectiveness of percutaneous intervention from the selected access. Stereo-anatomical imaging of pyelocaliceal system enables the surgeon during virtual surgery to assess the possibility of intrarenal manipulations with rigid tool and visualize the entire PCS from planned access to completely eliminate the stone (Fig. 3).

Another important advantage of computer modeling is the ability to assess the vascular structure of the kidney when planning the coordinates for access puncture (Fig. 4) which can play a key role in preventing intraoperative bleeding.

Thus, the aim of the study was to analyze the role of computersimulation in improvingstaghorn nephrolithiasis treatment results.

Materials and methods. The study analyzed the results of examination and treatment of 143 patients with SN stages K2-K4. Patients with SN stage K1 were not

included in the study due to absence of difficulties in choosing treatment options and the availability of reasonably effective surgical techniques.

Treatment effectiveness assessment was made in patients who underwent percutaneous nephrolithotomy (PCNL) as monotherapy, «sandwich» -therapy – percutaneous nephrolithotripsy combined with lithotripsy (PCNL + ESWL) and PCNL in combination with supplementary endoscopic techniques – second-look nephroscopy or mini-perc technique. PCNL as monotherapy was carried out in 118 (82.52%) patients, PCNL combined with ESWL in 11 (7.69%) patients and PCNL in combination with supplementary endoscopic procedures was performed in 14 (9.79%) patients. Repeated surgery in the late postoperative period due to residual stones greater than 4 mm was required in 5 patients.

Participants included 71 (49.65%) men and 72 (50.35%) women (mean age 49 years).

47 (32.87%) patients had SN stage K2, 49 (34.26%) stage K3 and 47 (32.87%) stage K4. Single and multiple

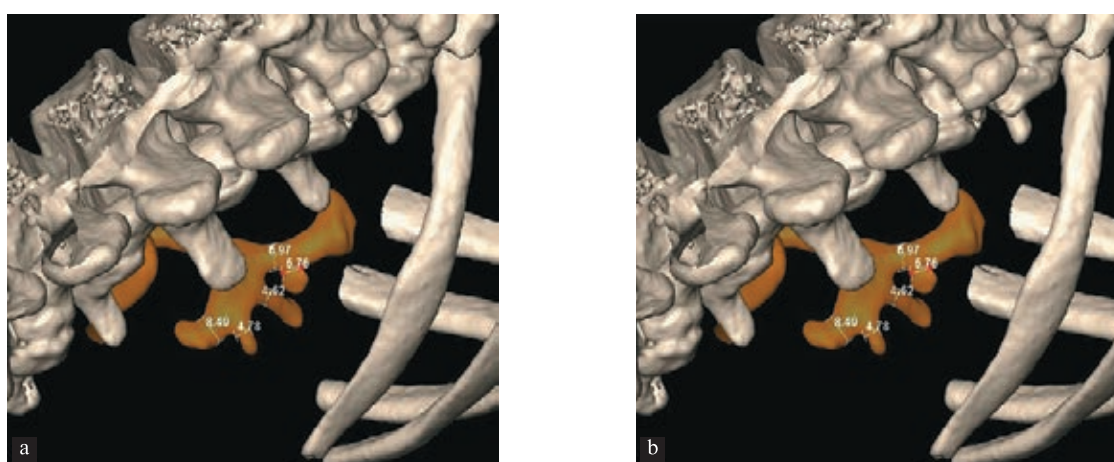


Fig. 3. Computer simulation. Defining geometrical parameters of PCS

A – calculation of the width of the calyx neck; b – calculation of axis angle of the calyces' confluence in the pelvis.

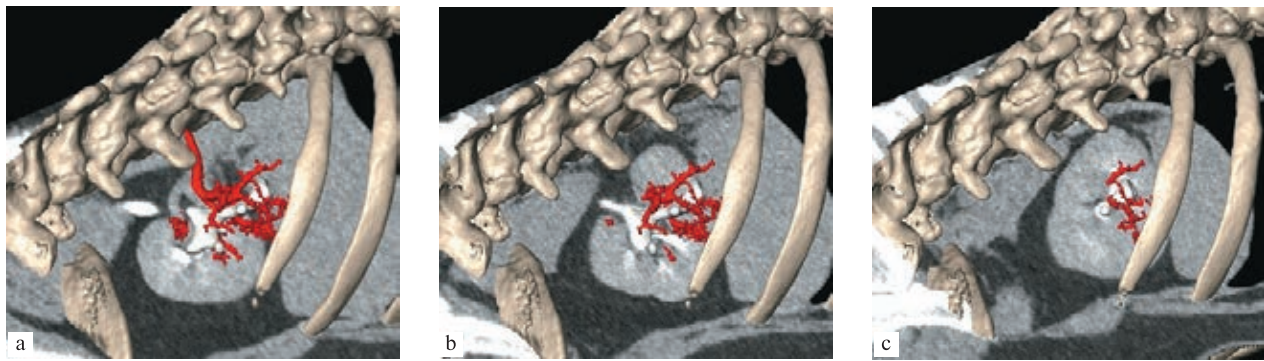


Fig. 4. Computer simulation. Estimating topographic anatomy of the kidney and features of its angioarchitectonics depending on the calyx chosen for puncture.

A – features of vascular structure, skeletopy and syntopy of the kidney in frontal CT scans of the lower group of calyces; B – features of vascular structure, skeletopy and syntopy of the kidney in frontal CT scans of the middle group of the calyces; C – features of vascular structure, skeletopy and syntopy of the kidney in frontal CT scans of the upper group of the calyces.

staghorn stones were found in 120 (83.9%) and 23 (16.1%) patients respectively.

All patients were divided into two groups. In the control group preoperative examination was conducted without 3D-computer simulations, while in the study group with 3D-modeling (Table 1). Allocation to the two groups was made according to the same criteria. The criterion for treatment effectiveness was the complete elimination of stones from PCS or the presence of residual stones less than 4 mm.

Types of PCS were evaluated according to the classification proposed by F. Sampaio, distinguishing two main groups, depending on variation of junction of the kidney collecting system in the renal pelvis. In both groups of upper and lower calyx segments merge into a large upper and lower calyces. Only the middle segment draining is variable.

In type A middle segment is drained through one or both polar calyces. Type A of PCS has two subtypes: in AI

subtype middle segment is drained by calices dependent on the superior and inferior calyceal groups so that the parenchymal pools do not intersect around the upper and lower calyces. In subtype AII the two calyces of the middle segment intersect in the frontal plane. In type B the middle segment is drained independently via a third, middle, calyx (subtype BI) or by the middle segment calyces directly flowing into the pelvis (subtype BII).

There are two types of calyx rotation – Brödel-type and Hodson-type. The difference in the rotation type is determined by the angle formed by the calyces of the front and rear groups between their axes and the front plane of the kidney. In the Brödel - type kidney the posterior calyces are about 20 degrees behind the frontal plane and the anterior calyces are 70 degrees in front of the frontal plane. The posterior calyces are lateral, and the anterior calyces are medial in this case. The Hodson-type kidney is the opposite; the calyceal pairs are rotated posteriorly, with the posterior calyces 70 degrees behind the frontal

Distribution of patients depending on the stage of SN, treatment modality and 3D-computer simulations

Table 1

Treatment modality	SN stage					
	K2		K3		K4	
	Control group	Study group	Control group	Study group	Control group	Study group
PCNL as monotherapy	21	24	18	21	16	18
PCNL + ESWL	1	—	3	1	4	2
Combined endoscopic procedures	1	—	4	2	4	3
Total (%)	23 (16,1)	24 (16,8)	25 (17,4)	24 (16,8)	24 (16,8)	23 (16,15)

Distribution of patients depending on the rotation type and type of PCS

Table 2

Type of rotation	Type of PCS				Total (%)
	AI	AII	BI	BII	
Brödel	33	11	16	14	74 (51,7)
Hodson	26	14	17	12	69 (48,3)
Total (%)	59 (41,3)	25 (17,4)	33 (23,1)	26 (18,2)	143 (100)

Table 3

Incidence of intraoperative complications

Complication	Control group	Study group	Total (%)
Intraoperative bleeding	8	4	12 (8,39)
Perforation of the kidney pelvis	1	1	2 (1,40)
residual stones	17	8	25 (17,48)

plane and appearing medial and with the anterior calyces 20 degrees in front of the frontal plane and appearing lateral (Table. 2) [9, 10].

To assess the role of computer modeling in preoperative planning, the incidence of intraoperative complications was retrospectively analyzed.

Results and discussion. The effectiveness of treating SN in all study patients was 96.5%, in PCNL monotherapy – 82.52%; and complications were registered in 27.27% of cases (Table 3).

Analysis of treatment structure depending on the application of computer modeling revealed that PCNL monotherapy was performed 12.34% more often in the group with the modeling than in the controls. These findings infer that computer modeling resulted in better PCS stone clearance thus decreasing in the need for combination treatment for residual stones.

The most frequent complication occurring in 39 (27.27%) cases was residual stones. Repeated surgery was carried out in 25 (17.48%) patients. The main causes of residual stones were migrating fragments in the hard to access calyx, incorrectly selected access and intraoperative bleeding. Using computer simulation reduced the incidence of residual stones by 12.34% ($p < 0.5$).

Intraoperative bleeding occurred in 12 (8.39%) patients. The bleeding was found to occur most frequently in patients with PCS of type AII (41.7%) and BII (33.3%). All complications were treated successfully without interventional procedures. Using computer modeling reduced the incidence of intraoperative bleeding by 5.48% ($p < 0.5$).

Conclusion. The success of treating SN along with surgeon qualification, his expertise and hospital equipment depends on adequate evaluation of the pathological

process, the individual features of the organ structure, treatment planning, and most importantly on forecasting of future results. The influence of the internal structure of the kidney on the effectiveness of SN treatment determines the usefulness of computer modeling in preoperative planning for improving the treatment results and preventing intraoperative complications.

REFERENCES

1. Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Solntseva T.V. Epidemiology of urolithiasis in different regions of the Russian Federation according to official statistics. *Saratov Journal of Medical Science*. 2011;7:120.
2. Population morbidity in Russia in 2010. Statistics, Ministry of Health of Russia, 16.12.2011. <http://www.rosminzdrav.ru>
3. Alyaev Yu.G., Rudenko V.I., Gazimiev M.-S.A. Urolithiasis. Current problems in the diagnosis and choice of treatment. M.; Tver: OOO «Publishing House «Triada», 2006.
4. Filimonov G.P., Alyaev Yu.G., Vasil'ev P.V., Rudenko V.I. The treatment of nephrolithiasis: the role of spiral CT. *Radiology - practice*. 2001; 34–35.
5. Alyaev Yu.G., Sinitsyn V.E., Rapoport L.M., Tsarichenko D.G. Diseases of anomalous kidneys and upper urinary tract. Moscow, 2007.
6. Glybochko P.V., Alyaev Yu.G., Dzeranov N.K., Khokhlachev S.B. Computer simulation – a method of surgery planning in kidney disease. Scientific-practical conference «Fundamental and practical urology.» Abstracts. 2012. pp 47–49.
7. Alyaev Yu.G., Rudenko V.I., Gazimiev M.-S.A., Kuz'micheva G.M. Modern aspects of diagnosis and treatment of urolithiasis. *Urologiia*. 2006; 2: 6–12.
8. Glybochko P.V., Alyaev Yu.G. 3D-technology in kidney surgery: from the virtual to the actual surgery. M: GEOTAR Media 2014.
9. *Smith's Textbook of Endourology*. Smith A.D., Badlani G.H., Bagley D.H., Clayman R.V., eds. St Louis: Quality Medical Publishing, 1996.
10. Kaye K.W., Reinke D.B. Detailed caliceal anatomy for endourology. *J. Urol*. 1984;132(6):1085–1088.

Received 03.06.15

GENETIC RISK FACTORS FOR MULTIPLE KIDNEY STONE FORMATION IN THE RUSSIAN POPULATION

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology— Branch of National Medical Radiological Research Centre of Minzdrav of Russia; ²Institute of Molecular Genetics of RAS, Moscow

Correspondence author: O.V. Konstantinova — Dr.Med.Sci., Principal Research Fellow at the Department of Urolithiasis;
e-mail: konstant-ov@yandex.ru

This study examines the association of multiple kidney stones with polymorphisms of candidate genes for urolithiasis in the Russian population. A total of 75 adult patients with multiple stones (the studygroup) residing in the Central Russia and 189 healthy adults (control group) from the same region underwent genetic testing. The study group consisted of 41 (54.7%) males and 34 (45.3%) females with mean age 44.5 ± 14 years. The material for the study was samples of venous blood. Spectrum and frequency of polymorphic variants of four urolithiasis candidate genes were determined using real time PCR: the Klotho gene (KL, rs526906), vitamin D receptor gene (VDR, rs1540339), gene of the extracellular calcium-sensitive receptor (CASR, rs2202127), calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI1, rs7135617). Fisher angular conversion and χ^2 tests showed association between the genetic polymorphisms of ORAI1 and multiple kidney stone formation in the Russian population. No association was found between multiple kidney stones and polymorphisms of genes encoding KL, VDR, CASR. These results indicate that genetic factors, in particular polymorphic variants of the ORAI calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI1, rs7135617), may affect multiple kidney stone formation in the Russian population.

Key words: urolithiasis, multiple stones, genetic risk factors, the Russian population

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Apolihin O.I., Sivkov A.V., Konstantinova O.V., Slominskij P.A., Tupicyna T.V., Kalinichenko D.N. Genetic risk factors for multiple kidney stone formation in the Russian population. Urologiia. 2015;4:4–6.

Introduction. The causes of urolithiasis have been studied for decades. This interest is associated with high prevalence of the disease. Globally, urolithiasis affects up to 13% of the population [1]. According to Russian official statistics of 2012, urolithiasis incidence rate per 100 000 population of the Russian Federation amounted to 550.5, while the absolute number of registered patients was 787 555. Also reported was the increase of 25.1% in the number of cases over 10 years [2]. Patients with urolithiasis make up 30–40% of all patients of urology departments [3].

In recent years a significant success has been made in the diagnosis and treatment of disease [4–7], but relapses still occur in 11% and 39% of patients in 2 and 15 years after the first episode, respectively [8].

This highlights the need to elucidate the etiology and pathogenesis of the disease because currently there is no single concept of stone formation [9]. At the same time, according to the literature, 40–50% of patients have a family history of urolithiasis [1, 9].

Over the last decade, the focus of studying genetic risk factors for urolithiasis was on identifying its association with specific polymorphic variants of a particular gene. International studies discovered an association of urolithiasis with polymorphism of some genes, such as the KL [10], the VDR [11], CASR [12], ORAI1 [13]. N.A. Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology also conducted studies of the association of urolithiasis with polymorphisms of different candidate genes. Occurrence of urolithiasis in the Russian population was found to be associated with polymorphism of VDR and ORAI1 genes. For genes TNFRSF11B, TNFSF11, ESRI, KL, CASR, SLC26A6

such association was not identified [14]. There was association found between genetic polymorphisms of ORAI1 and development calcium oxalate urolithiasis [15]. Also, the association was established between non-recurrent form of the disease and genetic polymorphisms of ORAI1 and between recurrent form and CASR gene polymorphism [16].

The aim of this study was to find the association of multiple kidney stones with polymorphisms of candidate genes for urolithiasis in the Russian population.

Materials and methods. Molecular genetic testing was conducted in 75 patients with multiple stones (study group) from Central Russia and 189 healthy individuals (control group) from the same region. The study group included 41 (54.7%) males and 34 (45.3%) females with mean age 44.5 ± 14 years. For the analysis of polymorphic DNA markers in candidate genes, DNA collections were created for patients with urolithiasis and for the control group. The DNA was extracted from whole blood by standard phenol-chloroform extraction or using Axyprep Blood Genomic DNA Miniprep kit (Axygen, USA).

The analysis of polymorphic variants of four candidate genes for urolithiasis was performed: the Klotho gene (KL, rs526906), vitamin D receptor gene (VDR, rs1540339), gene of the extracellular calcium-sensitive receptor (CASR, rs2202127) and calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI1, rs7135617). Polymorphic variants of analyzed genes were determined in the control group and in patients with urolithiasis by real time PCR using «Applied Biosystems» test systems.

The significance of difference between incidences of genotypes in compared groups was determined using

χ^2 test. The incidence of alleles in the two groups was compared using Fisher angular conversion.

Results and discussion. The table presents the results showing both significant and non-significant differences in the frequencies of polymorphisms of candidate genes for urolithiasis between the study and control groups.

Analysis of polymorphism of *KL* gene showed the following frequencies of genotypes: in the control group, genotypes C/C C/T and T/T were detected in 70.3%, 26.6% and 3.1% of cases; in patients with multiple stones – in 72%, 26.7% and 1.3% of cases, respectively. The differences in the genotype frequencies in groups were statistically non-significant ($p=0,704$, $\chi^2=0,7$). In the control group, the frequency of allele C and T was 83.6% and 16.4%, while in the study group – 85.3% and 14.7%, respectively. Differences in allele frequencies were also statistically non-significant ($p=0,351$; see Table.).

For *VDR* gene frequency of genotype G/G was 26.5% in the control group, in the study group – 38.7%; genotype G/A – 50.8% and 41.3%, genotype A/A – 22.7% and 20% respectively with non-significant of differences between the groups ($p=0,1$, $\chi^2=4,6$). In the control group, the frequency of allele G was found in 51.9% of cases, A – in 48.1%, in the study group – in 59.3% and 40.7%, respectively ($p=0,056$; see table.).

Analysis of polymorphism of *CASE* gene showed the following frequencies of genotypes: in the control group genotypes A/A, A/G and G/G were found in 47%, 42.5% and 10.5% of cases, while in patients with multiple stones – in 41.3%, 45.3% and 13.4%, respectively; differences between groups were not significant ($p=0,587$, $\chi^2=1,03$). In the control group the frequencies of alleles A and G were 68.3% and 31.7%, in the study group, 64% and 36%, respectively ($p=0,175$; see table.).

For *ORAI1* gene, in the control group frequencies of genotypes G/G, G/T and T/T were 13.2%, 50.8% and 36%, in patients with multiple stones – 33.3%, 42.7% and 24%, respectively. It was found that the differences in frequencies of genotypes in the control sample and

in patients with urolithiasis were statistically significant ($p=0,0007$, $\chi^2=14,56$). The frequency of allele G in the control group was 38.6%; in the study group 54.7%, allele T – 61.4% and 45.3%, respectively. Between-group differences in the frequencies of alleles were statistically significant ($p=0,0005$; see table.).

Thus, the study findings revealed significant differences in frequencies of polymorphisms of *ORAI1* gene between patients of control group and patients with multiple stones. Differences were significant for both genotypes and alleles. Analysis of frequencies the genotypes and alleles showed increased frequency of allele G from 38.6% to 54.7%, genotype G/G from 13.2% to 33.3% in patients with multiple stones compared with the control group. For the other three genes (*KL*, *VDR*, *CASR*) differences were not significant.

A comparison of these findings with the results obtained by Y. Chou [13] in the only overseas work on this gene, conducted in the Chinese population, shows that urolithiasis is associated with *ORAI1* gene both in the Russian and Chinese population. It is worth noting that the Chinese study with similar control and study samples included only patients with calcium urolithiasis and did not explore the possible relationship between the formation of urinary calculi and multiple polymorphism of this gene.

Conclusions

1. These results suggest that genetic factors may affect the pattern of urolithiasis in the Russian population. There is a relationship between the pattern of urolithiasis in the Russian population and polymorphic variants of genes: multiple kidney stones were found to be associated with polymorphic variants of the *ORAI* calcium release-activated calcium modulator 1 (*ORAI1*, *rs7135617*) for both genotypes and alleles.
2. No association was found between the formation of multiple kidney stones and polymorphisms of *Klotho*

Frequencies of genotypes and alleles in the control group and study group

Table

gene	Variants of genotypes and alleles	Frequency of genotypes and alleles		Significance of differences
		control group	study group	
<i>KL</i>	C/C	275	54	$p=0,704$ $\chi^2=0,7$
	C/T	104	20	
	T/T	12	1	
	C	654	128	$p=0,351$
	T	128	22	
<i>VDR</i>	G/G	104	29	$p=0,1$ $\chi^2=4,6$
	G/A	199	31	
	A/A	89	15	
	G	407	89	$p=0,056$
	A	377	61	
<i>CASR</i>	A/A	184	31	$p=0,587$ $\chi^2=1,03$
	A/G	166	34	
	G/G	41	10	
	A	534	96	$p=0,175$
	G	248	54	
<i>ORAI1</i>	G/G	25	25	$p=0,0007$ $\chi^2=14,56$
	G/T	96	32	
	T/T	68	18	
	G	146	82	$p=0,0005$
	T	232	68	

gene (*KL*, *rs526906*), vitamin D receptor gene (*VDR*, *rs1540339*), gene of the extracellular calcium-sensitive receptor (*CASR*, *rs2202127*).

REFERENCES

1. Attanasio M. The genetic components of idiopathic nephrolithiasis. *Pediatr. Nephrol.* 2011;26(3):337–346.
2. Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Moskaleva N.G., Solntseva T.V., Komarova V.A. Analysis of urological morbidity and mortality in the Russian Federation during the 10-year period (2002–2012). *Experimental and clinical urology.* 2014; 2: 4–12.
3. Selected lectures in urology. Ed. Lopatkin N.A., Martov A.G. M.: Litterra 2008.
4. Alyaev Yu.G., Kuz'micheva G.M., Kolesnikova M.O., Rudenko V.I., Mel'nikov D.V., Chernobrovkin M.G. The clinical significance of physical and chemical analysis of the composition of urinary stones and urine. *Urologiia.* 2009; 1: 8–12.
5. Dutov V.V., Urenkov S.B., Parshenkova I.G., Rumyantsev A.A., Mamedov E.A. Features of percutaneous nephrolithotripsy in patients with urolithiasis of a single kidney. *Urologiia.* 2015; 2: 52–55.
6. Eisner B.H., Goldfarb D.S., Pareek G. Pharmacologic treatment of kidney stone disease. *Urol. Clin. North Am.* 2013;40(1):21–30.
7. Bagga H.S., Chi T., Miller J., Stoller M.L. New insights into the pathogenesis of renal calculi. *Urol. Clin. North Am.* 2013;40(1):1–12.
8. Rule A., Lieske J., Li X., Melton L.J., Krambeck A.E., Bergstralh E.J. The ROKS nomogram for predicting a second symptomatic stone episode. *American Society of Nephrology.* 2014;25:2878–2886.
9. Tiktinskii O.L., Aleksandrov V.P. *Urolithiasis.* SPb.: Peter, 2000. 384 p.
10. Xu C., Song R., Yang J., Jiang B., Wang X.L., Wu W., Zhang W. Klotho gene polymorphism of rs3752472 is associated with the risk of urinary calculi in the population of Han nationality in Eastern China. *Gene.* 2013;2:494–497.
11. Wang S., Wang X., Wu J., Lin Y., Chen H., Zheng X., Zhou C., Xie L. Association of vitamin D receptor gene polymorphism and calcium urolithiasis in the Chinese Han population. *Urol. Res.* 2012;4:277–284.
12. Vezzoli G., Terranegra A., Aloia A., Arcidiacono T., Milanese L., Mosca E., Mingione A., Spotti D., Cusi D., Hou J., Hendy G.N., Soldati L.; GENIAL network (Genetics and Environment in Nephrolithiasis Italian Alliance), Paloschi V., Dogliotti E., Brasacchio C., Dell'Antonio G., Montorsi F., Bertini R., Bellinzoni P., Guazzoni G., Borghi L., Guerra A., Allegri F., Ticinesi A., Meschi T., Nouvenne A., Lupo A., Fabris A., Gambaro G., Strazzullo P., Rendina D., De Filippo G., Brandi M.L., Croppi E., Cianferotti L., Trinchieri A., Caudarella R., Cupisti A., Anglani F., Del Prete D. Decreased transcriptional activity of calcium sensing receptor gene promoter 1 is associated with calcium nephrolithiasis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98:3839–3847.
13. Chou Y., Juo S., Chiu Y., Liu M.E., Chen W.C., Chang C.C., Chang W.P., Chang J.G., Chang W.C. A polymorphism of the *ORAI1* gene is associated with the risk and recurrence of calcium nephrolithiasis. *J. Urol.* 2011;5:1742–1746.
14. Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Konstantinova O.V., Slominskii P.A., Tupitsyna T.V., Kalinichenko D.N. The search for the polymorphic variants of candidate genes of urolithiasis in Russian population. *Experimental and clinical urology.* 2013;3:56–60.
15. Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Konstantinova O.V., Slominskii P.A., Tupitsyna T.V., Kalinichenko D.N. Genetic risk factors of various forms of urolithiasis in the Russian population. Abstracts of the Twenty-Second Russian National Congress «Man and Medicine». 2015. 16 pp.
16. Konstantinova O.V., Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Slominskii P.A., Tupitsyna T.V., Kalinichenko D.N. Genetic risk factors for recurrence of urolithiasis in Russian population. Abstracts of the Twenty-Second Russian National Congress «Man and Medicine». 2015. 54 pp.

Received 27.05.15

COMPARATIVE ANALYSIS OF POSITIVE SURGICAL MARGIN RATES IN PATIENTS UNDERGOING ROBOT-ASSISTED OR RETROPUBIC RADICAL PROSTATECTOMY FOR PROSTATE CANCER

Department of Urology and Surgical Andrology, Russian
Medical Academy of Postgraduate Education

Corresponding author: E. A. Sokolov – PhD Student at the Department of Urology and Surgical Andrology; e-mail: rmapo@yandex.ru

The issue of comparative evaluation of oncological and functional outcomes of robot-assisted radical prostatectomy (RARP) and radical retropubic prostatectomy (RRP) is widely discussed in the international literature. A key point in studying the oncological efficacy of both techniques is a comparative evaluation of positive surgical margin (PSM) rates as one of the main prognostic factors influencing the further course of prostate cancer. Available data so far are inconsistent, which prompted us to conduct our own research. A retrospective analysis was performed in two groups of patients who underwent RARP (n=63) and RRP (n=116) from January 2014 to April 2015. Despite a general trend towards lower PSM rates in RARP group compared to RRP group (12.7 and 21.6%, respectively, $p=0.09$), no significant differences were found in the stratification of patients in both groups depending on the risk of prostate cancer recurrence and pathological stage. These data show the potential equivalence of the two methods regarding intraoperative control of resection margins.

Key words: prostate cancer, radical retropubic prostatectomy, robot-assisted radical prostatectomy, positive surgical margins

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Veliev E.I., Sokolov E.A., Loran O.B. Comparative analysis of positive surgical margin rates in patients undergoing robot-assisted or retropubic radical prostatectomy for prostate cancer. Urologiia. 2015;4:44–47.

Introduction. Radical prostatectomy (RP) is a highly effective treatment option for patients with both localized [1, 2], and locally advanced [3] prostate cancer (PCa). Results of two prospective randomized trials [4, 5] suggest RP superiority in PCa-specific survival over active surveillance.

In the last decade, robot-assisted radical prostatectomy (RARP) has been gaining increasing acceptance, especially in the advanced economies, despite a paucity of randomized trials supporting its superiority over the «classical» radical retropubic prostatectomy (RRP) [6].

The contradictory data has generated active debates on the advisability of recognizing RARP as a new «gold standard» for radical prostatectomy [7, 8]. It is worthy of note that in the absence of sufficient evidence, clinical guidelines of leading urological associations suggest the equivalence of all RP options [9].

A key issue that remains to be settled concerns the oncologic efficacy RARP and RRP, specifically regarding rates of positive surgical margins (PSMs). Although the PSMs, according to recent research, are not an independent predictor of PCa-specific mortality, they are a known risk factor for biochemical recurrence and additional therapy for PCa and a source of considerable patient anxiety [10]. Different results of comparative studies, suggesting both the superiority of RARP [11, 12], and the equivalence of the two techniques in PSMs rates [13, 14], prompted us to conduct our own research aimed to compare the rates of PSMs in patients undergoing RARP and RRP (a single surgeon's experience).

Materials and methods. The study (retrospective analysis) included 179 patients who underwent RARP (n=63) and RRP (n=116) performed by a single surgeon from January 2014 to April 2015 in the Urology Department of S.P Botkin City Clinical Hospital. All

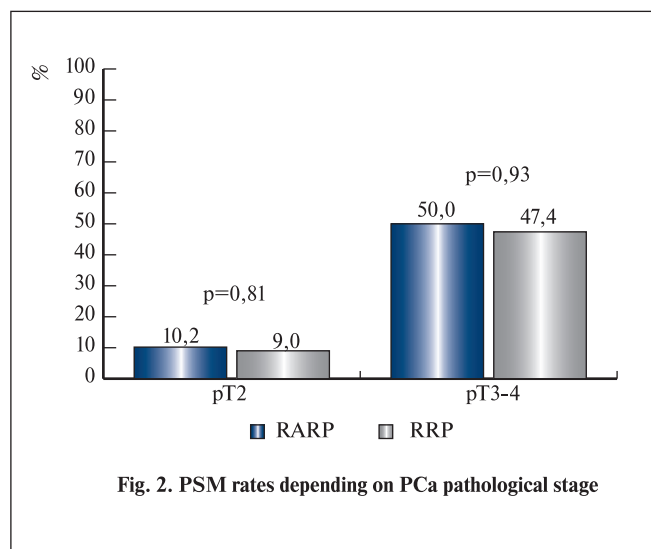
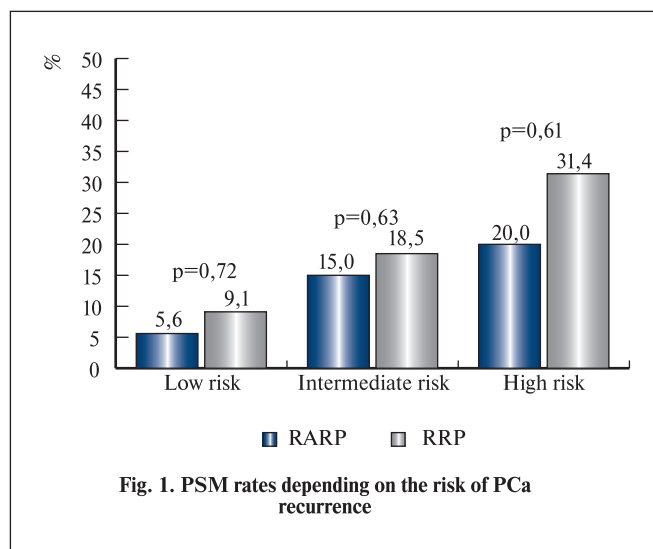
RARP were performed using a robotic surgical system Vinci Si («Intuitive Surgical»®) by transperitoneal access.

Patients were stratified into three risk groups of post-treatment recurrence according to the classification of the European Association of Urology (EAU) [9]: low risk – patients with clinical stage cT1-T2a, biopsy Gleason score ≤ 6 and the level of prostate specific antigen (PSA) <10 ng/ml; intermediate risk – patients with clinical stage cT2b-T2c, biopsy Gleason score equal to 7, and a PSA 10–20 ng/ml; high risk – patients with clinical stage cT3a, biopsy Gleason score equal to 8–10, and PSA >20 ng/ml; very high risk – patients with stage cT3b-T4 and/or positive lymph nodes. Nine very high-risk PCa patients who underwent RRP were excluded from the study because of the absence of high-risk PCa patients in RARP group.

Histological examination of all removed organs (prostate gland [PG] with the seminal vesicles, the lymph nodes, if present, some parts of the distal urethral/bladder neck) was conducted in the Pathology Department of S.P Botkin City Clinical Hospital. The presence of tumor cells in contact with the ink on the specimen surface was defined as PSMS.

The study group characteristics were analyzed using standard descriptive statistical analysis, including calculating the mean and standard deviation. Differences between groups were assessed using the Mann-Whitney U-Test for continuous variables and Pearson's Chi-square test for categorical variables. Differences were considered statistically significant at $p<0.05$. The statistical tests were performed using Graph Pad Prism 6 software (Graph Pad Software, Inc, La Jolla, USA).

Results. Primarily, considerable differences between the two groups should be noted. The patients of RRP group had higher levels of PSA, tended to have more



poorly differentiated tumors and greater proportion of them had locally advanced PCa and higher risk of recurrence (see. *Table*).

Comparing PSM rates between groups revealed a tendency to lower rates in RARP group compared to the RRP, but the differences did not reach statistical significance – 12.7% versus 21.6% ($p=0.09$). In RARP group PSMs were most often found at the bladder neck (4.7%), at the base (3.2%) and lateral (3.2%) sections of PG and least likely at the apex of the PG (1.6%). Conversely, in RRP group PSMs most frequently occurred at the apex (6.9%) basal (6%) and lateral sections (2.6%) and at the bladder neck (2.6%); in 3.5% of cases multifocal PSMs were identified.

No major difference between the two groups was established when comparing PSM rates regarding the risk

of Pca recurrence (*Fig. 1*). Moreover, both techniques were associated with similar PSM rates after stratification of patients depending on the pathological stage (*Fig. 2*).

Discussion. Intensive expansion of RARP in the US and developed countries of Europe and Asia has generated active debate about the scientific validity of this phenomenon. Studies published to date suggested that RARP has at least similar oncologic and functional efficiency compared with RRP, and some works have reported RARP superiority over RRP. Several studies have shown lower PSM rates after RARP. For example, J. Smith et al. [11] showed a lower PSM rate after RARP compared with RRP both for all cases included in the study (15 and 35%, respectively, $p<0.001$), and separately in subgroups of stage pT2 (9.4 and 24.1%, $p<0.001$), and pT3 (50 and 60%, $p<0.001$). A large

Comparative characteristics of the patients included in the study				Table
Characteristic	RARP group (n=63)	RRP group (n=116)	p	
Age, years	61,7±0,9	63,5±0,6	0,08	
PSA, ng/ml	8,8±0,54	11,9±0,7	<0,001	
PG volume, cm ³	37,9±2,2	48,9±2,9	0,003	
Risk Group (EAU):			<0,001	
low risk	18 (28,6%)	11 (9,5%)		
intermediate risk	40 (63,4%)	70 (60,3%)		
high risk	5 (8,8%)	35 (30,2%)		
Biopsy Gleason score			<0,001	
≤6	47 (74,6%)	53 (45,7%)		
7 (3+4)	8 (12,7%)	29 (25%)		
7 (4+3)	6 (9,5%)	14 (12%)		
8–10	2 (3,2%)	20 (17,3%)		
Clinical stage			<0,001	
cT1	21 (33,2%)	14 (12,1%)		
cT2	39 (62%)	89 (76,7%)		
cT3	3 (4,8%)	13 (11,2%)		
Post-RP Gleason score			<0,001	
≤6	36 (57,1%)	52 (44,9%)		
7 (3+4)	22 (34,9%)	31 (26,7%)		
7 (4+3)	2 (3,2%)	15 (12,9%)		
8–10	3 (4,8%)	18 (15,5%)		
Pathological stage			<0,001	
pT2N0	59 (93,7%)	77 (66,4%)		
pT3N0	4 (6,3%)	32 (27,6%)		
pTxN1	–	7 (6%)		

retrospective study [15] also have shown that RARP compares favorably with RRP in terms of PSM rates (13.6 versus 18.3%, $p < 0.001$) in clinically localized (pT2) and locally advanced (pT3a) Pca, and in intermediate and high-risk groups (no significant differences between low-risk groups have been found). Similar findings have been reported in a retrospective review [12]; the limitations of the study were a greater proportion of high-risk patients and earlier surgery in the RRP group.

At the same time, a substantial number of studies have not found differences in PSM rates between the two modalities. Specifically, L-O. Gagnon et al. [16] have not established difference between RARP and RRP neither for total proportions of PSMs (24.6 and 31%, respectively, $p = 0.18$), nor for pathological stage pT2 (17.3 and 21.7%, $p = 0.43$) and pT3-4 (51.2 and 43.5%, $p = 0.45$). The absence of differences was reported in a retrospective study by M. Alemozaffar et al. [13] (24.4% after RARP and 23.1% after RRP), in a prospective multi-center study by E. Haglind et al. [14] (21.8% after RARP and 20.9% after RRP) and in a work by P.I. Rasner et al. [17] (6.4% after RARP and 6.1% after RRP).

In the present study, despite a general trend towards lower PSM rates in RARP group (may be due to more unfavorable clinical characteristics of patients of RRP group) no significant differences were found after the stratification of patients in both groups depending on the risk of PCa recurrence and pathological stage.

It is interesting to note the difference in the most common sites for PSMs location – apex in RRP, bladder neck and basal section in RARP – potentially showing more favorable conditions for the stage of apical dissection in RARP. The most important limitation of this study is its retrospective and non-randomized design, which is a common weakness of all studies comparing these modalities. In addition, given the protracted learning curve of RARP, accumulation of experience may lead to improved results [18].

Conclusion. In a retrospective comparative evaluation of the results of RARP and RRP performed by a single surgeon, no significant differences were found in the rates of PSMs.

Currently, the superiority of RARP over RRP regarding cancer control in PCa is inconclusive and requires further investigation.

REFERENCES

- Mullins J.K., Feng Z., Trock B.J., Epstein J.I., Walsh P.C., Loeb S. The impact of anatomical radical retropubic prostatectomy on cancer control: the 30-year anniversary. *J. Urol.* 2012;188:2219–2224.
- Veliev E.I., Sokolov E.A., Loran O.B., Petrov S.B. Comparative analysis of histological and remote oncological outcomes after radical prostatectomy in patients matching Johns Hopkins and the Royal Marsden Hospital criteria for active monitoring. *Urologia.* 2014;2:55–58.
- Mitchell C.R., Boorjian S.A., Umbreit E.C., Rangel L.J., Carlson R.E., Karnes R.J. 20-Year survival after radical prostatectomy as initial treatment for cT3 prostate cancer. *BJU Int.* 2012;110:1709–1713.
- Bill-Axelsson A., Holmberg L., Garmo Rider J.R., Taari K., Busch C., Nordling S., Häggman M., Andersson S.O., Spångberg A., Andrén O., Palmgren J., Steineck G., Adami H.O., Johansson J.E. Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. *N. Eng. J. Med.* 2014;370:932–942.
- Wilt T.J., Brawer M.K., Jones K.M., Barry M.J., Aronson W.J., Fox S., Gingrich J.R., Wei J.T., Gilhooly P., Grob B.M., Nsouli I., Iyer P., Cartagena R., Snider G., Roehrborn C., Sharifi R., Blank W., Pandya P., Andriole G.L., Culkin D., Wheeler T. Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *N. Eng. J. Med.* 2012;367:203–213.
- Sammon J.D., Karakiewicz P.I., Sun M., Sukumar S., Ravi P., Ghani K.R., Bianchi M., Peabody J.O., Shariat S.F., Perrotte P., Hu J.C., Menon M., Trinh Q.D. Robot-assisted versus open radical prostatectomy: the differential effect of regionalization, procedure volume and operative approach. *J. Urol.* 2013;189:1289–1294.
- Sood A., Jeong W., Peabody J.O., Hemal A.K., Menon M. Robot-assisted radical prostatectomy: inching toward gold standard. *Urol. Clin. North Am.* 2014;41:473–484.
- Lepor H. Does the medical evidence justify robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy as the new gold standard for radical prostatectomy? *Urol. Oncol.* 2013;31:137–139.
- Heidenreich A., Bastian P.J., Bellmunt J., Bolla M., Joniau S., van der Kwast T., Mason M., Matveev V., Wiegel T., Zattoni F., Mottet N. European Association of Urology. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: Screening, diagnosis, and local treatment with curative intent – update 2013. *Eur. Urol.* 2014;65:124–137.
- Stephenson A.J., Eggener S.E., Hernandez A.V., Klein E.A., Kattan M.W., Wood D.P.Jr., Rabah D.M., Eastham J.A., Scardino P.T. Do margins matter? The influence of positive surgical margins on prostate cancer-specific mortality. *Eur. Urol.* 2014;65:675–680.
- Smith J.A. Jr., Chan R.C., Chang S.S., Herrell S.D., Clark P.E., Baumgartner R., Cookson M.S. A comparison of the incidence and location of positive surgical margins in robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy and open retropubic radical prostatectomy. *J. Urol.* 2007;178:2385–2389.
- Sooriakumaran P., Srivastava A., Shariat S.F., Stricker P.D., Ahlering T., Eden C.G., Wiklund P.N., Sanchez-Salas R., Mottrie A., Lee D., Neal D.E., Ghavamian R., Niyadhy P., Nilsson A., Carlsson S., Xylinas E., Loidl W., Seitz C., Schramek P., Roehrborn C., Cathelinneau X., Skarecky D., Shaw G., Warren A., Delprado W.J., Haynes A.M., Steyerberg E., Roobol M.J., Tewari A.K. A multinational, multi-institutional study comparing positive surgical margin rates among 22 393 open, laparoscopic, and robot-assisted radical prostatectomy patients. *Eur. Urol.* 2014;66:450–456.
- Alemozaffar M., Sanda M., Yecies D., Mucci L.A., Stampfer M.J., Kenfield S.A. Benchmarks for operative outcomes of robotic and open radical prostatectomy: results from the health professionals follow-up study. *Eur. Urol.* 2015;67:432–438.
- Haglind E., Carlsson S., Stranne J., Wallerstedt A., Wilderäng U., Thorsteinsdottir T., Lagerkvist M., Damber J.E., Bjartell A., Hugosson J., Wiklund P., Steineck G. LAPPRO steering committee. Urinary incontinence and erectile dysfunction after robotic versus open radical prostatectomy: a prospective, controlled, nonrandomised trial. *Eur. Urol.* 2015;68(2):216–225.
- Hu J.C., Gandaglia G., Karakiewicz P.I., Nguyen P.L., Trinh Q.D., Shih Y.C., Abdollah F., Chamie K., Wright J.L., Ganz P.A., Sun M. Comparative effectiveness of robot-assisted versus open radical prostatectomy cancer control. *Eur. Urol.* 2014;66:666–672.
- Gagnon L.O., Goldenberg S.L., Lynch K., Hurtado A., Gleave M.E. Comparison of open and robotic-assisted prostatectomy: The University of British Columbia experience. *CUAJ.* 2014;8:92–97.
- Rasner P.I., Kotenko D.V., Kolontarev K.B., Pushkar D.Yu. Comparison of the functional outcomes in patients with localized prostate cancer after radical retropubic and robotassisted prostatectomy in patients with localized prostate cancer. *Experimental and clinical urology.* 2014;4:26–30.
- Thompson J.E., Egger S., Böhm M., Haynes A.M., Matthews J., Rasiah K., Stricker P.D. Superior quality of life and improved surgical margins are achievable with robotic radical prostatectomy after a long learning curve: a prospective single-surgeon study of 1552 consecutive cases. *Eur. Urol.* 2014;65:521–531.

Received 21.04.15

NEW OPTIONS OF ENDOSCOPIC TREATMENT FOR KIDNEY AND URETER STONES IN OBESE PATIENTS

¹City Hospital № 57 (head physician — Ph.D. I.A. Nazarova), MHD, Moscow; ²Department of Endoscopic Urology (Head — Dr.Med.Sci., Prof. O.V. Teodorovich), Russian Medical Academy of Postgraduate Education of Minzdrav of Russia;

³Republican Clinical Hospital, Ministry of Health of Kabardino-Balkar Republic, Nalchik

Correspondence author: A.G. Martov — Dr.Med.Sci., Prof., Head of the 2nd Department of Urology; e-mail: martovalex@mail.ru

Effective urolithiasis treatment, especially in overweight patients has a considerable medical and social implication. Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) and percutaneous nephrolithotripsy (PCNL) in prone position of the patient are standard treatment options for kidney and ureter stones. These interventions are not always effective in patients with concomitant obesity and are associated with technical difficulties and an increased risk of complications. The study included 175 patients with obesity. The first group comprised 96 (54.8%) patients treated with transurethral contact lithotripsy. The 2nd group comprised 54 (30.9%) patients who underwent PCNL in the supine position. The third group comprised 25 (14.3%) patients with multiple stones of kidney and ureter, who underwent combined transurethral and percutaneous intervention in the supine position. The 1st and 3rd group had a higher prevalence of patients with class II obesity, the 2nd group — with class I obesity. The mean duration of surgery in 1st group was 43.4 min, in the 2nd — 70.3 min and in the third — 84.6 min. Method of kidney drainage depended mainly on the presence, location and size of residual stone fragments. The average duration of the kidney drainage stent in patients of the 1st group was 39 days (ureteral catheter — 1.3 days). In all patients of the 2nd and 3rd groups, at the final stage of the operation a nephrostomy tube was placed for an average of 2.7 days. The average postoperative hospital stay was 2.9 days in the 1st group, 4.1 days in the 2nd group and 4.5 days in the third group. In the 1st group, the stone-free status was achieved in 81 (84.4%) patients. Another 10 (10.4%) patients later needed ESWL for the complete stone clearance. In the 2nd group, the complete clearance of kidney stones was achieved in 49 (90.7%) patients. Another 3 (5.6%) patients required to add ESWL to achieve the stone-free status. In the third group of patients stone free status was reached in 22 (88%) cases.

In the remaining patients residual stone fragments were not clinically important. The most prevalent postoperative complication in all groups was postoperative pyelonephritis. Taking into account the high efficiency of transurethral lithotripsy and PCNL in the supine position and their combinations we can recommend these interventions to treat patients with kidney and ureteral stones and concomitant obesity.

Key words: transurethral lithotripsy, percutaneous nephrolithotripsy in supine position, obesity, efficiency, safety

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Martov A.G., Dutov S.V., Andronov A.S., Kil'chukov Z.I., Tahaev R.A. New options of endoscopic treatment for kidney and ureter stones in obese patients. Urologiia. 2015;4:55–63.

Introduction. Obesity in the active working-age patients is a major public health and economic problem of global significance. Obesity is increasing at an alarming rate in many countries.

In the United States, for example, the age-adjusted prevalence of obesity increased by approximately 30 percent over the past 20 years [1]. According to the UN, Russia is on the 25th place in the world in the number of people suffering from obesity or overweight. As of 2013, the prevalence of obesity in the RF ranged from 24.9 to 25.3% [2]. Obesity is a chronic metabolic condition characterized by excessive accumulation of adipose tissue, progressive natural course, range of complications and a high probability of relapse after treatment [3]. The combination of urolithiasis (IBC) and obesity is common in urological practice. According to [4], 98% of overweight patients have at least one lithogenic risk factor in 24-hour urinalysis (hyperoxaluria, hypercalciuria, etc.), and 80% have 3 and more risk factors.

Considering that 30–40% of urolithiasis cases have a chronic recurrent course resulting in considerable sickness absence, its effective treatment, especially in patients who are overweight, has substantial medical and social importance. Discovering an effective and safe

method of surgical treatment of urolithiasis in patients with concomitant obesity is a major challenge for modern medicine. Currently extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL), percutaneous standard nephrolithotripsy (PCNL) in classic prone position and transurethral contact lithotripsy (TUL) are most often used to treat urolithiasis. At the same time, these interventions are not always effective in patients with concomitant obesity and associated with technical difficulties and increased risk of complications. For example, during percutaneous interventions in obese patients in prone position, the sheath is usually positioned deeper (*Figure 1*), severely limiting the nephroscope mobility, visualization of intrarenal structures and may be accompanied by the migration of the sheath deep into the puncture tract and in subcutaneous fat.

Recent innovations in the endoscopic treatment of kidney and ureter stones following introduction into clinical practice of transurethral laser nephrolithotripsy using flexible fiberoptic endoscopy, PCNL with patient in the supine position or simultaneous combined transcuteaneous and transurethral lithotripsy, allow effectively remove the stones of the upper urinary tract in patients with concomitant obesity.

Studying these techniques opportunities in the treatment of kidney and ureter stones in obese patients was the aim of the present work.

Materials and methods. The study included 175 obese patients, who underwent surgical treatment for kidney stones from 2007 to 2015. All operations were carried out in CCH №57 and former CCUH № 47 (Moscow).

Group 1 comprised 96 (54.8%) patients subjected to TUL (using both rigid and flexible instruments). Group 2 included 54 (30.9%) patients who underwent PCNL in the supine position. Group 3 included 25 (14.3%) patients who underwent concurrent transurethral and percutaneous nephrolithotripsy.

Group 1 comprised 42 (43.8%) men and 54 (56.2%) women. In group 2 there were 30 (55.5%) women. The majority of patients in group 3 were men – 17 (68%). The age of patients ranged from 27 to 72 years. The mean age of patients in Group 1 was $48,6 \pm 11,2$ years, group 2 – $44 \pm 8,6$, group 3 – $54 \pm 10,4$ years. Thus, the majority (69.3%) of patients were persons of average working-age of 40–60 years.

Overweight patients were stratified according body mass index (BMI). BMI is a measure which shows whether people have insufficient, normal or excess body mass for their height.

According to WHO, BMI ranges are underweight: under 18.5, normal weight: 18.5 to 25, overweight: 25 to 30, obese: over 30. Obesity is classified into class I (moderately obese) class II (severely obese) and class III (very severely obese) with BMI 30,00–34,99; 35,00–39,99 and more than 40, respectively [5].

The distribution of patients, according to obesity category and type of operation is presented in the *table*. In the group of patients who underwent transurethral intervention (group 1), the majority of patients had obesity class II – 32 (33.3%), in group 2 (PCNL in the supine position) predominated patients with obesity class I (46.3%). Only 3 (5.6%) overweight patients in group 2 underwent PCNL in the supine position because most of these patients were subjected to standard PCNL in prone position.

The majority of patients in group 3 (36%) had a class II obesity.

Comorbidities in patients of all groups included hypertension, coronary heart disease, diabetes, gastric ulcer and duodenal ulcer.

The standard preoperative comprehensive clinical and laboratory work-up included urine culture with antibiotic sensitivity test, Doppler ultrasound of the renal blood vessels, plain and excretory urography and radioisotope renography. Abdominal and renal multi-slice computed tomography was performed in 65%, 73% and 84% of patients of the 1st, 2nd and 3rd groups, respectively.



Fig. 1. A typical deep positioning of Amplatz sheath during PCNL in an obese patient in the prone position

The view of the standard nephroscope within the depth of renal sheath; next to it safety wire is visible.

Among the patients of group 1 42 (43.8%) had ureteral stones, 19 (19.8%) had isolated stones of renal pelvis, 18 (18.8%) had both pelvic and calyceal stones, 10 (10.4%) had large symptomatic calyceal stones and 7 (7.2%) patients had a combination of the ureteral and kidney stones. In group 2 predominated patients with large single pelvic stones – 38%, pelvis and lower calyx – 32%, staghorn stones with small spurs – 30%. In the third group the vast majority comprised patients with a combination of multiple ureteral and kidney stones – 23 (92%). In 8 (32%) patients staghorn stones with complex stereometric configuration were found.

Since the calculus size significantly affects its disintegration rate, and as a consequence the duration of the surgery and the risk of complications, this parameter along with stone localization was the key in patients' allocation to the study groups. The presence of large, more than 2.5 cm, kidney stones or staghorn calculi

Distribution of patients according to obesity category and type of operation

Table

Obesity category	Group 1	Group 2	Group 3	Total
Overweight	25 (26%)	3 (5,6%)	7 (28,0%)	35
Obesity class I	27 (28,1%)	25 (46,3%)	7 (28,0%)	59
Obesity class II	32 (33,3%)	20 (37,0%)	9 (36,0%)	61
Obesity class III	12 (12,6%)	6 (11,1%)	2 (8,0%)	20
Total	96	54	25	175



Fig. 2. Lithotomy position of the obese patient to perform combined PCNL in the supine position on the left side and TUL. Explanations in the text

was an indication for PCNL in supine position. For smaller kidney stones, ureteral stones or in cases of nephroureterolithiasis preference was given to the transurethral access. The greatest transverse dimension of the calculus was measured. In cases of large stones, both in the kidney and ureter, their sizes were measured separately. If the patient had multiple renal stones their total size was calculated as the sum of the largest measured diameter of each stone. The vast majority (86.7%) of patients in Group 1 had a total stone size ranging from 1.5 to 2.0 cm; in group 2 patients were more likely to have stone size of 2–4 cm. (67.4%). The third group comprised patients with multiple kidney and ureteral stones with average total stone size more than 4 cm (in 84% of patients).

Most patients of all groups (57.1%) had a history of urolithiasis. 32% of patients previously underwent a variety of surgical procedures, including ESWL (66%), transurethral interventions (22%), PCNL in prone position (9%) open surgeries (3%). It should be noted that in 16 (16.7%) patients in Group 1 and 10 (18.5%) patients in group 2 prior ESWL failed to achieve stone fragment clearance prompting to choose another treatment option.

Twenty-nine (16.6%) patients had a preoperative nephrostomy tube inserted previously to treat acute pyelonephritis. Twenty-three (24%) patients in group 1 and two patients in group 3 were submitted to stones removal concurrently with transurethral laser endoureteropielotomy due to co-existing strictures of the ureter or ureteropelvic junction.

All operations were performed in an X-ray operating room with a patient in the lithotomy position with lower limbs apart (Fig. 2). Patients undergoing PCNL in supine position were placed in semi-lateral position with a padded radiolucent roller (or 3–5-liter bag of saline solution) under the appropriate side as close as possible to the ipsilateral edge of the table [6]. Most surgical procedures in group 1 (78.1% of cases) were carried out under spinal anesthesia. In the remaining patients of group 1 and all patients of group 2 and 3, the interventions were performed under general anesthesia. In the first group 29 (30.2%) patients underwent surgery using 7.5–9 Fr flexible uretero-pyeloscope. The choice was dictated

by the need to reach stones in calyces or to retrieve and destroy the stone fragments migrated during ESWL.

Creating a transurethral access to kidney in 17 patients required ureteral dilation using ureteral bougies with sheath 12–14 Fr. The remaining patients underwent ureteropyeloscopy with rigid tools with diameter of 7.5–9.5 Fr. In the majority (85%) of patients, the stones were disintegrated using holmium laser delivering 30–50 watts of power. In rigid ureteropyeloscopy, lithotripsy was done using laser fiber with diameter of 365 and 600 nm.

During fibroureteropyeloscopy either laser fiber diameter 230 nm or flexible probes 2.0–2.4 Fr (15% of patients) nanosecond electric pulse contact lithotripsy were used to destroy stones.

The stone fragments were removed using rigid and flexible nitinol litho-extractors 1.8–5 Fr.

Following complete stone clearance, the operation was completed by placing an ureteral catheter or the external stent; in the presence of residual fragments or large amount of sand or the need for stricture intubation, inner stent was installed for 4–6 weeks.

At the first stage, patients of group 2 underwent urethrocystoscopy and catheterization of ipsilateral kidney. Puncture of pyelocaliceal system was performed with the patient in the supine position under combined ultrasound and radiologic guidance. In most cases (75% of patients), the calculus was assessed through the lower group of calyces. In forty patients PCNL in supine position was performed using standard rigid nephroscope 24–26 Fr and ultrasonic lithotripsy. Ten patients were submitted to laser mini-PCNL (nephroscope 12 Fr, laser fiber 600 microns) and 4 patients to micro-PCNL (nephroscope 7.5 Fr, laser fiber 365 microns). After standard PCNL in supine position, the kidney was drained for 2–3 days through the nephrostomy tube with a balloon diameter of 18–22 Fr; after mini-PCNL and micro-PCNL pig tail diameter 8–10 Fr was placed for the same period of time.

Initial stage of surgery in group 3 included rigid (16 patients) or flexible (9 patients) ureteropyeloscopy. After gaining access to the renal pelvis under combined tele-radiologic guidance, dorsal percutaneous access was performed, followed by the simultaneous disintegration of the calculus through ureteropyeloscope and nephroscope. In most (92%) cases the puncture was performed through the lower group of calyces. In 18 patients PCNL was carried out using standard nephroscope coupled with ultrasonic lithotripsy, in 5 and 2 patients mini-nephroscope and micro-nephroscope respectively were used in combination with laser lithotripsy. At the end of the operation nephrostomy tube was placed for 2–4 days.

The postoperative follow-up included laboratory testing, ultrasound examination, plain urography, antegrade pyelography (patients 2 and 3 of groups). The results of treatment were evaluated at 1–3 months after surgery.

Results. The primary endpoints of the study were operative time, duration of kidney draining, length of postoperative hospital stay, percentage of complete stone clearance (stone free rate – SFR), the number and type of complications.

The operative time was measured from the beginning of ureteroscopy in groups 1 and 3 or from the beginning of cystoscopy, kidney catheterization in group 2 up to placing a drainage tube into the kidney. The average duration of surgery was 43.4 min, 70.3 min and 84.6

min in group 1, group 2 and group 3, respectively. The duration of the kidney drainage by an internal stent in group 1 was, on average, 39 days (ureteral catheter – 1.4 days). Operation in all patients in groups 2 and 3 was completed by placing nephrostomy drainage for an average of 2.7 days. The length of postoperative hospital stay was, on average, 3.6 days, 5.1 days and 5.5 days in group 1, group 2 and group 3, respectively.

Residual stones were detected using postoperative X-ray and ultrasound of the kidney. Clinically significant residual stone was defined as a fragment of stone larger than 3 mm. In group 1, the complete clearance of stones was achieved in 81 (84.4%) patients. Another 10 (10.4%) patients required subsequent ESWL to be stone free. In the remaining patients, residual fragments were clinically insignificant (located in isolated calycis). In group 2, the complete stone clearance was achieved in 49 (90.7%) patients. Another 3 (5.6%) patients were free from stones after additional ESWL.

In the third group 22 (88%) patients achieved complete stone clearance. In the remaining patients residual fragments were clinically insignificant.

The most prevalent postoperative complication was postoperative pyelonephritis, successfully treated with antibiotic therapy. This complication occurred in 13 (13.5%) patients of group 1, in 8 (14.8%) patients of group 2 and in 5 (20%) patients of group 3. One patient in group 2 was diagnosed with postoperative pneumonia, and one patient in group 3 developed postoperative pneumothorax; the complications were successfully treated conservatively. 4 (7.4%) patients in group 2 and 3 (12%) patients in group 3 developed intraoperative bleeding, treated by conservative measures and transfusion of blood components. No other significant complications were recorded.

Discussion. Determining the best way to remove the kidney and ureter stones in patients with concomitant obesity is extremely important due to the high prevalence of this condition and the difficulties in carrying out standard intervention that reduces the effectiveness of interventions and predisposes to complications.

According to European Association of Urology (2015) Guidelines on Urolithiasis the first-line treatment option aimed at removing small stones, is an extracorporeal shock wave lithotripsy. In the treatment of ureteral stones up to 1 cm, ESWL effectiveness reaches 90% or more [7].

At the same time ESWL in obese patient is difficult to perform due to impossibility to focus the lithotripter shock waves on the stone. This factor is correlated with increasing amount of subcutaneous fat and depends on radiolucency of the stone [8].

The study by D. Delakas et al. [9] showed a 1.9-fold decrease in the effectiveness of stone disintegration in obese patients compared with non-obese patients. B. Olivi et al. [10], having treated patients with a BMI over 35 and stone size up to 11 mm observed the overall stone free–rate 56.3% with average 1.67 ESWL sessions per patient. Other authors report 73% ESWL effectiveness in patients with morbid obesity and stone size from 6 to 20 mm. However, to achieve such a result, several sessions of ESWL had to be performed [11].

Using ESWL to treat kidney stones, especially greater than 2 cm, multiple and staghorn stones has some limitations due to the high risk of obstructive complications, and the need to deliver multiple sessions

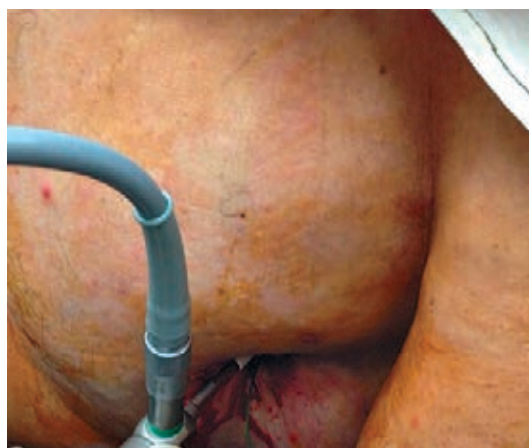


Fig. 3. Mini-PCNL in an obese patient in the supine position

Mini-nephroscope Fr 12 is located inside the kidney sheath of Amplatz 14 Fr, next to which safety wire is visible. The sheath positioned downwards thus contributing to stone fragment self-clearance.

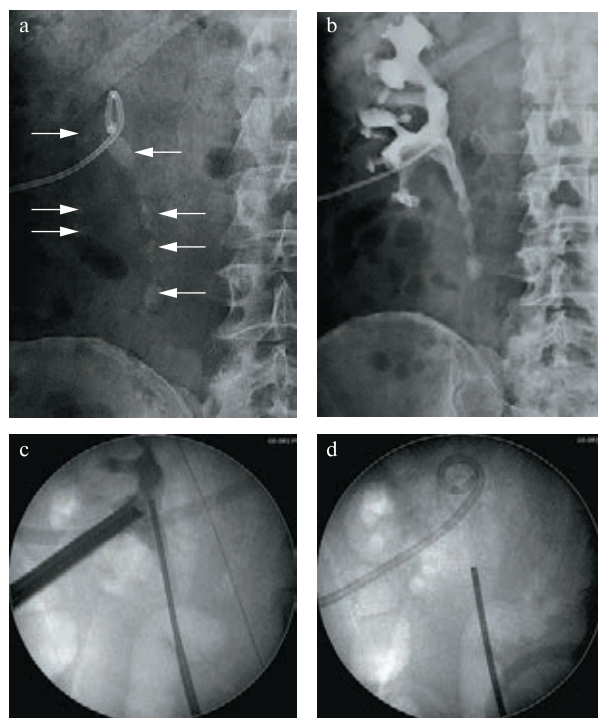


Fig. 4. Radiographic images of the patient B. 52 y. o. with multiple stones in the right kidney and ureter, obesity class II. Operation: combined PCNL and TUL in the supine position

a – plain urogram: the arrows show multiple kidney and ureteral stones, nephrostomy tube is placed because of acute pyelonephritis attack; b – antegrade pyeloureterogram; c – simultaneous PCNL and TUL in the supine position; d – the final stage of the operation: stones removed, the nephrostomy tube inserted into the kidney to drain urine, control ureteroscopy is been performed.



Fig. 5. Shifting an obese patient from the operating table to the wheel stretcher using a roller device - rolbor. Explanations in the text

to achieve adequate results, which increases the treatment cost.

According to European Association of Urology (2015) Guidelines on Urolithiasis, the main method of surgical treatment of nephrolithiasis in this category of patients is percutaneous nephrolithotripsy. Performing standard PCNL in obese patients in the prone position is difficult. This is due to difficulties in accessing the kidney in obese patients, which is associated with an increased risk of losing puncture tunnel, often accompanied by deep bedding of Amplatz sheath in the thickness of subcutaneous fat, and limited nephroscope mobility and lower imaging availability of intrarenal structures that are at an angle from the puncture axis.

In addition, the need to move the patient from the supine to prone position requires participation of many staff and may be accompanied by injury to the patient, especially if he is significantly overweight. The prone position of obese patient may lead to ventilation-perfusion disorders associated with limited mobility of the respiratory muscles [12].

The disadvantages of different methods of surgical treatment of kidney and ureter stones in patients with high BMI prompted a search for the optimal way to achieve complete clearance of stones in such patients.

The development and improvement of equipment for transurethral interventions for kidney and ureteral stones, active introduction into clinical practice of flexible ureteropyeloscopes allow solving the problem of effective treatment of urolithiasis in obese patients. According

to study [13], the overall success rate using flexible ureterorenoscopy was comparable in patients with high BMI and patients with normal body weight, accounting for 68 and 67.4%, respectively, reaching 92.6% after the re-intervention. The percentage of the complete stone clearance decreased with increasing size of the original calculus and features of its localization. The average duration of TUL in overweight patients was 73–77 min [13]. However, this duration was largely because the study included patients with large renal stones greater than 3 cm, which required more time for stone disintegration. Similar results were obtained in a multicenter study [14].

In our work, TUL resulted in complete clearance of the kidney and ureter stones in 84.4% of cases, with an average TUL duration of 43.4 minutes, but in our study in 86.7% of cases the stone sizes ranged from 1.5 to 2.0 cm. These findings led to the conclusion that using transurethral flexible ureterorenoscopy in obese patients is not associated with an increase in difficulty as compared to non-obese patients. At the same time, rigid ureterorenoscopy in obese hypersthenic men certain problems may arise in advancing the tool into the upper urinary tract due to the so-called low-pubis – it is sometimes difficult or impossible to overcome the bladder curve of the ureter.

PCNL in the supine position is also considered advantageous for obese patients due to lower risk of cardiorespiratory disturbances during the intervention and reduced operative time because of avoiding patient repositioning on the table. J. Valdivia Uria et al. [15], first reported the possibility of performing this kind of surgery with complete clearance of stones in 93% of cases and average operative time of 85 minutes. Among the benefits of supine position, the authors noted the following: a comfortable position for the patient, feasibility of surgery in patients with obesity and related somatic disorders; fairly easy access to the kidney due to its location close to the abdominal wall; the ability to perform simultaneous percutaneous and transurethral interventions for patients with complex kidney stones. According to a randomized study by De M. Sio et al. [16] complete pyelocaliceal stone clearance with a minimum complication rate was observed on average in 90% of patients. The efficacy and safety of the method were comparable to those with standard patient positioning on the table. The average operative time was significantly shorter. The authors also noted that the spatial downward positioning of renal sheath, which usually happens in PCNL in supine position, maintained low pressure in the renal pelvis. This reduces the risk of the suction of irrigation fluid into the systemic circulation and may be clinically significant for patients with cardiovascular and respiratory diseases and obesity [16].

In our study, the effectiveness of PCNL in the supine position was 90.7% with an average operative time of 70.3 min, but in this group of patients there were no stones with a complex configuration and multiple stereometric kidney stones. Our own experience in PCNL in the supine position suggests several features of operation in obese patients besides the advantages described above. Puncture skin-to-kidney tract is usually shorter than with PCNL in prone position, and often Amplatz sheath is positioned downwards, which contributes to a better clearance of the fragments (*Fig. 3*) in the laser mini-PCNL and micro-PNCL in supine position. However, to ensure safe

access to the renal stone the access puncture is most often performed through a lower group of the calyces. This greatly restricts inspecting the cavity system that must be considered when choosing the surgical option. However, these shortcomings of PCNL in supine position are offset by the possibility of simultaneously conducting rigid and flexible ureteropyeloscopy.

The primary indications for PCNL with concurrent TUL in our opinion are: combined kidney and ureter stones, as well as multiple complex and staghorn kidney stones with complex stereometric configuration (Fig. 4). According to the study by C. Scoffone et al. [17], complete stone clearance after PCNL with concurrent TUL occurred in 81.9% of cases with average surgery duration of 70 min. In patients with remaining residual fragments, repeated percutaneous intervention increased SFR to 87.4%. In our work, combined transurethral and percutaneous access resulted in complete clearance of kidney and ureter stones in 88% of cases. The duration of surgery was 84.6 minutes, which was generally consistent with global data. It is necessary to take into account that combined PCNL and TULT requires special technical equipment in the operating room (2 endoscopic racks, 2 lithotripters, and others) and doubles the number of staff.

Transurethral ureteropyeloscopy is not associated with increasing complication rate. In the study [13] the rate of complications was 2.44%. No intraoperative complications were encountered. In our study, 13.5% patients in group 1 developed postoperative pyelonephritis. However, they were successfully treated with conservative measures by rationally selected antibiotics. The complication rate of PCNL in the supine position is also generally low and does not exceed that of PCNL in prone position.

One of the major challenges for any surgery in obese patients is moving him/her back from the operating table to trolley bed after surgery. Manual shifting of immobilized patients is associated with enormous physical challenges and a variety of potential hazards for both the patient and medical staff. To avoid traumatizing the patient and staff and prevent forced displacement or extraction of drainages, we used a special device to move the patient - relaying roller (rolbor). After the pre-alignment the height of the operating table and stretcher patient is tilted a little to the side. Thereafter the rolbor is brought under the patient and he/she is safely moved by roller device on the wheel stretcher (Fig. 5). This approach does not require numerous medical personnel.

Conclusion. High effectiveness of transurethral lithotripsy and percutaneous nephrolithotripsy in the supine position, the possibility of their combined application with a low complication rate and convenience for operating team and the patient, allow us to recommend these surgical modalities to treat patients with ureteral and kidney stones and concomitant obesity.

REFERENCES

1. Willett W., Dietz W., Colditz G. Guidelines for healthy weight. N. Engl. J. Med. 1999;341:427–434.
2. Popova I.R. The clinical characteristics and the prevalence of obesity according to the outpatient department of a multi-disciplinary hospital. Dr. Med. Sci. thesis. Sciences. M. 2013.
3. Taylor E., Stampfer M., Curhan G. Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. JAMA. 2005;293:455–462.
4. Duffey B., Pedro R., Kriedberg C., Weiland D., Melquist J., Ikramuddin S., Kellogg T., Makhoul A.A., Monga M. Lithogenic risk factors in the morbidly obese population. J. Urol. 2008;179:1401–1406.
5. Stevens J., Cai J., Pamuk E., Williamson D., Thun M., Wood J. The effect of age on the association between body-mass index and mortality. N. Engl. J. Med. 1998;338:1–7.
6. Dutov S.V., Martov A.G., Andronov A.S. Percutaneous nephrolithotripsy in supine position. Urologia. 2011; 2: 76–80.
7. Murota-Kawano A., Ohya K., Sekine H. Outpatient basis extracorporeal shock wave lithotripsy for ureter stones: efficacy of the third generation lithotripter as the first line treatment. Int. J. Urol. 2008;15:210–215.
8. Hammad F., Balakrishnan A. The effect of fat and nonfat components of the skin-to-stone distance on shockwave lithotripsy outcome. J. Endourol. 2010;24:1825–1829.
9. Delakas D., Karyotis I., Daskalopoulos G., Lianos E., Mavromanolakis E. Independent predictors of failure of shockwave lithotripsy for ureteral stones employing a second-generation lithotripter. J. Endourol. 2003;17:201–205.
10. Olivi B., Vedrine N., Costilles T., Boiteux J.P., Guy L. Extra corporeal shock wave lithotripsy in patients with body mass index over 35 kg/m². Prog. Urol. 2011;21:254–259.
11. Muñoz R., Tirolien P., Belhamou S., Desta M., Grimberg R., Dulys P., Chevallier H. Treatment of reno-ureteral lithiasis with ESWL in obese patients. Apropos of 150 patients. Arch. Esp. Urol. 2003;56:933–938.
12. Pump B., Talleruphuus U., Christensen N., Warberg J., Norsk P. Effects of supine, prone and lateral positions on cardiovascular and renal variables in humans. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2002;283:R174–180.
13. Doizi S., Letendre J., Bonneau C., Gil Diez de Medina S., Traxer O. Comparative study of the treatment of renal stones with flexible ureterorenoscopy in normal weight, obese, and morbidly obese patients. Urology. 2015;85(1):38–44.
14. Chew B., Zavaglia B., Paterson R., Teichman J., Lange D., Zappavigna C., Matlaga B., Nunez-Nateras R., Bruhn A., Altamar H., Humphreys M., Shah O., Miller N. A multicenter comparison of the safety and effectiveness of ureteroscopic laser lithotripsy in obese and normal weight patients. J. Endourol. 2013; 27(6):710–714.
15. Valdivia Urija J., Valle Gerhold J., Lopez Lopez J., Villarroya Rodriguez S., Ambroj Navarro C., Ramirez Fabián M., Rodriguez Bazalo J.M., Sánchez Elise M.A. Technique and complications of percutaneous nephroscopy: experience with 557 patients in the supine position. J. Urol. 1998;160:1975–1978.
16. De Sio M., Autorino R., Quarto G., Calabrò F., Damiano R., Giugliano F., Mordente S., D'Armiento M. Modified supine versus prone position in percutaneous nephrolithotomy for renal stones treatable with a single percutaneous access: a prospective randomized trial. Eur. Urol. 2008;54:196–202.
17. Scoffone C., Cracco C., Cossu M., Grande S., Poggio M., Scarpa R. Endoscopic combined intrarenal surgery in Galdakao-modified supine Valdivia position: a new standard for percutaneous nephrolithotomy? Urol. 2008;54/6:1393–1403.
18. Grasso M., Nord R., Bagley D. Prone split leg and flank roll positioning: simultaneous antegrade and retrograde access to the upper urinary tract. J. Endourol. 1993;7:307–310.
19. Shoma A., Erakay I., El-Kenawy M., El-Kappany H. Percutaneous nephrolithotomy in the supine position: technical aspects and functional outcome compared with the prone technique. Urology. 2002;60:388–392.
20. Rana A., Bhojwani J., Junejo N., Das Bhagia S. Tubeless PCNL with patient in supine position: procedure for all seasons? – with comprehensive technique. Urology. 2008;71:581–585.

Received 18.06.15

MARKERS OF KIDNEY DAMAGE AND NEPHROPROTECTIVE THERAPY IN RADICAL CYSTECTOMY

SBEI HPE «Bashkir State Medical University» of RMPH, Department of Urology with course of IPGE
(Head of the Department – V.N. Pavlov, Doctor of Medical Sciences, Professor), Ufa

Corresponding author: Ya.V. Kondratenko – PhD in Medical Sciences, Urologist at the Republican Clinical Hospital n.a.
G.G. Kuvatov; e-mail: yakov.kondratenko@gmail.com

The comparative analysis of changes of the functional (osmolar clearance and fractional excretion of urea) and structural (NGAL, β 2-microglobulin in the blood plasma, and NGAL, β 2-microglobulin, microalbumin in the urine) biomarkers of kidney damage before and at various stages after radical cystectomy was performed. The study included patients with T2N0M0 stage bladder cancer. The study group comprised 37 patients receiving nephroprotective treatment (N-acetylcysteine), the comparison group – 31 patients receiving conventional therapy. It was found that severity of kidney dysfunction and the incidence of chronic kidney disease in the long-term period after surgery decreased in the study group.

Key words: bladder cancer, markers of kidney damage, N-acetylcysteine, radical cystectomy

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Pavlov V.N., Pushkarev A.M., Kondratenko Ya.V., Safiullin R.I., Alekseev A.V. Markers of kidney damage and nephroprotective therapy in radical cystectomy. Urologia. 2015;5:27–30.

Introduction. Bladder cancer (BC) accounted for 2.7% of all new cases of malignant neoplasms in Russia in 2012. Incidence rate for BC for men (4.6%) was significantly higher than for women (1.1%) [1].

Water and electrolyte abnormalities in oncological diseases occur during the growth and spread of tumors, accompanied by tumor lysis syndrome and result in impairment of renal function [2]. These disorders also occur after the surgical treatment of cancer. Water and electrolyte abnormalities may also be the manifestation of paraneoplastic syndrome associated with ectopic production of biologically active hormone-like substances that regulate water and electrolyte metabolism [3].

A radical cystectomy is the “gold” standard treatment for muscle-invasive BC, after which the quality of life and life expectancy of BC patients depend on the type of urinary diversion [4–7]. The most used techniques for urinary diversion after cystectomy are the Studer orthotopic ileocystoplasty and the Bricker ileal conduit diversion [8, 9].

Incorporating bowel into the urinary tract causes obstruction, reflux and chronic bacteriuria predisposing to the kidney damage [10]. 21–36% of patients undergoing radical cystectomy, regardless of the type of urinary diversion, develop renal impairment in the late postoperative period [11, 12].

Diagnosis of renal damage is usually based on serum creatinine concentration and creatinine clearance which reflects glomerular filtration rate [13]. However, the latter is unreliable for several reasons, primarily because it detects the kidney damage that has already developed [14].

Chronic kidney disease (CKD) developing in the late postoperative period may decrease survival and quality of life. Using biomarkers for early detection of structural damage to the kidneys allows to predict the risk of long-term deterioration of renal function and to determine the prognosis of the disease [15].

Aim of the study: To improve treatment results for BC patients undergoing radical cystectomy by using

of markers of kidney damage and developing specific renoprotective therapy.

Materials and methods. The study group comprised 37 patients with histologically verified transitional cell bladder cancer who underwent surgery from 2011 to 2013. Patients in this group initially had high levels of biomarkers of renal injury and they received renoprotective therapy. The mean age of patients was 62.7 ± 6.9 years. The Studer orthotopic ileocystoplasty was performed in 20 patients. There were 8 (40%) and 12 (60%) patients with BC stage T2a and T2b, respectively. Radical cystectomy with the Bricker ileal conduit urinary diversion was carried out in 17 patients, 7 of them (41%) had BC stage T2a and 10 (59%) stage T2b.

Renoprotective therapy was based on N-acetylcysteine (N-AC) administered at the standard dosage: 1200 mg intravenously during surgery, followed by 600 mg intravenously 2 times daily for 72 hours, then orally 600 mg twice daily for 10 days. After hospital discharge, patients received repeated courses of N-AC once in 3 months at a dose of 1200 mg daily for 14 days. Follow-up examination at 6 months included a set of clinical and biochemical studies of blood and urine.

The comparison group comprised 31 patients with histologically verified transitional cell bladder cancer who underwent surgery in 2008–2010. They initially had high levels of biomarkers, but did not receive renoprotective therapy. The groups were comparable in age. No deaths were observed among operated patients of both groups. The control group comprised 30 healthy volunteers.

The comprehensive clinical examination of patients prior to surgery and on days 7, 14 and at 6 months post-surgery included testing for nitrogen metabolites (urea and creatinine), parameters of water and electrolyte status (the concentration of sodium ions, potassium, chloride and osmolarity) in serum and urine; biomarkers of kidney damage (neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), β 2-microglobulin) in the blood

plasma; NGAL, β_2 -microglobulin, and microalbumin in the urine.

For plasma sampling blood was taken in the morning from fasting patients in cooled EDTA tubes, the samples were then centrifuged at 0°C for 30 minutes then the plasma was transferred into plastic microtubes and stored at -70°C. For serum sampling blood was collected in the morning from fasting patients in serum separator tubes, then after coagulation they were centrifuged for 30 min. 24h urine was collected in a clean, dry container. Serum and urine samples were stored in microtubes at -70°C until the examination.

Osmolarity was measured using cryoscopic osmometer Osmomat 030 (Germany), the concentration of electrolytes was determined on EasyLyte analyzer (USA), serum creatinine and urea concentrations on Hitachi 902 analyzer (Japan) by a kinetic method using test kits «Roche Diagnostics» (Switzerland). The concentration of the biomarkers was determined by a competitive enzyme immunoassay using a Stat Fax-2100 microplate reader (USA). Calculation of concentration was conducted by a piecewise linear calibration.

Statistical tests were performed using the SPSS 8.0 software. Values are presented as the median (Me) and interquartile range (Q1-Q3). For comparing numerical data between three groups the Kruskal-Wallis test was used. Differences between groups were assessed using pairwise comparisons by Mann-Whitney U-test with Bonferroni adjustment for multiple comparisons (the significance level $p < 0,017$). Correlation analysis was performed using nonparametric Spearman's and Kendall's tests [16].

Results and discussion. Our previous study conducted in 2008–2010 showed statistically significant differences between the pre- and postoperative levels of functional markers – osmolar clearance and urea excretion fraction and structural biomarkers of early kidney damage – plasma NGAL and β_2 -microglobulin and urinary NGAL, β_2 -microglobulin and microalbumin [17]. The above indicators are the most informative and clinically significant in assessing renal function. Also investigated was the relationship between urine level of NGAL and

the development of CKD in the late postoperative period. It was found that the initial level of the biomarker higher than 7 ng/mL predicts a high risk of progressive decline in renal function.

Traditional postoperative care for BC patients after radical surgery in our clinic includes antibacterial therapy, infusions, pain management, thrombosis prevention, stimulation of gastrointestinal tract motility. The patients of the study group were additionally administered renoprotective therapy with N-AC.

Preoperative rates of osmolar clearance in patients of both groups were comparable and significantly lower than in the control group (*Table 1*). Within 7 days after the surgery, there was a statistically significant increase in this indicator in both groups while osmolar clearance in the control group was significantly higher. On day 14 a statistically significant decrease, and at 6 months – a significant increase in osmolar clearance was observed in the two groups; the difference between the groups in the late follow-up period reached statistical significance.

The levels of urea excretion fraction before surgery in both groups were also comparable and significantly lower than in the control group. On the 7th day there was a statistically significant increase, and on the 14th day – a decrease of this indicator in both groups. In the late follow-up period there was a decrease of urea excretion fraction in the comparison group ($p=0.88$) and an increase – in the study group ($p=0.01$); the difference between groups was statistically significant (*Table 1*).

Analysis of the above functional markers revealed impairment of concentrating and nitrogen excreting function of the kidneys in both groups. However, in patients receiving renoprotective therapy these changes were significantly lower, so in the long-term their postoperative renal function was better preserved.

The analysis of biomarkers of systemic reactions and kidney damage was conducted (*Table 2*). Plasma NGAL levels in both groups at baseline were significantly higher than in the control group. On day 7 after surgery it was found to be markedly increased in the comparison group ($p=0.31$) and decreased in the study group ($p=0.29$).

Table 1
Changes in estimated indicators of kidney function in patients with bladder cancer

Indicator	Control (n=30)		Before surgery				7 days after surgery				14 days after surgery				6 months after surgery			
			comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=20)		study group (n=25)	
	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃
Osmolar clearance, ml/min	3,06	2,16–4,02	1,79	1,29–1,92	1,82	1,23–2,01	2,31	1,71–2,41	2,65	1,99–2,82	1,19	0,97–1,35	1,32	1,07–1,43	1,65	1,37–1,96	2,07	1,71–2,37
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,91; p_4=0,01; p_5=0,25; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,01; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																	
Urea excretion fraction, %	35,8	28,73–44,92	25,8	22,3–30,03	26,1	23,14–31,92	35,2	29,12–39,54	36,4	29,42–39,89	25,3	21,72–30,4	27,1	22,11–36,35	23,6	21,64–29,09	31,7	27,13–37,97
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,89; p_4=0,78; p_5=0,71; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,01; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,88; p_{12}=0,01$																	

NOTE Here and in the *Table 2, 3*, significance of differences: p_1 – control and comparison group before surgery; p_2 – control and study group before surgery; p_3 – study group and comparison group before surgery; p_4 – study group and comparison group 7 days after surgery; p_5 – study group and comparison group 14 days after surgery; p_6 – study group and comparison group 6 months after surgery; p_7 – comparison group before and 7 days after surgery; p_8 – study group before and 7 days after surgery; p_9 – comparison group 7 and 14 days after surgery; p_{10} – study group 7 and 14 days after surgery; p_{11} – control group 14 days and 6 months after surgery; p_{12} – study group 14 days and 6 months after surgery.

Table 2

Changes in blood biomarkers of systemic reaction and kidney damage in bladder cancer patients

Indicator	Control (n=30)		Before surgery				7 days after surgery				14 days after surgery				6 months after surgery			
			comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=20)		study group (n=25)	
	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃
NGAL, ng/ml	15,2	12,3– 36,5	57,0	40,5– 75,0	55,3	35,2– 71,7	61,2	48,6– 84,2	50,1	33,2– 58,3	41,5	34,4– 46,5	29,5	24,8– 36,2	30,6	25,1– 36,3	20,4	12,8– 28,1
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,81; p_4=0,01; p_5=0,01; p_6=0,01; p_7=0,31; p_8=0,29; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																	
β_2 -micro- globulin, μg /ml	2,3	1,7– 3,2	6,1	4,3– 9,3	6,2	3,3– 9,1	6,6	3,4– 9,3	6,3	2,8– 9,2	6,7	3,3– 9,5	5,0	2,9– 6,3	4,5	2,5– 5,0	2,8	2,2– 3,7
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,92; p_4=0,88; p_5=0,01; p_6=0,01; p_7=0,87; p_8=0,96; p_9=1,00; p_{10}=0,21; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																	

On day 14 and at 6 months the concentration of NGAL significantly decreased in the two groups, but at all time points after surgery, it was statistically significantly lower in patients treated with N-AC.

Concentrations of β_2 -microglobulin before surgery in bladder cancer patients in both groups were also significantly higher than in the control group; they slightly increased in both groups on day 7. On day 14 there concentrations of β_2 -microglobulin slightly increased in the comparison group ($p=1.00$) and decreased in the study group – ($p=0.21$). In the long term concentrations of β_2 -microglobulin significantly decreased in both groups, but on day 14 and at 6 months its concentration in the study group was significantly lower than in the comparison group. Apparently, the lower levels of the studied proteins in the study group were due to ability of N-AC to reduce the severity of the inflammatory response, thereby reducing the secretion of plasma NGAL and β_2 -microglobulin by cells of the immune system.

Studying urinary biomarker of acute renal injury produced the following findings (Table 3). Baseline urinary NGAL in both groups was significantly higher than in the control group; on day 7 it slightly increased and on day 14 statistically significantly decreased in both groups. At 6 months, urinary NGAL concentrations significantly increased in patients of comparison group,

and a statistically significantly decreased in the study group. It should be noted that during all follow-up time-points, except day 14 after surgery, level of urinary NGAL in patients receiving renoprotective therapy remained significantly lower than in untreated patients. Antioxidant N-AC binds free radicals that cause multiple damages, including damage to renal tubules. Also N-AC interacts with the endothelium, acting as a relaxing factor, thereby increasing the capillary blood flow. In addition, N-AC increases the level of cGMP acting as a vasodilator and inhibitor of platelet aggregation. All the above provides renoprotective effect N-AC in the perioperative period, which is confirmed by a lower level of urinary and plasma NGAL in treated patients.

Before surgery β_2 -microglobulin level was comparable in both groups and was significantly higher than in the control group. The level of this protein in both groups slightly increased on day 7, but then significantly decreased on day 14. In the late follow-up, urinary β_2 -microglobulin concentration increased from baseline in the comparison group ($p=0.01$) and in the study group ($p=0.10$); at 6 months was significantly lower in patients treated with N-AC compared with patients of the comparison group.

Preoperative concentration of urinary microalbumin of patients in both groups was significantly higher than in

Table 3

Changes in the urinary biomarkers of kidney damage in bladder cancer patients

Indicator	Control (n=30)		Before surgery				7 days after surgery				14 days after surgery				6 months after surgery			
			comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=31)		study group (n=37)		comparison group (n=20)		study group (n=25)	
	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃
NGAL, μg /ml	1,4	0,5-1,6	18,3	11,1- 20,2	17,9	11,8- 18,7	24,4	18,1- 27,8	18,4	14,2- 19,4	16,6	9,5- 19,9	13,7	8,7- 15,4	23,7	16,8- 26,9	7,8	5,8- 11,1
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p^3=0,91; p_4=0,01; p_5=0,11; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,88; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																	
β ₂ -micro- globulin, μg /ml	0	0	0,33	0,26- 0,61	0,35	0,22- 0,62	0,38	0,31- 0,64	0,36	0,21- 0,60	0,13	0,10- 0,38	0,11	0,04- 0,34	0,46	0,37- 0,68	0,21	0,17- 0,38
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,98; p_4=1,00; p_5=0,99; p_6=0,01; p_7=0,94; p_8=0,99; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,10$																	
Microal- bumin, μg /ml	4,2	2,9- 12,9	501,4	454,7- 589,4	488,4	441,2- 577,5	382,2	266,5- 431,8	341,7	212,6- 349,8	255,3	201,3- 305,6	191,6	104,2- 268,9	236,9	142,3- 281,9	126,7	78,3- 172,8
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,81; p_4=0,01; p_5=0,01; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,01; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,39; p_{12}=0,01$																	

the control group. After the operation, concentration of urinary microalbumin decreased, and it was statistically significantly lower at all follow-up time-points in the group of patients who received renoprotective therapy.

It should be emphasized, that despite an initially high level of urine NGAL that reflects renal damage, in the late post-surgery period the number of patients with persistent impairment of nitrogen excreting function in the group treated with N-AC under the proposed scheme decreased by 41%, which demonstrates the effectiveness of renoprotective therapy.

Conclusion. Using N-acetylcysteine as a renoprotective agent reduced the extent of damage to the nephron structures, lowered the risk of post-operative complications associated with impairment of renal function in the long term, mitigated water and electrolyte and nitrogen imbalance, improved the quality of life of patients after radical surgery for bladder cancer.

REFERENCES

1. Malignant neoplasms in Russia in 2012 (morbidity and mortality). Ed. A.D. Kaprin, V.V. Starinskij, G.V. Petrova. M.: FSBI «FMRC n.a. P.A. Herzen» of the Minzdrav of Russia, 2014. 250 p.
2. Mitiadous G., Christidis D., Kalogirou M., Elisaf M. Causes and mechanisms of acid-base and electrolyte abnormalities in cancer patients. *Eur. J. Intern. Med.* 2008;19(1):1–7.
3. Shibata H. Cancer and electrolytes imbalance. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2010;37(6):1006–1010.
4. Matveev B.P. Bladder cancer. *Clinical oncurology.* M.: Verdana. 2003. 406 p.
5. Kogan M.I., Vasil'ev O.N. Comparative analysis of the results of radical cystectomy and urinary diversion by intestinal anastomosis using surgical stitching devices and manual stitching. *Oncurology.* 2012; 1: 36–42.
6. Veliev E.I. Loran O.B. The problem of urinary diversion after radical cystectomy and modern approaches to its solution. *Practical Oncology.* 2003; 4 (4): 231–234.
7. Glybochko P.V., Ponukalin A.N., Mitryaev Yu.I., Galkina N.G. Quality of life and long-term results of radical cystectomy in patients with invasive bladder cancer. *Saratov Journal of Medical Science.* 2008; 4 (3): 97–101.
8. Clinical guidelines. *Urology.* Ed. Lopatkin N.A. 2nd ed., Rev., M. GEOTAR Media. 2013. 416 p.
4. Matveev B.P. Bladder cancer. *Clinical oncurology.* M.: Verdana. 2003. 406 p.
5. Kogan M.I., Vasil'ev O.N. Comparative analysis of the results of radical cystectomy and urinary diversion by intestinal anastomosis using surgical stitching devices and manual stitching. *Oncurology.* 2012; 1: 36–42.
6. Veliev E.I. Loran O.B. The problem of urinary diversion after radical cystectomy and modern approaches to its solution. *Practical Oncology.* 2003; 4 (4): 231–234.
7. Glybochko P.V., Ponukalin A.N., Mitryaev Yu.I., Galkina N.G. Quality of life and long-term results of radical cystectomy in patients with invasive bladder cancer. *Saratov Journal of Medical Science.* 2008; 4(3): 97–101.
8. Clinical guidelines. *Urology.* Ed. Lopatkin N.A. 2nd ed., Rev., M. GEOTAR Media. 2013. 416 p.
9. Thuraija R., Burkhard F.C., Studer U.E. The orthotopic neobladder. *BJU Int.* 2008;102(9):1307–1313.
10. Kristjansson A., Mansson W. Renal function in the setting of urinary diversion. *World J. Urol.* 2004;22(3):172–177.
11. Jin X.D., Roethlisberger S., Burkhard F.C., Birkhaeuser F., Thoeny H.C., Studer U.E. Long-term renal function after urinary diversion by ileal conduit or orthotopic ileal bladder substitution. *Eur. Urol.* 2012;61(3):491–497.
12. Eisenberg M.S., Thompson R.H., Frank I., Kim S.P., Cotter K.J., Tollefson M.K., Kaushik D., Thapa P., Tarrell R., Boorjian S.A. Long-term renal function outcomes after radical cystectomy. *J. Urol.* 2014;191(3):619–625.
13. Gorda I.I., Bezrodnyi A.B., Vasilenko O.V., Dan'kevich I.V. Markers of acute kidney injury. *Serce i sudini.* 2012; 3: 108–113.
14. Murray P.T., Devarajan P., Levey A.S., Eckardt K.U., Bonventre J.V., Lombardi R., Herget-Rosenthal S., Levin A. A framework and key research questions in AKI diagnosis and staging in different environments. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008;3:864–868.
15. Glybochko P.V., Rossolovskii A.N., Ponukalin A.N., Blyumberg B.I., Berezinets O.L. Monocyte chemotactic protein-1 and β_2 -microglobulin in the evaluation of renal parenchymal damage in the surgical treatment of nephrolithiasis. *Urologiia.* 2012;1:4–10.
16. Rebrova O.Iu. Statistical analysis of medical data. Application of the software package STATISTICA. Moscow, MediaSphere Publ., 2006. 305 p.
17. Pavlov V.N., Pushkarev A.M., Kondratenko Ya.V. et al. Methods for assessing renal dysfunction in bladder cancer and its radical surgical treatment. *Medical bulletin of Bashkortostan.* 2015;3:108–111.

Received 14.05.15

PCA3 AND TMPRSS2:ERG GENES EXPRESSION IN BIOPSIES OF BENIGN PROSTATE HYPERPLASIA, INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA, AND PROSTATE CANCER

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology – branch of the National Medical Research Radiological Centre at the Ministry of Health of Russian Federation; ²Research Centre for Medical Genetics; Russia, Moscow

Corresponding author: D.S. Mikhaylenko – PhD; e-mail: dimserg@mail.ru

Morphological analysis of biopsy specimens in suspected prostate cancer (PCa) is often a difficult task due to the heterogeneity and multifocality of tumors. At the same time, a lot of data exist about the potential molecular genetic markers of PCa. The aim of our study was to determine (PCA3 and TMPRSS2:ERG genes expression in benign hyperplasia (BPH), low and high grade intraepithelial neoplasia (PIN), PCa for revealing diagnostic value of those genes expression in benign and precancerous changes in the prostate. Total RNA was isolated from 53 biopsies, reverse transcription was performed, gene expression was determined by real time PCR (RT-PCR) then deltaCt index was determined as Ct(PCA3) – Ct(KLK3). Average deltaCt and its SD in BPH were 8,28±3,13, low PIN – 8,56±2,64, high PIN – 8,98±1,69, PCa – 1,08±2,36. We have demonstrated that deltaCt did not differ in patients with BPH, low and high grade PIN, whereas it was significantly increased in PCa relative to any of the three groups listed above (p < 0.0001). Expression of TMPRSS2:ERG was absent in BPH, PIN, but it was detected in 40% (4/10) of PCa cases. ROC-analysis showed that the AUC (area under ROC-curve with 95% CI, p < 0.0001) was 0,98 ± 0,02 in the analysis of a combination of overexpression of PCA3 and TMPRSS2:ERG. Thus, the expression analysis of the PCA3 and chimeric oncogene TMPRSS2:ERG in biopsy cannot be used for differential diagnosis of BPH, low and high grade PIN. However, overexpression of PCA3 and expression of TMPRSS2:ERG is characteristic in PCa. Expression analysis of these genes by the proposed RT-PCR modification at the at deltaCt threshold of 3,22 has diagnostic accuracy of 90% to detect PCa in biopsy specimens.

Key words: prostate cancer, biopsy, real time PCR, PCA3 expression, TMPRSS2:ERG gene

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Mikhaylenko D.S., Perepechin D.V., Grigoryeva M.V., Zhinzhiro T.A., Safronova N.Yu., Efremov G.D., Sivkov A.V. PCA3 and TMPRSS2:ERG genes expression in biopsies of benign prostate hyperplasia, intraepithelial neoplasia, and prostate cancer. Urologia. 2015;5:46–50.

Prostate cancer (PCa) is one of the most common tumors in the male population of Russia, and also in the structure of malignant neoplasms' morbidity and mortality [1]. Prostate-specific antigen (PSA) measurement in blood is the screening test for prostate cancer and in repeated positive result of PSA measurement biopsy is indicated. Morphological examination requires highly qualified pathologist and it is not always possible to detect prostate cancer in prostate biopsy specimens due to tumors heterogeneity and multifocality. Frequently benign prostatic hyperplasia (BPH) glandular structures neighbor intraepithelial neoplasia (PIN) foci and adenocarcinoma of various grades [2].

Nowadays, there is a data on molecular and genetic disorders accompanying prostate cancer, and some of them are considered diagnostic markers. In particular, the method of differential display revealed cDNA of PCA3 gene (prostate cancer gene 3), which is characterized by overexpression in prostate cancer. PCA3 gene product refers to a non-coding RNA, represented by a number of isoforms due to alternative splicing, different sites of initiation and termination of transcription. It is located within intron 6 of PRUNE2 gene involved in regulation of cell proliferation [3, 4]. It has been shown that PCA3 expression in prostate adenocarcinoma is 60–70-fold increased compared with morphologically normal tissue [5].

PCA3 expression analysis related to tissue-specific control of KLK3 gene expression in urine by ProgenSA

assay kit («Gene-Probe Inc», USA) is used to decide if repeat biopsy is needed in patients with suspected prostate cancer, elevated PSA level and negative result of the first biopsy [6]. It also has been shown in studies of more than 3,000 patients that PCA3 expression analysis in urine is an independent predictor of prostate cancer detection and can be used for primary diagnosis [7].

Compared to normal tissues the PCA3 gene is overexpressed in tumors. At the same time, any tumor marker, characterized by increased values in tumors also may have a “grey zone” of boundary values. A problem related to that is a problem to define the boundary PCA3 expression values. For example ProgenSA prostate cancer diagnostic threshold is 35 points, to increase sensitivity of the test for screening purposes it may be reduced to 20–25 points [8, 9]. It has been shown that PCA3 expression analysis in urine cannot be used for the diagnosis of precancerous changes (PCa against PIN or BPH), although the difference in expression of this gene in biopsy specimens of prostate cancer, PIN, BPH and normal tissue, as well as the impact of invasive diagnostic procedures and other factors on its expression remain the subject of debate [10–12]. PCA3 expression analysis is an informative method for the diagnosis of prostate cancer, but for a wide range of PCA3 application as an individual marker an increase its diagnostic accuracy is needed. This can be achieved by multiplex PCA3 analysis together with other genes

characterized by prostate cancer specific expression, such as *TMPRSS2:ERG*. There are chimeric genes generated in prostate cancer and presented by fusion products of the 5'-untranslated region of *TMPRSS2* gene with genes of transcription factors of ETS family. In most cases, the chimeric gene is represented by *TMPRSS2:ERG*, which is detected in 30–50% of cases in prostate cancer. The formation of the chimeric oncogene is an early event in carcinogenesis of prostate cancer. There are various data on its frequency in hyperplastic tissue and precancerous changes of the prostate: some authors indicate that *TMPRSS2:ERG* is absent in BPH and normal tissue [13, 14], others have found its expression in the 8% of BPH and 15% of morphologically normal tissue adjacent to the prostate cancer [15]. In high and low grades PIN foci (HG PIN and LG PIN respectively) the expression of *TMPRSS2:ERG* was detected in 10–15% of cases [16, 17]. In other words, additional validation is required to estimate high specificity of this change in prostate cancer compared to normal value of *TMPRSS2:ERG* and its use as marker for the differential diagnosis of prostate cancer and precancerous lesions and HG PIN in particular.

The aim of this study was to determine *PCA3* and *TMPRSS2:ERG* gene expression in biopsy specimens of BPH, HG PIN, LG PIN and prostate cancer to discover their diagnostic significance in benign and precancerous changes of the prostate.

Materials and methods. 53 biopsy specimens were investigated, including 10 samples of prostate cancer (adenocarcinoma), 9 HG PIN, 21 LG PIN and 13 BPH samples without PIN. All samples were characterized by the pathologist and annotated with related clinical data.

Isolation of total RNA were carried out using RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit («Ambion», USA) by adsorption of nucleic acids on column with DNase treatment, followed by washing in alcohol solutions and RNA elution in TE buffer.

Reverse transcription was made by annealing of random oligonucleotides using High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit («Applied Biosystems», USA) in a reaction volume of 20 µl according to the manufacturer's recommendations.

Polymerase chain reaction in real time (RT-PCR) was performed to determine the expression of genes *PCA3*, *TMPRSS2:ERG* with respect to both internal and tissue-specific control (*GAPDH* and *KLK3* genes respectively). The reaction mixture contained 1 µl of cDNA solution obtained in the previous step, 10 µl of buffer mixture with polymerase according to the manufacturer's protocol, 8 µl of deionized water, 1 µl of primers mixture and TaqMan-probe: *PCA3* – Hs01371939_g1 (FAM), *TMPRSS2:ERG* – Hs03063375_ft (FAM), *KLK3* – Hs02576345_m1 (FAM), *GAPDH* – huGAPDH-4326317E (VIC) («Applied Biosystems», USA).

Temperature settings were 95°C for 10 minutes, followed by 47 cycles of 95°C for 15 sec and 60°C for 1 min. Each gene in a separate sample was analyzed in triplicate, to determine the average value of the threshold cycle (Ct – threshold cycle), the maximum value was taken to be 45 cycles (Figure 1). RT-PCR was performed in the detecting thermal cycler StepOnePlus («Applied Biosystems», USA).

Statistical analysis of the results included the evaluation of the indicator delta Ct of the investigated gene in comparison with to endogenous control; using this

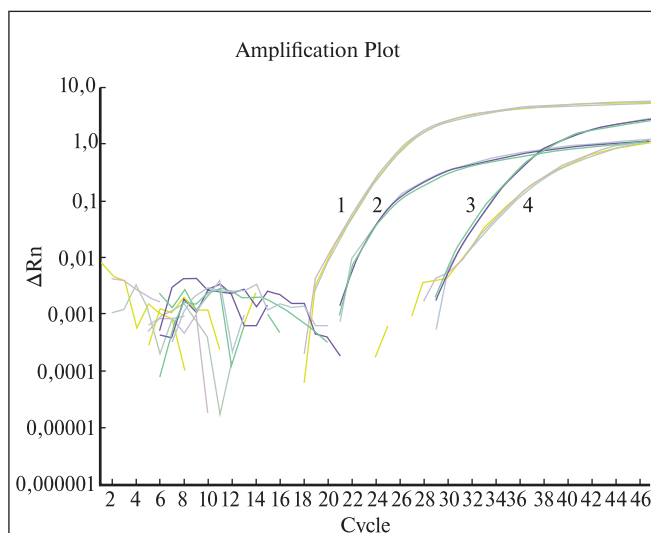


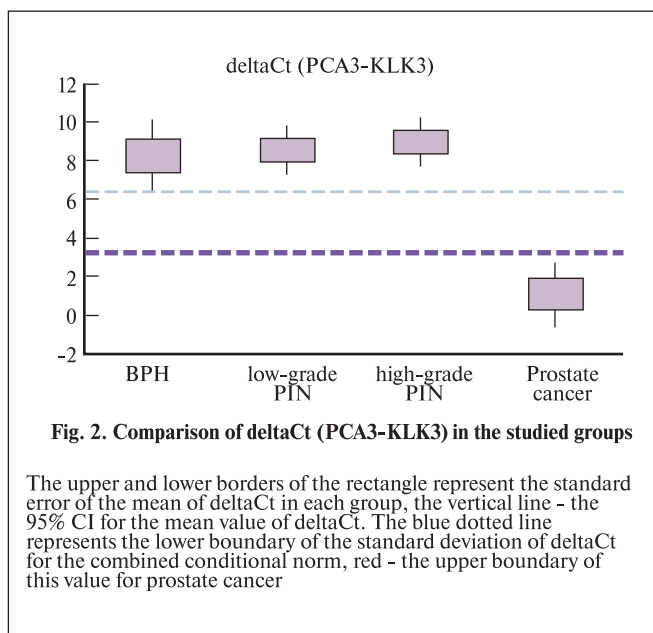
Fig. 1. Determination of the expression of genes RSA3 and TMPRSS2:ERG by RT-PCR

Plots of accumulation of the fluorescent signal in the specimens with overexpression of RSA3 and expression of TMPRSS2:ERG; 1 – gene RSA3, 2 – tissue-specific control (*KLK3* gene), 3 – gene TMPRSS2:ERG, 4 – internal control (*GAPDH* gene). Normalization of the signal was performed by ROX reference dye.

indicator in comparison of groups by two-way t-test with the Welch amendment; the definition of 95% confidence intervals (CI). Diagnostic accuracy of *PCA3* as a single marker as well as combinations of overexpression *PCA3* and *TMPRSS2:ERG* were determined. In comparative analysis of deltaCt criterion and in charting GraphPad Prism 6 and Microsoft Excel programs were applied.

Results The quality of mRNA selection and reverse transcription was checked by internal control of *GAPDH* gene expression found in all the analyzed samples. PSA encoding *KLK3* was used for an endogenous control, it is characterized by tissue-specific expression and often used as a control for comparative analysis of gene expression in the prostate [18, 19]. Ct for the studied genes *PCA3* and *TMPRSS2:ERG* was determined simultaneously with the control. For each sample, deltaCt value was calculated by following formula: $Ct(PCA3) - Ct(KLK3)$. Then the mean deltaCt value and standard deviation were determined in each of the four studied groups. The more intense *PCA3* expression was detected, the closer was the location of Ct point of this gene to location of Ct of the *KLK3* gene, consequently, the deltaCt value was lower. In BPH the average deltaCt value was 8.28 ± 3.13 , this parameter value for LG PIN was 8.56 ± 2.64 , for HG PIN and cancer – 8.98 ± 1.69 and 1.08 ± 2.36 respectively. DeltaCt did not differ in patients with BPH, HG PIN and LG PIN ($p > 0.05$), whereas it was significantly higher in PCa regarding to any of the above three groups ($p < 0.0001$, Fig. 2). Then BPH and PIN of different grades were merged into one control group (43 samples of conditional standard). When comparing deltaCt between PCa and the merged conditional normal group the differences were also statistically significant ($p < 0.0001$).

Next, the diagnostic sensitivity, specificity and accuracy of *PCA3* overexpression were calculated. ROC analysis showed that the AUC (area under the ROC-curve with a 95% CI, $p < 0.0001$) was 0.98 ± 0.02 , which was high compared to other laboratory tests. The mean deltaCt value for the conditional normal group was 8.56 ± 2.59 ,



with 90% of the PCa deltaCt values lying outside two standard deviations from the combined control. When the threshold deltaCt level was equal to 3.22, an optimal ratio of diagnostic sensitivity and specificity of 90% was reached (95% CI – 55,5-99,8) and 97.7% (95% CI – 87,7–99,9) respectively.

The expression of the chimeric oncogene *TMPRSS2:ERG* was absent in BPH, as well as in low and high grade PIN, however it was detected in 40% (4 of 10) of cases in prostate cancer. Like in the *PCA3* case first three groups were combined into one control group. If *PCA3* overexpression threshold deltaCt would be estimated at level of 3.22 and if the presence of *TMPRSS2:ERG* expression would be estimated as combination of two independent classifiers in verifying the sample to control value or prostate cancer value, the diagnostic accuracy in our study did not change (90%). However, given the frequency of occurrence of *TMPRSS2:ERG*, it can rise up to 94% with increase in prostate cancer samples number.

Discussion. *PCA3* overexpression in prostate cancer relative to the control group (BPH, PIN) was observed in 90% of cases, which corresponds to the data of other authors describing an increase in the expression of this gene in prostate cancer in 90-95% of cases [10]. These results are consistent with those works in which *PCA3* overexpression was significantly different in prostate cancer compared to other pathological changes in the prostate gland. However, these results do not confirm *PCA3* expression differences between HG PIN and BPH [20]. The results obtained in our study characterize *PCA3* expression in tissues.

Evaluation of the expression of this gene in the urine sediment is recommended for prostate cancer diagnostics when deciding whether re-biopsy with increasing PSA levels and negative result of the first biopsy is needed, but also does not allow us to differentiate between prostate cancer and both PIN and BPH [21]. It was shown not only in the first studies on the use of *PCA3* test in urine sediment with a threshold *PCA3*-Score level of 35, but also in the meta-analysis, with the subgroups of HG PIN and atypical small acinar proliferation at a threshold *PCA3*-Score level of 20 [22].

The differences in results can be attributed, in particular, to different design options of the oligonucleotides. *PCA3* gene consists of four exons, its RNA undergoes alternative splicing, mostly by exon 2, various options are possible for initiation and termination of transcription, sites of polyadenylation in exon 4 in different cells.

As a result, exon 2 is present in 5% of the cDNA cells, all the other exons comprise 65% of the transcripts, and only exons 3 and 4 are characterized by prostate specific expression. Thus, the versions of the primers for PCR primers that allow to amplify cDNA *PCA3* portion only are described, e.g., in a cell line LNCaP, in prostate cancer metastases but not in normal tissue or BPH [23]. In *PCA3* expression studies of PCa using RT-PCR only prostate specific primers and probes are preferred for exons 3 and 4 joint region [24], which makes them largely complementary not only to cDNA but also to genomic DNA and require treatment of the sample with the excess of DNase before reverse transcription.

Recommended by «Applied Biosystems» company version of the design of primers Hs01371939_g1 probe has been successfully applied to the RT-PCR cDNA *PCA3* in our study as well as by other authors [25]. Methods of *PCA3* expression relative to a control of *KLK3* also differ: in the diagnosis using Progenza set *PCA3*-Score, equal to 10^3 times the ratio of the number of mRNA copies to the number of *PCA3* mRNA copies *KLK3* [7] is applied; there are other options for RT-PCR, for example $1/(Ct(PCA3)/Ct(KLK3))$ [25] or the $Ct(PCA3)-Ct(KLK3)$ [25]. The character of relative *PCA3* expression presentation does not matter. It is essential that regardless of the calculation method this marker would allow to set the threshold level to a high diagnostic accuracy.

There was 40% frequency of *TMPRSS2:ERG* expression in PCa in our study, in normal tissue the *TMPRSS2:ERG* was absent, which generally corresponds to the data presented by other authors [26, 27]. The wide frequency range (30–50%) of *TMPRSS2:ERG* detection is determined by differences in detection techniques and objective reasons. Among the latter, the repression of androgen sensitive genes including *TMPRSS2:ERG* in hormone-sensitive tumors during antiandrogens treatment; the predominance of ERG-negative cells in tumors carrying *SPOP* point mutations and *CDH1* deletions [28].

Immunohistochemical staining for ERG, FISH with probes on the field deletions (translocation) or RT-PCR on mRNA *TMPRSS2:ERG* is used by various authors to determine the *TMPRSS2:ERG* [29]. In our study we found no HG PIN samples with *TMPRSS2:ERG*. However, according to other authors data, the 10–20% detection rate of this gene in HG PIN was found, and the sensitivity of FISH was higher than RT-PCR sensitivity [26–30]. On one hand, the immunohistochemical determination of ERG expression seems most reasonable in identifying final protein product, regardless of chimeric oncogene formation method (deletion or translocation) and the degree of mRNA degradation in the paraffin block. In addition, about 20 variants of mRNA *TMPRSS2:ERG* were described, the most common found was the product of *TMPRSS2* exon 1 to ERG exon 4 fusion (it was investigated in our study, and by majority of other authors). This analysis did not cover *TMPRSS2* exon 2 to ERG exon 4 fusion, the second frequently found isoform [31]. On the other hand, ERG expression and therefore

the sensitivity of immunohistochemical methods can be reduced in hormone refractory prostate cancer, where *TMPRSS2:ERG* is observed in 20% of cases according to FISH analysis with lack of ERG expression, and also in prostate cancer with neuroendocrine differentiation and signaling pathway repression of androgen receptor [32].

According to FISH-analysis done by some foreign authors, the *TMPRSS2:ERG* 8% frequency was found in BPH [30], whereas in the work of other researchers and in our study chimeric gene was absent [33]. It should be noted that in the mentioned work with FISH-positive result in BPH group patients the LG PIN carrying patients were not allocated, it was impossible to exclude patients with undiagnosed at the study time tumors [30].

In some cases, ERG overexpression was not determined by *TMPRSS2:ERG*, but caused by ERG and other androgen dependent genes (*SLC45A3* or *NDRG1*) fusion; moreover, it is not possible to exclude the non-compliance of the results found due to genetic heterogeneity of multifocal prostate cancer by the presence of *TMPRSS2:ERG* in different tumor clones [33]. *TMPRSS2:ERG* expression in high-grade PIN is considered as unfavorable criterion: as PIN with ERG-positive status more often and more quickly turns into PCa compared to PIN with ERG-negative status. [34]. According to a meta-analysis, FISH and RT-PCR have similar sensitivity which exceeds the sensitivity of immunohistochemical analysis. FISH thus is described as a more specific method for detecting of *TMPRSS2:ERG* in tissue [27]. The increase in expression markers sensitivity panel investigated in our study can be achieved by multiplex analysis with other genes which expression is specific for prostate cancer, such as *KLK2*, *DLX1* and others [35]. Also there is an opinion that diagnostic accuracy improvement could be reached with inclusion of *PCA3* expression in risk calculators based the patient clinical data such as age, PSA level, prostate volume, the result of digital rectal examination, the phi index (prostate health index, which takes into account concentrations of free and total PSA, and (-2) proPSA) [36, 37]. The development of molecular markers test systems for the diagnosis of prostate cancer has been increasing rapidly over the past two years. In addition to the FDA-approved tests for estimating phi and Progens kit, the OncotypeDX and ProlarisScore (detection of the 12-th and 46-th genes expression, respectively, involved in carcinogenesis in prostate cancer) sets were designed [38].

Conclusions. Thus, our study confirms *PCA3* overexpression in prostate cancer biopsy specimens when compared with BPH and PIN specimens. At the same time, the analysis of *PCA3* and chimeric oncogene *TMPRSS2:ERG* expression does not allow differentiate diagnostics between BPH and PIN of low and high grade. The analysis of these genes expression by the proposed modification of RT-PCR with the threshold deltaCt level of 3,22, allows prostate cancer detection in biopsies with a diagnostic accuracy of 90%.

REFERENCES

1. Malignant neoplasm in Russia in 2012 (morbidity and mortality) Ed. Kaprin A.D., Starinskiy G.V., Petrova M. FGBU "Herzen MNIOI" Ministry of Healthcare, Russian Federation, 2014, 250 p.
2. Palcev M.A., Zaletaev D.V. Genetic and epigenetic markers systems in diagnostics of oncological disease. M., Medicina, 2009. 1531–87.
3. Clarke R.A., Zhao Z., Guo A.Y., Roper K., Teng L., Fang Z.M., Samarantunga H., Lavin M.F., Gardiner R.A. New genomic structure for prostate cancer specific gene 3 (*PCA3*) within BMM1: implication for prostate cancer detection and progression. PLoS ONE. 2009;4(3):e4995.
3. Efremov G.D., Sivkov A.V., Mikhaylenko D.S., Grigoryeva M.V. Combination of *PCA3* и *TMPRSS2-ERG* markers in early diagnostics of prostate cancer (review). Experimental and clinical urology, 2014; 3:20–26.
5. Killick E., Bancroft E., Kote-Jarai Z., Eeles R. Beyond prostate-specific antigen future biomarkers for the early detection and management of prostate cancer. Clin. Oncol. 2012;24:545–555.
6. Kirby R., Fitzpatrick J.M. Optimising repeat prostate biopsy decisions and procedures. BJU Int. 2012;109(12):1750–1754.
7. Chevli K.K., Duff M., Walter P., Yu C., Capuder B., Elshafei A., Malczewski S., Kattan M.W., Jones J.S. Urinary *PCA3* as a Predictor of Prostate Cancer in a Cohort of 3,073 Men Undergoing Initial Prostate Biopsy. J. Urol. 2014;191(6):1743–1748.
8. Capoluongo E., Zambon C.F., Basso D., Bocchia S., Rocchetti S., Leoncini E., Palumbo S., Padoan A., Albino G., Todaro A., Prayer-Galetti T., Zattoni F., Zuppi C., Plebani M. *PCA3* score of 20 could improve prostate cancer detection: results obtained on 734 Italian individuals. Clin. Chim. Acta. 2014;429:46–50.
9. Pepe P., Fraggetta F., Galia A., Skonieczny G., Aragona F. *PCA3* score and prostate cancer diagnosis at repeated saturation biopsy. Which cut-off: 20 or 35? Int. Braz. J. Urol. 2012;38(4):489–495.
10. De Luca S., Passera R., Milillo A., Coda R., Randone D.F. Histological chronic prostatitis and high-grade prostate intra-epithelial neoplasia do not influence urinary prostate cancer gene 3 score. BJU Int. 2012;110(11 Pt B):E778–E782.
11. De Luca S., Passera R., Cappia S., Bollito E., Randone D.F., Milillo A., Papotti M., Porpiglia F. Fluctuation in prostate cancer gene 3 (*PCA3*) score in men undergoing first or repeat prostate biopsies. BJU Int. 2014;114:E56–E61.
12. Klatte T., Waldert M., de Martino M., Schatzl G., Mannhalter C., Remzi M. Age-specific *PCA3* score reference values for diagnosis of prostate cancer. World J. Urol. 2012;30:405–410.
13. Chan S.W., Nguyen P.N., Violette P., Brimo F., Taguchi Y., Aprikian A., Chen J.Z. Early detection of clinically significant prostate cancer at diagnosis: a prospective study using a novel panel of *TMPRSS2:ETS* fusion gene markers. Cancer Med. 2013;2(1):63–75.
14. Young A., Palanisamy N., Siddiqui J., Wood D.P., Wei J.T., Chinnaiyan A.M., Kunju L.P., Tomlins S.A. Correlation of urine *TMPRSS2:ERG* and *PCA3* to ERG+ and total prostate cancer burden. Am. J. Clin. Pathol. 2012;138(5):685–696.
15. Robert G., Jannink S., Smit F., Aalders T., Hessels D., Cremers R., Mulders P.F., Schalken J.A. Rational basis for the combination of *PCA3* and the *TMPRSS2:ERG* gene fusion for prostate cancer diagnosis. Prostate. 2013;73(2):113–120.
16. Park K., Dalton J.T., Narayanan R., Barbieri C.E., Hancock M.L., Bostwick D.G., Steiner M.S., Rubin M.A. *TMPRSS2:ERG* gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. J. Clin. Oncol. 2014;32(3):206–211.
17. Leyten G.H., Hessels D., Jannink S.A., Smit F.P., de Jong H., Cornel E.B., de Reijke T.M., Vergunst H., Kil P., Knipscheer B.C., van Oort I.M., Mulders P.F., Hulsbergen-van de Kaa C.A., Schalken J.A. Prospective multicentre evaluation of *PCA3* and *TMPRSS2:ERG* gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers of prostate cancer. Eur Urol. 2014;65(3):534–542.
18. Goode R.R., Marshall S.J., Duff M., Chevli K.K. Use of *PCA3* in detecting prostate cancer in initial and repeat prostate biopsy patients. Prostate. 2013;73(1):48–53.
19. Hansen J., Auprich M., Ahyai S.A. Initial prostate biopsy: development and internal validation of a biopsy-specific nomogram based on the prostate cancer antigen 3 assay. Eur. Urol. 2013;63(2):201–209.
20. De Luca S., Passera R., Bollito E., Manfredi M., Scarpa R.M., Sottile A., Randone D.F., Porpiglia F. Comparison of prostate cancer gene 3 score, prostate health index and percentage free prostate-specific antigen for differentiating histological inflammation from prostate cancer and other non-neoplastic alterations of the prostate at initial biopsy. Anticancer Res. 2014;34:7159–7166.
21. Merola R., Tomao L., Antenucci A., Sperduti I., Sentinelli S., Masi S., Mandoj C., Orlandi G., Papalia R., Guaglianone S., Costantini M.,

- Cusumano G., Cigliana G., Ascenzi P., Gallucci M., Conti L. *PCA3* in prostate cancer and tumor aggressiveness detection on 407 high-risk patients: a National Cancer Institute experience. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2015;34:15.
22. Luo Y., Gou X., Huang P., Mou C. The *PCA3* test for guiding repeat biopsy of prostate cancer and its cut-off score: a systematic review and meta-analysis. *Asian J. Androl.* 2014;16:487–492.
 23. Wang Y., Liu X.J., Yao X.D. Function of *PCA3* in prostate tissue and clinical research progress on developing a *PCA3* score. *Chin. J. Cancer Res.* 2014;26(4):493–500.
 24. Ng C.F., Yeung R., Chiu P., Lam N.Y., Chow J., Chan B. The role of urine prostate cancer antigen 3 mRNA levels in the diagnosis of prostate cancer among Hong Kong Chinese patients. *Hong Kong Med. J.* 2012;18:459–465.
 25. Foj L., Mila M., Mengual L., Luque P., Alcaraz A., Jiménez W., Filella X. Real-time PCR *PCA3* assay is a useful test measured in urine to improve prostate cancer detection. *Clinica Chimica Acta.* 2014;435:53–58.
 26. Chan S.W., Nguyen P.N., Violette P., Brimo F., Taguchi Y., Aprikian A., Chen J.Z. Early detection of clinically significant prostate cancer at diagnosis: a prospective study using a novel panel of TMPRSS2:ETS fusion gene markers. *Cancer Medicine.* 2013;2(1):63–75.
 27. Yao Y.H., Wang H., Li B.G., Tang Y. Evaluation of the *TMPSRS2:ERG* fusion for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol.* 2014;35(3):2157–2166.
 28. Taris M., Irani J., Blanchet P., Multigner L., Cathelineau X., Fromont G. *ERG* expression in prostate cancer: the prognostic paradox. *Prostate.* 2014;74:1481–1487.
 29. Eguchi F.C., Faria E.F., Neto C.S., Longatto-Filho A., Zanardo-Oliveira C., Taboga S.R., Campos S.G. The role of *TMPSRS2:ERG* in molecular stratification of Pca and its association with tumor aggressiveness: a study in Brazilian patients. *Sci Rep.* 2014;35:9597–9602.
 30. Velarti S., Dimitriadis E., Kontogianni-Katsarou K., Savvani A., Sdrolia E., Pantazi G., Stefanakis S., Trangas T., Pandis N., Petraki K. Detection of *TMPSRS2:ERG* fusion gene in benign prostatic hyperplasia. *Tumor Biol.* 2014;35:9597–9602.
 31. Burdova A., Bouchal J., Tavandzis S., Kolar Z. *TMPSRS2-ERG* gene fusion in prostate cancer. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech. Repub.* 2014;158(4):502–510.
 32. Udager A.M., Shi Y., Tomlins S.A., Alva A., Siddiqui J., Cao X., Pienta K.J., Jiang H., Chinnaiyan A.M., Mehra R. Frequent discordance between *ERG* gene rearrangement and *ERG* protein expression in a rapid autopsy cohort of patients with lethal, metastatic, castration-resistant prostate cancer. *Prostate.* 2014;74(12):1199–1208.
 33. Tandefelt D.G., Boormans J., Hermans K., Trapman J. *ETS* fusion genes in prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer.* 2014;21:R143–R152.
 34. Park K., Dalton J.T., Narayanan R., Barbieri C.E., Hancock M.L., Bostwick D.G., Steiner M.S., Rubin M.A. *TMPSRS2:ERG* gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *J. Clin. Oncol.* 2013;32:206–211.
 35. Altintas D.M., Allioli N., Decaussin M., de Bernard S., Ruffion A., Samarut J., Vlaeminck-Guillem V. Differentially expressed androgen-regulated genes in androgen-sensitive tissues reveal potential biomarkers of early prostate cancer. *PLoS ONE.* 2013;8(6):e66278.
 36. Hansen J., Auprich M., Ahyai S.A. Initial prostate biopsy: development and internal validation of a biopsy-specific nomogram based on the prostate cancer antigen 3 assay. *Eur. Urol.* 2013;63(2):201–209.
 37. Perdona S., Bruzzese D., Ferro M., Autorino R., Marino A., Mazzarella C., Perruolo G., Longo M., Spinelli R., Di Lorenzo G., Oliva A., De Sio M., Damiano R., Altieri V., Terracciano D. Prostate health index (phi) and prostate cancer antigen 3 (*PCA3*) significantly improve diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy. *Prostate.* 2013;73(3):227–235.
 38. Sartori D.A., Chan D.W. Biomarkers in prostate cancer: what's new? *Curr. Opin. Oncol.* 2014;26(3):259–264.

Delivered at 20.06.15

NARROW BAND IMAGING DIAGNOSTICS AND COMPUTER CHROMOENDOSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF EPITHELIAL NEOPLASMS OF THE LOWER AND UPPER URINARY TRACT

¹Department of MIMDT CCH №57; ²Department of Urology IAT FMBA; ³Department of Endoscopic Urology RMAPE;

⁴Department of Urology N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow

Corresponding author: I.A. Solomatnikov — postgraduate student at the Department of Endoscopic Urology RMAPE;
e-mail: solomatnikov_van@mail.ru

Abstract. Tumors of epithelial origin occupy the first place in the structure of oncological diseases. This study was aimed to the evaluation of the possibilities of narrowed spectrum endoscopy and computer chromoendoscopy in the diagnosis of epithelial structures of the bladder and upper urinary tract.

Materials and methods. Additional diagnostic endoscopic examination of the lower urinary tract was performed in 76 patients (132 urethrocystoscopies).

For the evaluation of the efficacy of complementary technologies in the endoscopic examination of the upper urinary tract, 47 patients were examined (57 endoscopic examinations of UUT).

Results. During endoscopic examination of the bladder only in the «white light», 80 suspicious lesions were identified and removed. The additional use of NBI — diagnosis allowed to reveal and remove 9 (9.5%), abnormal structures, 6 of them (66.7%) were representatives of transitional cell carcinoma. The additional use of a computer chromoendoscopy revealed 6 (6.3%) neoplasms missed during endoscopy in white light: 4 samples (66.7%) were transitional cell carcinoma, 1 (16.7%) — squamous papilloma.

Endoscopic examination of the upper urinary tract only in the «white light» identified and removed 47 suspicious lesions. Additional application of narrowed spectrum regimen has allowed to identify and remove 8 (12.9%) pathological lesions, 3 (37.5%) of which were morphologically transitional cell carcinoma. The additional use of a computer chromoendoscopy identified 7 (11.3%) tumors missed during endoscopy of UUT in «white light», 4 (57.1%) of which were transitional cell carcinoma. All other biopsies obtained were representatives of chronic inflammation, or material was not suitable for morphological examination.

Conclusions. Our experience of the use of narrowed spectrum diagnostics and computer chromoendoscopy allowed to improve the diagnosis of bladder cancer by 14.3%, and to improve the detection of transitional cell carcinoma of the upper urinary tract by 14.9% at the stage of development of the method.

Key words: narrowed spectrum diagnostics, computer chromoendoscopy, papillary structures, epithelial tumors, lower and upper urinary tract

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Martov A.G., Solomatnikov I.A., Baykov N.A., Andronov A.S., Khalmurzaev O.A. Narrow band imaging diagnostics and computer chromoendoscopy in the diagnosis of epithelial neoplasms of the lower and upper urinary tract. Urologia. 2015;5:55–59.

Introduction. Urinary tract tumors of epithelial origin keep a leading position in the structure of all oncurological diseases due to high prevalence of cancer lesions of this area, and also due to their rapid progress and a high frequency of recurrence [1]. Bladder cancer was diagnosed in 2.7% of all new cancer cases, providing disease the 13th place in the structure of cancer incidence in Russia in 2013 meaning 14 327 new bladder cancer patients for both men and women [2]. Although the urinary bladder tumors are quite variable in their histogenesis, 95% of them are presented by tumors of epithelial origin: transitional cell and squamous cell papilloma, transitional cell and squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, undifferentiated carcinoma, other tumors comprise from 5 to 10%. The incidence of newly diagnosed kidney cancer was 3.9% (20,892 cases for both men and women) and 10th place ranking in the structure of all oncurological diseases [2]. Epithelial tumors of the renal pelvis and renal calyces in the structure of kidney cancer range from 10 to 25%; the incidence of ureteral tumors is much lower — from 1% to 2% of cases [2]. Epithelial tumors prevail in the upper urinary tract (UUT); among them, transitional cell carcinoma accounts for 92–99%, squamous cell carcinoma is found in 1–8% of cases,

others are transitional cell papilloma, inverted papilloma, adenocarcinoma. Mesenchymal tumors comprise only 1% [1]. The «Gold» standard methods of urinary tract tumors diagnostics are cystoscopy and ureteronephroscopy, both of them allow urologist to examine the affected sites of urothelium and perform biopsy, tumor resection or ablation of suspicious areas if necessary.

The combination of endoscopy and narrow band imaging (NBI) developed by «Olympus» company (Japan) is a method to increase the optical image quality. This technology allows using filters to isolate the optical waves of a certain length and to improve the quality and contrast of image of urothelial submucosal layer vascular pattern. It is based on selective absorption effect of hemoglobin for certain wavelengths of the visible spectrum of light emission, and it improves identifying the areas with an altered blood flow. The use of NBI mode helps to find specific tumor vascular pattern and determine the areas affected by high-grade dysplasia. When the surface of the mucous membrane of the urinary system is illuminated by NBI, the light, being actively absorbed by blood vessels, easily penetrates through the mucosal tissue. As a result, it is possible to localize the capillaries and other structures of the urinary tract mucosa. In the past the NBI could

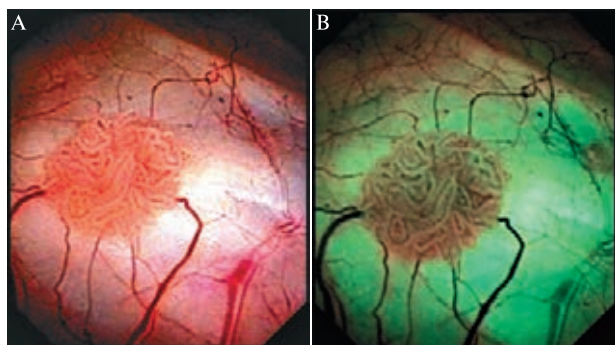


Fig. 1. Endoscopic picture of papillary bladder tumor in "white light" regimen (A) and in NBI-mode (B)

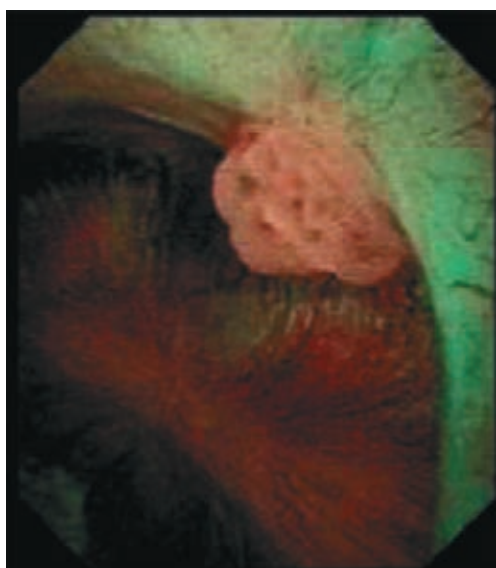


Fig. 2. Narrow-spectrum image of papillary tumor of renal calyx during videofibroureteronephroscopy

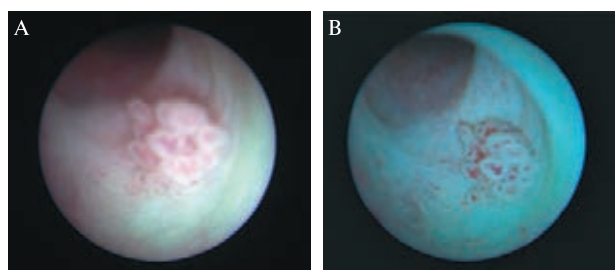


Fig. 3. Endoscopic picture of ureteral tumor in "white light" regimen (A) and in computerized chromoendoscopy mode (B)

only be provided by a videofibrocystoscope. Currently, there is a new video platform that allows working with all available rigid and flexible endoscopic instruments. We have got an experience using of NBI diagnostics since 2008 with more than 600 patients with upper and lower

urinary tract tumors. The method is well-studied in the diagnostics of urinary bladder tumors and it is being actively implemented into standard clinical practice of upper urinary tract tumors diagnostics [3–7].

At the same time it is possible to get a sharp image of the vascular pattern suburothelial layer by real-time computer image processing; this method is called computer chromoendoscopy. Due to changes in the spectrum of light and contrast image, it provides more informative endoscopic picture [8]. At the stage of learning of this technology, we used computerized correction of digital video camera signal by partial replacement of the RGB channels. In our opinion, it is one of the most effective video conversions: red channel is changed to green, green one changes to blue. Prior to procedure, we increased the saturation of orange and blue colors of the spectrum to maximize the contrast. We used the equipment of the company «Karl Storz» (Germany).

Objective: To investigate the possibilities of NBI-endoscopy and computer chromoendoscopy in the diagnosis of epithelial structures of the bladder and upper urinary tract.

Materials and methods. The effectiveness of additional endoscopic diagnostic methods was evaluated prospectively in patients with epithelial lesions of the bladder and upper urinary tract, treated in the Department of Urology, Clinical Hospital № 57 of Moscow (formerly named GKUB №47) from September 2010 till September 2014. Additional diagnostics during endoscopic examination of the lower urinary tract was performed in 76 patients aged from 36 to 82 years with previously diagnosed non-muscle-invasive bladder cancer (BC) or suspicion on bladder cancer based on clinical examination, ultrasonography, MRI and CT. We used 16–28 Fr rigid urethrocystoscopes and resectoscopes 12° and 30° and 16 Fr fibrocystoscope. One hundred and thirty two procedures were performed, of them 80 (60.6%) made by rigid urethrocystoscope in 49 (64.5%) patients, 52 (39.4%) procedures made by fibrourethrocystoscope in 27 (35.5%) patients. After a thorough initial examination of the bladder in the «white light» in 58 (43.9%) procedures we used NBI technique (Figure 1), in 74 (56.1%) procedures computer chromoendoscopy was performed. Lesions were removed with monopolar, bipolar or laser resection (including application of "en bloc" technique), and we performed «cold» biopsy in areas with altered mucosa.

To assess the effectiveness of supplementary technologies during endoscopic examination of the upper urinary tract (UUT) we examined 47 patients (19 of them had solitary or single functioning kidney) aged from 51 to 82 years with diagnosed or suspected papillary tumor of the ureter ($n=27$), renal pelvis ($n=14$), or renal calyx ($n=6$), based on excretory urography or CT-scan. They underwent 57 endoscopic examinations of UUT with rigid and flexible ureteropyeloscopes (6–9 Fr), and rigid nephroscope (26 Fr). Fifty four (94.7%) transurethral ureteronephroscopies were performed in 45 (95.7%) patients, 3 (5.3%) percutaneous pyelocalycoscopies made in 2 patients (4.3%). In addition to ureteronephroscopy in «white light» we used NBI (Figure 2) in 30 (52.6%) cases, and computer chromoendoscopy (Figure 3) in 27 (47.4%) cases.

Biopsy of papillary tumors was performed by "cold" forceps (Figure 4) or special baskets, than they were removed by electrical or laser ablation (Figure 5). Mucous

areas with altered vascular pattern were subjected to biopsy.

Results and discussion. Ninety five pathological lesions of the bladder were suspected during urethrocystoscopy. Seventy two (75,8%) of them had exophytic growth, 23 (24,2%) were flat, among them 5 (5.3%) tumors invaded the ureter orifice. The tumor size of 0,5–1,0 cm was found in 57 (60%) cases, of 1–2 cm – in 22 cases (23,2%), of size more than 2 cm – in 16 (16,8%) cases. All tumors were completely removed by electrosurgical and laser techniques and then examined by pathologist.

With bladder endoscopic examination performed in «white light» only we identified and removed 80 suspicious lesions. Epithelial bladder cancer (urothelial cell carcinoma) was diagnosed by pathologist in 60 (75%) cases, urothelial papilloma was found in 7 (8.7%) cases and squamous papilloma was detected in 2 (2.5%) cases (see *table*). Further application of new video platform with NBI allowed us to reveal and remove another 9 (9.5%) pathological lesions, 6 (66.7%) of them were classified as transitional cell carcinoma. The additional use of a computer chromoendoscopy allowed us to reveal another 6 (6.3%) lesions, missed using the «white light» regimen. According to pathomorphological study in 4 (66.7%) samples transitional cell carcinoma was diagnosed, in 1 (16.7%) sample – squamous papilloma, and in 1 (16.7%) sample – chronic inflammation were found.

Thus, in 25 (26.3%) of 95 biopsy specimens taken from suspicious areas, no cancer was found. Urothelial papilloma, squamous papilloma and chronic inflammation were detected in 7 (7.4%), 3 (3.1%) and 15 (15.8%) cases, respectively. Transitional cell carcinoma was diagnosed in 70 (73,7%) of biopsy specimens; of them in 60 (85.7%) cases the tumors were found using only «white light» regimen. Additional NBI-diagnostics and computer chromoendoscopy allowed us to verify another 6 (8.6%), and 4 (5.7%) urothelial carcinomas, respectively, and also to increase the detection of bladder cancer by 14.3%.

It was possible to examine urothelium layer completely at endoscopic examination of the UUT in 52 (91.2%) cases with rigid and flexible endoscopy, in 5 (8.8%) cases, it wasn't possible to explore all the pyelocaliceal system due to excessively long and narrow calyces infundibula or very acute angle between the ureter and the lower calyx. Overall 62 pathological lesions of UUT were suspected,

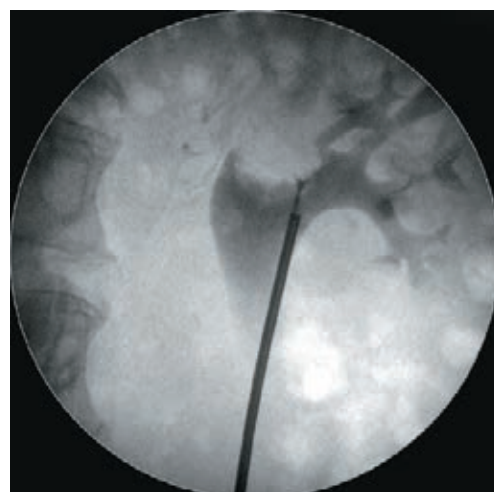


Fig. 4. The XRD pattern when performing "cold biopsy" with endoscopic biopsy forceps через through rigid ureteropyeloscope in patient with large papillary tumor of solitary kidney pelvis

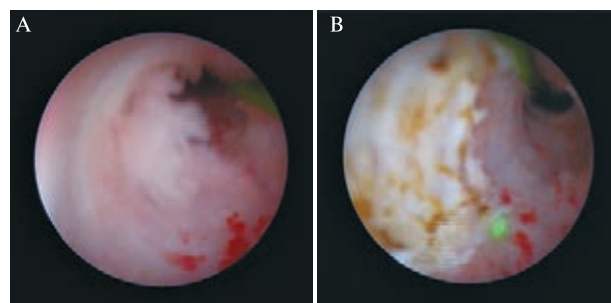


Fig. 5. Endoscopic picture of ureteral tumor (A) and ureteral paries after laser ablation of tumor (B)

among them 20 (32.3%) were small size tumors (less than 0.5 cm in diameter), 34 (54.8%) – a medium-sized tumors (0.5 cm to 1 cm) and 8 (12.9%) – large tumors (more than 1 cm in diameter). All tumors were completely

Distribution of biopsy specimens of the lower and upper urinary tract epithelial tumors in relation with morphological diagnosis, depending on the endoscopic procedure

Table

Endoscopic procedure / Morphological diagnosis	“White light”	Narrow Band Imaging	Computer chromoendoscopy	In total
<i>Lower urinary tract</i>				
Urothelial carcinoma	60	6	4	70
Urothelial papilloma	7	—	—	7
Squamous papilloma	2	2	1	3
Chronic inflammation	11	3	1	15
In total	80	9	6	95
<i>Upper urinary tract</i>				
Urothelial carcinoma	40	3	4	47
Inflammation (invalid material)	7	5	3	15
In total	47	8	7	62

removed by electrosurgical and laser techniques and then studied morphologically.

At endoscopic examination of the UUT in «white light» only regimen 47 suspicious lesions were identified and removed. At pathomorphological study the urothelial cell carcinoma - transitional cell cancer of upper urinary tract was identified in 40 (85,1%) cases (see table). Using NIB-diagnostic mode we were able to find and remove other 8 (12.9%) lesions, 3 (37.5%) of them pathomorphologically were represented by transitional cell carcinoma. We identified 7 (11.3%) tumors more, missed in «white light» regimen using computer chromoendoscopy, 4 (57.1%) of them were pathomorphologically identified as transitional cell carcinoma. In all other cases chronic inflammation there was diagnosed, or material was not suitable for morphological studies.

In 15 (24.2%) samples of 62 biopsy specimens obtained from lesions of suspected papillary tumors of the UUT, the presence of cancer was not confirmed. Transitional cell carcinoma was diagnosed in 47 (75.8%) cases, while at inspection of UUT in «white light» only regimen the diagnosis was made in 40 (85.1%) cases, but the use of additional diagnostics and computer NBI-chromoendoscopy allowed us to verify another 7 (14.9%) tumors.

Conclusion. NBI-diagnostics and computer chromoendoscopy allowed us to improve the diagnosis of bladder cancer by 14.3% and to increase detection of

UUT transitional cell carcinoma by 14.9% at the early stage of the methods' development. Continuation of research would help to identify the methods' sensitivity and specificity.

REFERENCES

1. *Matveev B.P.* Clinical oncurology. Moscow: "ABV-press". 2011.
2. Malignancies in Russia in 2013 (morbidity and mortality) / Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Moscow: P. Herzen Moscow Oncology Research Institute. 2015.
3. *Martov A.G., Maksimov V.A., Ergakov D.V., Andronov A.S.* Capabilities of narrow-spectrum fibrocystoscopy in the diagnosis of bladder cancer. *Urologiia*. 2009;5:54–59.
4. *Kuznetsov K., Lambert R., Rey J.F.* Narrow-band imaging: potential and limitations. *Endoscopy*. 2006;38:76–81.
5. *Martov A.G., Andronov A.S., Ergakov D.V.* Endoscopic atlas. Narrow-spectrum fibrourethrocystoscopy. Moscow: "Megapolis". 2012. 140 p.
6. *Dalbagni G.* Prognostication of Upper Tract Urothelial Carcinoma. What Do We Really Need? *Eur Urol*. 2010;57(4):582–583.
7. *Martov A.G., Andronov A.S., Ergakov D.V., Dutov S.V.* Narrow-spectrum ureteropyeloscopy in the diagnosis of diseases of the upper urinary tract. The third Russian endourology and new technologies congress. Moscow. Logos. 2012. P. 131–132.
8. *Martov A.G., Solomatnikov I.A., Andronov A.S., Ergakov D.V., Dutov S.V.* Narrow-spectrum endoscopy and computerized chromoendoscopy in diagnosis of papillary lesions of upper urinary tract. *Medical bulletin of Bashkortostan*. Ufa. "GBOU VPO BGMU". 2015. P. 223–226.

Received 01.08.15

VALIDATION OF THE RUSSIAN VERSION OF THE QUESTIONNAIRE TO ASSESS THE EFFECTIVENESS OF SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH ANTERIOR URETHRAL STRICTURE (PATIENT-REPORTED OUTCOME MEASURE FOR URETHRAL STRICTURE SURGERY (PROM-USS): A PILOT STUDY

Urological Clinic of the M.F. Vladimirsky MRSRCI, Moscow

Corresponding author: A.N. Shibaev – PhD in Medical Sciences, e-mail: anshibaev@rambler.ru

Currently, the patient-reported outcome measures are widely used for the analysis of the effectiveness of treatment. In 2011, the questionnaire to assess the effectiveness of treatment of men with anterior urethral stricture (PROM-USS) was proposed. Study objective: during validation to perform pilot testing of the Russian version of the PROM-USS questionnaire for determining its psychometric properties (reliability, validity and sensitivity). The study involved 35 men with anterior urethral stricture, who completed PROM-USS questionnaires before and 6 months after surgery. The questionnaire consists of 14 questions and 2 visual analogue scales (VAS), combined in 2 domains: 1 – evaluation of lower urinary tract symptoms (LUTS), 2 – assessment of the quality of life; questionnaire also includes questions about treatment satisfaction. The reliability, validity and sensitivity of the PROM-USS questionnaire were assessed. High intra-class correlation (ICC) coefficients (0.7–0.96) and Cronbach's $\alpha = 0.76$, indicated reliability of the questionnaire. The correlation coefficient between LUTS scoring and an index of maximum urine flow rate (Q_{max}) – $R = -0.81$ ($p < 0.05$) confirmed the criterion validity. After the surgery, the total LUTS scoring decreased from 14.0 ± 0.72 to 5.66 ± 0.58 ($P < 0.05$); VAS EQ-5D index increased from 51.43 ± 5.3 to 71.42 ± 7.64 ($P = 0.01$) with an increase of Q_{max} from 3.4 ± 0.3 to 17.9 ± 0.9 ml/s ($P < 0.001$), indicating the sensitivity of questionnaire to changes. Ninety-four percent of men were satisfied and very satisfied with the result of the surgery; 88% had residual LUTS not affecting the quality of life or affecting slightly. For the final conclusions about the feasibility of this tool, further studies involving a larger number of patients are required.

Key words: anterior urethral stricture; patient-reported outcome measures; quality of life, PROM-USS

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Bazaev V.V., Shibaev A.N., Pavlova Yu.V. Validation of the Russian version of the questionnaire to assess the effectiveness of surgical treatment of patients with anterior urethral stricture (patient-reported outcome measure for urethral stricture surgery (PROM-USS): a pilot study. Urologiia. 2015;5:15–21.

Introduction. Urethral stricture disease is the leading cause of difficulty passing urine in younger and middle-age men [1, 2]. The detrimental impact of this condition on the lives of affected men is mediated by progressive symptoms of lower urinary tract obstruction, a high rate of recurrence after treatment and the need for repeated surgical interventions [2, 3].

The outcome measures for testing the success of urethral stricture surgery are predominantly indicators of technical success (findings of uroflowmetry, urethrography, cystoscopy, no requirement for further instrumentation or surgery) [4, 5]. However, only patients can assess whether the treatment achieved the main goals in terms of restoring normal bladder function, minimizing the symptoms and improving quality of life. Currently, patient reported outcome (PRO) instruments play an essential role in the choice of treatment and assessment of its effectiveness [6]. To assess the outcomes of urethroplasty often questionnaires (e.g., I-PSS) have been used, though they have been designed for other diseases and have not been validated for patients with urethral strictures [7, 8], which is contrary to the basic principles of the methodology of studying of quality of life in medicine [6]. Qualitative research requires using specific PRO validated instruments.

In 2011, a group of experts in urethral surgery devised a PRO-based instrument to assess the effectiveness of surgery in men with anterior urethral stricture – Patient-

Reported Outcome Measure for Urethral Stricture Surgery – PROM-USS [9]. To date, it has been validated in English, Italian and German [9–11].

Aim: During the validation of the PROM-USS questionnaire to conduct a pilot testing of its Russian version to evaluate its psychometric properties.

Materials and methods. *The structure of the questionnaire.* The original English-language questionnaire is based on existing condition-specific and health-related quality of life instruments [9]. PROM-USS questionnaire contains:

- a LUTS construct comprising six summative questions (Q 1-6), derived from the ICIQ MLUTS questionnaire [12, 13], where 0 points - asymptomatic, 24 points - the most symptomatic;
- a separate LUTS-specific quality-of-life (QoL) question from the ICIQ MLUTS (Q 7) [12, 13] evaluated by Likert scale: not affected at all, a little, somewhat, a lot;
- visual analogue scale (VAS) to assess the strength of urinary stream (Q 8) estimating it from 1 (best) to 4 (worst) [14];
- EQ-5D-3L questionnaire to assess overall quality of life [15]. The «thermometer» (EQVAS) offers to indicate on the vertical scale the best state one can imagine (marked 100) and the worst state one can imagine (marked 0);

The descriptive part of the EQ-5D is presented as a health profile, including mobility, self-care, usual activities, pain/

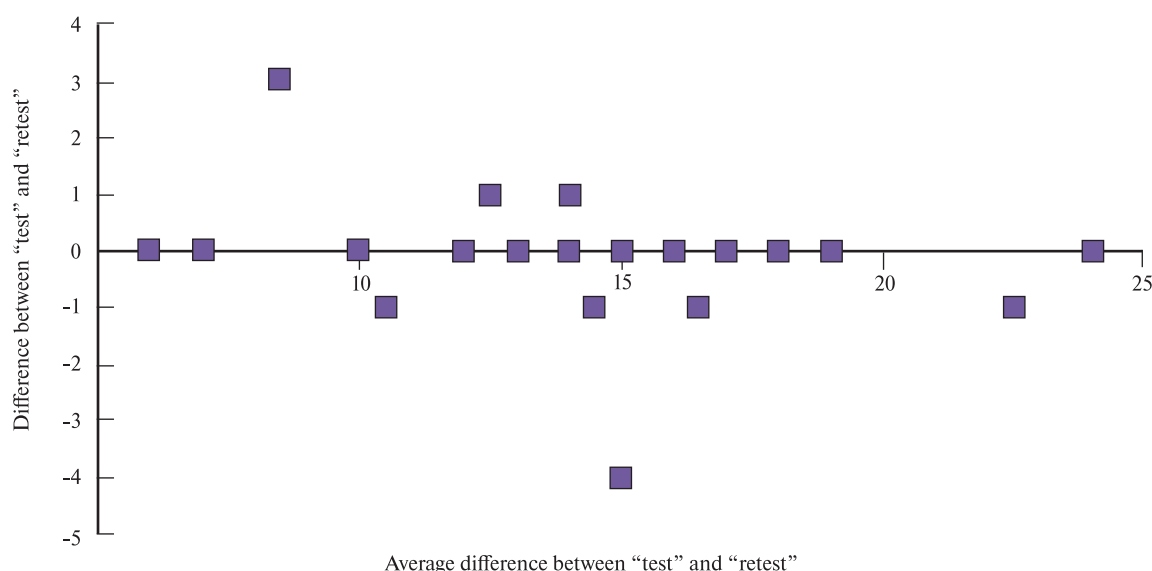


Fig. Bland-Altman plot for summative LUTS construct. Explanations in the text

discomfort and anxiety/depression. Profiles can be reduced to one estimate as an EQ-5D index [15].

The questionnaire has two versions (pre- and postoperative). Postoperative version adds two questions about the patient's satisfaction with the treatment (Q 9 and Q 10).

PROM-USS is a self-completion questionnaire for men to describe their symptoms over the past 4 weeks. Men unable to urinate, or have an urethral or suprapubic catheter, cannot answer the questions of the first part of the questionnaire which further stipulated in the questionnaire (see. Appendix).

Cultural and linguistic adaptation. The validation of PROM-USS was agreed with the authors of the questionnaire who granted the official approval for developing and implementing the Russian-language version. Translation of the questionnaire was carried out under accepted requirements for linguistic and cultural adaptation [6], resulting in a test version of the questionnaire for the pilot study.

Patients. Pilot testing study comprised 35 men admitted for surgery in the Urology Clinic of MRSRCI from June 2013 to October 2014. Inclusion criteria:

- anterior urethral stricture confirmed by uroflowmetry and X-ray examination;
- the patient's consent to take part in the study;
- age over 18 years;
- absence of concomitant diseases in the acute phase with symptoms dominating over the symptoms of urinary disorders and requiring active treatment (see. *Table. 1*).

The men self-completed the questionnaire twice pre-operatively with 3-5 days in between, and six months post-operatively, and answered questions and expressed wishes relating to the questionnaire during the oral interview. This study did not require the approval of the Ethics Committee.

Evaluation of the psychometric properties of the questionnaire. The validity, reliability and sensitivity of the questionnaire PROM-USS were determined.

The content validity was determined earlier by the developers of the original questionnaire based on the results of studying the literature and expert evaluation in several stages. In our study, content validity was confirmed by a group of expert urologists and patients in the process of interviewing. Criterion validity was assessed by the «external criteria»: correlation between the scores

Clinical characteristics of patients

Table 1

Parameter	Value
Number of patients	35
Age, years ($M \pm m$)	49,8 $\pm$ 2,7
The length of the stricture, cm ($M \pm m$)	4,85 $\pm$ 0,7
Stricture localization:	
- penile urethra, %	18 (51)
- bulbar urethra, %	15 (43)
- both segments, %	2 (6)
$Q_{\max}$, ml/s ($M \pm m$)	3,4 $\pm$ 0,3
U_{res} , ml ($M \pm m$)	34,5 $\pm$ 5,4

Note. U_{res} — residual urine volume.

Table 2

Reliability indicators for the questions of LUTS construct

Question	ICC	Correlation with LUTS construct	Cronbach's α if the question is deleted
Q 1	0,96	0,49	0,73
Q 2	0,7	0,4	0,75
Q 3	0,95	0,62	0,7
Q 4	0,85	0,73	0,7
Q 5	0,8	0,46	0,74
Q 6	0,93	0,35	0,76

of LUTS, VAS of urination and maximum urinary flow rate ($Q_{\max}$) and overall patient satisfaction. When assessing the reliability, reproducibility and internal consistency of the questionnaire were investigated.

Reproducibility was evaluated by test-retest analysis: patients completed PROM-USS twice before surgery. The results were examined using Bland-Altman analysis and by determining the intra-class correlation coefficient (ICC); reliability was considered satisfactory when $ICC > 0.7$ [16]. Internal consistency was estimated by computing Cronbach's coefficient- α [17] and the «point-scale» correlation coefficients; thresholds were defined as > 0.70 and 0.20 , respectively [16, 17]. Sensitivity of PROM-USS was assessed by detecting statistically significant differences when comparing the results of the questionnaire before and after surgery.

Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 21 software. Statistical hypotheses were tested using analysis of variance (ANOVA) and Mann-Whitney test. Correlation analysis was performed by calculating Spearman's rank correlation coefficients. P values < 0.05 were considered significant.

Results. The patients self-completed the printed PROM-USS questionnaire for 3-5 minutes. All questions were characterized by patients as appropriate and correct. Seven of the 35 men needed to clarify the meaning of questions 2 and 6. Postoperative version of the questionnaire at 6 months after surgery was completed by 33 of 35 patients.

Evaluation of reliability. A prerequisite for testing the reproducibility of the test - retest analysis was unchanged health status of the patients. Results of total LUTS score assessment are presented in the figure. The mean score and the difference between «test» and «retest» scores were

determined for each patient. The differences ranging from -4 to 3 , with a small mean difference (bias = -0.09) show a good consistency of primary and repeated estimates. The intra-class correlation coefficients were quite high and amounted to $0.7-0.96$ (see. Table. 2). Therefore, the assessment of symptoms and quality of life, carried out with 3-5 days interval, was accurate.

Testing the internal consistency of total LUTS construct showed that Cronbach's α was quite high (0.76) ranging from 0.76 to 0.70 with the exclusion of any of the questions (Table. 2), which indicates sufficient reliability of the questionnaire on this criterion. Mean EQ-5D-index at the initial examination was 0.58 ± 0.29 , at re-testing 0.76 ± 0.21 ($p=0.32$); mean VAS «thermometer» scores were 62.5 ± 18.93 and 60.5 ± 12.15 , respectively ($p=0.78$). Thus, high coefficient of internal consistency and the results of reproducibility testing of PROM-USS confirmed the reliability of its Russian version.

Assessment of validity. Criterion validity was assessed using $Q_{\max}$, the primary objective measure of urination, as an «external criteria». LUTS construct scores were found to be negatively correlated with $Q_{\max}$, both before and after surgery ($R=-0.81$, $p<0.0001$). Also, there was a correlation between VAS of urination and $Q_{\max}$ ($R=-0.88$, $p<0.0001$). After the operation 5 (15%) of 33 men had no symptoms (0 point); 31 (94%) of 33 patients were satisfied and very pleased with the result of the operation; in 29 (88%) of them residual LUTS did not significantly affect QoL or did not affect it at all. Therefore, the questionnaire design allows to adequately assess the specific symptoms in patients of this group, has a fairly strong correlation with the main objective indicators, i.e. It enables correct health assessment in men with an anterior urethral stricture.

Table 3

Sensitivity indicators of PROM-USS ($n=33$) ($M \pm m$)

Construct	Question	Score		p
		before surgery	after surgery	
Total LUTS score	B 1	$2,0 \pm 0,22$	$0,82 \pm 0,17$	$<0,0001$
	B 2	$2,94 \pm 0,17$	$0,27 \pm 0,11$	$<0,0001$
	B 3	$2,67 \pm 0,17$	$1,33 \pm 0,21$	$<0,0001$
	B 4	$2,18 \pm 0,19$	$1,06 \pm 0,18$	$<0,0001$
	B 5	$2,45 \pm 0,19$	$0,91 \pm 0,18$	$<0,0001$
	B 6	$1,73 \pm 0,20$	$1,27 \pm 0,20$	$0,1$
	B 1-B 6	$14,0 \pm 0,72$	$5,66 \pm 0,58$	$<0,0001$
VAS strength of urinary stream	B 8	$3,70 \pm 0,08$	$1,70 \pm 0,10$	$<0,0001$
EQ-5D	VAS «thermometer»	$51,43 \pm 5,3$	$71,42 \pm 7,64$	$0,01$
	EQ-5D index	$0,75 \pm 0,15$	$0,91 \pm 0,11$	$<0,05$

Assessment of sensitivity. At 6 months after surgery assessment of symptoms and QOL was carried out in 33 men. According to objective criteria, surgery was considered successful: postoperative $Q_{\max}$ averaged 17.9 ± 0.9 ml/s, control urethrography did not reveal evidence of stricture recurrence. The survey results showed a significant improvement in all indicators (Table. 3). These figures are confirmed by the improvement of LUTS-specific quality-of-life: in 10 (30%) of the men Likert scale score improved by 1 point, in 21 (64%) by 2 and in 2 (6%) by 3 points. Thus, the questionnaire is sensitive enough for assessing symptoms and quality of life of men with anterior urethral stricture and can detect changes in patients' health status at follow-up.

Discussion. The outcome measures most often used to assess clinical effectiveness of urethroplasty include $Q_{\max}$, urethrography and recurrence rates, but for an adequate assessment it is important to evaluate the success of the surgery from the patients' perspective.

This requires specific tools- a questionnaire for evaluating symptoms and QoL. When choosing a PRO-based questionnaire is important to make sure it is supported by evidence of acceptability, validity, reliability, and responsiveness for this type of patients [18].

Today, the most widely used instrument is the American Urological Association (AUA)-7, better known as I-PSS which was developed for men with benign prostatic hyperplasia (BPH) but has not been validated for men with urethral stricture.

Obviously, the LUTS arising from BPH and LUTS caused by urethral stricture are very similar, but at the same time G. Nuss et al. [19] found that 21% of men with urethral stricture presented with symptoms that were not addressed by AUA-7.

Earlier, T. Kessler et al. [20] also presented evidence of the need to develop a questionnaire for assessing the results of surgical treatment of urethral strictures showing differences between the opinions of clinicians and patients in determining of the success in 20% of cases.

PROM-USS is the first instrument customized for patients undergoing surgical correction of anterior urethral stricture [2]. Its validated version in English, Italian and German are registered by the International Organization for the Study of QOL MAPI Research Trust (Lyon, France) [21] and included in the data Quality of Life Instruments Database base. We provide a validated questionnaire in Russian and perform its linguistic and cultural adaptation. This study is a pilot test of its Russian-language version. The sample size was determined by pilot studies of the original, Italian and German versions [9-11] and the statistical threshold, identical to the authors' research.

For routine clinical use PROM questionnaire should be concise, focused, applicable to analysis and contain questions focused on the parameters important for the patient [9]. These principles were applied by the authors in preparing the original version of PROM-USS. The initial version of the questionnaire comprised questions that covered LUTS (storage, voiding and post-micturition symptoms); sexual function and ejaculation; assessment of QoL associated with the disease and in general. At the design stage, based on peer review and patients' opinions, questions concerning storage symptoms were excluded, as uncharacteristic for patients with urethral strictures. Also were excluded questions assessing sexual function

and ejaculation because they were insensitive to changes due to the initially small number of events. In our study, a group of expert urologists considered all the questions relevant for men with anterior urethral stricture, which was confirmed in interviews with patients. Pilot testing has shown the reliability, validity and sensitivity of PROM-USS questionnaire, which shows an appropriate linguistic and cultural adaptation of the instrument to the Russian-speaking population. Some of the interviewed patients noted that questions 2 and 6 contained specific terms that required clarification. Thereby, it was decided to change the wording to make it more understandable for patients. The questionnaire was developed by the world's leading experts in urethral surgery, who declared the need to develop unified standards for preoperative counseling of patients with urethral strictures and unified outcome reporting standards, part of which can become a universal international instrument PROM-USS [2]. Unified validated questionnaire for assessing the effectiveness of surgical treatment of men with anterior urethral stricture may be another important criterion for the effectiveness of treatment. It would greatly facilitate conducting comparative studies of various surgical interventions, comparing results obtained by different researchers and being used in international studies.

Conclusion. In the course of validation of the Russian version of the PROM-USS questionnaire linguistic and cultural adaptation was performed. The pilot test proved the reliability, validity and sensitivity of the instrument. This study is the initial stage of implementing PROM-USS questionnaire in Russia. Final conclusions about the appropriateness of the tool can be drawn from the results of a multi-center study.

REFERENCES

1. Latini J.M., McAninch J.W., Brandes S.B., Chung J.Y., Rosenstein D. SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: Epidemiology, Etiology, Anatomy, and Nomenclature of Urethral Stenoses, Strictures, and Pelvic Fracture Urethral Disruption Injuries. *Urol.* 2014;83(3):1–7.
2. Jackson M.J., Chaudhury I., Mangera A., Brett A., Watkin N., Chapple C.R., Andrich D.E., Pickard R.S., Mundy A.R. A prospective patient-centred evaluation of urethroplasty for anterior urethral stricture using a validated patient-reported outcome measure. *Eur. Urol.* 2013;64:777–782.
3. Trapeznikova M.F., Bazaev V.V., Luk'yanchikov A.G. Reconstruction of long recurrent strictures of the anterior urethra with a free transplant of buccal mucosa. *Urologia.* 2006; 1: 3–7.
4. Mangera A., Patterson J.M., Chapple C.R. A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur. Urol.* 2011;59:797–814.
5. Chapple C., Andrich D., Atala A., Barbagli G., Cavalcanti A., Kulkarni S., Mangera A., Nakajima Y. SIU/ICUD consultation on urethral strictures: the management of anterior urethral stricture disease using substitution urethroplasty. *Urol.* 2014;83(3):31–47.
6. Novik A.A., Ionova T.I. Guide to the study of quality of life in medicine. SPb. Olma-Press. 2002.
7. Voelzke B.B. Critical review of existing patient reported outcome measures after male anterior urethroplasty. *J Urol.* 2013;189:182–188.
8. Pushkar' D.Yu., Zhivov A.V., Bagaudinov M.R., Ismailov M.-R.M. Quality of life in male patients after different types of urethroplasty for urethral stricture disease. *Experimental and clinical urology.* 2012; 4: 48–52.
9. Jackson M.J., Sciberras J., Mangera A., Brett A., Watkin N., N'dow J.M., Chapple C.R., Andrich D.E., Pickard R.S., Mundy A.R. Defining a patient-reported outcome measure for urethral stricture

- surgery. *Eur Urol.* 2011;60: 60–68.
10. *Barbagli G., Romano G., Sansalone S., Lazzeri M.* Italian validation of the English PROM-USS-Q questionnaire in patients undergoing anterior urethroplasty. *Urol.* 2011;78(2):98–107.
11. *Kluth L.A., Dahlem R., Reiss P.* Gogman validation of a patient-reported outcome measure (PROM) for urethral stricture surgery: a prospective study at a tertiary care center. *J Urol.* 2014;191(4):39.
12. *Donovan J.L., Abrams P., Peters T.J., Kay H.E., Reynard J., Chap-ple C., de la Rosette J.M.C.H., Kondo A.* The ICS-‘BPH’ Study: the psychometric validity and reliability of the ICSmale questionnaire. *Br J Urol.* 1996;77:554–562.
13. *Donovan J.L., Peters T.J., Abrams P., Brookes S.T., Rosette J.J., Schäfer W.* Scoring the short form ICSmale SF questionnaire. International Continence Society. *J Urol.* 2000;164:1948–1955.
14. *Peeling W.B.* Diagnostic assessment of benign prostatic hyperplasia. *Prostate.* 1989;2(1):51–68.
15. EuroQol – a new facility for the measurement of health-related quality of life. The EuroQol Group. *Health Policy.* 1990; 16:199–208.
16. Assessing health status and quality-of-life instruments: attributes and review criteria. *Qual Life Res.* 2002;11:193–205.
17. *Cronbach L.J.* Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika.* 1951;16(3):297–334.
18. *Dawson J., Doll H., Fitzpatrick R., Jenkinson C., Carr A.* The routine use of patient reported outcome measures in healthcare settings. *BMJ.* 2010;340:186.
19. *Nuss G.R., Granieri M.A., Zhao L.C., Thum D.J., Gonzalez C.M.* Presenting symptoms of anterior urethral stricture disease: a disease specific, patient reported questionnaire to measure outcomes. *J Urol.* 2012;187:559–562.
20. *Kessler T.M., Fisch M., Heitz M., Olanas R., Schreiter F.* Patient satisfaction with the outcome of surgery for urethral stricture. *J Urol.* 2002;167:2507–2511.
21. Mapi Research Trust. ProQolid. Patient-Reported Outcome and Quality of Life Instruments Database. www.proqolid.org.

Received 19.06.15

Appendix. PROM-USS questionnaire

Thank you for completing this questionnaire. The following questions are designed to measure the effect that urethral strictures have on patients' lives.

Some questions may look the same but each one is different. Please take time to read and answer each question carefully, and tick the box that best describes your symptoms over the past **4 weeks**.

If you currently have a urethral or suprapubic catheter (a catheter through the lower abdomen) **please start at question 11.**

1. Is there a delay before you start to urinate?

- Never ☐
- Occasionally ☐
- Sometimes ☐
- Most of the time ☐
- All of the time ☐

2. How would you describe the strength of your urinary stream?

- Normal ☐
- Occasionally reduced ☐
- Sometimes reduced ☐
- Reduced most of the time ☐
- Reduced all of the time ☐

3. Do you have to strain to continue urinating?

- Never ☐
- Occasionally ☐
- Sometimes ☐
- Most of the time ☐
- All of the time ☐

4. Do you stop and start more than once while you urinate?

- Never ☐
- Occasionally ☐
- Sometimes ☐
- Most of the time ☐
- All of the time ☐

5. How often do you feel your bladder has not emptied properly after you have urinated?

- Never ☐
- Occasionally ☐
- Sometimes ☐
- Most of the time ☐
- All of the time ☐

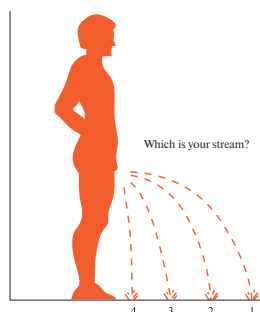
6. How often have you had involuntary leakage of urine/wetting of your pants after you had finished urinating and had dressed yourself?

- Never ☐
- Occasionally ☐
- Sometimes ☐
- Most of the time ☐
- All of the time ☐

7. Overall, how much do your urinary symptoms interfere with your life?

- Not at all ☐
- A little ☐
- Somewhat ☐
- A lot ☐

8. Please ring the number that corresponds with the strength of your urinary stream over the past month



9. Are you satisfied with the outcome of your operation?

- Yes, very satisfied ☐
Yes, satisfied ☐
No, unsatisfied ☐
No, very unsatisfied ☐

10. If you were unsatisfied or very unsatisfied is that because:

- The urinary condition did not improve ☐
The urinary condition improved but there was some other problem ☐
The urinary condition did not improve and there was some other problem as well ☐

By placing a tick in one box in each group below, please indicate which statements best describe your own health state today.

11. Mobility

- I have no problems in walking about ☐
I have some problems in walking about ☐
I am confined to bed ☐

12. Self-Care

- I have no problems with self-care ☐
I have some problems washing or dressing myself ☐
I am unable to wash or dress myself ☐

13. Usual Activities (e.g. work, study, housework, family or leisure activities)

- I have no problems with performing my usual activities ☐
I have some problems with performing my usual activities ☐
I am unable to perform my usual activities ☐

14. Pain/Discomfort

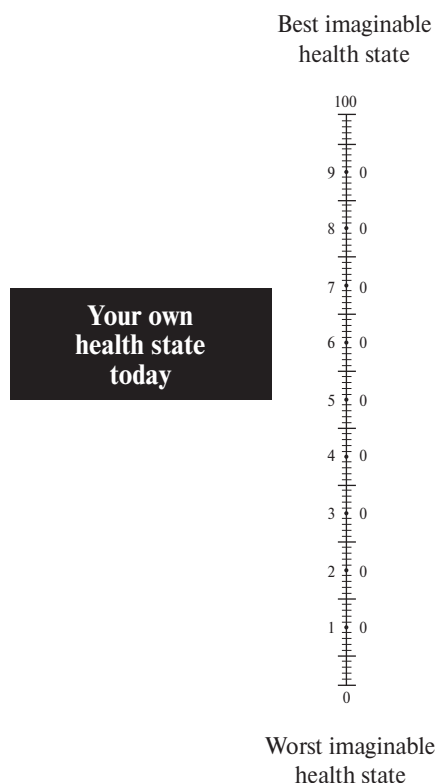
- I have no pain or discomfort ☐
I have moderate pain or discomfort ☐
I have extreme pain or discomfort ☐

15. Anxiety/Depression

- I am not anxious or depressed ☐
I am moderately anxious or depressed ☐
I am extremely anxious or depressed ☐

To help people say how good or bad a health state is, we have drawn a scale (rather like a thermometer) on which the best state you can imagine is marked 100 and the worst state you can imagine is marked 0.

We would like you to indicate on this scale how good or bad your own health is today, in your opinion. Please do this by drawing a line from the box below to whichever point on the scale indicates how good or bad your health state is today.



P.V. Glybochko¹, Yu.G. Alyaev², A.B. Shekhter³, A.Z. Vinarov⁴, L.P. Istranov³, E.V. Istranova³, R.K. Aboyants³, A.V. Lyundup³, M.E. Krashennnikov³, A.E. Guller³, D.V. Butnaru⁴, L.V. Marisov⁴, D.F. Kantimerov¹, A.V. Kurkov⁴, E.I. Safronova¹, E.A. Vorob'eva¹, M.M. Iritsyan¹

PLGA MESH-COLLAGEN HYBRID SCAFFOLD AND TISSUE-ENGINEERED PRODUCT IN SUBSTITUTION URETHROPLASTY: EXPERIMENTAL VALIDATION

¹Sechenov First Moscow State Medical University, ²Department of Urology, Faculty of Medicine, ³Research Institute for Molecular Medicine, ⁴Research Institute for Uro nephrology and Reproductive Health

Corresponding author: D.V. Butnaru – Deputy Director, Research Institute for Uro nephrology, Sechenov First Moscow State Medical University; e-mail: butnaru_dv@mail.ru

Urethral strictures are a pressing issue in modern medicine. Substitution urethroplasty is considered one of the most effective treatment methods. However, despite the surgery showing good results, many problems remain unresolved, one being substitute material deficiency in extensive or recurrent strictures, as well as in cases requiring multistage surgeries, including those used to treat hypospadias. Graft removal also leaves the donor area prone to diseases and increases the length of surgery leading to a higher risk of intra- and postoperative complications. Tissue engineering (namely tissue-engineered products comprised of scaffolds and cells) may be a useful tool in dealing with these issues. The authors assessed the characteristics of a novel hybrid scaffold created from "reconstructed" collagen and a poly(lactic-co-glycolic acid) mesh. The resulting composite product showed good mechanical properties and functional performance. The hybrid scaffold was non-cytotoxic and provided an adequate base for cell adhesion and proliferation. Biodegradation resulted in the scaffold being replaced by urothelium and urethral mucosa. The newly formed tissues possessed adequate structural and functional properties. Only one rabbit out of 12 developed urethral stricture at the site of scaffold implantation. The above-mentioned facts suggest that the novel hybrid scaffold is a promising tissue-engineered product with potential implication in substitution urethroplasty.

Key words: urethral strictures, tissue engineering, tissue-engineered products, scaffolds, substitution urethroplasty, regenerative medicine

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Glybochko P.V., Alyaev Yu.G., Shekhter A.B., Vinarov A.Z., Istranov L.P., Istranova E.V., Aboyants R.K., Lyundup A.V., Krashennnikov M.E., Guller A.E., Butnaru D.V., Marisov L.V., Kantimerov D.F., Kurkov A.V., Safronova E.I., Vorob'eva E.A., Iritsyan M.M. PLGA mesh-collagen hybrid scaffold and tissue-engineered product in substitution urethroplasty: experimental validation. Urologia. 2016;6:5–13.

Introduction. A urethral stricture is an abnormal narrowing of the urethra caused by fibrotic changes in the subepithelial structures of spongy body or the surrounding tissues [1, 2]. It causes a reduced flow of urine, which can lead to several secondary changes in the urogenital tract [3].

The prevalence of urethral strictures increases with advancing age, and according to various estimates, ranges from 0.01 to 0.9% of the male population [1, 4]. The incidence of urethral strictures in developed countries may reach 9 per 1,000 males [4], resulting in over 5,000 hospital admissions per year [5]. According to a meta-analysis [6], the leading (33%) cause of anterior urethral strictures is an iatrogenic urethral injury during medical procedures (catheterization, endoscopic interventions, etc.). The second most common cause (19%) is traumatic urethral injuries (pelvic fracture, perineal injury, etc.); the third most common cause of anterior urethral stricture (15%) is infection (for example, gonorrheal urethritis).

Optical urethrotomy and urethral dilation are minimally invasive treatments. However, these procedures are justified only in cases of primary short-segment bulbar urethral strictures. The effectiveness of optical urethrotomy in such cases may reach 66–90% in the short term, but in the long term most patients experience failure. It should therefore be considered only a palliative treatment [7–9].

Considering these limitations, various types of urethroplasty have been preferred, both anastomotic and substitution (using flaps or grafts). Recently, the most commonly used material for substitution urethroplasty

is buccal mucosa [10, 11], which has several advantages over other grafts and flaps.

Buccal mucosal urethroplasty has been used for strictures of any length, multiple strictures, including the recurrent strictures. Along with the relative simplicity of the surgical technique, this method produces reliable and good results in the vast majority of patients [12–15]. Postoperative complications may occur in two areas: at the donor site and at the site of urethral reconstruction [16]. Purulent inflammation in surgical perineal wounds, hematoma, skin sensitivity impairment are very uncommon [17–19]. Potential complications at the graft donor site are bleeding, pain, swelling of facial tissues, parotid duct injury (Stensen), paresthesia, and limited mobility of the temporomandibular joint. Facial swelling and temporomandibular joint dysfunction are quite rare, self-limited and resolve spontaneously within the first 3 months [10, 20–22].

Despite the aforementioned advantages of buccal mucosa, there are several unresolved questions. First, harvesting buccal mucosa graft is associated with the donor site morbidity. Even if the morbidity is low or very low, it is still present and negatively affects the patient's health to the extent depending on the donor site size. Second, extended urethral strictures require harvesting buccal mucosa graft (transplant) from multiple donor sites. This significantly increases the length of surgery time, and the risk of intra- and postoperative graft-related complications [23]. Third, in repeated substitution urethroplasty (in cases of stricture recurrence) harvesting

oral mucosa can be difficult, which dictates the need for alternative substitution material. A similar situation occurs during the first stage of two-stage urethroplasty requiring epithelialization of the urethral bed. The above mentioned problems indicate that currently the perfect material for substitution urethroplasty is lacking, thus motivating pursuit of an optimal tissue replacement for the urethra when substantial tissue transfer is needed.

Tissue engineering has opened up new prospects for reconstructive surgery, and urethroplasty is one of the areas of its application.

The regenerative urology uses both the acellular matrix [24–34], and the matrix (matrices, scaffolds) with different autologous cells [35–38], or tissue-engineering constructs. Development of optimal tissue-engineering construct (matrix + non-invasively obtained cells [39, 40]) would reduce to zero the donor site morbidity, overcome the shortage of material for substitution urethroplasty (even with extensive and/or recurrent urethral strictures), and reduce the length of surgery thus reducing the risk of intra- and postoperative complications.

One of the prerequisites for success of the tissue-engineering urethroplasty is the availability of a scaffold with optimum biomechanical properties. In our previous study, we examined the properties of tissue-engineering construct based on the decellularized arterial wall and buccal epitheliocytes. The decellularized arterial wall had several positive properties [41, 42], namely, low immunogenicity, cytotoxicity and good mechanical properties. At the same time, the study findings revealed some disadvantages: considerable variability in the time of biodegradation, changing thickness of the matrix according to the age and health status of the donor, limited ability to cell adhesion, poor angiogenesis due to the high density of the matrix, the absence of growing native urothelium in the surrounding tissues, and the ability to induce a pronounced scarring at the graft site.

That has motivated designing a matrix devoid of the above disadvantages. Efforts were focused on developing a hybrid (composite) scaffold with combined positive properties of natural and synthetic materials.

The supporting frame of the novel hybrid scaffold is a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh which is characterized by constant time of biodegradation, stable and reproducible mechanical properties, low immunogenicity and high biocompatibility [43–45]. A relatively large distance between the mesh fibers causes difficulty in seeding it with cells. To optimize the conditions for blood vessel growth and cell adhesion, the scaffold was proposed to be covered on both sides with “reconstructed” collagen, which is a good matrix for the cell growth and potentiate proliferation its own fibroblasts and collagen biosynthesis [46].

In a previous study on experimental rats [47] we have tested the biocompatibility of the new scaffold and distinctive features of its bioresorption.

The objective of this study was to develop a hybrid scaffold based on a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh and “reconstructed” collagen, suitable for substitution urethroplasty in experimental settings, and create a tissue-engineering construct based on this scaffold.

To achieve this goal, the following tasks were set:

- to develop a technology for producing the hybrid scaffold;
- to assess the cytotoxicity of the scaffold, the adhesion and proliferation of linear fibroblasts 3T3 and C3H on the scaffold;

- to assess the biocompatibility and biodegradability of the scaffold in experimental rats;
- to evaluate the effectiveness of reconstructing the urethral defect using a hybrid scaffold in experimental rabbits.

Materials and methods.

Developing a hybrid scaffold based on a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh.

We developed a proprietary method of producing a hybrid scaffold, including collagen with preserved triple helix conformation combined with a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh. Collagen was extracted from the dermis of cattle. Dermal slices were treated with pepsin solution, thoroughly washed, crushed and dissolved in acetic acid. This skin-derived collagen solution was dispensed into the cuvettes. A poly (lactic-co-glycolic acid) mesh (VICRYL® (polyglactin 910) Woven Mesh, Ethicon, Johnson & Johnson) was placed between the two layers of collagen. The resulting hybrid material was frozen, freeze-dried to residual moisture of 30% and pressed to the required thickness. To increase the mechanical strength by cross linking of collagen molecules, the hybrid material was placed in formalin vapor then aired and washed free of formalin residue until a negative reaction to aldehydes. Thereafter, sublimation was repeated, and the hybrid material was cut into pieces measuring 1×1 cm (for experiment on rats) and 1×2 cm (for experiment on rabbits), packed in individual plastic bags and sterilized by γ -radiation (2.5 Mrad dose). Thus, the hybrid scaffold made up sterile fragments of material based on a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh and reconstructed cattle dermis derived collagen.

Testing the scaffold for cytotoxicity, adhesion and cell proliferation

Cytotoxicity testing was conducted using the optimized Mosmann and Monks method (MTT-test) at day 6 of culture with 3T3 and C3H cell lines and examined by light microscopy.

After thawing the cell line cultures, culturing was carried out in complete growth (growth) DMEM/F12 medium (Invitrogen, USA) containing 10% fetal calf serum (HyClone Defined, HyClone, USA), 0.4 μ m insulin and 0.25 mg/l gentamicin solution in 2.0–2.5 million cells/ml in 175 cm² cell culture flasks («Corning», USA). Cultivation was carried out under standard conditions in a CO₂ incubator with 5% CO₂ concentration, 95% ambient air and increased humidity. The replacement with a fresh culture medium was done every 72 hours. The scaffold samples were cut into pieces measuring 2×2 cm and placed in a 12-well seeding plate. The seeding density (25% of the monolayer) was 3×10⁴ and 7×10⁴ cells per 1 cm² for 3T3 and C3H cell lines, respectively. Time of cell culturing on matrices was 6 days, following which reaction was carried out with 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) and incubated for 4 hours. Intensely colored formazan crystals resulted from the metabolic activity of viable cells, were dissolved in DMSO. Then the optical density of equal volumes of solutions in a 96-well plate was measured using spectrophotometer (Multiscan FC, Thermo Scientific) at a wavelength of 540 nm.

Assessment of control wells and visualization of cells at the scaffold periphery was carried out using light

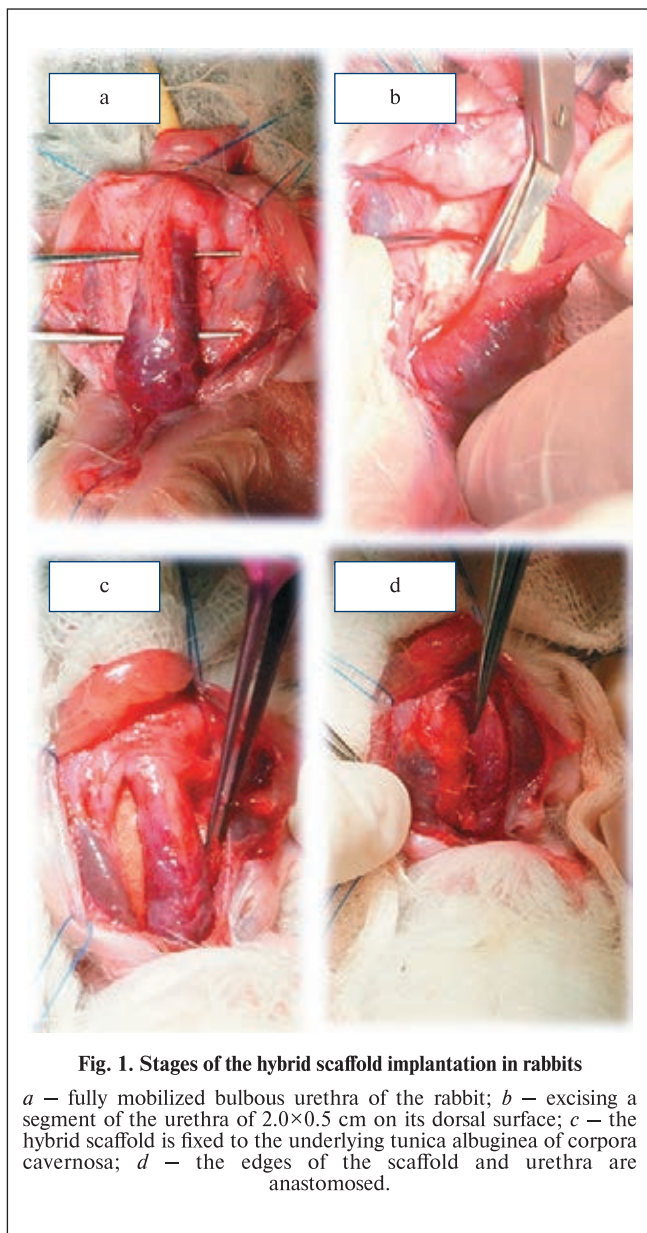


Fig. 1. Stages of the hybrid scaffold implantation in rabbits

a – fully mobilized bulbous urethra of the rabbit; *b* – excising a segment of the urethra of 2.0×0.5 cm on its dorsal surface; *c* – the hybrid scaffold is fixed to the underlying tunica albuginea of corpora cavernosa; *d* – the edges of the scaffold and urethra are anastomosed.

microscopy on a Nikon TE-2000 microscope with magnification of ×40, ×60, ×100, ×200, ×400 with phase contrast. Evaluation on the adhesion and proliferation of cells on the hybrid scaffold was performed using the same 3T3 and C3H fibroblast cell line and with the same seeding density as when testing cytotoxicity. Cell visualization was performed using acridine orange/ethidium bromide double staining.

The dye stock solution was prepared as follows: acridine orange 1.5 mg and ethidium bromide 5 mg were dissolved in 0.1 ml of 95% ethanol, followed by the addition of 5 ml of distilled water. Working dye solution was prepared by dissolving 100-fold volume of PBS. To stain the samples, they were washed from the culture medium and poured over with the working dye solution for 5 minutes. This resulted in staining live cells with acridine orange, and the dead ones with ethidium bromide.

The localization of fluorescence of scaffold samples was fixed with a laser scanning confocal microscope LSM-710 (Carl Zeiss Microscopy, Germany). The stained samples were transferred in PBS solution from dishes for *in vitro* culture to sterile glass-bottom Petri dishes

with bottom thickness of 0.16 mm. For imaging EC Plan-Neofluar 10×/0.3/M27 lens was applied. Acridine orange fluorescent excitation was produced by a laser with a wavelength of 488 nm and fluorescence was recorded in the range of 495–545 nm. Excitation of a fluorescent ethidium bromide was produced by a laser with a wavelength of 561 nm and fluorescence was recorded in the range of 580–690 nm. As a result fluorescence overlay image was gained of localization of acridine orange (green), ethidium bromide (red color) and images obtained in the transmitted light.

Urethroplasty

The experiment was conducted on 12 male rabbits aged 2 years and weighting on average 3.5 kg. Urethrography was performed pre-operatively. Surgery was carried out under general anesthesia as outlined previously [41]. A part of bulbar and the proximal rabbit urethra of 2.2–2.5 cm in length was fully mobilized (*Fig. 1a*). A segment of the urethra of 2.0×0.5 cm on its dorsal surface was completely excised (*Fig. 1b*). The scaffold was fixed to the ventral surface of the tunica albuginea of corpus cavernosum using single interrupted 5-0 Vicryl sutures at the edges and in the center (*Fig. 1c*). The formed urethral defect was replaced by the hybrid scaffold, the size of which, after adaptation to the urethral bed made up 2.0×0.5 cm. The edges of the scaffold were sewn with urethral edges of the defect using continuous Vicryl 5-0 suture (*Fig. 1d*).

Urinary bladder was drained by silicone urethral Foley catheter 6 Sh for 5–7 days after surgery. To avoid self-removal of the catheter in the postoperative period, the rabbits wore a special veterinary collar and postoperative cloth. 30 min prior to operation and for the entire period of bladder drainage, enrofloxacin 5 mg/kg once daily was administered. The animals were withdrawn from the experiment on days 7, 30, 60, 90 after surgery (3 rabbits per time point) by anesthetic overdose. On the day of withdrawal from the experiment, the animals underwent retrograde urethrography.

Morphological examination

For morphological examination, tissue samples were fixed for at least 48 hours in 10% neutral buffered formalin solution (Biovitrum, Russia) then dehydrated in a series of ascending alcohol concentrations and embedded in paraffin. Microtome sections 5–6 microns thick were carefully deparaffinized and stained with hematoxylin and eosin, picrofuchsin by Van Gieson (to identify collagen) fuxelin by Unna (for detection of elastic fibers), toluidine blue (for the detection of acidic glycosaminoglycans). For the simultaneous detection of various tissue components multicolored Mallory staining was applied.

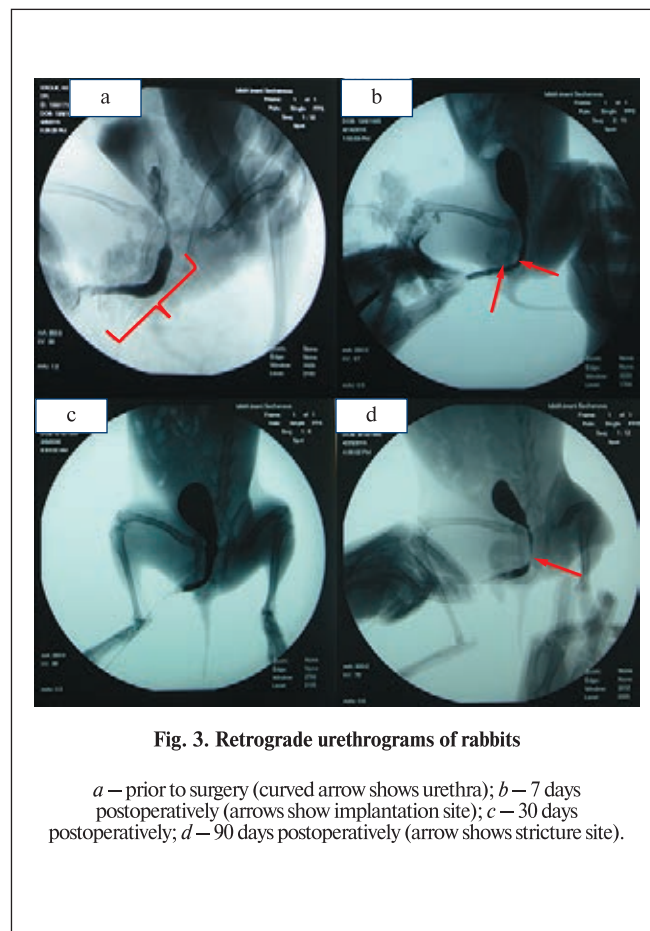
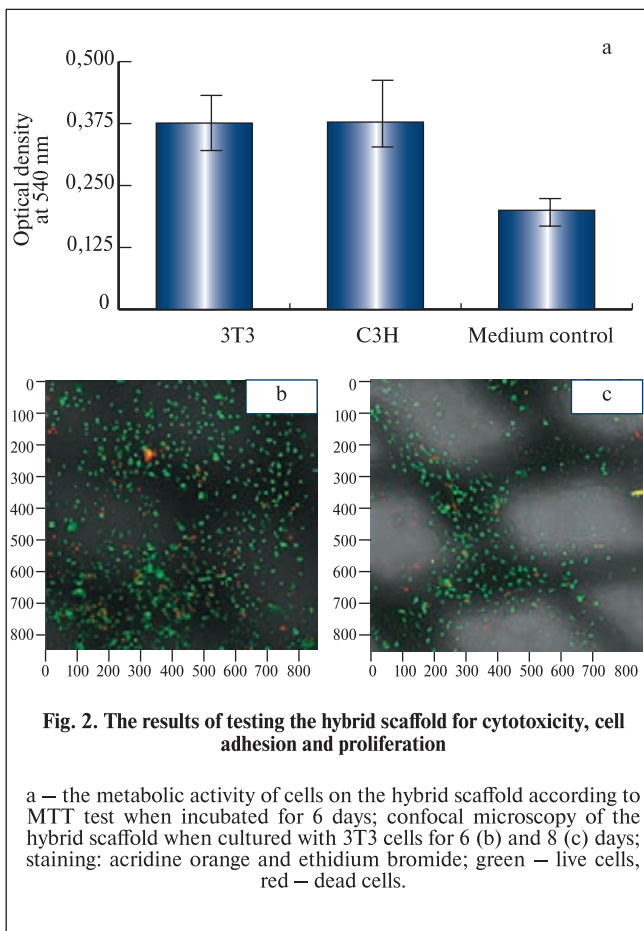
The histological samples were examined by direct light microscopy using research grade Olympus BX51 (Olympus, Japan), equipped with a color digital camera SDU-252 (Spectelektika, Russia), at optical magnification from ×40 to ×1000.

Results.

Assessment of cytotoxicity, cell proliferation and adhesion

MTT test showed no toxicity of the matrix samples using cultures of linear fibroblasts 3T3 and C3H (*Fig. 2a*).

Adhesion and proliferation of cells were observed in all scaffold samples with significant predominance of high-viability cells (*Fig. 2b, c*).



Thus, 3T3 and C3H cell lines adhere and proliferate on the hybrid scaffold, which allows considering this material as effective carriers of cells and suggests their possible use as a scaffold for tissue-engineering construct.

Evaluating the effectiveness of the reconstruction of the urethral defect

Retrograde urethrocytography as described above was carried out after removing the urethral catheter on days 10, 30, 60 and 90 after surgery. The findings were compared with preoperative urethrograms. On urethrograms of days 7, 30 and 60 after surgery, the scaffold implantation site was undetectable, no streaks of contrast agent were found (showing good functional result), the urethral lumen was fully preserved. In only

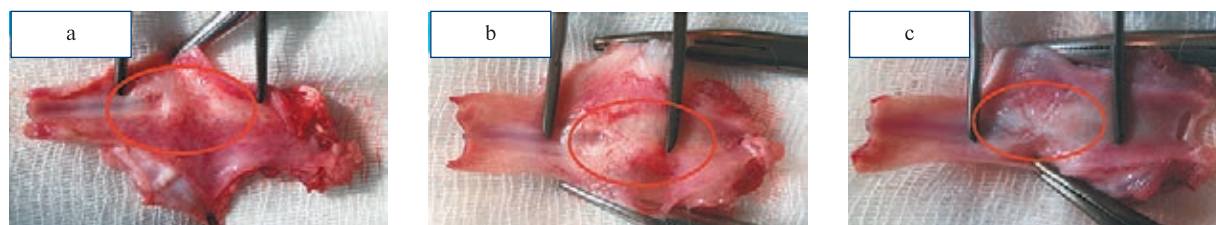
one rabbit of 12, a urethral stricture was observed at day 90, according to urethrocytography and necropsy (Fig. 3, 4).

Normal urination restored in all animals after catheter removal and maintained until the end of follow-up. Urethral obliterations, urinary fistulas were not observed.

Morphological examination

Grossly, the scaffold looks pretty tight, holds its shape, while remaining flexible enough, do not lose shape with a long stay in the water.

Histological examination on day 7 showed that the wall of the intact urethra (outside of the prosthesis) had normal structure, composed of transitional epithelium (urothelium), lamina propria, submucosa, a relatively



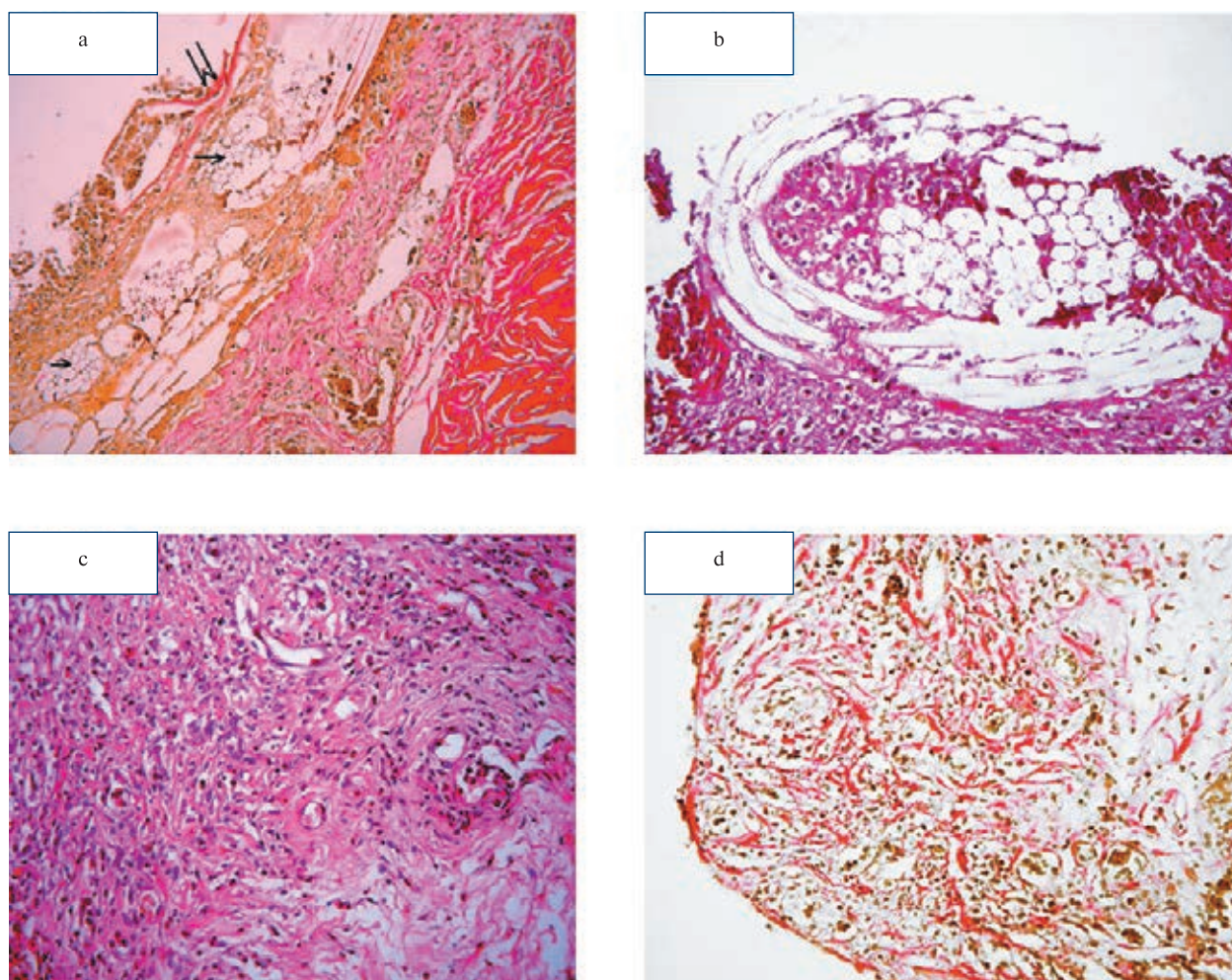


Fig. 5. Day7 after the hybrid scaffold implantation in rabbits

a — the implant wall, consisting of a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh (arrows), medially are seen fibrin deposits and residues of collagen sponge (double arrow); picrofuchsin staining by Van Gieson, $\times 200$; *b* — fibrin, polymorphonuclear leukocytes, macrophages and solitary giant cells of foreign bodies permeate between filaments of Vicryl thread; picrofuchsin staining by Van Gieson, $\times 400$; *c* — granulation tissue outwards from the implant; hematoxylin and eosin staining, $\times 400$; *d* — the newly formed collagen fibers; picrofuchsin staining by Van Gieson, $\times 400$

thick layer of dense connective tissue, muscular layer and the corpus cavernous (*Fig. 5*).

On the side of repair, threads of poly (lactic-co-glycolic acid) mesh were detected, facing the urethral lumen, each thread being composed of thin filaments (*Fig. 5a*). Inside the poly (lactic-co-glycolic acid) mesh, fibrin depositions, accumulation of neutrophils, mostly destroyed, and macrophages were visible. Inside fibrin fibers, there were debris of collagen sponge seen as fuxinofil (picrofuchsin staining by Van Gieson) fibrous structures. By that time, the sponge ("reconstructed" collagen) was almost completely resorbed except for some elements inside the prosthesis.

It should be noted that poly (lactic-co-glycolic acid) threads were also infiltrated with fibrin and neutrophils permeating between the filaments. Among threads inside that infiltrate, macrophages and solitary giant cells of foreign bodies were seen (*Fig. 5b*). Resorption of filaments was not observed at that time-point. In some places, formation of granulation tissue outside of the fibrin

layer was noted. That granulation tissue was composed of numerous capillary-type blood vessels, strands of fibroblasts (*Fig. 5c*) and stained by Van Gieson collagen fibers (*Fig. 5d*).

On **day 30** the implanted material was not found. By that date, most of the inner surface (except the middle) of the former prosthesis was lined with transitional undifferentiated urothelium. That epithelium was located in the loose connective tissue, rich in blood vessels, with foci of infiltration by lymphocytes and macrophages. The newly formed connective tissue was similar to the structure of mucosal lamina propria in the intact urethra (*Fig. 6a*).

One animal had more mature epithelium and underlying connective tissue: more collagen fibers, stained red by Van Gieson and blue by Mallory (*Fig. 6b*).

On **day 60**, the degree of differentiation of the epithelium, lining the newly formed inner surface of the urethral wall, formed on the site of the implanted scaffold, was more pronounced compared with day 30.

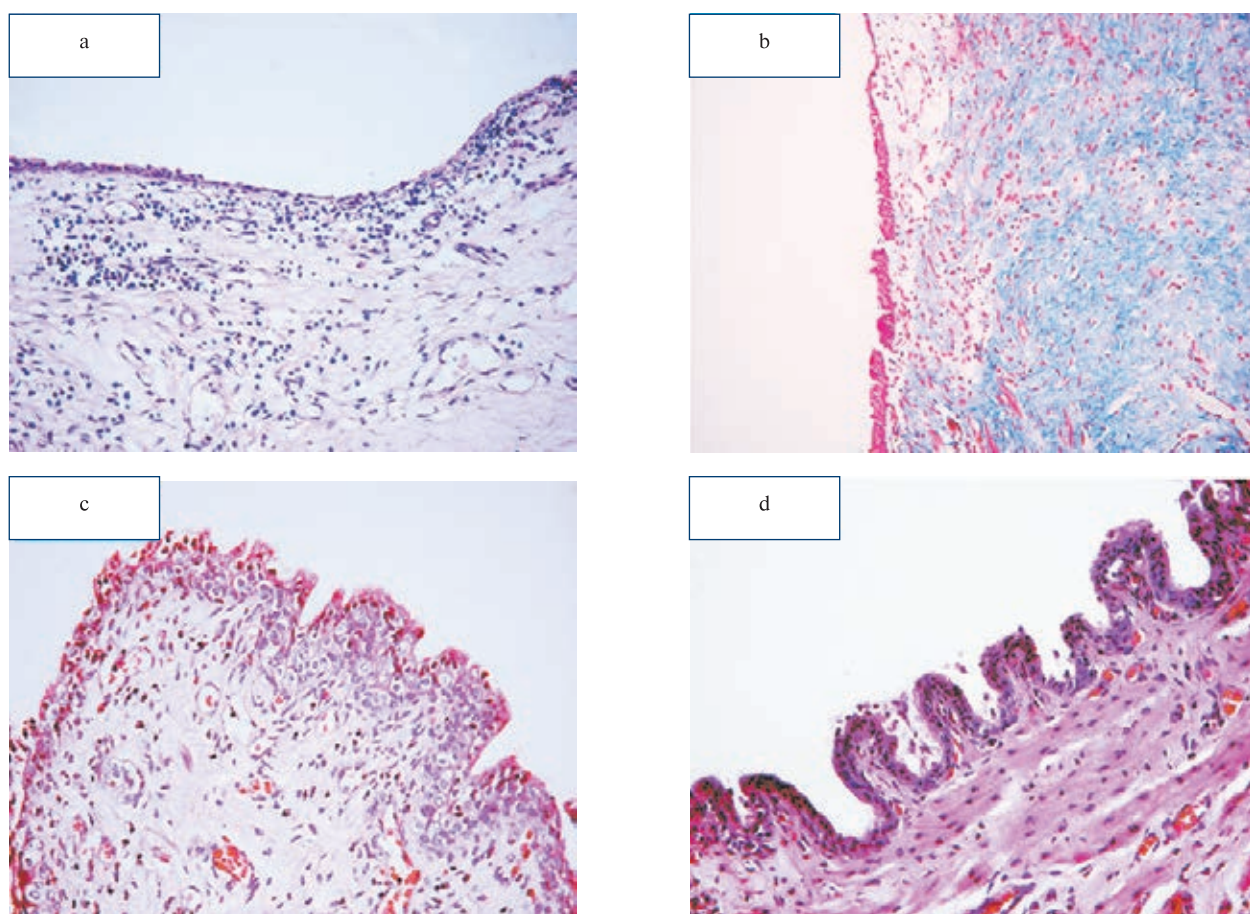


Fig. 6. Changes in histology imaging at the site of the hybrid scaffold implantation in rabbits

a — day 30 after the operation: loose connective tissue, lined with undifferentiated urothelium; hematoxylin and eosin staining, $\times 400$; *b* — day 30 after the operation: urothelium regenerates on the mature connective tissue; Mallory stain, $\times 200$; *c* — day 60 after the operation: differentiated urothelium on the mature connective tissue; hematoxylin and eosin staining, $\times 400$; *d* — day 90 after the operation: complete regeneration of the urothelium, formation of the regenerated papillae of the mucous membrane; hematoxylin and eosin staining $\times 400$.

It had typical for urothelium multilayered structure, but the basement membrane in some places was not yet sufficiently differentiated. The underlying connective tissue was similar to the structure of intact lamina propria of the urethral mucosa (Fig. 6c).

On **day 90** the urothelium had the structure indistinguishable from the native one: basal membrane was fully restored; regenerated mucosa had clearly visible papillae (Fig. 6d). The newly formed mucosa did not differ from the intact urethral mucosa, and it was strongly connected to the muscle layer and the corpus cavernous.

Conclusion. The main objective of this study was to develop a hybrid scaffold which could be effectively applied for substitution urethroplasty in experimental settings. The results show that the above objective has been achieved. Using a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh and “reconstructed” collagen enabled producing a stable and functional composite construct. The resulting hybrid scaffold is non-cytotoxic; the cells actively attach to its surface and then proliferate. In the process of biodegradation, the scaffold is replaced by structurally and functionally completely developed

newly formed urothelial tissue and the urethral mucosa. In the experiment, 12 rabbits were used, and only one of them developed urethral stricture at the scaffold implantation site.

All the above allows considering the produced hybrid scaffold as a potential material for tissue-engineering construct suggesting its subsequent application for substitution urethroplasty in humans.

To summarize:

1. We developed a method for producing a hybrid scaffold based on a poly (lactic-co-glycolic acid) mesh and “reconstructed” collagen, that has sufficient mechanical strength, stable in biological fluids, does not cause cytotoxic reactions and provides an adequate base for cell adhesion and proliferation;
2. The above properties suggest that the hybrid scaffold is an effective cell carrier, which implies its possible application as a scaffold to create a tissue-engineering construct;
3. Substitution urethroplasty using the hybrid scaffold provides structural and functional regeneration of urothelium and urethral mucosa, and the integration of

- the regenerated tissue into the surrounding anatomical elements, corpus cavernous and muscle layer. In the process of regeneration, the hybrid scaffold becomes actively invaded by new blood vessels and provides a supporting frame for the urethral wall;
4. Biodegradation of the hybrid scaffold occurs in up to 30 days;
5. A urethral stricture at the site of intervention occurred only in 1 (8%) of 12 rabbits 90 days after surgery.

Acknowledgements

The study was supported by grant RFBR № 13-02-01363 (evaluation of cytotoxicity of the matrix), RFBR № 13-04-12075 (evaluation of adhesion and proliferation of linear fibroblasts 3T3 and C3H on the matrix) and RNF № 15-15-00132 (a method for forming a hybrid matrix, estimation of its biocompatibility *in vivo* in small laboratory animal experiments).

REFERENCES

- Mundy A.R., Andrich D.E. Urethral strictures. *BJU Int.* 2011;107(1):6–26.
- Kogan M.I. Urethral stricture in men. *Reconstructive surgery. M. : Practical Medicine.* 2010. 144 p.
- Ivaz S.L., Bugeja S., Andrich D.E. Urethral stricture disease in men. *Trends in Urology & Men's Health.* 2015;6(4):21–24.
- Anger J.T. Trends in stricture management among male Medicare beneficiaries: underuse of urethroplasty? *Urology.* 2011;77(2):481–485.
- Santucci R.A., Joyce G.F., Wise M. Male urethral stricture disease. *J Urol.* 2007;177(5):1667–1674.
- Pansadoro V., Emiliozzi P. Iatrogenic prostatic urethral strictures: classification and endoscopic treatment. *Urology.* 1999;53(4):784–789.
- Brandes S.B. *Urethral Reconstructive Surgery. Current Clinical Urology*, ed. E.A. Klein. 2008: Humana Press. 379.
- Stormont T.J., Suman V.J., Oesterling J.E. Newly diagnosed bulbar urethral strictures: etiology and outcome of various treatments. *J Urol.* 1993;150(5 Pt 2):1725–1728.
- Gurdal M., Tekin A., Yücebas E., Kirecci S., Sengör F. Contact neodymium: YAG laser ablation of recurrent urethral strictures using a side-firing fiber. *J Endourol.* 2003;17(9):791–794.
- Bhargava S., Chapple C.R. Buccal mucosal urethroplasty: is it the new gold standard? *BJU Int.* 2004;93(9):1191–1193.
- Chapple C., Andrich D., Atala A., Barbagli G., Cavalcanti A., Kulkarni S., Mangera A., Nakajima Y. SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: The management of anterior urethral stricture disease using substitution urethroplasty. *Urology.* 2014;83(3 Suppl.):S31–47.
- Peterson A.C., Webster G.D. Management of urethral stricture disease: developing options for surgical intervention. *BJU Int.* 2004;94(7):971–976.
- Barbagli G., Lazzeri M. Surgical treatment of anterior urethral stricture diseases: brief overview. *Int Braz J Urol.* 2007;33(4):461–469.
- Wessells H., McAninch J.W. Current controversies in anterior urethral stricture repair: free-graft versus pedicled skin-flap reconstruction. *World J Urol.* 1998;16(3):175–180.
- Osman N.I., Hillary C., Bullock A.J., MacNeil S., Chapple C.R. Tissue engineered buccal mucosa for urethroplasty: progress and future directions. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;82–83:69–76.
- Andrich D.E., Mundy A.R. Substitution urethroplasty with buccal mucosal-free grafts. *J Urol.* 2001;165(4):1131–1133.
- Zimmerman W.B., Santucci R.A. Buccal mucosa urethroplasty for adult urethral strictures. *Indian J Urol.* 2011;27(3):364–370.
- Mangera A., Patterson J.M., Chapple C.R. A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2011;59(5):797–814.
- Barbagli G., Vallasciani S., Romano G., Fabbri F., Guazzoni G., Lazzeri M. Morbidity of oral mucosa graft harvesting from a single cheek. *Eur Urol.* 2010;58(1):33–41.
- Kane C.J., Tarman G.J., Summerton D.J., Buchmann C.E., Ward J.F., O'Reilly K.J., Ruiz H., Thrasher J.B., Zorn B., Smith C., Morey A.F. Multi-institutional experience with buccal mucosa onlay urethroplasty for bulbar urethral reconstruction. *J Urol.* 2002;167(3):1314–1317.
- 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;84(5):480–482.
- Eppey B.L., Keating M., Rink R. A buccal mucosal harvesting technique for urethral reconstruction. *J Urol.* 1997;157(4):1268–70.
- Kim B.D., Ver Halen J.P., Grant D.W., Kim J.Y. Anesthesia duration as an independent risk factor for postoperative complications in free flap surgery: a review of 1,305 surgical cases. *J Reconstr Microsurg.* 2014;30(4):217–226.
- el-Kassaby A., AbouShwareb T., Atala A. Randomized comparative study between buccal mucosal and acellular bladder matrix grafts in complex anterior urethral strictures. *J Urol.* 2008;179(4):1432–1436.
- Fiala R., Vidlar A., Vrtal R., Belej K., Student V. Porcine small intestinal submucosa graft for repair of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2007;51(6):1702–08.
- Fiala R., Vidlar A., Vrtal R., Belej K., Student V. Long-term results of small intestinal submucosa graft in bulbar urethral reconstruction. *Urology.* 2012;79(3):695–701.
- Atala A., Guzman L., Retik A.B. A novel inert collagen matrix for hypospadias repair. *J Urol.* 1999;162(3 Pt 2):1148–1151.
- Mantovani F., Trinchieri A., Castelnovo C., Romano A.L., Pisani E. Reconstructive urethroplasty using porcine acellular matrix. *Eur Urol.* 2003;44(5):600–602.
- 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;169(1):170–173.
- le Roux P.J. Endoscopic urethroplasty with unseeded small intestinal submucosa collagen matrix grafts: a pilot study. *J Urol.* 2005;173(1):140–143.
- Palminteri E., Berdondini E., Colombo F., Austoni E. Small intestinal submucosa (SIS) graft urethroplasty: short-term results. *Eur Urol.* 2007;51(6):1695–1701.
- Farahat Y.A., Elbahnasy A.M., El-Gamal O.M., Ramadan A.R., El-Abd S.A., Taha M.R. Endoscopic urethroplasty using small intestinal submucosal patch in cases of recurrent urethral stricture: a preliminary study. *J Endourol.* 2009;23(12):2001–2005.
- Mantovani F., Tondelli E., Cozzi G., Abed E., Rahman D., Spinelli M.G., Oliva I., Finkelberg E., Talso M., Varisco D., Maggioni A., Rocco F. Reconstructive urethroplasty using porcine acellular matrix (SIS): evolution of the grafting technique and results of 10-year experience. *Urologia.* 2011;78(2):92–97.
- Loran O.B., Seregin A.V., Sinyakova L.A., Dement'eva A.V., Tverdokhlebov N.E. Surgical correction of urinary fistulas in women using biomaterial «Collost». *Proceedings of the 2nd Regional Scientific Forum «Mother and Child».* Sochi, on April 28-30, 2008. P. 171.
- Fossum M., Skikuniene J., Orrego A., Nordenskjöld A. Prepubertal follow-up after hypospadias repair with autologous in vitro cultured urothelial cells. *Acta Paediatr.* 2012;101(7):755–760.
- Engel O. et al. 15 Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty outcome of our first 10 patients. *Urology.* 2012;187(4):e6.
- Bhargava S., Patterson J.M., Inman R.D., MacNeil S., Chapple C.R. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes. *Eur Urol.* 2008;53(6):1263–1269.
- Rogovaya O.S., Vasil'ev A.B., Faizulin A.K., Demin N.V. The use of cell technologies for the reconstruction of the urethra in pediatric urology. *Andrology and Genital Surgery.* 2009;4:36–39.
- Zhang Y., McNeill E., Tian H., Soker S., Andersson K.E., Yoo J.J., Atala A. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction. *J Urol.* 2008;180(5):2226–2233.
- Bharadwaj S., Liu G., Shi Y., Markert C., Andersson K.E., Atala A., Zhang Y. 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.

41. Glybochko P.V., Aliaev Iu.G., Nikolenko V.N., Shekhter A.B., Vinarov A.Z., Istranov L.P., Istranova E.V., Aboiants R.K., Liunup A.V., Danilevskij M.I., Guller A.E., Elistratov P.A., Butnaru D.V., Kantimerov D.F., Mashin G.A., Titov A.S., Proskura A.V., Kudrichevskaja K.V. Experimental validation of the developing a matrix based on decellularized vascular wall for subsequent substitution urethroplasty. *Urologiia*. 2014; 6: 41-46.
42. Glybochko P.V., Aljaev Iu.G., Nikolenko V.N., Shekhter A.B., Vinarov A.Z., Istranov L.P., Istranova E.V., Aboiants R.K., Ljundup A.V., Danilevskij M.I., Guller A.E., Elistratov P.A., Butnaru D.V., Kantimerov D.F., Mashin G.A., Titov A.S., Proskura A.V., Kudrichevskaja K.V. Tissue-engineered substitution urethroplasty based on decellularized vascular matrix and autologous cells of the buccal mucosa: the first experience. *Urologiia*. 2015; 3: 4-10.
43. Conn J. Jr, Oyasu R., Welsh M., Beal J.M. Vicryl (polyglactin 910) synthetic absorbable sutures. *Am J Surg*. 1974; 128(1):19-23.
44. Craig P.H., Williams J.A., Davis K.W., Magoun A.D., Levy A.J., Bogdanský S., Jones J.P. Jr. A biologic comparison of polyglactin 910 and polyglycolic acid synthetic absorbable sutures. *Surg, Gynecol Obstet*. 1975;141(1):1-10.
45. Salthouse T., Matlaga B. Polyglactin 910 suture absorption and the role of cellular enzymes. *Surg Gynecol Obstet*. 1976;142(4):544-550.
46. Hil'kin A.M., Shekhter A.B., Istranov L.P. Collagen and its application in medicine. M.: Medicine. 1976. 227 p.
47. Shekhter A.B., Guller A.E., Istranov L.P., Istranova E.V., Butnaru D.V., Vinarov A.Z., Zakharkina O.L., Kurkov A.V., Kantimerov D.F., Antonov E.N., Glybochko P.V. The morphology of collagen scaffolds for tissue engineering in urology (biocompatibility, biodegradation, tissue reaction). *Archives of Pathology*. 2015. In press.

Received 12.10.15

SPERMATOGENESIS RECOVERY FOLLOWING ALLOGENEIC TRANSPLANTATION OF UNDIFFERENTIATED SERTOLI CELLS IN EXPERIMENTAL MODEL OF BILATERAL ABDOMINAL CRYPTORCHIDISM

¹Koltzov Institute of Developmental Biology of RAS; ²Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Minzdrav of Russia; ³Department of Reproductive Health of Scientific Center of Children's Health; ⁴Faculty of Medicine of the Peoples' Friendship University of Russia

Corresponding author: Je. K. Zhamynchiev — e-mail: Zhamynchiev@gmail.com

This study explores the effect of transplantation of undifferentiated Sertoli cells in the testicular tissue of an experimental animal model of bilateral abdominal cryptorchidism. Effectiveness of undifferentiated Sertoli cell transplantation was assessed after 1 and 3 months after injection. Partial restoration of seminiferous tubules was found to occur after transplantation. In a third of them, germ cells of all stages of the differentiation were discovered while they were not found in the control group.

Key words: cryptorchidism, transplantation, undifferentiated Sertoli cells, pediatric uro-andrology

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Kulibin A.Yu., Malolina E.A., Jacyk S.P., Zhamynchiev Je.K., Kuzin G.V. Spermatogenesis recovery following allogeneic transplantation of undifferentiated sertoli cells in experimental model of bilateral abdominal cryptorchidism. Urologiia. 2015;6:74–80.

Introduction. In recent years, the frequency of infertility in marriage has not reduced, but according to WHO estimates has continued to grow. Over the past 20 years, the proportion of male infertility has been found to increase from 8–10 to 30–40% of all infertility cases [1]. One of the causes of male infertility is cryptorchidism, an anomaly associated with the failure of one or both of the testes to descend into the scrotum. Cryptorchidism is a common developmental disorder of the reproductive system, occurring in 30% of preterm and 4% of term infants [2]. A great deal of research for many years has focused on cryptorchidism and its complications [3].

Traditional treatments of cryptorchidism are not sufficiently effective. For instance, the effectiveness of hormone therapy (using human chorionic gonadotropin), widely used for over 30 years, remains a controversial issue [4] and compared with the placebo group does not exceed 10% [5]. Another treatment option is orchiopexy (surgically moving an undescended testicle into the scrotum) rarely provides the expected recovery of spermatogenesis, especially in cases of bilateral cryptorchidism, and is commonly used for preventive purposes.

Currently, there are new approaches emerging to the spermatogenesis recovery, though being at the stage of experiments on laboratory animals.

One such approach is artificial gametogenesis, the differentiation of male germ cells from embryonic stem cells (ESC) and induced pluripotent stem cells in vitro. Several studies have reported successful differentiation of ESC in culture using specific inducers into haploid male germ cells subsequently used for artificial insemination [6, 7]. However, the existing methods of artificial gametogenesis have low efficiency: only 0.01% of all the cells reach the haploid state. Among the significant disadvantages of this approach is the impairment of germ cell differentiation [8, 9], which occurs due to unnatural microenvironment in vitro.

Another approach to the restoration of male fertility involves spermatogonial stem cells (SSC). The methods

of isolation, cultivation of SSC [10–12] and their transplantation into the testes of animals with impaired spermatogenesis have been developed [13, 14]. In cases of germ cell damage, transplanting SSC can restore spermatogenesis [15]. However, cryptorchidism affects not so much SSC, as their microenvironment — Sertoli cells (SC) [16–18]. Sertoli cells are somatic cells of the testes, supporting the development of germ cells. They provide a supporting framework, in which the seminiferous tubules are embedded, produce many factors regulating growth and differentiation of germ cells, perform trophic and many other functions. Without these cells, the development of germ cells is impossible.

There are no published data on allogeneic cell transplantation to restore spermatogenesis after cryptorchidism in animals. However, in the other model — local irradiation of the testes of rats (which, like cryptorchidism, irreversibly disrupts SC function [19]) allogeneic transplantation of undifferentiated SC (USC) in the interstitial tissue of the testes of 12–13-day-old rats resulted in partial recovery of spermatogenesis in the seminiferous tubules of the recipient [20].

The aim: to investigate the effect of allogeneic transplantation of NSC on restoring spermatogenesis in an experimental animal model of bilateral abdominal cryptorchidism.

Materials and methods. The study included 50 Wistar rats: 30 animals aged 15 days (age was chosen based on the results of our previous studies [3]) underwent fixation of the testes into an abdominal cavity (recipients), 20 rats aged 10 days were used as USC donors for transplantation. The rats were kept under standard vivarium conditions with day/night regimen 12 h/12 h; the animals were supplied with food and water *ad libitum*.

The animals were divided into 6 groups of 4–5 rats each.

The control group (K) — control of spermatogenic tissue after cryptorchidism; rats were withdrawn from the experiment at the time of moving the testes from the

abdomen down into the scrotum 90 days after modeling cryptorchidism.

The control group (KO-1) – 90 days after modeling bilateral abdominal cryptorchidism, the animals underwent orchiopexy and were withdrawn from the experiment 1 month after the operation.

Control groups (KV-1 and KV-3) – 90 days after modeling bilateral abdominal cryptorchidism, the animals underwent orchiopexy and injection of cell-free medium into the interstitial tissue of the testes; the rats were withdrawn from the experiment 1 and 3 months after the operation, respectively.

The experimental groups (O-1 and O-3) – 90 days after modeling bilateral abdominal cryptorchidism, the animals underwent orchiopexy with simultaneous injection of cell suspension containing USC; the rats were withdrawn from the experiment 1 and 3 months after the operation, respectively.

Modeling bilateral abdominal cryptorchidism. In the absence of animal models of congenital cryptorchidism, in this study cryptorchidism was produced by translocating testes from the scrotum into the body and fixing them inside it. The technique was described in detail previously [3]. After anesthesia, middle laparotomy was performed. Testis were moved into the operating wound and then fixed by the capsular edge to the parietal peritoneum of the anterior abdominal wall with Prolene 5/0 suture (Johnson & Johnson, USA) using an atraumatic needle. After performing a similar testicular translocation to the contralateral anterior abdominal wall, the abdominal incision was sutured hermetically by a separate layer technique.

Preparation of cell suspensions for transplant. USC suspension was prepared from the testes of 10-day-old rats (Wistar line). The animals were decapitated; the testes were isolated and placed in Hank's solution (without Ca^{2+} and Mg^{2+}); then tunica albuginea was removed and the testicular tissue was loosened. Thereafter, the testes were transferred to a 14-mL centrifuge tube with sterile Hank's solution and added 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (1:50) penicillin/streptomycin (PanEco) and incubated with antibiotics for 5 min. During this time, the testes descended to the bottom. The supernatant was removed and replaced by collagenase solution IV 1 mg/1.5 mL with DNase I 0.04% and incubated for 15 min at 34°C. After incubation with collagenase, seminiferous tubules isolated from the interstitial tissue were rinsed 3 times with Hanks' solution. Tubules were then added to 5 mL of trypsin solution (0.25%) + 1 mM EDTA (Invitrogen, USA) and incubated for 15 min at 34 °C.

After incubation, FBS (Fetal Bovine Serum, HyClone) was added to the solution to stop trypsin action, then the tubules were rinsed 3 times with Hanks' solution and the tubules were dissociated into single cells by pipetting. The cell suspension was passed through a ~ 200–300 micron filter, then through a 40 micron filter, rinsing with Hanks' solution. Cells were pelleted by centrifugation at 300 g for 10 minutes. After removing supernatant, 2.9 mL of Hanks' solution was added; the precipitate was resuspended, which followed by adding hypotonic solution (0.7 mL of Hanks' solution and 6.4 mL of sterile deionized water) and centrifuged at 300 g for 5 minutes. As a result of the hypotonic treatment of the cell suspension, almost all the germ cells and red blood cells were destroyed. The supernatant was removed, and the pellet was resuspended in a medium (DMEM: F12 1: 1), the number of cells

was counted in the Goryaev camera. Then, to enrich the cell suspension for USC transplantation, the cells were planted on Petri dishes coated with gelatin in a medium (α -MEM: F12, 5% FBS, 2% Pen/Strep, L-glutamine [1:50], sodium pyruvate [1:100, solution of 1.1 mg / mL]) at a concentration of 0.3×10^6 cells per 1 cm^2 . Cells were cultured for 1 day. During this time, all viable USC attached to gelatin. After 1 day, a cell suspension was prepared in a medium (DMEM, 10% DNase I [2 mg/mL], 5% trypan blue vital stain [0.4% solution]).

Transplantation of cell suspensions. Testes were moved into the operating wound. The cell suspension was injected via piston microinjector capillary (tip diameter – 60 μm). Before inserting the capillary, a hole in the tunica albuginea of the testis was made by 20G needle. The cells were injected in the testicular interstitium by small portions, securing its uniform distribution. The injections were controlled by staining testicular tissue with trypan blue. Each testis of experimental group rats was injected with 150 μL of the cell suspension containing 2×10^6 cells. Control animals (groups KV-1 and KV-3) were administered a medium of the same composition and volume, but without USC. The injections were performed under a microscope at 16x magnification.

After transplantation, the testis was moved down into the scrotum with safety precautions, then similar transplantation was performed at the contralateral side, and the abdominal incision was sutured hermetically by a separate layer technique.

Qualitative and quantitative histological analysis of spermatogenic tissue. The animals were withdrawn from the experiment by ether overdose in a desiccator, the testes were removed and weighed, fixed in 4% paraformaldehyde (pH 7.4), then brought through a series of ascending alcohol and xylene concentrations and embedded in paraffin. 7 μm sections were prepared and stained with hematoxylin and eosin. For the qualitative assessment of spermatogenic tissue, the sections were examined and photographed using a Leica DM5000B (USA) microscope. For a quantitative assessment, in three sections of the testis (the distance between the slices of ~ 200 microns) the total number of tubules, the number of tubules containing all types differentiating germ cells (tubules with the normal structure of seminiferous epithelium), the number of tubules without spermatids, the number of tubules without spermatids and spermatocytes and number tubules without germ cells were counted (results expressed as a percentage).

Statistical analysis. Quantitative data were analyzed using STATISTICA 8.0 (StatSoft, USA) statistical software. Comparing average numerical data between experimental and control groups was performed with the nonparametric Mann-Whitney U test. Differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$.

Results and discussion. The results of measuring testicular weight. The average weight of the testis in animals at 1 and 3 months after descending them into the scrotum and transplanting the cells was 522 and 528 mg, respectively, which was significantly greater than in control animals (Fig. 1). In the rats of the control group K, after 90 days of abdominal exposure of the testes, the mean testicular weight was significantly lower than in other control groups, and was 280 mg.

In the control group KO-1, at 1 month after descending testes into the scrotum, the mean testicular weight

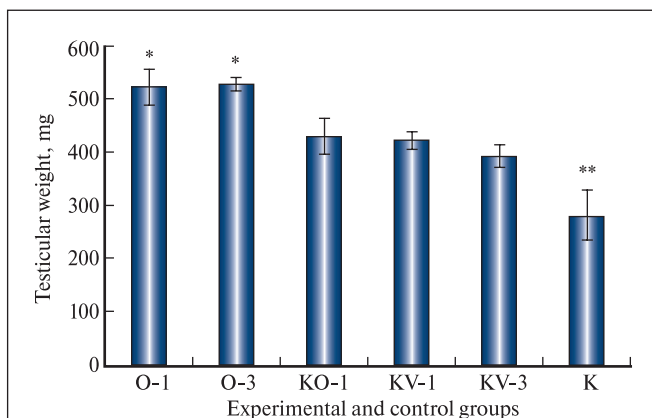


Fig. 1. Rat testicular sections of the experimental and control groups. Data are presented as Mean $\pm$ standard error of the mean ($M \pm m$)

* – the mean testicular weight is significantly greater in the experimental groups compared with the control groups at $p < 0.05$; ** – the mean testicular weight in the control group K is statistically significantly lower than in the other control groups at $p < 0.05$.

increased and amounted to 428 mg. The same pattern was observed in KV-1 control group (at 1 month after descending testes into the scrotum and the injection of the medium) in which the mean weight was 421 mg; after 3 months (group KV-3), it decreased insignificantly to an average of 392 mg.

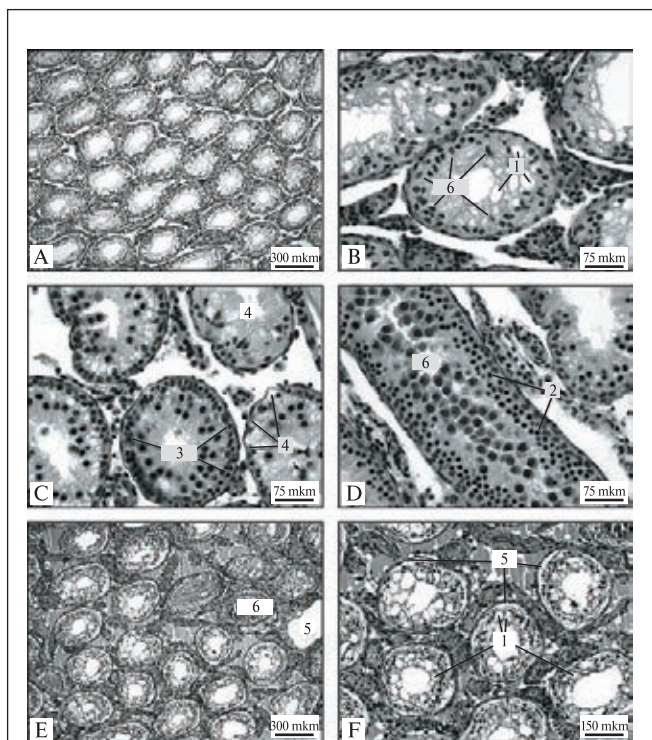


Fig. 2. Rat testicular sections after 90 days of cryptorchidism – group K (a-d) and at 1 month after orchiopey – group KO-1 (e, f). H&E staining

1 – vacuoles in the cytoplasm of SC, 2 – nucleus of first-order spermatocytes at zygotene stage, 3 – nucleus of first-order spermatocytes at preleptotene-leptotene stage, 4 – hollow tubules almost completely devoid of germ cells, 5 – tubule wall with seminiferous epithelium peeling off, 6 – germ cells exfoliated into the tubular lumen.

Qualitative histological assessment of spermatogenic tissue. To assess the effect of allogeneic USC transplantation, histologic examination of spermatogenic tissue was performed in all groups of animals.

In the control group K, all seminiferous tubules were devoid of elongated and round spermatids (Fig. 2a), and in parts of the tubules also no meiotic cells (Fig. 2, b, c) were found, which indicates a severe impairment of male germ cell development. The cytoplasm of SC, normally visible only around the nucleus, significantly expanded and was filled with vacuoles. The nuclei of SC were often shifted to the tubular lumen, which normally is seen only at the spermiation stage (Fig. 2b). In many tubules, spermatogenesis was stopped (blocked) at the stage of preleptotene-leptotene or zygotene (Fig. 2, c, d, respectively). This was evidenced by the accumulation of nuclei of first-order spermatocytes at corresponding stages of differentiation, arranged in 2–3 rows, which normally never occurs. Dead germ cells often exfoliated into the tubular lumen (Fig. 2d).

In the testes of the control group KO-1, at one month after moving the testes from abdomen down into the scrotum, male germ cells did not restore, on the other hand, spermatogenic tissue disturbances became more significant. In all the seminiferous tubules spermatogenesis was completely disrupted (Fig. 2e); of germ cells, in most cases only spermatogonia were found in the tubules (Fig. 2f). The cytoplasm of SC included an increased number of vacuoles (Fig. 3c). In many tubules the nuclei of SC and spermatogonial cells left the basement membrane. In some tubules the lumen was completely absent (Fig. 2e). The changes in the spermatogenic tissue of the testes after moving them from the abdomen down into the scrotum show the irreversibility of disruption of spermatogenesis in rats with artificial cryptorchidism.

In the testes of the control group KV-1, at one month after orchiopey and injection of the cell-free medium, spermatogenesis pattern was a little different from that in the KO-1 group, but as a whole was similar. Disruption of development of male germ cells took place in all the seminiferous tubules (Fig. 3a).

The cytoplasm of SC of some tubules contained vacuoles (Fig. 3b). The number of vacuoles in the SC and the number of tubules containing such cells was lower than in the control group KO-1. In the germinal epithelium of many tubules only the nuclei of spermatogonial cells and SC were seen; the nucleus was often shifted to the lumen (Fig. 3b). An important difference from the group KO-1 was the emergence of a significant number of tubules with meiotic cells (Fig. 3a). In some testes, the interstitial tissue was substituted with connective tissue, the number and size of blood vessels increased, the tubules drifted apart from each other. In some tubules (1-2 per one cross-section of testes) death of all cells was observed, and the tubules contained only cell debris. There were also skeletons of tubules containing neither germ cells, nor somatic cells (Fig. 3c).

In the testes of the control group KV-3, at 3 months after orchiopey and the injection of the cell-free medium histology changes in spermatogenesis were worse than at 1 month after the medium injection. Spermatogenesis was disrupted in all seminiferous tubules (Fig. 3d). Only SC and sparse spermatogonia were found in the seminiferous epithelium. SC cytoplasm was highly vacuolated. In some tubules, nuclei of germ and somatic cells were randomly

scattered throughout the entire thickness of seminiferous epithelium, and were not at the basement membrane (Fig. 3e). There were few tubules containing spermatocytes. Interstitial tissue was partially replaced with connective tissue, the tubules drifted apart from each other, the number of blood vessels increased (Fig. 3f).

In rats of the experimental group O-1 at one month after moving the testes from abdomen down into the scrotum and USC transplantation, there was a complete recovery of spermatogenesis in part of the seminiferous tubules (Fig. 4a, b). In the tubules with restored spermatogenesis all types of differentiated germ cells from spermatogonial cells to elongated spermatids were observed (Fig. 4b shows a cross section of the tubule at spermiation stage). In such tubules germ cells of different generations were arranged in concentric layers, which appeared normal in the number and position. Along with tubules with a fully restored structure of the seminiferous epithelium, we observed also tubules with partial recovery of the epithelium (Fig. 4c). The tubules were devoid of postmeiotic germ cells, the number of spermatocytes was higher than normal, which may indicate spermatogenesis block at this stage of cell development. There were also tubules without germ cells and tubules containing only spermatogonium, but they were few.

In the experimental group O-3 at 3 months after transplantation, we also found tubules with fully recovered spermatogenesis (Fig. 4d, e). Unlike the experimental group O-1, in isolated testes of this group we observed recovery of spermatogenesis in the majority of the seminiferous tubules. At the same time it is necessary to note the presence of vast areas of hollow tubules in some testes (Fig. 4, e), which we did not see in group O-1. Just as in the experimental group O-1, in the tubules with restored spermatogenesis all types of differentiated germ cells - from the spermatogonial cells to elongating spermatids - were observed (Fig. 4e). Germ cells of different generations in those tubules were arranged in layers, which appeared normal in the number and position.

Quantitative histological analysis of spermatogenic tissue. For a more complete assessment of spermatogenic tissue recovery after USC transplantation, we determined the proportion of tubules with varying degrees of impairment of the seminiferous epithelium in the animals of the experimental and control groups. The proportion of tubules with the normal structure of the seminiferous epithelium, containing all types of developing germ cells in animals of experimental groups O-1 and O-3 on average amounted to 33.7 and 37.5% (Fig. 5a). In rats of control groups K, KO-1 and KV-3 normal spermatogenic tubules in testes were practically absent (0, 0.1 and 0.3%, respectively) and only in the control group KV-1 their proportion was 2% of tubules. The percentage of tubules without spermatids in animals of group O-1 was 51.9%, O-3 - 34.9% (Fig. 5b). In control groups the lowest proportion of tubules without spermatids were recorded at 1 month after moving testes down into the scrotum (2.6%, group KO-1), and the greatest at 3 months after cryptorchidism (63.4%, group K). At 1 and 3 months after moving testes down into the scrotum and the injection of the medium the proportion of such tubules was 37.5 and 20%, respectively. The percentage of tubules without spermatids and spermatocytes in animals of experimental groups O-1 and O-3 was 14.4 and 27.6% respectively (Fig. 5c).

Among the animals of the control groups the lowest proportion of such tubules was in the group K (35.6%),

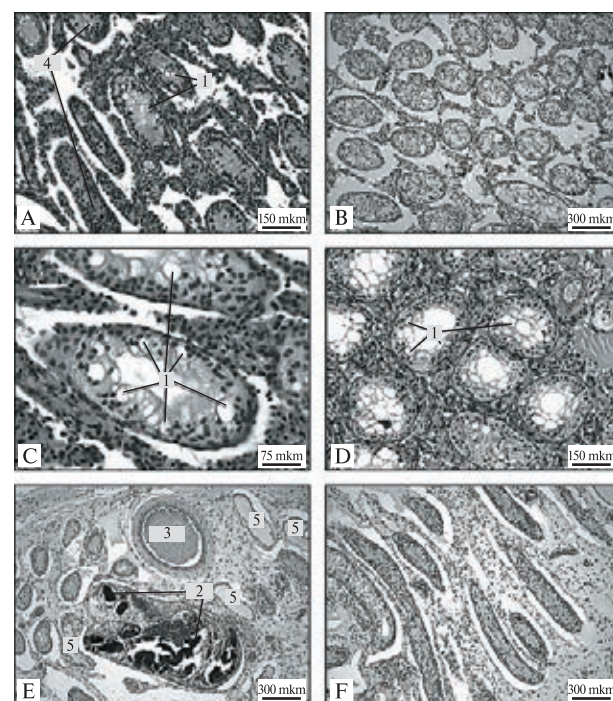


Fig. 3. Rat testicular sections 1 month (a-c) and 3 months (d-f) after orchiopexy and injection of the medium (group KV-1 and KV-3). H&E staining

1 — vacuoles in the cytoplasm of SC, 2 — cell debris, 3 — the blood vessels in the interstitial tissue of the testis, 4 — the nuclei of first-order spermatocytes at the pachytene stage, 5 — hollow tubules almost completely devoid of germ cells, 6 — germ cells exfoliated into the tubular lumen.

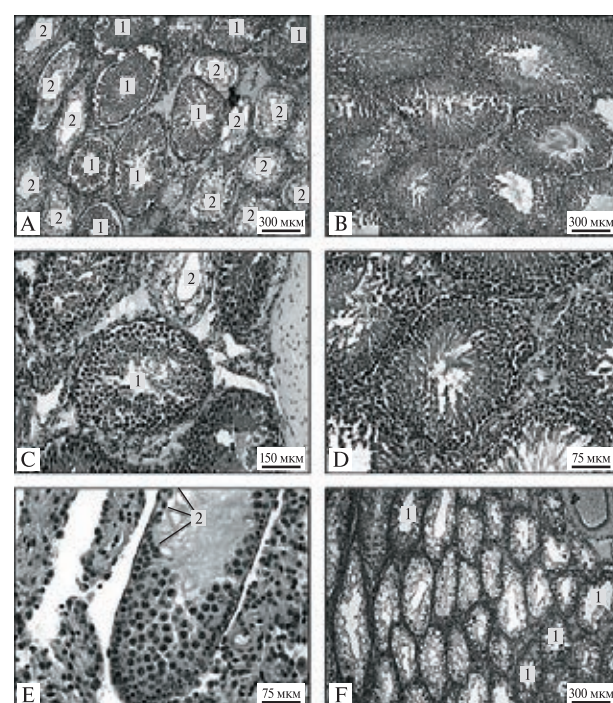


Fig. 4. Rat testicular sections 1 month (a-c) and 3 months (d-f) after orchiopexy and injection of the medium with USC — groups O-1 and O-3. H&E staining

1 — tubules with fully recovered spermatogenesis; there are all types of spermatogenic cells, appearing normal in the number and position, 2 — hollow tubules almost completely devoid of germ cells.

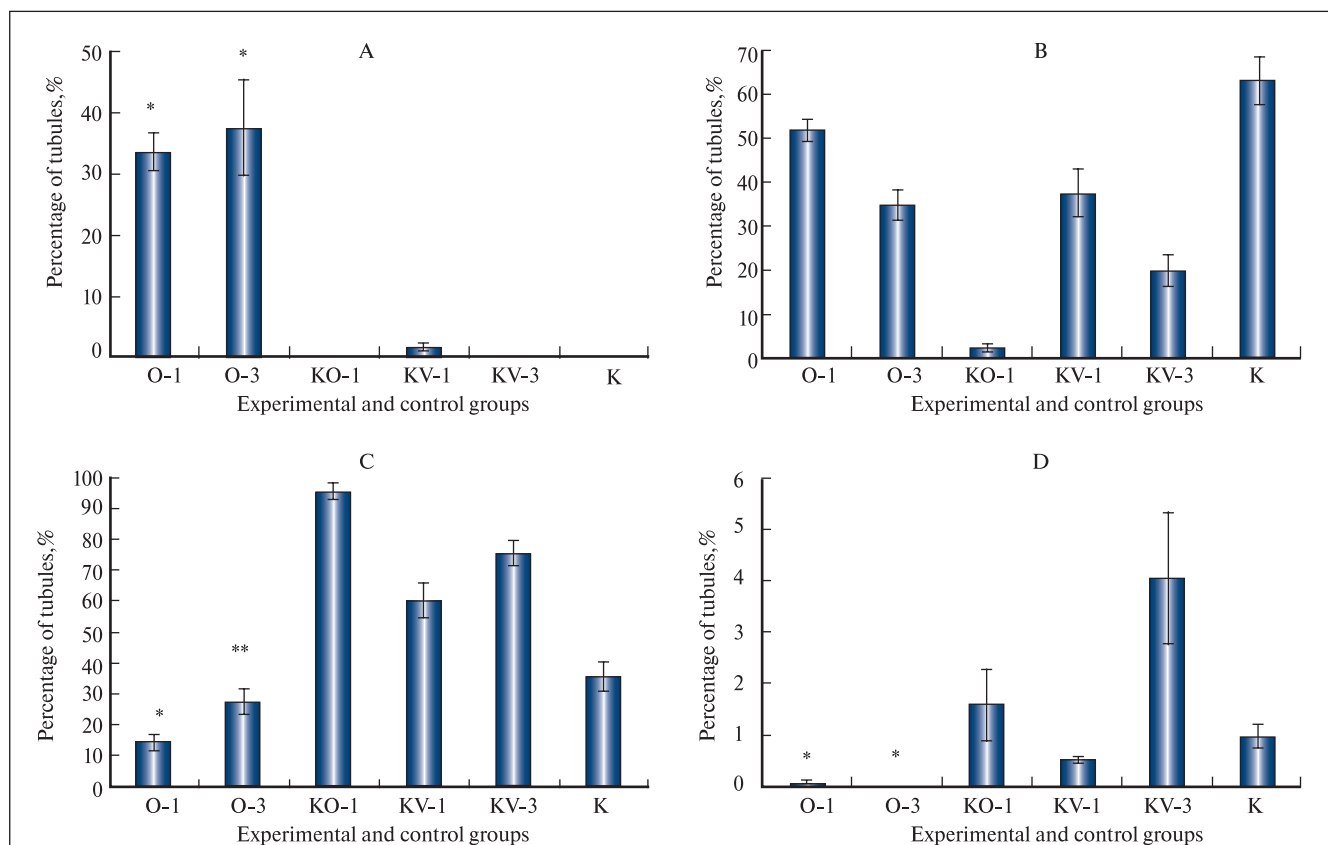


Fig. 5. Quantitative assessment of spermatogenic tissue in different groups of animals. Data are presented as Mean $\pm$ standard error of the mean ($M \pm m$)

a – the percentage of tubules containing all types of differentiated germ cells; * – the mean number of tubules with fully restored spermatogenesis in experimental groups of animals was significantly higher than in the control, at $p < 0.05$; b – the proportion of tubules without round and elongated spermatids; c – the percentage of tubules without spermatids and meiotic cells; * – the mean number of tubules without spermatids and meiotic cells in the experimental group O-1 was significantly lower than in all other groups, $p < 0.05$, ** – the mean number of tubules without spermatids and meiotic cells in the experimental group O-3 statistically significantly lower than in control groups KO-1, KV-1 and KV-3, but not in the group K, $p < 0.05$; d – the percentage of tubules without germ cells; * – the mean number of tubules without germ cells in the experimental groups of rats was significantly lower than in all control groups, at $p < 0.05$.

and the highest in the group KO-1 (95.7%); in animal of groups KV-1 and KV-3 the percentage of tubules without meiotic and postmeiotic germ cells was 60.4 and 75.6%, respectively. In testes of animals of all groups, the least frequently observed were the tubules without germ cells, in which only SC were present on the basal membrane.

In animals of the experimental groups O-1 and O-2 such tubules were detected in isolated testis (0.1%) only in the first group (Fig. 5d). The same number of hollow tubules was in the control group KV-1, and 3 months after moving the testes down into the scrotum and the injection of the medium, on the contrary, it has reached a maximum of 4%. In animals of groups K and KO-1 the percentage of such tubules was 1 and 1.6%, respectively.

As seen from the results of testes weight measurement, qualitative and quantitative histological examination of spermatogenesis, transplantation of USC in the interstitial tissue of the testes at 3-month after modeling cryptorchidism promotes recovery of male germ cells in the seminiferous tubules of the recipient. Recovery of spermatogenesis cannot be considered complete, which is evident from testicular weight measurement results. For instance, even though at 3 months after transplantation testicular weight nearly doubled compared with the animals of the control group (K), reaching about 500

mg, it was significantly lower than normal testicular weight (2–3 g for rats aged 6–7 months). We suggest that testicular weight did not reach normal levels because of insufficient number of transplanted cells and their uneven distribution in the interstitial tissue of the testis.

Thus, according to [19], in rats subjected to local irradiation of the testes (6 Gy γ -irradiation) followed by transplantation of USC in the interstitial tissue, spermatogenesis in the seminiferous tubules of recipient recovered only in those parts of the tubule where the donor cells were located in the interstitial tissue.

In the animals of control groups KO-1, KV-1, KV-3 testicular weight also was found to increase, but not as significant as after cell transplantation. Despite this, our study found no histological reconstruction in the spermatogenic system of these animals. On the contrary, according to the quantitative analysis, the percentage of tubules without spermatids decreased compared with the control group K, while the percentage of tubules without spermatids, meiotic cells and germ cells increased. These data show the continuing degradation of spermatogenesis in rats even after discontinuing cryptorchidism by moving the testes down into the scrotum.

The increase in testicular weight was probably associated with thickening of the tunica albuginea and the

overgrowth of connective tissue in the interstitium. The recovery process in the testes after cell transplantation is well illustrated by the results of a quantitative histological evaluation of spermatogenesis. Thus, in both experimental groups the proportion of tubules containing all types differentiating gametes exceeded 30%, while in the majority of the control animals such tubules were absent. Also worthy of note is a significantly (in most cases statistically significant) decreased percentage of the tubules without spermatids, spermatocytes and germ cells as compared to control groups.

The observed process of recovery after USC transplantation far exceeds the results obtained in rats after irradiation: according Z. Zhang et al. (2009) at 13 weeks after similar USC transplantation, spermatogenesis in the seminiferous tubules of recipient recovered only up to the stage of meiosis (7% of the tubules), the tubules with spermatids were absent [20]. This is probably because testicular irradiation did more damage to the spermatogenic system as a whole and SC in particular, than cryptorchidism. This suggests the possibility of achieving better results in restoring spermatogenesis after cryptorchidism (such as fertility recovery) by optimizing the conditions for transplantation and selecting timing of cryptorchidism.

Conclusions

1. The present model of bilateral abdominal cryptorchidism shows that translocating the testes into the abdominal cavity for 90 days results in irreversible degenerative processes in the testes of rats.
2. Orchiopexy, as well as the injection of cell-free medium does not result in spermatogenesis recovery, conversely, degradation of spermatogenic tissue continues to grow.
3. Transplantation of USC promotes full recovery of spermatogenesis in more than 30% of the seminiferous tubules of the recipient within 1 month after the operation.

The work was supported by a grant

Basic Research Program of the Presidium of RAS «Basic Research for the Development of Biomedical Technologies» (2015).

REFERENCES

1. Bayasgalan G., Naranbat D., Radnaabazar J., Lhagvasuren T., Rowe P.J. Male infertility: risk factors in Mongolian men. *Asian J Androl.* 2004;4:305–311.
2. Yusufov A.A., Rumyantseva G.N., Pykov M.I. The role of ultrasonography in the diagnosis of cryptorchidism in children. *Urologiia.* 2011; 4: 60–64.
3. Kirpatovskii I.D., Titarov D.L., Zhamynchiev E.K. Comparison of reparative characteristics of testicular tissue in young and adult animals in the model of bilateral abdominal cryptorchidism (experimental work). *Bulletin of Peoples' Friendship University.* 2012; 4: 11–15.
4. Erokhin A.P., Volozhin S.I. Cryptorchidism. M., 1995. P. 227–229.
5. Penson D., Krishnaswami S., Jules A., Pheeters M.L. Effectiveness of hormonal and surgical therapies for cryptorchidism: a systematic review. *Pediatrics.* 2013;131(6):e1897–907. doi: 10.1542/peds.2013-0072. Epub 2013 May
6. Geijsen N., Horoschak M., Kim K., Gribnau J., Eggan K., Daley G.Q. Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. *Nature.* 2004;8:148–154.
7. Aflatoonian B., Ruban L., Jones M., Aflatoonian R., Fazeli A., Moore H.D. In vitro post-meiotic germ cell development from human embryonic stem cells. *Hum Reprod.* 2009;12:3150–3159.
8. Nayernia K., Nolte J., Michelmann H.W., Lee J.H., Rathack K. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Dev Cell.* 2006;1:125–132.
9. Lokman M., Moore H. An artificial sperm-next year or never? *Hum Fertil. (Camb).* 2010;4:272–276.
10. Nagano M., Avarbock M.R., Leonida E.B., Brinster C.J., Brinster R.L. of mouse spermatogonial stem cells. *Tissue Cell.* 1998;4:389–397.
11. Kubota H., Avarbock M.R., Brinster R.L. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004 ;101(47):16489–16494.
12. Kanatsu-Shinohara M., Ogonuki N., Iwano T., Lee J., Kazuki Y. Genetic and epigenetic properties of mouse male germline stem cells during long-term culture. *Development.* 2005;132(18): 4155–4163.
13. Brinster R.L., Avarbock M.R. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(24):11303–11307.
14. Khaira H., McLean D., Ohl D.A., Smith G.D. Spermatogonial stem cell isolation, storage, and transplantation. *J Androl.* 2005;26(4):442–450.
15. Zhang Z., Shao S., Meistrich M.L. Irradiated mouse testes efficiently support spermatogenesis derived from donor germ cells of mice and rats. *J Androl.* 2006;27(3):365–375.
16. Chen M., Cai H., Yang J.-L., Lu C.-L., Liu L., Yang W., Guo J., Hu H.-Q., Fan C.-H., Hu Z.-Y. Effect of heat stress on expression of junction-associated molecules and upstream factors androgen receptor and wilms' tumor 1 in monkey Sertoli cells. *Endocrinology.* 2008;149(10):4871–4882.
17. Liu Y.-X., Li X.-X. Molecular basis of cryptorchidism-induced infertility. *Sci. China Life Sci.* 2010;53(11):1274–1283.
18. Mendis-Handagama S.M.L.C., Kerr J.B., de Kretser D.M. Experimental cryptorchidism in the adult mouse: I. Qualitative and quantitative light microscopic morphology. *J. Androl.* 1990;11(6):539–547.
19. Zhang Z., Shao S., Meistrich M.L. The radiation-induced block in spermatogonial differentiation is due to damage to the somatic environment, not the germ cells. *J Cell Physiol.* 2007;211(1):149–158.
20. Zhang Z., Shao S., Shetty G., Meistrich M.L. Donor Sertoli cells transplanted into irradiated rat testes stimulate partial recovery of endogenous spermatogenesis. *Reproduction.* 2009;137(3):497–508.

Received 27.07.15

INITIAL EXPERIENCE WITH SHOCK WAVE THERAPY IN MEN WITH CHRONIC PELVIC PAIN SYNDROME

Uronephrology and Human Reproductive Health Research Institute, I.M. Sechenov First Moscow Medical University, Moscow

Corresponding author: Yu.L. Demidko e-mail: demidko1@mail.ru

In article experience of application of low-energy shock and wave therapy for men with a chronic pelvic pain syndrome is described.

Key words: chronic pelvic pain syndrome, males, shock waves

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Rudenko V.I., Rapoport L.M., Gazimiev M.A., Demidko Yu.L., Bayduvaliev A.M. Initial experience with shock wave therapy in men with chronic pelvic pain syndrome. Urologiia. 2015;6:26–29.

Background. The approximately estimated frequency of chronic pelvic pain syndrome (CPPS) in men is 4.5% [1]. There is data to confirm that the number of men with CPPS complaints increase [2, 3]. CPPS clinical symptoms significantly decrease the patient's quality of life. This decrease is related to pain, the main sign of the syndrome. The pain varies in intensity, frequency and location in prostatic, testicular, groin, sacral, and pubic areas [4, 5].

A significant impact on quality of life reduction is also caused by lower urinary tract symptoms (LUTS) and a decrease in erectile function. The influence of these disorders on quality of life is comparable to the pain felt by the patients [6].

Non-inflammatory CPPS is characterized by a prolonged course. CPPS pathophysiology has not been definitively established. The impact of infectious agents, pathological tension of pelvic muscles, chemical injury of the prostate due to intraprostatic reflux, local blood circulation disorders are under debate [7].

The long-term smooth muscle tension of the bladder neck and prostate as a result of the activation of α 1-adrenoceptors may also aggravate existing chronic pelvic pain symptoms [8].

The role of the pathological changes in the prostate gland as the cause of the CPPS is questionable, because the symptoms similar to CPPS in men are also described in women [9–11].

According to the existing classification, the symptoms of chronic pelvic pain in the absence of a confirmed infectious agent are defined as CPPS, type IIIB [12].

This diagnosis can be made after the routine examination, which allows evaluation of symptoms and their severity, exclusion of presence of infection, and also a differential diagnostics of other possible causes of this complex of symptoms.

The presence of several suspected mechanisms of CPPS development resulted in application of various means and methods of treatment of this pathological condition.

It includes antibacterial and anti-inflammatory therapy, α -blockers, inhibitors of 5 α -reductase, as well as agents improving blood circulation, and muscle relaxants [13].

It was noted that the low-energy shock wave therapy enhances blood circulation in the affected area, reduces muscle tension, and decreases pain impulses [14–16].

It was also shown that low-energy shock-waves increase blood flow in the ischemic area of the myocardium [15].

The use of local low-energy shock wave therapy for patients with CPPS has reduced pathological symptoms in the absence of side effects [16].

Objective: to evaluate the efficacy of low-energy shock wave therapy in the treatment of men with CPPS.

Materials and methods. At the urology clinic of I.M. Sechenov First MG MU in 2015 low-energy shock wave therapy was used in the treatment of 7 men with CPPS aged 28–53 years (mean age – 43 years). The duration of patients' complaints ranged from one year to 5 years, with an average of 3 years. All patients were examined in order to exclude other causes of symptoms. Patients older than 45 years underwent prostate-specific antigen test, digital rectal examination. The presence of inflammation in prostate gland was excluded on the basis of the three-glass test, prostate secretions or urine obtained after prostatic massage. During the history taking possible neurological causes of pelvic pain were revealed. Bowel diseases were also excluded. Among contraindications to the local low-energy shock wave therapy are blood coagulation disorders, therefore the study of this system was incorporated into the complex of diagnostics.

The severity of clinical symptoms was assessed by NIH-Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) questionnaire. Because pelvic pain is often associated with functional disorders, LUTS were evaluated using IPSS scale.

Erectile function was assessed using IIEF-5 questionnaire. Patients answered the questionnaires without assistance before and after treatment. Treatment was performed using Dornier Aries device (Dornier Med Tech, Germany). Low-energy impact on the perineum was achieved with applicator. The number of shock pulses in one procedure varied from 1500 to 3000, the intensity (level of energy impact) varied from 2 to 7, shock pulse frequency varied from 2 to 5 Hz. Patients underwent 4 sessions.

The interval between treatments was 7–10 days, the number of procedures per course was determined in accordance with changes of the clinical picture in the treatment process. The depth of penetration of the shock wave reached 12.5 cm. The direction of impact during procedure was adjusted according to the patient's feelings to avoid discomfort.

The efficacy of the applied technique was evaluated by repeated use of CPPS, IPSS and IIEF-5 questionnaires 1 month after the end of treatment.

Data were processed by descriptive statistics methods and were presented as median of the 5th and the 95th percentile. Data of the questionnaires were analyzed by pairwise comparisons with Wilcoxon test. The differences were considered significant at a value of $p < 0.05$.

Results and discussion. Initial NIH-CPSI score was 34 (20–35), IPSS was 6 (4–7), IIEF-5 questionnaire score was 19 (14–23).

The number of sessions of low-energy shock wave therapy, which was determined by the subjective condition and treatment efficacy ranged from 1 to 4. During the treatment and after treatment the subjective and objective adverse events were not observed.

NIH-CPSI score in 1 month after the end of treatment was 28 (19–31) ($p = 0.026$; *Figure 1*).

Positive effect of treatment can be explained by the method peculiarities. Shock waves penetrating into the soft tissues, apparently, change the sensitivity threshold of pain receptors.

Among the possible mechanisms explaining the reduction of pain intensity there are pain receptors stimulation followed by their subsequent inactivation, and interruption of pathologic nerve impulses [16].

During the assessment of the efficacy of treatment, the patients filled the questionnaire of chronic pelvic pain symptoms in one month after the low energy shock-wave therapy.

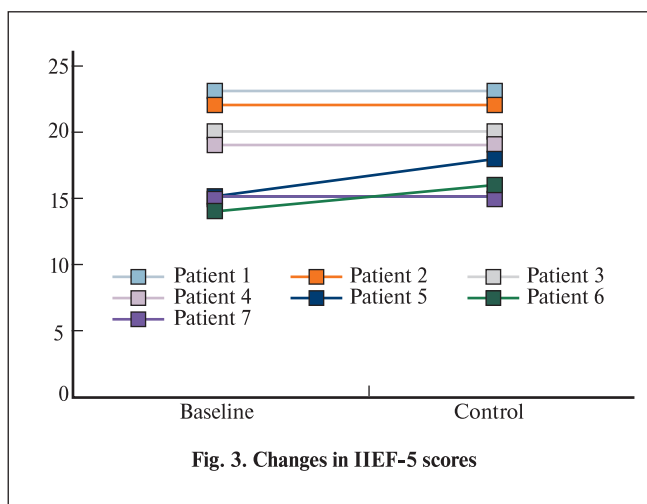
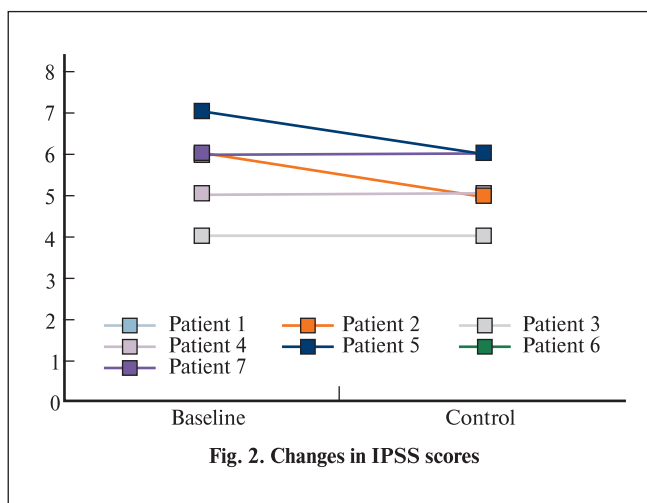
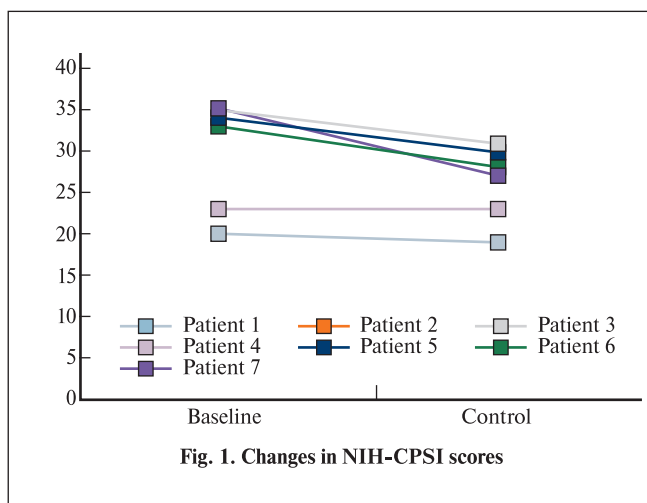
Since the CPPS is accompanied by functional disorders, LUTS were analyzed to understand mechanisms providing shock wave therapy efficacy. IPSS was LUTS were analyzed 5 (4–6) points ($p = 0.157$; *Figure 2*). Despite the positive trend, significant IPSS differences were not found. Thus, it can be assumed that the effect of the shock-wave therapy on bladder outlet obstruction was indirect. To a greater extent the improvement of urination was associated with pain reduction.

Also functional disorders related to CPPS include decrease of erectile function as pelvic pain causes reduction of libido and decrease of erectile response to sexual stimulation. The IIEF-5 score in 1 month after the end of treatment was 19 (15–23) ($p = 0.18$; *Figure 3*).

In general the change in erectile dysfunction symptoms was not significant. It also indicates the indirect effect of chronic pelvic pain on the regulation of blood flow in the cavernous arteries. It should be noted that patients didn't actively complain on erectile dysfunction.

Neither during the procedures of low-energy shock wave therapy, nor after treatment the patients complained any adverse effects. Thus, the use of local low-energy shock wave therapy resulted in significant reduction of CPPS pathological symptoms in men. Lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction demonstrated a trend towards improvement, but they were not the leading ones.

Conclusion. The application of local low-energy shock wave therapy was effective against CPPS symptoms in men. LUTS dynamics may indicate their dependency and relation to underlying disease. Dynamics in erectile function was also associated with CPPS, however in this case there were common risk factors of erectile dysfunction, typical for population and primarily age-dependent. The change of measured parameters may be caused by pain receptors targeting in the treated area and also presumably be the consequence of microcirculation improvement.



Thus the low-energy shock wave therapy provides conditions for possible increase in the intensity of microcirculation. This fact serves as additional confirmation of local blood circulation disorder to be one of the causes of CPPS and related symptoms development.

REFERENCES

1. Bartoletti R., Cai T., Mondaini N. et al. Italian Prostatitis Study Group. Prevalence, incidence estimation, risk factors and characterization

of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in urological hospital outpatients in Italy: results of a multicenter case-control observational study. *J Urol*. 2007;179:2411–2415.

2. Collins M.M., Stafford R.S., O'Leary M.P., Barry M.J. How common is prostatitis? A national survey of physician visits. *J Urol*. 1998;159(4):1224–1228.
3. Duloy A.M., Calhoun E.A., Clemens J.Q. Economic impact of chronic prostatitis. *Curr. Urol. Rep.* 2007;8(4):336–339.
4. Shoskes D.A., Berger R., Elmi A., Landis J.R., Probert K.J., Zeitlin S. Muscle tenderness in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: the chronic prostatitis cohort study. *J Urol*. 2008;179(2):556–560.
5. Samplaski M.K., Li J., Shoskes D.A. Clustering of UPOINT domains and subdomains in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and contribution to symptom severity. *J Urol*. 2012;188(5):1788–1793.
6. Schaeffer A.J. Epidemiology and evaluation of chronic pelvic pain syndrome in men. *Int J Antimicrob. Agents*. 2008;31(Suppl. 1):S108–111.
7. Pontari M.A. Etiology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: psychoimmunoneuroendocrine dysfunction (PINE syndrome) or just a really bad infection? *World J Urol*. 2013;31(4):725–732.
8. Nickel J.C. Role of alpha1-blockers in chronic prostatitis syndromes. *BJU Int*. 2008;101(Suppl. 3):11–16.
9. Hedelin H., Fall M. Controversies in chronic abacterial prostatitis/pelvic pain syndrome. *Scand J Urol Nephrol*. 2008;42(3):198–204.
10. Berger R.E., Ciol M.A., Rothman I., Turner J.A. Pelvic tenderness is not limited to the prostate in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CPPS) type IIIA and IIIB: comparison of men with and without CP/CPPS. *BMC Urol*. 2007;7:17.
11. Marszalek M., Wehrberger C., Temml C., Ponholzer A., Berger I., Madersbacher S. Chronic pelvic pain and lower urinary tract symptoms in both sexes: analysis of 2749 participants of an urban health screening project. *Eur Urol*. 2009;55(2):499–507.
12. Krieger J.N., Nyberg L. Jr., Nickel J.C. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA*. 1999;282(3):236–237.
13. Weidner W., Wagenlehner F.M., Marconi M., Pilatz A., Pantke K.H., Diemer T. Acute bacterial prostatitis and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: andrological implications. *Andrologia*. 2008;40(2):105–12.
14. Manganotti P., Amelio E. Long term effect of shock wave therapy on upper limb hypertonia in patients affected by stroke. *Stroke*. 2005;36:1967–1971.
15. Fukumoto Y., Ito A., Uwatoku T., Matoba T., Kishi T., Tanaka H., Takeshita A., Sunagawa K., Shimokawa H. Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates myocardial ischemia in patients with severe coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2006;17:63–70.
16. Zimmermann R., Cumanas A., Hoeltl L., Janetschek G., Stenzl A., Miclea F. Extracorporeal shock-wave therapy for treating chronic pelvic pain syndrome: a feasibility study and the first clinical results. *BJU Int*. 2008;102:976–980.

Delivered at 27.10.15

PROSPECTS FOR APPLICATION OF STEM CELLS FROM ADIPOSE TISSUE IN TREATING ERECTILE DYSFUNCTION

¹Research Institute of Uro nephrology and Human Reproductive Health of Sechenov First Moscow State Medical University;

²Department of Urology of Sechenov First Moscow State Medical University

Corresponding author: M.V. Epifanova – Researcher at Research Institute of Uro nephrology and Human Reproductive Health of Sechenov First Moscow State Medical University; e-mail: Epifanova_maya@mail.ru

Although phosphodiesterase type 5 inhibitors are the first-line treatment of ED, some patients remain unresponsive to any pharmacotherapy. To date, the use of stem cells is considered as a new treatment modality for erectile dysfunction. The validity of this assumption has been experimentally proved in preclinical and clinical studies. The main focus is on the stem cells derived from adipose tissue, due to advantages over other sources.

Key words: erectile dysfunction, stem cells, stromal-vascular fraction, cell therapy, regenerative medicine

Authors declare no conflict of interests for this article. For citations: Chaliy M.E., Glybochko P.V., Epifanova M.V., Krasnov A.O. Prospects for application of stem cells from adipose tissue in treating erectile dysfunction. Urologiia. 2015;6:98–103.

Erectile dysfunction (ED) is an important problem of men's health that warrants a significant reduction of life quality and partnership [1]. It was determined that 20% of men over 40 years suffer from ED, the prevalence of age with this disease increases. Men in 61–70 years of age are 2 times more likely to have ED compared to men aged from 51 to 60 years [2]. In the Russian Federation according to an epidemiological study, conducted by Professor D.Y. Pushkar, by questioning 1225 men, there were no signs of erectile dysfunction only in 10.1% of the respondents, ED symptoms were present in 1101 of the respondents [3].

The three lines of therapy are used in the treatment of ED: inhibitors of phosphodiesterase type 5 (PDE-5), vacuum therapy, intracavernous PGE1 injections and penile prosthesis [4]. Among these methods the most common and successfully used is oral PDE5 inhibitors treatment, due to a convenient way of administration and a high efficacy. However, this method has limitations. First, PDE-5 inhibitors must not be prescribed in patients treated by nitrates therapy. Second, some patients refuse to take PDE-5 inhibitors due to intolerable side effects. Third, there is a category of men, in whom these drugs are not effective [5]. Moreover, PDE5 inhibitors improve symptoms and do not treat the cause of disease. Because of that a growing interest in the development of pathogenetic methods of treatment of ED seems justified. Stem cells (SC) therapy is among new promising ED treatment methods.

Stem cells. Stem cells are undifferentiated cells capable for division, self-renewal and the production of a large number of differentiated and functional cells for renovation and repair of tissues [6].

The differentiation (specialization) of cell begins with the first stage of embryonic development. During the first division of the zygote (2–3 divisions in mammalian species) its descendant cells (blastomeres) are identical in their properties. However, during the subsequent zygote division the new cells start to differ from each other. Under the influence of both external and internal signals the cells change and form groups varying in

differentiation capabilities. For example placenta cell is not able to participate in the formation of embryonic tissues and conversely, embryonic cells do not form placenta. During embryonic development the differentiation of functional specialization occurs many times. The process of differentiation is irreversible and is marked by the cessation of cell divisions. For example the formation of skeletal muscle is accompanied by integration of separate myoblasts in myofibrils with formation of a single contractile apparatus. After that the myoblast division terminates. This process is called a terminal differentiation. It is needed for the acquisition of specific cell functions and specialized tissues formation (bone, cartilage, skin, peripheral blood, muscle and nerve tissues, etc).

Types of stem cells

Depending on differentiation capabilities SC are divided into totipotent, pluripotent, multipotent and unipotent [7]. The organism originates from zygote and consequently it is called totipotent cell (from Latin totus – All, and a potentia – power, feature) [8].

In the process of organism formation directions of SC specialization become more limited. The blastocyst is a hollow ball consisting of 150–200 cells. Inside the blastocyst there is a small group of cells – the inner mass of cells – that subsequently would form all tissues and organs. These cells are called pluripotent (from the Latin pluralis – Multiple), or embryonic, SC [9]. In the developing of embryo there are many factors acting on the inner mass of cells, enabling them to specialize in a particular direction, so they quickly lose their pluripotency. It is believed that pluripotent SC is present in the embryo at the gastrula stage only (it is the next step after the development of the blastocyst). In mature organism the SC differentiation options are limited to cell types present within the surrounding tissue. Since direction of tissue-specific SC specialization has been predetermined, they are called multipotent cells [8].

Multipotent SC were found in tissues requiring constant replenishment of cell pool (blood, skin, intestinal lining, and others.). They are placed in tissues in so-called

niches surrounded by microenvironment which consists of cells and extracellular matrix [10]. Typically, SC niches are localized deep in tissue sites. For example, there are deep crypts in intestinal epithelium. At the same time the SC stay in close connection with the niche cells and also with extracellular matrix. In the absence of activation signal the forming niche cells cause paracrine effects, maintaining SC rest. The components of the extracellular matrix form a three-dimensional structure, creating a gradient of factors that regulate initiation of migration, proliferation and differentiation. Stem cells have a system of receptors that in normal conditions maintain a state of rest. Following an external signal it can quickly enhance the cells migration into damaged area with subsequent division [11].

The activation process is a chain of consequent events with involvement of growth factors, cell niches and extracellular matrix components. Division of SC in the niches is controlled by growth factors and cytokines. As a result of the asymmetric division of differentiating cell two other cells form. One of them is the stem cell, it remains connected with niche microenvironment, another cell is driven by differentiation program to get specialized function. This self-reproduction ability is another important feature of the SC.

Thus, in the adult organism multipotent SC picking with subsequent transplantation to another part of the organism for regeneration purposes is possible. Mesenchymal SC are available as multipotent SC [12]. They play a key role in response to tissue damage. They belong to a special type of SC found in many tissues. They are located in blood vessels walls serve as sources of growth factors to stimulate tissue renewal [13]. Combination of pro-inflammatory factors and cytokines that appear in the early stages of healing, activates mesenchymal SC migration into the damaged area. There they express factors causing tropism and differentiation of multipotent SC.

The mesenchymal SC form extracellular matrix and contact with differentiated cells, provide trophic and anti-apoptotic functions and also stimulate the formation of new blood vessels and nerves. These effects are used in the development of cell therapy technologies.

Cell therapy of ED

Cell therapy means transplantation of alive cells in the human body for regeneration purpose. Cell therapy is not similar to organ transplantation because separate cells are used, and in some cases they are put in a substrate or gel granules of biocompatible polymers to improve viability [14]. Simultaneously with cells transplantation cell therapy for damaged tissue causes transfer of factors complex synthesized by SC. Growth factors produced in the area of damage stimulate self repair processes and form complex system of interactions between the donor and recipient cells.

Currently options of multipotent and embryonic stem cells use as sources for different types of cells are under investigation.

SC of adipose tissue are currently the most frequently and widely used and are the most promising because of their availability and simplicity of fatty tissue preparation. There are two types of SC population derived from adipose tissue: the stromal-vascular fraction (SVF) which is obtained after centrifugation of homogenized tissue fat fraction, and SC obtained from SVF and reproduction by

culturing in nutrient media [15]. It has been established that 1 g of fat tissue contains about 250 000 SVF cells and there are only about 2% of SC [16]. Safe and affordable automated technologies have been developed to use SVF in clinical practice omitting cell cultivation.

In studies *in vitro* and *in vivo* it has been proved that the use of SVF improves angiogenesis. This effect was determined by mechanism of differentiation to endothelial cells and paracrine action of growth factors [17, 18]. The results of these studies lead to investigation of SVF ED treatment efficacy and safety.

The first experience of ED treatment was presented in 2004. Since that time to the year of 2015 40 pre-clinical studies, 1 clinical trial and 6 registered clinical studies included in the United States National healthcare database (clinicaltrials.gov; see *Table*) were performed. From 2004 to 2011 fifteen articles were published, and in the next 4 years 25 pre-clinical and 6 clinical studies were accomplished. All the ED causes like diabetes, damage to the cavernous nerve, hyperlipidemia, Peyronie's disease have been modeled by investigators. Several types of SC were used including the ones cultured from bone marrow, adipose tissue, skeletal muscle cells, umbilical cord endothelial progenitor cells and SVF derived from adipose tissue (see *table*). The most convenient in harvesting and effective clinically were found SC from adipose tissue [19].

M. Garcia, et al. studied the ability of SC from adipose tissue to restore the erectile function in diabetes [20]. The model used 22 rats (ZDF) divided into control and experimental groups, the latter treated by intracavernous administration of 1 million of SC. Efficacy was assessed by the results of electrical stimulation of the cavernous nerve and immunohistochemistry sections data of the corpora cavernosa in 3 weeks after injection. To confirm the presence of administered SC they were labeled by 5-bromo-2-deoxyuridine. After 3 weeks the experimental group had a significant increase of intracavernous pressure response to electrical stimulation of the cavernous nerve. According to immunohistochemical section analysis the cavernosal neuronal nitric oxide synthase (nNOS) amount in the dorsal nerve and endothelial cells in corpora cavernosa have increased.

At confirmation of cultured SC effectiveness of adipose tissue X. Qiu et al. decided to evaluate the immediate and delayed erectile function effects of uncultivated SC administration [17]. Eighty nine rats (Sprague Dawley) were separated into 4 groups. The cavernosal nerve damage was used to model ED which was similar to damage of radical prostatectomy in men. In group 1 ($n=23$) a saline injection was made immediately after the damage of the cavernous nerve, in group 2 ($n=17$) SVF was administered immediately after the damage of the cavernous nerve, in the third group ($n=23$) it was injected in 4 weeks after damage, the group 4 ($n=26$) was the control one. Evaluation of the results was based on electrical stimulation of the cavernous nerve and immunohistochemical study of sections of the corpora cavernosa. In groups with immediate and delayed introduction of the SVF (2nd and 3rd) a significant improvement in erectile function was demonstrated. The increase of intracavernous pressure in response to electrical stimulation of the cavernous nerve, an increase of nNOS expression, rise of the number of neurofilaments in the dorsal genital nerve

Preclinical trials for stem cell treatment of erectile dysfunction

Trial year	First author	Animal model	Stem cell type	Method of transplantation	Reference
2004	Bochinski	CN injury rat	Allogeneic ESC	IC or Intra-MPG	23
2006	Kim	CN injury rat	Allogeneic SKMSC	IC	24
2009	Fall	CN injury rat	Allogeneic BMSC	IC	25
2010	Albersen	CN injury rat	Autologous ADSC	IC	26
2010	Kendirici	CN injury rat	Allogeneic BMSC	IC	27
2011	Lin	CN injury rat	Autologous ADSC	Nerve graft	28
2011	Woo	CN injury rat	Allogeneic SKMSC	IC	29
2012	Qiu	CN injury rat	Autologous SVF	IC	17
2012	Kovanecz	CN injury rat	Mouse SKMSC	IC	30
2012	Kim	CN injury rat	Allogeneic BMSC	CN scaffold	31
2012	Fandel	CN injury rat	Autologous ADSC	IC	32
2012	Piao	CN injury rat	Human ADSC	CN scaffold	33
2013	Jeong	CN injury rat	Human ADSC	CN scaffold	34
2013	Kim	CN injury rat	Human ADSC	CN scaffold	35
2013	You	CN injury rat	Human BMSC	IC + periprostatic	36
2013	You	CN injury rat	Human ADSC	IC + periprostatic	37
2013	Choi	CN injury rat	Human testis SC	Periprostatic	38
2013	Ying	CN injury rat	Autologous ADSC	IC	39
2014	Ying	CN injury rat	Autologous ADSC	Vein graft	40
2014	Lee	CN injury rat	Human ADSC	IC	41
2014	Ryu	CN injury mouse	Allogenic clonal BMSC	IC + IP	42
2012	Qiu	Radiation injury rat	Allogeneic ADSC	Intra-MPG	43
2007	Bivalacqua	Aging rat	Allogeneic BMSC	IC	44
2008	Nolazco	Aging rat	Mouse SKMSC	IC	45
2010	Abdel Aziz	Aging rat	Allogeneic BMSC	IC	46
2010	Garcia	DM rat	Autologous ADSC	IC	20
2011	Gou	DM rat	Allogeneic EPC	IC	47
2011	Qiu	DM rat	Allogeneic BMSC	IC	48
2012	Qiu	DM rat	Allogeneic BMSC	IC	49
2012	Sun	DM rat	Allogeneic BMSC	IC	50
2012	Nishimatsu	DM rat	Allogeneic ADSC	IC	51
2013	He	DM rat	Allogeneic BMSC	IC	52
2013	Liu	DM rat	Human ADSC	IC	53
2014	Ouyang	DM rat	Human USC	IC	54
2012	Ryu	DM mouse	Syngeneic SVF	IC	55
2014	Das	DM mouse	Human SVF	IC	56
2010	Huang	Hyperlipidemia rat	Autologous ADSC	IC	57
2012	Ma	TA injury rat	Autologous ADSC	SIS graft	58
2013	Castiglione	TA injury rat	Human ADSC	Intratunical	59
2014	Gokce	TA injury rat	Autologous ADSC	Intratunical	60

Note. ADSC – adipose tissue-derived SCs; BMSC – bone marrow-derived SCs; EPC – endothelial progenitor SCs; USC – umbilical cord-derived SCs; SKMSC – skeletal muscle-derived SCs; IC – intracavernous; MPG – major pelvic ganglia.

CN – cavernous nerve; DM – diabetes mellitus; TA – tunica albuginea; SIS – small intestinal submucosa; SVF – stromal vascular fraction

and improvement ratio of smooth muscle and collagen were found. It has been concluded the improvement in erectile function was provided by stimulation of nerve regeneration and prevention of fibrosis of the corpora cavernosa.

In 2015, D. You et al. [21] published a paper in which he compared the efficacy of cultured SC and SVF in the treatment of erectile dysfunction following cavernous nerve damage. Forty rats were divided into 4 groups. The first group served as a control, the second group was treated by intracavernous 0.9% saline, third group was given SVF, and the fourth group was treated by cultured SC. Efficacy was assessed after 4 weeks. in

the same way as in the previously described study [17]. The results showed that SVF and the cultured cells were equally effective in the restoration of erectile function. On cross sections of the corpora cavernosa investigators determined improvement of smooth muscle and collagen ratio, increase in the number of neuronal nitric oxide synthase positive neurofilaments as well as expression of von Willebrand factor.

At present time only 1 clinical paper about SC ED treatment has been published. J. Bahk et al. [22] administered Intracavernously SC obtained from umbilical cord blood to patients with ED caused mainly by type 2 diabetes. The study involved 7 men, mean age

was 69.5 (57–87) years. None of the patients did respond any type of pharmacotherapy. SC administration resulted in reappearance of morning erections in 3 patients within 1 month and in another 3 patients by the end of the 3rd month after treatment. Morning erections persisted for more than 6 months. The SC monotherapy not resulted in penile rigidity sufficient for penetration, however in combination with PDE5 inhibitors 2 patients could have penetration ability lasting for more than 6 months period. All men but one reported increase of sexual desire during the 11-month of follow-up. Two patients underwent penile prosthesis, 4 patients returned back to initial state of erectile capacity and 1 patient maintained adequate erectile function.

The investigation of stem cell therapy continues in many countries of the world. A trial was initiated in France to study intracavernously injected obtained from the bone marrow mesenchymal SC effects in patients with erectile dysfunction after prostatectomy (Identifier: NCT01089387, clinicaltrials.gov); another study has been started in the US to determine effects of SVF derived from adipose tissue in the treatment of patients with ED of vasculogenic and neurogenic origin (Identifier: NCT01601353, clinicaltrials.gov).

A clinical trial was also initiated in Russia (Identifier: NCT02472431, clinicaltrials.gov) at Scientific research institute of of uronephrology and reproductive health and First Sechenov MG MU to evaluate the efficacy and safety of intracavernous injection of autologous regenerative cells of the adipose tissue for the treatment of organic ED.

In conclusion the results of a pre-clinical (mostly), and clinical trials of adipose SC use suggest the promise and hope for the future.

Development and implementation of new methods for the treatment of erectile dysfunction with the use of SC of adipose tissue and SVF are perspective directions in regenerative medicine.

REFERENCES

1. *Sánchez-Cruz J.J., Cabrera-León A., Martín-Morales A., Fernández A., Burgos R., Rejas J.* Male erectile dysfunction and health-related quality of life. *Eur. Urol.* 2003;44:245–253.
2. *Laumann E.O., West S., Glasser D., Carson C., Rosen R., Kang J.-h.* Prevalence and correlates of erectile dysfunction by race and ethnicity among men aged 40 or older in the United States: from the male attitudes regarding sexual health survey. *J. Sex. Med.* 2007;4:57–65.
3. *Pushkar D.Y.* An epidemiological study of the prevalence of erectile dysfunction in Russia XII Congress of the Russian Society of Urologists. M., 2012.
4. *Glybochko P.V., Alyaev Y.G., Chaly M.E., Akhvediani N.D.* Sexual dysfunction in men. M., GEOTAR Media. 2012.
5. *Carvalho A.A., Pereira N.M., Maroco J., Forjaz V.* Dropout in the treatment of erectile dysfunction with PDE5: a study on predictors and a qualitative analysis of reasons for discontinuation. *J. Sex. Med.* 2012;9:2361–2369.
6. *Zhang H., Albersen M., Jin X., Lin G.* Stem cells. Novel players in the treatment of erectile dysfunction. *Asian J. Androl.* 2011;14:145–155.
7. *Keller G.* Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes Dev.* 2005;19:1129–1155.
8. *Becker C., Jakse G.* Stem cells for regeneration of urological structures. *Eur Urol.* 2007;51:1217–1228.
9. *Evans M.J., Kaufman M.H.* Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* 1981;292:154–156.
10. *Kieffer J.C.* Primer and interviews: the dynamic stem cell niche. *Dev. Dyn.* 2011;240:737–743.
11. *Voog J., Jones D.L.* Stem cells and the niche: a dynamic duo. *Cell Stem Cell.* 2010;6:103–115.
12. *Albersen M., Kendirci M.* Multipotent stromal cell therapy for cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction. *J. Sex. Med.* 2012;9:385–403.
13. *Baraniak P.R., McDevitt T.C.* Stem cell paracrine actions and tissue regeneration. *Regener. Med.* 2010;5:121–143.
14. *Piao S., Kim I.G., Lee J.Y., Hong S.H., Kim S.W., Hwang T.K., Oh S.H., Lee J.H., Ra J.C., Lee J.Y.* Therapeutic effect of adipose-derived stem cells and BDNF-immobilized PLGA membrane in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2012;9:1968–1979.
15. *Lin C.S., Xin Z.C., Deng C.H., Ning H., Lin G., Lue T.F.* Defining adipose tissue-derived stem cells in tissue and in culture. *Histol. Histopathol.* 2010;25:807–815.
16. *Strem B.M., Hicok K.C., Zhu M., Wulur I., Alfonso Z., Schreiber R.E., Fraser J.K., Hedrick M.H.* Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J. Med.* 2005;54:132–141.
17. *Qiu X., Fandel T.M., Ferretti L., Albersen M.* Both immediate and delayed intracavernous injection of autologous adipose-derived stromal vascular fraction enhances recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Eur. Urol.* 2012;62:720–727.
18. *Ryu J.-K., Tumurbaatar M., Jin H.-R., Kim W.J., Kwon M.-H., Piao S., Choi M.J.* Intracavernous delivery of freshly isolated stromal vascular fraction rescues erectile function by enhancing endothelial regeneration in the streptozotocin-induced diabetic mouse. *J. Sex. Med.* 2012;9:3051–3065.
19. *Varma M.J., Breuls R.G.M., Schouten T.E., Jurgens W.J.F.M., Van Ham S.M., Van Milligen F.J.* Phenotypical and functional characterization of freshly isolated adipose tissue-derived stem cells. *Stem Cells Dev.* 2007;16:91–104.
20. *Garcia M.M., Fandel T.M., Lin G., Shindel A.W., Banie L., Lin C.-S., Lue T.F.* Treatment of erectile dysfunction in the obese Type 2 diabetic ZDF rat with adipose tissue-derived stem cells. *J. Sex. Med.* 2010;7:89–98.
21. *You D., Jang M. J.* Comparative Study of Autologous Stromal Vascular Fraction and Adipose-Derived Stem Cells for Erectile Function Recovery in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. *Stem Cells Trans Med.* 2015;351–358.
22. *Bahk J.Y., Jung J.H., Han H., Min S.K., Lee Y.S.* Treatment of diabetic impotence with umbilical cord blood stem cell intracavernosal transplant: preliminary report of 7 cases. *Exp. Clin. Transplant.* 2010;8:150–160.
23. *Bochinski D., Lin G.T., Nunes L., Carrion R., Rahman N., Lin C.S., Lue T.F.* The effect of neural embryonic stem cell therapy in a rat model of cavernous nerve injury. *BJU Int.* 2004;94:904–909.
24. *Kim Y., deMiguel F., Usiene I., Kwon D., Yoshimura N., Huard J., Chancellor M.B.* Injection of skeletal muscle-derived cells into the penis improves erectile function. *Int. J. Impot. Res.* 2006;18:329–334.
25. *Fall P.A., Izikki M., Tu L., Swieb S., Giuliano F., Bernabe J., Souktani R., Abbou C., Adnot S., Eddahibi S., You R.* Apoptosis and effects of intracavernous bone marrow cell injection in a rat model of postprostatectomy erectile dysfunction. *Eur. Urol.* 2009;56:716–726.
26. *Albersen M., Fandel T.M., Lin G., Wang G., Banie L., Lin C.-S., Lue T.F.* Injections of adipose tissue-derived stem cells and stem cell lysate improve recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2010;7:3331–3340.
27. *Kendirci M., Trost L., Bakondi B., Whitney M.J., Hellstrom W.J.G., Spees J.L.* Transplantation of nonhematopoietic adult bone marrow stem progenitor cells isolated by p75 nerve growth factor receptor into the penis rescues erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Urol.* 2010;184:1560–1566.
28. *Lin G., Albersen M., Harraz A.M., Fandel T.M., Garcia M., McGrath M.H., Konety B.R., Lue T.F., Lin C.-S.* Cavernous nerve repair with allogenic adipose matrix and autologous adipose-derived stem cells. *Urology.* 2011;77:1501–1509.
29. *Woo J.C., Bae W.J., Kim S.J., Kim S.D., Sohn D.W., Hong S.H., Lee J.Y., Hwang T.-K., Sung Y.C., Kim S.W.* Transplantation of muscle-derived stem cells into the corpus cavernosum restores erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Korean J. Urol.* 2011;52:359–363.

30. Kovanecz I., Rivera S., Nolasco G., Vernet D., Segura D. Separate or combined treatments with daily sildenafil, molsidomine, or muscle-derived stem cells prevent erectile dysfunction in a rat model of cavernosal nerve damage. *J. Sex. Med.* 2012;9:2814–2826.
31. Kim S.J., Choi S.W., Lee J.Y., Hwang T-K., Kim S.W. Synergistic effect of mesenchymal stem cells infected with recombinant adenovirus expressing human BDNF on erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Korean J. Urol.* 2012;53:726–732.
32. Fandel T.M., Albersen M., Lin G., Qiu X., Ning H., Banie L., Lue T.F., Lin C.-S. Recruitment of intracavernously injected adipose-derived stem cells to the major pelvic ganglion improves erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Eur. Urol.* 2012;61:201–210.
33. Piao S., Kim I.G., Lee J.Y. Therapeutic effect of adipose-derived stem cells and BDNF-immobilized PLGA membrane in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2012;9:1968–1979.
34. Jeong H.H., Piao S., Ha J.N., Lee J.Y. Combined therapeutic effect of udenafil and adipose-derived stem cell (ADSC) brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-membrane system in a rat model of cavernous nerve injury. *Urology.* 2013;81:1108.e1107–1108.e1114.
35. Kim I.G., Piao S. Effect of an adipose-derived stemcell and nerve growth factor-incorporated hydrogel on recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Tissue Eng. A.* 2013;19:14–23.
36. You D., Jang M.J., Lee J., Jeong I.G. Periprostatic implantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells potentiates recovery of erectile function by intracavernosal injection in a rat model of cavernous nerve injury. *Urology.* 2013;81:104–110.
37. You D., Jang M.J., Lee J., Suh N. Comparative analysis of periprostatic implantation and intracavernosal injection of human adipose tissue-derived stem cells for erectile function recovery in a rat model of cavernous nerve injury. *Prostate.* 2013;73:278–286.
38. Choi W.Y., Jeon H.G., Chung Y. Isolation and characterization of novel highly proliferative human CD34/CD73-double-positive testis-derived stem cells for cell therapy. *Stem Cells Dev.* 2013;22:2158–2173.
39. Ying C., Yang M., Zheng X., Hu W., Wang X. Effects of intracavernous injection of adipose-derived stem cells on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2013;33:233–240.
40. Ying C., Hu W., Cheng B., Yang M., Zheng X., Wang X. Erectile function restoration after repair of resected cavernous nerves by adipose-derived stem cells combined with autologous vein graft in rats. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2014;34:393–402.
41. Hwan L.S., Gul K.I. Combined effects of brain-derived neurotrophic factor immobilized poly-lactic-co-glycolic acidmembrane with human adipose-derived stemcells and basic fibroblast growth factor hydrogel on recovery of erectile dysfunction. *Tissue Eng. A.* 2014;20:2446–2454.
42. Ryu J.-K., Kim D.-H. Intracavernous delivery of clonal mesenchymal stem cells restores erectile function in a mouse model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2014;11:411–423.
43. Qiu X., Villalta J., Ferretti L. Effects of intravenous injection of adiposederived stem cells in a rat model of radiation therapy-induced erectile dysfunction. *J. Sex. Med.* 2012;9:1834–1841.
44. Bivalacqua T.J., Deng W., Kendirici M. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age-associated erectile dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007;292:1278–1290.
45. Nolasco G., Kovanecz I., Vernet D., Gelfand R.A., Tsao J., Ferrini M.G., Magee T., Rajfer J., Gonzalez-Cadavid N.F. Effect of muscle-derived stem cells on the restoration of corpora cavernosa smooth muscle and erectile function in the aged rat. *BJU Int.* 2008;101:1156–1164.
46. Abdel Aziz M.T., El-Haggag S., Mostafa T., Atta H., Fouad H., Mahfouz S., Rashed L., Sabry D., Senbel A., Ali G.A. Effect ofmesenchymal stemcell penile transplantation on erectile signaling of aged rats. *Andrologia.* 2010;42:187–192.
47. Gou X., He W.Y., Xiao M.Z., Qiu M., Wang M., Deng Y.Z., Liu C.D., Tang Z.B., Li J., Chen Y. Transplantation of endothelial progenitor cells transfected with VEGF165 to restore erectile function in diabetic rats. *Asian J. Androl.* 2011;13:332–338.
48. Qiu X., Lin H., Wang Y., Yu W., Chen Y., Wang R., Dai Y. Intracavernous transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells restores erectile function of streptozocin-induced diabetic rats. *J. Sex. Med.* 2011;8:427–436.
49. Qiu X., Sun C., Yu W., Lin H. Combined strategy of mesenchymal stem cell injection with vascular endothelial growth factor gene therapy for the treatment of diabetes-associated erectile dysfunction. *J. Androl.* 2012;33:37–44.
50. Sun C., Lin H., Yu W., Neurotrophic effect of bone marrow mesenchymal stem cells for erectile dysfunction in diabetic rats. *Int. J. Androl.* 2012;35:601–607.
51. Nishimatsu H., Suzuki E., Kumano S. Adrenomedullin mediates adipose tissue-derived stem cell-induced restoration of erectile function in diabetic rats. *J. Sex. Med.* 2012;9:482–493.
52. He Y., He W., Qin G., Luo J., Xiao M. Transplantation KCNMA1 modified bone marrow-mesenchymal stem cell therapy for diabetes mellitus-induced erectile dysfunction. *Andrologia.* 2013:479–486.
53. Liu G., Sun X., Bian J. Correction of diabetic erectile dysfunction with adipose derived stem cells modified with the vascular endothelial growth factor gene in a rodent diabetic model. *PLoS ONE.* 2013;8 c.
54. Ouyang B., Sun X., Han D. Human urine-derived stem cells alone or genetically-modified with FGF2 improve type 2 diabetic erectile dysfunction in a rat model. *PLoS ONE.* 2014;3:92825 e.
55. Ryu J.-K., Tumurbaatar M., Jin H.-R. Intracavernous delivery of freshly isolated stromal vascular fraction rescues erectile function by enhancing endothelial regeneration in the streptozotocin-induced diabetic mouse. *J. Sex. Med.* 2012;9:3051–3065.
56. Das N.D., Song K.-M. Xenogenic transplantation of human breast adiposederived stromal vascular fraction enhances recovery of erectile function in diabetic mice. *Biol. Reprod.* 2014:90.
57. Huang Y.-C., Ning H. The effect of intracavernous injection of adipose tissue-derived stem cells on hyperlipidemia-associated erectile dysfunction in a ratmodel. *J. Sex. Med.* 2010:7.
58. Ma L., Yang Y., Sikka S.C. Adipose tissue-derived stem cell-seeded small intestinal submucosa for tunica albuginea grafting and reconstruction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012;109:2090–2095.
59. Castiglione F., Hedlund P., Van der Aa F. Intratunical injection of human adipose tissue- derived stem cells prevents fibrosis and is associated with improved erectile function in a rat model of Peyronie's disease. *Eur. Urol.* 2013;63:551–560.
60. Gokce A., Abd Elmageed Z.Y., Lasker G.F. Adipose tissue-derived stem cell therapy for prevention and treatment of erectile dysfunction in a rat model of Peyronie's disease. *Andrology.* 2014;2:244–251.

Delivered at 27.09.15

PERIPROSTATIC INFLAMMATION AS A RISK FACTOR FOR THE DEVELOPMENT OF VESICO-URETHRAL STENOSIS AFTER RADICAL PROSTATECTOMY

¹Department of Molecular Biology, Institute of Arid Zones of Southern Scientific Center of RAS; ²Department of Urology and Human Reproductive Health with Course of Pediatric Urology-Andrology, Scientific Research Institute of Urology and Nephrology, Rostov State Medical University of Minzdrav of Russia; ³Regional Consultative and Diagnostic Centre; Rostov-on-Don

Corresponding author: M.B. Chibichyan – Ph.D., Associate Professor at Department of Urology and Human Reproductive Health with Course of Pediatric Urology-Andrology, Scientific Research Institute of Urology and Nephrology, Rostov State Medical University, e-mail: michel_dept@mail.ru

This article presents results of a study conducted to identify the causes of stenosis in the region of vesico-urethral anastomosis (VUA) after radical prostatectomy (RP). Tissue specimens from removed prostates were evaluated in 115 prostate cancer patients with a favorable postoperative period (group 1) and 5 patients who develop VUA stenosis between 6 months to 1 year after RP. It was found that in the group 1 inflammatory infiltration did not basically affect tumor growth zones, was mild and did not spread beyond the prostate. Patients of the group 2 had maximum inflammation, with the inflammatory infiltration localized in the prostate regions, both affected and not affected by the tumor, and periprostatically. Taking into account more severe inflammatory response in the prostate with extracapsular extension of the process and the involvement of periprostatic structures in patients who developed VUA stenosis after RP, compared to those without VUA stenosis, we can consider this phenomenon as a risk factor for stenotic complications in the vesico-urethral segment after RP.

Key words: prostate cancer, radical prostatectomy, stenosis, vesico-urethral anastomosis, inflammation, fibrosis, prostate

Introduction. According to the American Cancer Society data, prostate cancer is the most common cancer, diagnosed in 238810 men in 2013 [1]. An average man in the United States has the 16% life-long risk of developing prostate cancer [2]. Radical prostatectomy (RP) being technically a difficult operation has been performed in more than 138 000 in 2010 [1].

The improvement of RP surgical technique resulted in reduction of complication rate, however unfavorable adverse effects remain common. Strictures of vesicourethral anastomosis (VUA) are among the consequences of RP. Formation of scar tissue in the area VUA cause stenosis of the bladder neck and increase the risk of developing obstructive lower urinary tract symptoms (LUTS). Most widely used by urologists for correction of this complication the endoscopic treatment modalities reestablish urination, but at the same time, may cause the incontinence.

The VUA stenosis has become less common with the improvement of surgical technique, and with marsupialization of bladder neck mucosa in particular. The rate of this complication after RP decreased from 10–20% [3, 4] in 1990 to about 1–3% at present [5, 6]. At the same time, the VUA stenosis is still one of the most common complications after RP [7], usually developing in the first 5 months after surgery [5, 8–10].

A hematoma formation, a technique of bladder neck formation, postoperative urinary leakage and duration of catheterization period after RP are the causative factors of VUA stricture formation [3, 11]. It has also been shown that patient-related factors, including obesity, age, smoking, chronic diseases (hypertension, diabetes) may also play role in VUA stricture formation [11, 12]. VUA stricture apparently has a multivariate nature.

However, the mechanisms of VUA stenosis have not been fully investigated yet [13]. Thus, the results of the statistical analysis revealed no significant correlation

between the development of VUA stenosis and patients' age, blood loss, duration of surgery, neoadjuvant therapy, previously done transurethral resection of the prostate, the preservation of neurovascular bundles and prostate cancer stage [14].

The aim of our work was to study the inflammatory changes in the tissue specimen after RP.

Materials and methods. In 2013–2014 one surgeon performed RP in 120 patients, 5 patients developed VUA stenosis in 6–12 months after surgery. Patients with a favorable postoperative period formed group 1, patients with VUA stenosis in 6–12 months after RP formed group 2 (Figure 1).

In group 1 the patients mainly had a clinical stage T1c, and stages cT0, cT1a, cT1c, cT2a, cT2b, cT2c were found in 1.5%, 1.5%; 59.9%; 12.2%; 7.6%; 17.3% patients respectively. The stage “migration” phenomenon during determination of the pathological stage after RP was detected almost in 50% of cases: 9.2%; 10.7%; 32.2%; 28.1%; 15.3%; 4.5% for pT2a; pT2b pT2c; pT3a; pT3b; pT4 tumors respectively. Three patients from the second group had cT1c stage, two other patients had cT2a and cT2c stages. Pathological stage after RP in two patients previously diagnosed to have cT1c stage was defined as pT3a, three other patients had local cancer.

No significant differences were found between treatment groups in relation to other parameters: age, level of prostate-specific antigen, prostate volume, the percentage of tumor tissue in the biopsy core, Gleason score after RP, the percentage of tumor in specimen (Table).

Tissue was fixed in a solution of 10% neutral buffered formalin (PBS buffer) with an exposure up to 24 hours. Cutting of the surgical material was carried out according to post-prostatectomy algorithm with separate labeling on resection zones. Automatic histoprocessor Sacura was used for tissue conduction, then the material was

embedded in paraffin blocks, sectioned to slices of 4–5 mkm and stained with hematoxylin and eosin by standard technique.

Tissue was evaluated according to the algorithm prostate tumors description, including tumor extension in zones and lobes, Gleason score, the presence of vascular and perineural invasion, growth into and through the prostate pseudocapsule, surgical resection margins. Also changes in the prostate tissue beyond the tumor were evaluated, benign hyperplasia, necrosis, fibrosis, signs of inflammation were found. In specimen with inflammation the zones of location (base, apex, lobes), the extension (focal or diffuse) and the nature of the inflammatory infiltrate were evaluated.

The following morphological signs were used for verification of the inflammatory process: 1) the inflammatory infiltrates of prostate tissue that consisted mainly of lymphoid elements including macrophages, eosinophils and histiocytes, which were usually localized around acini and blood vessels, and more rarely were spread diffusely; 2) the plasma cell infiltrates; 3) prostate stromal fibrosis; 4) sclerotic changes in walls of gland blood vessels.

The degree of density of the inflammatory infiltrate was evaluated at a lens magnification of 40, an eyepiece magnification of 10 and in the three fields of view. In case of a minor variation of quantity in different fields of view the arithmetic mean was determined. The number of lymphoid cells from 0 to 5 in field of view was considered as the absence of inflammation (-); 5 to 10, 10 to 30, and more than 30 lymphoid cells – as mild (+), moderate (++) and severe (+++) inflammation respectively.

Results. The histological evaluation of tissue specimen of the group 2 patients revealed inflammatory changes of prostate tissue typical for chronic nonspecific interstitial prostatitis. They presented as diffuse-focal inflammatory infiltration of prostate stroma, localized in all areas (apical region, base, both peripheral and central zones), mainly affecting perivascular areas around the acinar glandular structures and ducts. Inflammatory interstitial infiltrates were localized doth inersticionally and in acinar structures with glandular intraepithelial microabscesses formation causing partial destruction of acini. The inflammatory infiltrate was distributed irregularly within the zones, its intensity varied from severe (+++) to

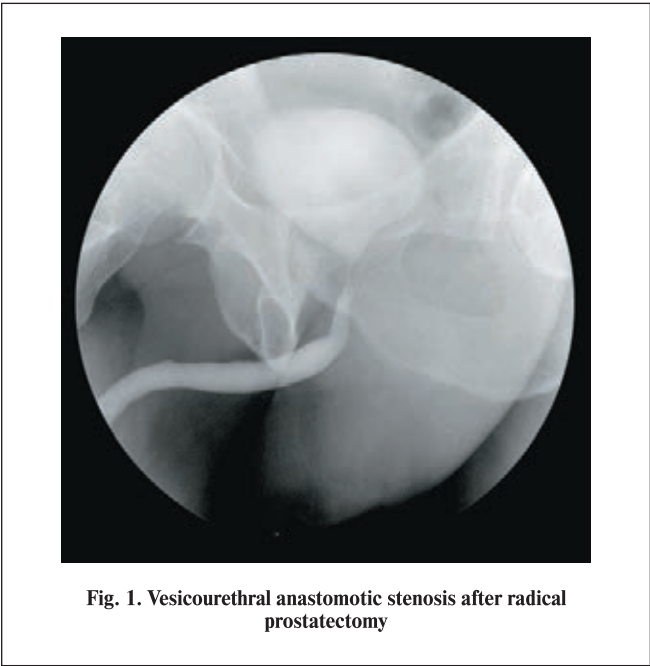


Fig. 1. Vesicourethral anastomotic stenosis after radical prostatectomy

weak (+) degrees. Inflammation in the prostate tissue was presented by lymphoid cells with the morphology of small lymphocytes and histiocytes, few plasma cells and single isolated eosinophilic and neutrophilic leukocytes. Periacinar infiltration was accompanied by dilatation of acini with the expressed prostatic epithelial desquamation (*Fig. 2a, b*), the lumen of the majority of acini was filled by degenerated amyloid bodies. The inflammatory infiltration was localized both in the tumor area (*Fig. 2d*) and in other areas of prostate tissue (*Fig. 2a, b*).

Vasculitis of stromal vessels was determined (*Fig. 2c*), the walls were thickened, swollen, and hyperplasia of endothelial and adventitial cells was identified. The paraprostatic distribution of the inflammatory infiltrate in the peripheral zones of the prostate, the apical region and the base was observed.

All patients in this group had fibrotization of the gland stroma, which was expressed as thickening and condensation of collagen fibers in the interstitial tissue, intermuscular fibrosis and hyalinosis, dystrophy and atrophy of the smooth muscle fibers, perivascular fibrosis.

Patients (Me [LQ; UQ])			Table
r	Group 1 (n=115)	Group 2 (n=5)	
Age, years	58,00 [54,00; 60,00]	58,00 [56,00; 66,11]	
PSA, ng/ml	8,20 [5,00; 14,50]	10,00 [8,17; 10,60]	
Prostate volume, cm ³	49,95 [42,00; 60,11]	60,00 [52,40; 64,60]	
The percentage of tumor in biopsy specimen	50,00 [41,08; 60,00]	60,00 [60,00; 60,00]	
IG biopsy	5,00 [4,00; 5,00]	5,00 [5,00; 6,00]	
IG after RP	6,50 [5,00; 8,00]	6,00 [5,00; 6,00]	
The percentage of tumor in specimen	50,00 [10,00; 80,00]	60,00 [60,00; 70,00]	

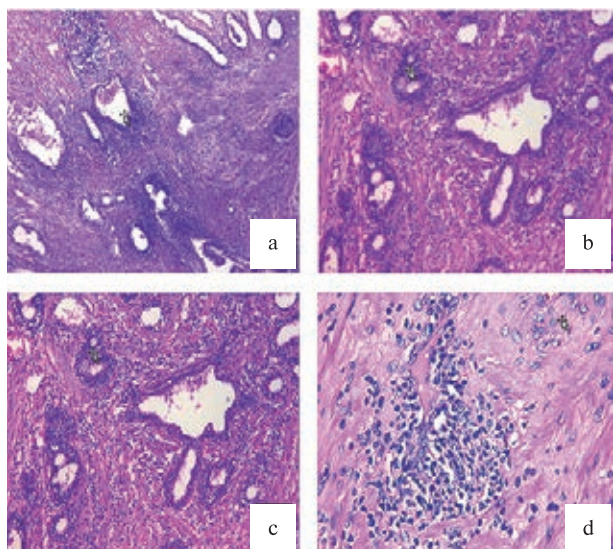


Fig. 2. Prostate specimen (group 2). Hematoxylin-eosin staining

a — periacinar and interstitial lymphoid infiltration with compressed and dilated acinar lumens; stromal fibrosis, x 100; *b* — periacinar lymphoid infiltration with partial desquamation of the epithelium into the lumen, x 200; *c* — periacinar and perivascular lymphoid infiltration, x 400; *d* — neoplastic acinus, infiltrated with lymphoid cells with destruction, x 400.

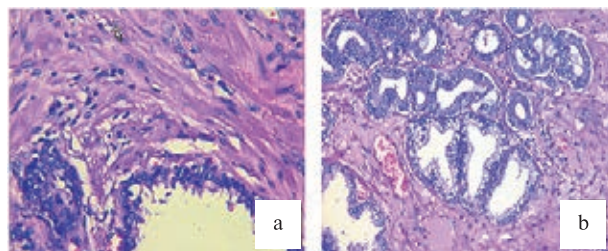


Fig. 3. Prostate specimen (group 1). Hematoxylin-eosin staining x 400

a — lymphoid cells discretely located in the stroma; *b* — lymphoid cells discretely located in tumor tissue.

This process was more expressed in the prostate base and paraprostatic tissues of the bladder neck, the areas with thick stroma as a result of muscle cells hypertrophy and clearly detectable angiomatosis and stromal fibrosis.

The high level of inflammation with additional single eosinophils, localized mainly in the peripheral regions, apical and basal zones with infiltration of prostatic pseudocapsule and paraprostatic tissue was found in specimen of 4 patients.

The moderate level of chronic inflammation was determined in 1 patient with the same zone distribution pattern, the spread of inflammatory infiltration in paraprostatic tissue was focal. Acute inflammation was not observed in group 2 patients.

All group 2 patients were found to have prostate stromal fibrosis more pronounced in the base zone including intra-muscular fibrosis and perivascular fibrosis

with signs of proliferation in periprostatic tissue, which were estimated in accordance with the surgical resection margins.

Mild and moderate inflammation of prostatic tissue was found in specimen of group 1 patients. There was predominantly focal distribution of the inflammatory infiltration in prostatic tissue. The cells counting was performed in 5 fields of view with magnification of $\times 400$, followed by determination of the arithmetic mean value of the degree of infiltration. The cells of inflammatory infiltrate were found discretely in the stroma (Fig. 3a) and in the form of irregularly localized lymphoid infiltrates found localized predominantly in areas of hyperplasia and in periurethral zone of prostate. Stromal fibrosis was not expressed.

Compared to the 2nd group of patients in specimen of the 1st group the inflammatory infiltrate mostly did not affect zones of tumor growth or was mildly expressed (Fig. 3b). Inflammation foci spread beyond prostatic pseudocapsule was not found in periprostatic zone in majority of patients, with the exception of few ones with mild inflammatory infiltration limited to these areas. Prostate stromal fibrosis with foci was irregular with focal spread, and localized mainly in the peripheral zone and the base (perivascular and intramuscular). Muscle cells hypertrophy in the prostate base and paraprostatic gland tissues of the bladder neck was also found.

Discussion. Erectile dysfunction and urinary incontinence are the major concerns of surgeons after RP. The VUA stricture also developing in experienced hands and with videoendoscopic equipment is not least important [15].

Prostate Inflammation is strongly correlated with the development of LUTS, and some researchers have shown that prostate fibrosis plays an important role in the pathogenesis of bladder outlet obstruction. L. Wong et al. [16] suggested the prostate inflammation to cause fibrosis, but this opinion was not supported by an objective assessment in literature. In a study a fibrotic response to inflammation was investigated in induced chronic bacterial prostatitis in mice. Significant increase in collagen and hydroxyproline content in the prostate tissue was shown. Correlation analysis showed a direct correlation with the severity of inflammation and accumulation of collagen in the prostate. Immunohistochemical analysis revealed fibrocytes in zones of high collagen overproduction within inflamed prostate tissue. These data show chronic prostate inflammation to induce formation of collagen and consequent development of prostatic fibrosis [16].

Interestingly in J. Ma et al. [17] study LUTS were found dependant upon fibrotic changes in the prostate and the periurethral tissues. Prostate and periurethral tissue of 28 men underwent RP were examined. The prostate stiffness was estimated mechanically. Fixed tissue samples were assessed for collagen and elastin both in patients with and without LUTS. Prostate tissue hardness was significantly ($p=0.0016$) more pronounced in men with LUTS, it also contained more collagen ($p=0.0038$) compared to men without LUTS. The authors have shown that the formation of the extracellular matrix of connective tissue and fibrosis of the prostate tissue in paraurethral zone in men with LUTS may indicate fibrosis to be a factor that contributes the development of LUTS.

A.M. Pshihachev [18] showed squamous cell metaplasia of the epithelium acini and ducts in the long lasting prostatic inflammation. Lymphoid and plasma cells

with macrophages represented the cellular elements in inflammatory infiltrates. It is noteworthy that in extracellular infection the increased levels all growth factors were found in prostate secretions. It is an objective indicator proving that of the extracellular infection cause domination of the so-called anti-inflammatory cytokines. At the same time these cytokines (growth factors) also act as factors to stimulate proliferation. Since inflammation is presented by phases, it is clear that cytokines stimulate the regeneration process, so the lack of growth factors, whatever the reason is, becomes the basis of chronic inflammation and interrupts reparative regeneration. Squamous cell metaplasia of acini and ducts epithelium is also seen; long duration of the inflammatory process is accompanied by fibrotic changes in parenchyma and capsule [18].

Taking the data received by other investigators in consideration it can be argued that periprostatic prostate inflammation with involvement of the bladder neck and muscular structures of the prostate apex may correlate with stenotic complications in VUA zone after RP.

Conclusion. In the present study we have verified the features of inflammatory and fibrotic changes accompanying prostatic oncoproliferation in prostate specimen following RP. The statement defending the correlation of prostatic inflammatory changes with the spread of prostatic and paraprostatic fibrosis seems true. More active inflammatory reaction in prostate with involvement of extracapsular and periprostatic muscular structures in patients with post RP stenosis of VUA when compared with patients without VUA stenosis substantiate its consideration as a risk factor for the development of stenotic complications of vesicourethral segment after RP.

The article presents the results of the work carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation in the framework of the grant agreement № 14.607.21.0099, a unique identifier applied research and experimental development (project) RFMEFI60714X0099, Federal Target Program "Research and development on priority directions of scientific-technological complex of Russia for 2014–2020".

REFERENCES

1. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2013. Atlanta, GA: American Cancer Society. 2013.
2. SEER Cancer Statistics Review 1975–2010. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 2013:1992–2010.
3. Surya B.V., Provet J., Johanson K.E., Brown J. Anastomotic strictures following radical prostatectomy: risk factors and management. J Urol. 1990;143(4):755–758.
4. Fowler F.J., Barry M.J., Lu-Yao G., Roman A., Wasson J., Wennberg J.E. Patient-reported complications and follow-up treatment after radical prostatectomy. The National Medicare Experience. 1988–1990 (updated June 1993). Urology. 1993;42:622–629.
5. Breyer B.N., Davis C.B., Cowan J.E., Kane C.J., Carroll P.R. Incidence of bladder neck contracture after robot-assisted laparoscopic and open radical prostatectomy. BJU Int. 2010;106(11):1734–1738.
6. Msezane L.P., Reynolds W.S., Gofrit O.N., Shalhav A.L., Zagaja G.P., Zorn K.C. Bladder neck contracture after robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy: evaluation of incidence and risk factors and impact on urinary function. J Endourol. 2008;22(2):377–383.
7. Ghazi A., Scosyrev E., Patel H., Messing E.M., Joseph J.V. Complications associated with extraperitoneal robot-assisted radical prostatectomy using the standardized Martin classification. Urology. 2013;81(2):324–331.
8. Vanni A.J., Zinman L.N., Buckley J.C. Radial urethrotomy and intravesical mitomycin C for the management of recurrent bladder neck contractures. J. Urol. 2011;186:156–160.
9. Webb D.R., Sethi K., Gee K. An analysis of the causes of bladder neck contracture after open and robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy. BJU Int. 2009;103:957–963.
10. Giannarini G., Manassero F., Mogorovich A., Valent F., De Maria M., Pistolesi D., De Antoni P., Selli C. Cold-knife incision of anastomotic strictures after radical retropubic prostatectomy with bladder neck preservation: efficacy and impact on urinary continence status. Eur Urol. 2008;54:647–656.
11. Borboroglu P.G., Sands J.P., Roberts J.L., Amling C.L. Risk factors for vesicourethral anastomotic stricture after radical prostatectomy. Urology. 2000;56:96–100.
12. Sandhu J.S., Gotto G.T., Herran L.A., Scardino P.T., Eastham J.A., Rabbani F. Age, obesity, medical comorbidities and surgical technique are predictive of symptomatic anastomotic strictures after contemporary radical prostatectomy. J Urol. 2011;185:2148–2152.
13. Dillioglulugil O., Leibman B.D., Leibman N.S., Kattan M.W., Rosas A.L., Scardino P.T. Risk factors for complication and morbidity after radical retropubic prostatectomy. J.Urol. 1997;157:1760–1767.
14. Al-Shukri S.H., Nivirovich Y.S., Kuzmin I.V., Boriskin A.G. Early and late complications of radical prostatectomy. Urologicheskiye vedomosti. 2012;II(2):10–14.
15. Rassweiler J., Seemann O., Schulze M., Teber D., Hatzinger M., Frede T. Laparoscopic versus open radical prostatectomy: A comparative study at a single institution. J. Urol. 2003;169:1689–1693.
16. Wong L., Hutson P.R., Bushman W. Prostatic inflammation induces fibrosis in a mouse model of chronic bacterial infection. PLoSOne. 2014;9(6):100770.
17. Ma J., Gharaee-Kermani M., Kunju L., Hollingsworth J.M., Adler J., Arruda E.M., Macoska J.A. Prostatic Fibrosis is Associated with Lower Urinary Tract Symptoms. J. Urol. 2012;188(4):1375–1381.
18. Pshikhachev A.M. Clinico-morphological aspects of chronic prostatitis. Doctoral thesis. M., 2011. 23 c.

Delivered at 30.09.15

ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ -2ПРОПСА И ИНДЕКСА ЗДОРОВЬЯ ПРОСТАТЫ ДЛЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И ДАННЫЕ РОССИЙСКОГО ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

¹ Кафедра урологии ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова»; ² Научный центр «ЭфиС»

Автор для связи: К. Б. Колонтарев — к.м.н., асс. каф. урологии МГМСУ; e-mail: kolontarev@me.com

Представлен анализ основополагающих работ, посвященных изучению -2проПСА и индекса здоровья простаты РН1, определению их области использования больными раком предстательной железы (РПЖ). Определены основные аспекты применения изучаемых новых маркеров: улучшение выявляемости РПЖ, повышение специфичности и сокращение количества необязательных биопсий, выявление агрессивных форм РПЖ, а также для определения прогрессирования заболевания. Результаты многочисленных работ, а также предварительные данные российского исследования по оценке новых показателей являются многообещающими и уже сегодня позволяют рекомендовать применение теста на определение значения показателей -2проПСА и индекса здоровья простаты РН1 в повседневной урологической практике.

Ключевые слова: рак предстательной железы, индекс здоровья простаты РН1, -2проПСА, простатспецифический антиген

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Колонтарев К.Б., Говоров А.В., Осипова Т.А., Сидоренков А.В., Пушкарь Д.Ю. Значение показателя -2проПСА и индекса здоровья простаты для больных раком предстательной железы: обзор литературы и данные российского проспективного исследования. Урология. 2015;1:49–53.

Введение. Первые упоминания о простатспецифическом антигене (ПСА) относятся к концу 1960-х гг., когда японские ученые выделили из семенной плазмы белок и назвали его гамма-семинопротеином. Через несколько лет тот же белок был выделен из семенной жидкости, с учетом его электрофоретической активности получили название «протеин Е1». В 1978 г. А. Sensabaugh [1] провел биохимический анализ данного белка с помощью иммуноэлектрофоретического метода и, основываясь на его молекулярном весе, назвал его р30. Приняв во внимание стабильность р30 *in vitro*, а также его специфичность, данный белок начали использовать в судебно-медицинской практике для идентификации виновных в случаях сексуальных преступлений.

В 1977 г. М. Wang обнаружил ПСА в предстательной железе и позднее выделил его [2]. Поскольку ПСА был выделен лишь из ткани предстательной железы, ему было дано соответствующее название. М. Wang [3] доказал идентичность ПСА семенной жидкости и ткани предстательной железы, поэтому названия р30 и Е1 были оставлены. Как только была доказана органная специфичность ПСА, начались исследования по выявлению зависимости уровня его содержания от заболеваний простаты. Очень скоро стала очевидной тенденция к повышению уровня ПСА при злокачественных опухолях предстательной железы. Эти данные послужили толчком к проведению множества научно-исследовательских работ в этом направлении, и на сегодняшний день ПСА остается самым часто используемым маркером рака предстательной железы (РПЖ) [4, 5].

Простатспецифический антиген является мономерной молекулой с одной полипептидной цепочкой из 237 аминокислот и нескольких дисульфидных

мостиков; это гликопротеид (33 кД), на 93% состоящий из аминокислот и на 7% — из углеводов, который вырабатывается как нормальными, так и неопластическими клетками эпителия выводных протоков предстательной железы [6, 7]. Примесь сахара изменяется слабо и варьируется в пределах нескольких изoeлектрических единиц. Ген ПСА расположен на длинном плече 19-й хромосомы, имеет в своем составе 5 экзонов, 4 интрона и 2 запускающих участка, а также 3 нерасшифрованных конца. Одна из запускающих точек включает андрогенотетный участок, и повышение транскрипции ПСА может вызываться андрогенами через андрогеновые рецепторы. В ряде исследований доказывается роль факторов роста в повышенной транскрипции ПСА. Было обнаружено несколько РНК ПСА, но лишь одна из них ответственна за создание протеина. Ген ПСА (известен как KLK3) на 80% гомологичен человеческому железистому калликреин-1-гену (известен как KLK2) и на 68% — почечно-поджелудочному калликреин-гену (KLK1) [8]. Высокая гомологичность KLK3 и KLK2 позволяет предположить наличие перекрестной реакции с ПСА-антителами и, следовательно, ложное возрастание титра ПСА в сыворотке крови. Источник происхождения KLK2 окончательно не установлен, хотя зафиксировано его присутствие в семенной плазме. Последние исследования показывают, что одни антитела к ПСА обладают перекрестной активностью с KLK2, другие — нет. Антитела к KLK2 пока не найдены, но известно, что KLK2 содержится в плазме крови в очень небольшом количестве. Среди всех калликреинов (на сегодняшний момент известно 15) как минимум 8 в различных количествах обнаруживаются в ткани простаты. Однако только KLK2 и KLK3 могут быть зарегистрированы доступными спо-

собирами у мужчин, поэтому эти белки используются как биомаркеры [9].

Простатспецифический антиген в сыворотке крови присутствует в двух основных формах, составляющих вместе «общий ПСА» (оПСА):

- комплексный ПСА, или ПСА, связанный с α_1 -химотрипсином (его доля в общем ПСА составляет 70–90%);
- свободный ПСА (свПСА; его доля в общем ПСА составляет 10–30%), который в свою очередь представлен следующими изоформами:
 - ДПСА (BPSA), ассоциированной с ДГПЖ;
 - интактной, наименее активной и изученной на сегодняшний день;
 - пробелком ПСА (проПСА, proPSA), ассоциированным со злокачественным перерождением ткани предстательной железы.

Незначительная часть ПСА связана с α_2 -макроглобулином, однако он обладает незначительной иммунореактивностью и не доступен для определения простыми иммунными методами, так как антигенные детерминанты молекулы ПСА находятся внутри комплекса и недоступны для антител. Ранее было показано, что определение показателя %свПСА (свПСА/оПСА 100%) в сыворотке крови позволяет улучшать диагностику РПЖ, особенно у пациентов с уровнем оПСА в диапазоне «серой зоны» от 4 до 10 нг/мл. Более высокий показатель %свПСА достоверно коррелирует с меньшей вероятностью наличия РПЖ, а значения %свПСА менее 10% чаще ассоциированы с РПЖ. По данным [10], максимальная вероятность (56%) развития РПЖ отмечается в диапазоне значений % свПСА до 10%, а минимальная (8%) — при значениях %свПСА более 25%. В интервале от 10 до 25% вероятность наличия РПЖ составляет 16–28%. Таким образом, для данного показателя также существует диапазон «серой зоны», при попадании в который осложняется выбор дальнейшей тактики ведения пациента.

проПСА. При поиске маркера, наиболее специфичного для РПЖ, особое внимание исследователей было направлено на изучение изоформ свПСА. В 2001 г. S. Mikolajczyk и соавт. [11] с помощью иммуногистохимического исследования установили, что изоформа свПСА—проПСА концентрируется в ткани периферической зоны предстательной железы, где наиболее часто диагностируют агрессивные формы РПЖ, в то время как изоформа ДПСА обнаруживается в переходной ткани предстательной железы, ассоциированной с доброкачественной гиперплазией. Было показано, что эпителиальными клетками периферической зоны ткани предстательной железы секретируется молекула — предшественник ПСА (проПСА). Нативная форма молекулы проПСА представляет собой ПСА, связанный с пролидерным пептидом, состоящим из 7 аминокислот (-7проПСА). Далее под воздействием ферментов калликреиноподобной пептидазы человека (hK2) и трипсина происходит отщепление зрелой формы молекулы ПСА. С другой стороны, пропептид может отщепляться порционно с образованием, например, -4проПСА и в конечном счете -2проПСА. Таким образом, существуют формы с укороченными пролидерными пептидами. Эти формы состоят преимущественно из проПСА с пролидерным пептидом из

5 аминокислот (-5проПСА), 4 аминокислот (-4проПСА) и 2 аминокислот (-2проПСА). Молекула -2проПСА имеет наибольшее клиническое значение по сравнению с другими молекулами проПСА. Изоформа -2проПСА была впервые обнаружена в экстрактах из опухолей; она дает более интенсивное окрашивание иммунохимическими красителями в тканях опухоли предстательной железы по сравнению с доброкачественной тканью и является самой стабильной формой *in vitro*. Изоформа -2проПСА не может быть преобразована в ПСА, что является одним из факторов ее клинического использования [12].

Индекс здоровья простаты РНІ. В ходе исследования было показано, что наибольшую прогностическую значимость при обследовании мужчин на предмет выявления РПЖ имеет комплекс показателей — -2проПСА, оПСА и свПСА, объединенных расчетной формулой в индекс здоровья простаты (Prostate Health Index — РНІ). Данный вывод является следствием разнонаправленной динамики фракций ПСА, отмеченной при наличии злокачественной опухоли предстательной железы. При РПЖ процент содержания свПСА в оПСА снижается, а доля проПСА в свПСА, наоборот, растет. Данная закономерность была учтена в формуле расчета индекса здоровья простаты РНІ: $RNI = (-2\text{проПСА}/\text{свПСА}) \sqrt{\text{оПСА}}$ (разработка компании «Beckman Coulter Inc.»). Индекс здоровья простаты дополнительно определяют у пациентов с уровнем оПСА от 2 до 10 нг/мл (калибровка Hybritech). Данные литературы позволяют заключить, что использование индекса, учитывающего разнонаправленную динамику трех сывороточных маркеров РПЖ, а также включающего специфический для РПЖ показатель (-2проПСА), получает все большее распространение в клинической практике. Индекс здоровья простаты РНІ — потенциально важный, дополнительный к анализу оПСА параметр, позволяющий улучшать диагностику РПЖ [13]. Помимо индекса здоровья простаты РНІ на основе нового маркера -2проПСА разработан показатель %п2ПСА: $\%п2ПСА = -2\text{проПСА}/\text{свПСА} \times 100\%$, который наряду с РНІ используется в качестве прогностического фактора при раннем выявлении РПЖ.

Клиническое использование -2проПСА и индекса здоровья простаты РНІ. В клинической практике описываемые показатели могут быть использованы для решения ряда задач, к основным из которых относятся улучшение выявляемости РПЖ, повышение специфичности и сокращение количества необязательных биопсий, выявление агрессивных форм РПЖ, а также определение прогрессирования заболевания.

Результаты массы исследований подтверждают, что использование РНІ позволяет добиваться лучшей выявляемости РПЖ по сравнению с оПСА и %свПСА. В том числе это было показано в ходе мультицентрового исследования [14], включившего 1362 пациента с уровнем оПСА 1,6–8,0 нг/мл по калибровке ВОЗ (что соответствует 2–10 нг/мл по калибровке Hybritech) и отрицательным результатом пальцевого ректального исследования (ПРИ). На основании данных последующей 10-точечной биопсии РПЖ диагностирован у 668 из 1362 пациентов.

Для РНІ было зафиксировано наиболее высокое значение площади под ROC-кривой ($AUC=0,74$) по сравнению с другими показателями, в том числе %-2проПСА ($AUC=0,72$), а также текущими стандартами — %свПСА ($AUC=0,61$) и оПСА ($AUC=0,56$). При этом максимальные значения площади под кривой ($AUC=0,75$) имели место при использовании мультифакторного подхода, учитывающего возраст, объем предстательной железы, результат ПРИ, оПСА, %свПСА и РНІ [14].

В работе [15] определяли взаимоотношения различных изоформ и показателей ПСА, включая -2проПСА, в сыворотке крови 123 мужчин. В группе РПЖ был выявлен в 51% случаев и оПСА составил 0,48–33,18 нг/мл. Авторы выявили резкое преобладание диагностической значимости показателя %-2проПСА над таковым %свПСА у пациентов с РПЖ. Отдельно были изучены показатели пациентов с уровнем оПСА, находящимся в «серой зоне» — от 2 до 10 нг/мл. При этом стало очевидным, что и у данной «спорной» группы пациентов показатель %-2проПСА продолжал быть более значимым по сравнению с другими параметрами. Значение площади под кривой составило 0,73 для %-2проПСА по сравнению с 0,53 для %свПСА. В следующей публикации [16], посвященной уже в большей степени возможности применения показателя -2проПСА для определения агрессивных форм заболевания, также сделали вывод о большей корреляции изучаемого показателя с РПЖ по сравнению с таковым %свПСА как в общей популяции из 526 пациентов, принимавших участие в исследовании, с уровнем оПСА в диапазоне от 0,29 до 310,6 нг/мл, так и в подгруппе больных с уровнем оПСА от 2 до 4 нг/мл. Что касается определения более агрессивных форм РПЖ, то и в этом аспекте мультивариантный анализ, включающий клинические, демографические и индивидуальные данные, показал значимое преимущество добавления %-2проПСА к другим показателям. Была отмечена корреляция изучаемого показателя с увеличением суммы баллов по шкале Глисона, что, несомненно, открыло новые горизонты в применении -2проПСА и РНІ.

Предполагая наличие корреляции между увеличением показателя -2проПСА и прогрессированием заболевания, Т. Rhodes и соавт. [17] изучили изменения данного параметра в замороженных пробах сыворотки крови 420 пациентов, случайно выбранных в ходе скрининга на РПЖ. Авторы провели мультивариантный анализ изменения значения -2проПСА в связи с такими показателями, как возраст пациентов, объем простаты и наличие РПЖ. Была отмечена корреляция между увеличением содержания маркера, возрастом пациентов и увеличением объема простаты. Однако наибольшая корреляция была отмечена с развитием РПЖ с учетом наличия статистически значимой достоверной разницы в значении -2проПСА у пациентов с наличием РПЖ и без такового. Средний период наблюдения в данном исследовании составил 7 лет.

В. Le и соавт. [18] впервые изучили предсказательную ценность РНІ в проспективном исследовании с участием 2034 пациентов, проходивших скрининг на РПЖ. У 322 пациентов содержание оПСА превышало 2,5 нг/мл, всем им была предложена биоп-

сия простаты, которая была выполнена 74 из них. В этой группе пациентов у 63 мужчин показатель оПСА был в диапазоне от 4 до 10 нг/мл. Именно у них авторы отметили отсутствие статистически достоверной разницы в показателе оПСА в группах с положительным и отрицательным результатами биопсии простаты (средние значения оПСА — 5,37 и 5,14 нг/мл; $p=0,88$). С другой стороны, в этой группе пациентов с наличием РПЖ было отмечено более высокое среднее значение показателя %-2проПСА, а наибольшим значением под кривой обладал показатель РНІ (0,77), что говорило о его максимальной предикторной способности.

Было показано, что определение РНІ позволяет снижать количество необязательных биопсий, что является следствием более высокой специфичности данного показателя по сравнению с оПСА и %свПСА при одинаковом пороге чувствительности. Так, например, по данным W. Catalona и соавт. [19], при пороге чувствительности 95% специфичность для %свПСА составила 8%, тогда как для РНІ — 16%. В работе С. Stephan и соавт. при чувствительности, равной 90 и 95%, максимальная специфичность была отмечена для РНІ (35,4 и 15% соответственно), далее следовали %п2ПСА (33,6 и 13,3%), оПСА (16,1 и 8,5%) и %свПСА (15 и 7,5%). Таким образом, при использовании абсолютного порогового значения РНІ, равного 24 (калибровка Hybritech; соответствует пороговому значению 31 по калибровке ВОЗ), преимущество в специфичности по сравнению с %свПСА составило порядка 20% (чувствительность — 90%), что потенциально может позволить сократить количество необязательных биопсий на 20% [14].

Одним из наиболее перспективных направлений клинического использования РНІ является возможность выявления агрессивных, т.е. потенциально летальных, форм РПЖ. По данным [14], различия в медианах между группами пациентов с агрессивными (по шкале Глисона >7) и неагрессивными формами рака (по шкале Глисона <7) наблюдаются для многих показателей, однако наилучшую дифференциацию продемонстрировал РНІ: медианы 53,1 и 59,7 соответственно ($p=0,002$).

W. Catalona и соавт. [19] показали, что число пациентов с результатом биопсии с суммой баллов по Глисона >7 возрастает, достигая 50% от всех выявленных случаев РПЖ, при значении РНІ более 50. По мере увеличения величины РНІ растет относительный риск (RR) наличия высокозлокачественных форм РПЖ: при РНІ в диапазонах 0–24,9, 25,0–34,9, 35–54,0 и более 55 RR составляет 1,00; 1,08; 1,18 и 1,61 соответственно [19].

G. Guazzoni и соавт. в исследовании, включившем 350 мужчин, перенесших радикальную простатэктомию, показали, что предоперационное определение %п2ПСА и РНІ обладает высокой предсказательной ценностью по отношению к последующему результату гистологического исследования. Продемонстрировано, что добавление РНІ в мультивариантную модель исследования позволяет предсказать наличие агрессивной формы РПЖ (сумма баллов по Глисона >7) с оптимальным балансом чувствительности и специфичности [20].

Определение порогового значения маркера осуществляется путем выявления оптимального балан-

са между чувствительностью и специфичностью. Исследования пороговых значений индекса здоровья простаты РНІ, проведенные W. Catalona и соавт. [19], показали, что при чувствительности 95% специфичность метода составила 16%, при этом пороговое значение индекса РНІ равно 21,3, при чувствительности 90% — 26 и 24,1%, а для чувствительности 80% — уже 45 и 29,3% соответственно (калибровка Hybritech) [19]. Кроме того, была продемонстрирована зависимость между вероятностью наличия РПЖ и величиной РНІ. Показано, что для пациентов со значением РНІ ниже 25 вероятность наличия РПЖ низкая и составляет 11%. По мере увеличения РНІ растет и вероятность наличия РПЖ: при РНІ выше 55 RR наличия РПЖ возрастает в 4,7 раза по сравнению с пациентами со значениями РНІ ниже 25 и составляет 52,1% [19].

Определение порогового значения того или иного маркера онкологического заболевания служит важнейшей задачей, решение которой будет определять его внедрение в широкую клиническую практику. На основе анализа данных многоцентровых исследований для РНІ были выведены пороговые значения, указанные в инструкции к реагенту на определение -2проПСА. Так, чувствительности метода, равной 90%, на которую наиболее часто ориентируются при использовании того или иного лабораторного метода, соответствует пороговое значение РНІ 23,82 (калибровка Hybritech). Окончательное решение об оптимальном пороговом значении для российской популяции можно будет принять, основываясь на результатах продолжающегося в настоящее время российского исследования по диагностической значимости -2проПСА и индекса РНІ. Предварительные результаты исследования были доложены на прошедшем в 2014 г. в Саратове Конгрессе Российского общества урологов [21]. Целью исследования стало определение выявляемости РПЖ на основании показателя РНІ («Beckman Coulter») и данных трансректальной биопсии простаты. Для этого в клинике урологии МГСМУ им. А.И. Евдокимова с сентября 2013 по июнь 2014 г. включительно осуществляли забор биоматериала у 147 пациентов. Содержание оПСА, свПСА и -2проПСА в сыворотке крови определяли на иммунохимическом анализаторе Beckman Coulter UniCel DxI методами HybritechPSA, HybritechfreePSAiHybritechproPSA в Научном центре «ЭфиС». Индекс РНІ рассчитывался автоматически в программе анализатора.

Критерии включения пациентов в исследование: возраст 45–75 лет, уровень оПСА крови 2,5–10 нг/мл, отсутствие изменений простаты по данным ПРИ, отсутствие биопсии простаты в анамнезе. Из всего собранного материала было исследовано 128 образцов сыворотки крови. Всем пациентам впоследствии была выполнена трансректальная биопсия простаты по стандартной методике из 12 точек, материал изучен патоморфологами клиники, гистологическое заключение предоставлялось по современной схеме. В соответствии с патогистологическими заключениями все пациенты были разделены на 3 группы: с верифицированным РПЖ, доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) и с хроническим простатитом (ХП). Средний возраст пациентов составил 58,2 (50–77) года. Средний уро-

вень оПСА крови в целом составил 6,16 (3,63–9,98) нг/мл, в группе РПЖ — 6,52 (4,13–9,3) нг/мл, в группе ДГПЖ — 5,71 (3,63–9,98) нг/мл, в группе ХП — 6,22 (3,7–9,8) нг/мл. Сумма баллов по Глиссону 6 (3+3), 7 (3+4), 7 (4+3), 8 (4+4) имела место у 26, 14, 4 и 3 пациентов соответственно. Среднее значение РНІ в группе пациентов с РПЖ составило 42,69 (17,82–115,33), с ДГПЖ — 30,84 (12,17–86,14), с ХП — 30,33 (10,38–50,83). При анализе результатов обследования пациентов различных групп выявлена статистически значимая разница показателей РНІ между группами РПЖ и ДГПЖ ($p<0,01$), РПЖ и ХП ($p<0,003$). Разница значений индекса РНІ в группах ДГПЖ и ХП оказалась статистически незначимой ($p=0,18$). Прослеживался выраженный тренд возрастания индекса РНІ по мере увеличения суммы баллов по Глиссону: медиана индекса РНІ для группы с суммой баллов по Глиссону 6 составила 34,3, по Глиссону 7 — 43,3 и по Глиссону 8 — 49,3. При этом для оПСА и %свПСА статистически значимой зависимости от увеличения суммы баллов по Глиссону отмечено не было. Медианы для групп с суммой баллов по Глиссону 6, 7 и 8 составили для оПСА 6,8, 6,5 и 7,5 нг/мл и для %свПСА 10,8, 9,9 и 11% соответственно. На основании полученных данных можно сделать вывод о целесообразности проведения дальнейших исследований, направленных на уточнение диагностической ценности РНІ. Планируются набор материала, достаточного для получения статистически значимых результатов, анализ, формулировка показаний и рекомендаций по применению и использованию индекса РНІ в РФ.

Заключение. С момента подтверждения гипотезы о дифференциальной экспрессии изоформ ПСА тканью предстательной железы прошло не так много времени, однако уже сегодня можно говорить о наличии доказательной базы, предполагающей большую значимость показателей -2проПСА и индекса здоровья простаты РНІ в качестве предикторов РПЖ у пациентов с показателями оПСА, находящимися в «серой зоне» в диапазоне 2–10 нг/мл. Результаты многочисленных исследований также свидетельствуют о важной роли указанных показателей в выявлении агрессивных форм РПЖ, что, несомненно, приведет к резкому снижению частоты выполнения биопсии простаты у пациентов с клинически незначимой формой заболевания. Более того, имеются данные, позволяющие предполагать возможность на основании показателя индекса здоровья простаты РНІ судить о прогрессировании заболевания у пациентов, находящихся в группе активного наблюдения, что также имеет важное медицинское, социальное и экономическое значение.

Приведенные в настоящей статье данные литературы и предварительные результаты российского исследования позволили уже сегодня включить тест на определение показателя -2проПСА и индекса здоровья простаты РНІ в ряд клинических рекомендаций профессиональных ассоциаций мира. Так, например, NCCN (Clinical Practice Guidelines in Oncology, США) рекомендует использовать РНІ в отношении мужчин с уровнем общего ПСА в диапазоне от 3 до 10 нг/мл и отрицательной первой биопсией для принятия решения о необходимости повторной биопсии, а также определять РНІ через

6–12 мес в случае, если первичная биопсия не была выполнена. Индекс РНІ может служить ориентиром в оценке риска наличия РПЖ до выполнения первичной биопсии, а при значениях выше 35 с высокой вероятностью указывать на РПЖ [22]. Более того, тест на определение показателя РНІ включен в Российские клинические рекомендации, представленные недавно на ежегодном Конгрессе РОУ в Саратове [23]. В рекомендациях приведены описание индекса здоровья простаты РНІ, требования к преаналитическому процессу сбора крови, а также данные о клинической чувствительности и специфичности выявления РПЖ для различных пороговых значений РНІ и вероятности наличия РПЖ в зависимости от уровня РНІ.

Результаты проведенных многочисленных работ по изучению новых показателей многообещающи, и уже сегодня позволяют рекомендовать применение теста на определение значения показателей -2проПСА и РНІ в повседневной урологической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Sensabaugh G.F.* Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J. Forensic. Sci.* 1978;23:105–115.
2. *Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P. et al.* Pulpification of a human prostate specific antigen. *J. Urol.* 1996;155:1705.
3. *Wang M.C., Kuriyama M., Papsidero L.D. et al.* Prostate antigen of human cancer patients. In: *Methods in cancer research.* H. Busch, L. Yeoman, eds. N.Y., 1982. P. 179–197.
4. *Лоран О.Б., Пушкарь Д.Ю., Франк Г.А.* Простат-специфический антиген и морфологическая характеристика рака предстательной железы. Руководство для врачей. М., 1999.
5. *Коган М.И., Якимчук Т.П., Медведев В.Л.* Целесообразность включения биопсии переходной зоны и семенных пузырьков в схему многофокусной биопсии предстательной железы под трансектальным ультразвуковым контролем. Материалы пленума правления Российского общества урологов. Омск, 1999. С. 70–71.
6. *Lilja H.* A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J. Clin. Invest.* 1985; 76:1899–1903.
7. *Watt K.W.K., Lee P.-J., M'Timkulu, et al.* Human prostate-specific antigen: Structural and functional similarity with serine proteases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1986;83:3166–31670.
8. *Yousef G.M., Diamandis E.P.* An overview of the kallikrein gene families in humans and other species: Emerging candidate tumor markers. *Clin. Biochem.* 2003;36:443–452.
9. *Stephan C., Jung K., Diamandis E.P. et al.* Prostate-specific antigen, its molecular forms, and other kallikrein markers for detection of prostate cancer. *Urology.* 2002;59:208.
10. *Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M., et al.* Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease. A prospective multicenter clinical trial. *JAMA.* 1998;279:1542–1547.
11. *Mikolajczyk S.D., Marker K.M., Millar L.S. et al.* A truncated precursor form of prostate-specific antigen is a more specific serum marker of prostate cancer. *Cancer Res.* 2001;61:6958–6963.
12. *Semjonow A., Köpke T., Eltze E. et al.* Pre-analytical in-vitro stability of [-2]proPSA in blood and serum. *Clinical Biochemistry.* 2010;43:926–928.
13. *Mikolajczyk S.D., Catalona W.J., Evans C.L. et al.* Proenzyme forms of prostate specific antigen in serum improve the detection of prostate cancer. *Clinical Chemistry.* 2004;50(6):1017–1025.
14. *Stephan C., Vincendeau S., Houlgatte A. et al.* Multicenter Evaluation of [-2]Prostate-Specific Antigen and the Prostate Health Index for Detecting Prostate Cancer. *Clinical Chemistry.* 2013; 59:306–314.
15. *Sokoll L.J., Wang Y., Feng Z. et al.* [-2]proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a national cancer institute early detection research network validation study. *J. Urol.* 2008;180: 539–543.
16. *Sokoll L.J., Sanda M.G., Feng Z. et al.* A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of [-2]proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19:1193–1200.
17. *Rhodes T., Jacobson D.J., McGree M.E. et al.* Longitudinal changes of benign prostate-specific antigen and [-2]prostate-specific antigen in seven years in a community-based sample of men. *Urology.* 2012;79:655–661.
18. *Le B.V., Griffin C.R., Loeb S. et al.* [-2]Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total and free prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study. *J. Urol.* 2010;183:1355–1359.
19. *Catalona W.J., Partin A.W., Sanda M.G. et al.* A multicenter study of [-2]Pro-Prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *J. Urol.* 2011;185:1650–1655.
20. *Guazonni G., Lazzeri M., Nava L. et al.* Preoperative prostate-specific antigen isoform p2PSA and its derivatives, %p2PSA and prostate health index, predict pathologic outcomes in patients undergoing radical prostatectomy for prostate cancer. *Eur. Urol.* 2012;61:455–466.
21. *Сидоренков А.В., Говоров А.В., Пушкарь Д.Ю.* Диагностическая значимость [-2]проПСА и индекса РНІ. Собственные результаты. Материалы конгресса РОУ. Саратов. С. 75–76.
22. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site.
23. Урология. Российские клинические рекомендации. Под ред. Ю.Г. Аляева, П.В. Глыбочко, Д.Ю. Пушкаря. М., 2015. 480 с.

Поступила 09.12.14.

Пришло время подумать
о чем-то еще

Первый агонист
 β_3 -адренорецепторов
для лечения ГМП¹⁻⁴



Бетмига

мирабегрон



Новый подход к лечению ГМП¹⁻⁴

- Принципиально новый механизм действия – стимуляция β_3 -адренорецепторов¹
- Высокоэффективен для облегчения симптомов ГМП¹⁻³
- Отличная переносимость¹⁻⁴

Хорошо подходит для:

- Первичных пациентов¹
- Пациентов, прекративших лечение М-холиноблокаторами^{1, 2, 4}

1. Инструкция по применению лекарственного препарата Бетмига для медицинского применения (ЛП-002851-060215).
2. Khullar V., Amarengo G., Angulo J. C. et al. Eur Urol 2013; 63 (2): 283–95.
3. Chapple C. R. et al. I. European Urology 63 (2): 296–305 (2013).
4. Khullar et al. BMC Urology 2013, 13:45.

Информация для специалистов здравоохранения

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56.

 **astellas**
Свет, ведущий к жизни

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

НАУЧНО ОБОСНОВАННОЕ ОБНОВЛЕНИЕ РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ОБСЛЕДОВАНИЮ И ЛЕЧЕНИЮ МУЖЧИН С СИМПТОМАМИ НИЖНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Клиника Университета Шеффилда, Великобритания

Автор для связи: Altaf Mangera — клинический научный сотрудник Клиники Университета Шеффилда;
e-mail: mangeraaltaf@hotmail.com

Цель настоящего обзора заключалась в обобщении фактических данных о диагностике и лечении симптомов нижних мочевыводящих путей (СНМП) у мужчин. В связи со старением популяции, распространенность СНМП у мужчин неизбежно возрастает. Таким образом, профилактика развития симптомов и сохранение качества жизни (КЖ) являются высокими приоритетами, как для врачей, так и для пациентов. В настоящее время существует большое количество различных медикаментозных методов лечения для мужчин с СНМП, которые приводят к значительному уменьшению выраженности симптомов, увеличению скорости потока мочи и улучшению качества жизни. Мета-анализы продемонстрировали высокую эффективность ингибиторов 5- α -редуктазы, М-холиноблокаторов, α -адреноблокаторов, а в последнее время — и ингибиторов фосфодиэстеразы-5. Также существуют данные высокого уровня доказательности в отношении эффективности сочетания всех вышеуказанных препаратов с α -адреноблокаторами, за исключением ингибиторов фосфодиэстеразы-5, в связи с чем мужчинам с сопутствующими симптомами накопления мочи, объемом простаты >30 мл и ПСА >1,4 нг/л или эректильной дисфункцией можно назначать комбинированную терапию.

За последние несколько лет наблюдается увеличение количества данных об эффективности менее инвазивных методов цистометрии. Несмотря на то что они не позволяют получать такую же информацию, как цистометрия, они могут играть важную роль в ответах на конкретные вопросы и при проведении консультаций мужчин с ДГПЖ/СНМП. Для применения этих новых методов в обследовании пациентов необходима стандартизация и использование определенных показаний. В эпоху персонализированной медицины соответствующий отбор пациентов, вероятно, является ключом к наиболее эффективной стратегии обследования и лечения.

Ключевые слова: симптомы нижних мочевыводящих путей у мужчин, цистометрия, обструкция мочевыводящих путей, альфа-адреноблокаторы, М-холиноблокаторы, ингибиторы 5- α -редуктазы, ингибиторы фосфодиэстеразы-5, толщина стенки мочевого пузыря

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Mangera A., Chapple Ch. Научно обоснованное обновление рекомендаций по обследованию и лечению мужчин с симптомами нижних мочевыводящих путей. Урология. 2015;2:94–102.

Эпидемиология и естественный характер развития симптомов нижних мочевыводящих путей (СНМП) у мужчин

Показатели распространенности, согласно оценкам по расширенной Международной шкале суммарной оценки заболеваний предстательной железы (IPSS), варьируются от 16 до 52% [1–4]. В обобщенном анализе 126 исследований было показано, что с годами распространенность среди пожилых мужчин возрастает с 21 до 32% [5]. В этом анализе распространенность ежедневного недержания мочи составила 9%.

В последних исследованиях оценивали отдельные симптомы, охваченные в IPSS, путем проведения более детального анализа симптомов накопления мочи, симптомов опорожнения и симптомов после опорожнения, выделенных Международным обществом по проблемам удержания мочи (ICS) [6, 7]. К наиболее частым симптомам накопления мочи и

симптомам опорожнения относятся ноктурия и подкапывание мочи в конце акта мочеиспускания. Тем не менее СНМП встречаются в комплексе чаще, чем в виде изолированных симптомов, при этом на долю распространенности симптомокомплекса гиперактивного мочевого пузыря (ГМП), который представляет собой сочетание частых позывов к мочеиспусканию, urgentных позывов к мочеиспусканию с или без ноктурии, приходится 10–25% [8]. За последние 11 лет средняя ежегодная заболеваемость ГМП и недержанием мочи увеличилась на 3,7 и 0,8% соответственно [9]. Также было показано, что после 50 лет происходит снижение скорости потока мочи [10].

Что еще более существенно, важность этих симптомов в связи с влиянием их на качество жизни и стратегию лечения составляет 50 и 20% соответственно [11]. Это говорит о том, что не все симптомы требуют лечения каждого отдельного пациента и данные о распространенности могут переоценивать истинную тяжесть симптомов.

Наиболее существенным фактором риска, ассоциированным с развитием СНМП, является возраст [12]. Несмотря на то что СНМП часто рассматривают в качестве особенностей старения мужчин, некоторые изменения в поведении мужчин пожилого возраста могут приводить к изменению этого риска. Физическая активность способствует снижению риска развития СНМП на 29%, в то время как индекс массы тела больше 30 повышает риск развития СНМП у мужчин на 41% [13]. При изучении связи между метаболическим синдромом и СНМП обнаружили наличие смешанных корреляций, при этом в более поздних исследованиях приведены данные об отсутствии значимой ассоциации [14, 15]. С высоким риском развития СНМП ассоциированы употребление больших доз витамина С, натрия и избыточное употребление алкоголя [16] ADDIN REF MGR.CITE [17]. В недавнем мета-анализе оценены генетические полиморфизмы, ассоциированные с развитием СНМП у мужчин [18]. Было установлено, что в различных популяциях вариант Rs731236 рецептора витамина D оказывает защитный эффект против развития СНМП. При использовании геномного подхода только начинают раскрывать потенциальные врожденные риски развития СНМП, которые, вероятно, являются многофакторными.

Обследование пациента

Краеугольным камнем медицинского обследования служит тщательный сбор анамнеза. Мы считаем, что при описании симптомов у пациентов следует опираться на стандартизованную терминологию, предложенную Международным обществом по проблемам удержания мочи (ICS) [19]. Симптомы можно разделить на симптомы накопления мочи, симптомы опорожнения мочевого пузыря и симптомы после опорожнения мочевого пузыря (см. таблицу). Шкале Patient reported outcome measures (PROMS) и различным анкетам не хватает доказательств высокого уровня, но их можно использовать в отношении некоторых пациентов. Несмотря на наличие стандартизированных и валидизированных анкет на разных языках, их в основном используют в качестве методов обследования для количественной оценки изменений [20]. В любом случае, если предполагается использование анкет, они должны быть оценены психометрически и чувствительны к изменениям, а эти изменения должны отражать влияние на качество жизни (КЖ) и беспокоящие симптомы.

После детального изучения анамнеза, пальпации передней брюшной стенки с выявлением переполненного мочевого пузыря обязательно следует проводить пальцевое ректальное исследование и осмотр наружных половых органов.

По нашему мнению, бесценным инструментом в обследовании мужчин с СНМП является график объема мочеиспусканий (дневник мочеиспусканий). Дневник необходимо вести в течение 3–4 дней [21], его изучение позволяет выявлять или исключать полиурию и ночную полиурию, которые в противном случае можно не выявить. Дневник мочеиспусканий также позволяет получать исходную информацию для сравнения динамики симптомов в ходе лечения.

В дополнение к этому необходимо проводить общий анализ мочи для исключения инфекции мочевыводящих путей (ИМП), глюкозурии и гематурии. По нашему мнению, проведение мужчинам теста на ПСА целесообразно после соответствующей консультации. Очевидно, что аномальные ощущения в области простаты являются показанием к проведению ПСА. У пациентов с продолжительностью жизни более 10 лет результаты ПСА позволяют выявлять злокачественные процессы в простате, а также принимать решение о терапии ингибиторами 5- α -редуктазы.

Данные исследований MTOPS, ALTESS и PLESS [22–24] свидетельствуют о том, что содержание ПСА выше 1,4 (предполагая увеличение простаты) является прогностическим признаком высокой скорости прогрессирования заболевания и таким пациентам наиболее эффективно проведение терапии ингибиторами 5-альфа-редуктазы. Поэтому в дополнение к выявлению рака предстательной железы тест на ПСА можно использовать для стратификации риска прогрессирования ДГПЖ у пациентов. Тем не менее следует иметь в виду, что не существует доказанной генетической, этиологической или эпидемиологической связи между СНМП и раком предстательной железы. Таким образом, тест на ПСА не следует рассматривать в качестве скринингового для выявления высокого риска РПЖ просто при наличии у пациента СНМП [25].

В исследовании MTOPS показали, что риск развития почечной недостаточности при СНМП составляет <1%, следовательно, не всем мужчинам с СНМП рекомендовано оценивать функцию почек и проводить УЗИ брюшной полости [26]. Рекомендовано использование простых неинвазивных методов обследования, таких как оценка объема остаточной мочи после мочеиспускания и урофлоуметрия. Они

Симптомы нижних мочевыводящих путей

Т а б л и ц а

Симптомы накопления мочи	Симптомы опорожнения	Симптомы после опорожнения
Частые позывы к мочеиспусканию	Медленная/разделяющаяся/прерывистая струя мочи	Ощущение неполного опорожнения мочевого пузыря
Императивные позывы к мочеиспусканию	Затрудненное начало мочеиспускания	Подкапывание мочи после мочеиспускания
Недержание мочи	Напряжение при мочеиспускании	
Повышение (полиурия)/уменьшение (олигурия)/отсутствие (анурия)/болезненные ощущения в области мочевого пузыря	Подкапывание мочи в конце акта мочеиспускания	
Ноктурия		

не позволяют проводить дифференциальный диагноз между гипоактивностью детрузора и обструкцией мочевых путей. Тем не менее значительное увеличение объема остаточной мочи может приводить к вредным последствиям и поэтому его оценка позволяет предположить наличие серьезной обструкции или дисфункции детрузора. Оценка скорости мочевого потока позволяет выявлять картину «стакката» или «плато» мочеиспускания, что может свидетельствовать о наличии детрузорно-сфинктерной диссинергии или стриктуры уретры соответственно.

Для обследования мужчин с СНМП можно использовать большое количество методов диагностики. К ним относятся цистометрия, ультразвуковая оценка размеров предстательной железы, оценка размера/угла вдевания простаты в мочевой пузырь, оценка веса мочевого пузыря и тест с пенильной манжетой. Наиболее широко используемой и стандартизированной процедурой является цистометрия. Маловероятно, что проведение цистометрии будет эффективно для пациентов без осложнений, поскольку для назначения стартовой терапии им будет достаточно результатов менее инвазивных исследований.

Всегда необходимо проводить оценку уродинамики в соответствии со стандартами надлежащей урологической практики, разработанными ICS (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/nau.10066/pdf>). Из-за инвазивности ее следует проводить в случае, когда при подтверждении диагноза потребуются изменение тактики ведения. Мы считаем, что цистометрию нужно назначать пациентам с резистентностью к фармакотерапии, со смешанными симптомами и при наличии невропатии. Проведение цистометрии позволяет выявлять гиперактивность детрузора мочевого пузыря, обструкцию мочевых путей и гипоактивность детрузора.

В исследовании с участием 1418 мужчин с клиническим подозрением на обструкцию мочевых путей у 61% из них выявили гиперактивность детрузора [27]. Известно, что у 60% мужчин с «сухим» ГМП и у 84% мужчин с «мокрым» ГМП выявляют гиперактивность детрузора [28]. Кроме того, этот симптом можно выявить при уродинамическом исследовании у 15% здоровых лиц [29]. Если этот симптом ассоциирован с обструкцией мочевых путей, в 50–70% случаев после ТУРП происходит его разрешение [30].

Более целесообразно оценивать уродинамику при проведении дифференциального диагноза между инфравезикальной обструкцией и гипоактивностью детрузора. Номограмма ICS рекомендуется для различения этих состояний, при которых важным расчетным параметром является индекс обструкции мочевых путей. Международное общество по проблемам удержания мочи стандартизировало расчет обструкции мочевых путей с использованием индекса обструкции мочевых путей (ИОМП). Этот показатель рассчитывается по следующей формуле $\text{ИОМП} = \text{pdet}Q_{\max} - 2Q_{\max}$ [31]. ИОМП > 40 см H_2O свидетельствует о наличии обструкции, 20–40 см H_2O — неоднозначен, а < 20 см H_2O доказывает отсутствие обструкции. Эти показатели можно нанести на номограмму, такую как номограмма ICS.

Во время проведения повторного обследования только у 1% мужчин произошло измене-

ние категории обструкции, что свидетельствует о надежности этого метода диагностики для проведения обследования/повторного обследования.

Сократимость мочевого пузыря также можно оценивать объективно. Для акта мочеиспускания сокращение должно быть достаточно сильным и обеспечивать полное опорожнение мочевого пузыря. Индекс сократимости мочевого пузыря (ИСМП) рассчитывается по формуле $\text{ИСМП} = \text{pdet}Q_{\max} + 5Q_{\max}$ и свидетельствует о силе сокращения. Показателем сильного сокращения является индекс > 150 см H_2O и слабого сокращения < 100 см H_2O , а показатели 100–150 см H_2O свидетельствуют о нормальной сократительной функции. Эффективность опорожнения мочевого пузыря дает представление об устойчивости сокращения. Этот показатель рассчитывается путем деления общего объема мочеиспускания на общую емкость мочевого пузыря и умножением на 100. Чем больше объем остаточной мочи, тем ниже эффективность опорожнения мочевого пузыря.

Гипоактивность детрузора диагностируют редко. В исследовании с участием 2066 лиц без неврологической патологии при оценке уродинамики у 224 пациентов выявили наличие этого симптома [32]. Проведение хирургического вмешательства для ликвидации обструкции мочевых путей было неэффективным для этих мужчин. В связи с этим вполне вероятно, что у мужчин с подозрением на наличие ОМП до этого была гипоактивность детрузора, как это было выявлено в 11–40% случаев при проведении цистометрии по поводу подозрения на обструкцию мочевых путей [33]. Поэтому основное преимущество цистометрии заключается в исключении пациентов с гипофункцией детрузора и выявлении лиц, для которых проведение оперативного лечения по поводу обструкции мочевых путей будет неэффективным [34]. Поскольку цистометрия является инвазивным методом диагностики, исследователи изучают эффективность других менее инвазивных методов, которые позволяют прогнозировать исходы после хирургического лечения обструкции мочевых путей.

Было показано, что объем простаты, а также объем переходной зоны плохо коррелируют с уродинамическими показателями обструкции мочевых путей [35]. Однако было высказано предположение, будто внутрипузырную протрузию простаты можно использовать в качестве менее инвазивного показателя [36]. Согласно данным некоторых исследований, если длина протрузии простаты от ее основания больше 10 мм, то лечение α -адреноблокаторами может быть неэффективным [37, 38], и в таких случаях показано оперативное лечение [39]. В недавнем исследовании площадь под рабочей характеристической кривой (РХК) в отношении прогнозирования симптомов ОМП составила 0,71 [40]. В другом исследовании площадь под РХК (AUC — area under the curve) при сравнении с индексом обструкции мочевых путей составила 0,84 [41]. Также существовала высокая вероятность неэффективности TWOC (trial without catheterisation) у мужчин с AUC, если внутрипузырная протрузия простаты > 10 мм [42].

Простатуретральный угол расположен между мембранозным и простатическим отделами уретры.

В одном исследовании при корреляции с индексом обструкции мочевых путей площадь под РХК составила 0,63 [43]. Угол $>35^\circ$ коррелировал с инфравезикальной обструкцией; однако увеличение угла не коррелировало со степенью инфравезикальной обструкции. К ограничениям вышеупомянутых исследований относится то, что в них изучали понятие обструкции и не предоставляли информацию о сократительной функции мочевого пузыря. При развитии компенсации или декомпенсации функции детрузора на фоне обструкции, или в случаях гипоактивности детрузора данные этих исследований теоретически нельзя использовать для выявления пациентов, для которых хирургическое лечение по поводу обструкции мочевых путей может быть эффективным.

С помощью ультразвукового исследования можно определить толщину стенки мочевого пузыря (ТСМП) и толщину стенки детрузора (ТСД). ТСМП с инфравезикальной обструкцией коррелирует меньше, чем ТСД, поскольку повреждение слизистой оболочки мочевого пузыря может развиваться и при другой патологии, а при инфравезикальной обструкции больше страдает детрузор [44]. Это может объяснить наличие некоторых расхождений в данных о корреляции ТСМП с давлением потока мочи. Maniéri выявил наличие значимой корреляции ($r>0,6$) с пороговым значением 5 мм, при этом у 63% мужчин с меньшей ТСМП не было обструкции, а у 88% мужчин с ТСМП больше этого показателя выявили инфравезикальную обструкцию [45]. С другой стороны, Nakenberg и соавт. продемонстрировали, что ТСМП слегка увеличивается с возрастом и пороговое значение ТСМП у мужчин с СНМП только на 0,3 мм больше, чем у мужчин без этих симптомов [46].

Oelke и соавт. в проспективном исследовании сравнивали влияние толщины передней стенки мочевого пузыря >2 мм на функциональную емкость мочевого пузыря с использованием ультразвукового датчика 7,5 МГц и стандартные показатели уродинамики. Чувствительность этого метода составила 83%, специфичность — 95%, положительная и отрицательная прогностическая значимость — 94 и 86% соответственно [47]. Для успешной ТУРП у 239 мужчин площадь под РХК для ТСМП составила 0,723 [48]. ТСМП непрерывно уменьшается при увеличении заполнения мочевого пузыря только до 250 мл, однако в дальнейшем не изменяется независимо от емкости мочевого пузыря. Однако межэкспертная вариабельность при оценке этого показателя составляет 4,0–12,3% [49], которая в основном может быть обусловлена различиями в методике обследования, например оценке объема наполнения мочевого пузыря, зоне проведения обследования и различной частоте ультразвукового датчика [50]. К другим проблемам применения этой методики относится необходимость интерпретации минимальных изменений, т.е. <2 мм. Kessler и соавт. в исследовании с участием 102 мужчин сообщили, что при использовании более высокого порогового значения ($>2,9$ мм) чувствительность и положительная прогностическая значимость составили 100%, но это привело к снижению специфичности до 43% и отрицательной прогностической значимости до 54% [49]. Использование более высокого

порогового значения позволяет включать в исследование пациентов, для которых наиболее эффективно проведение хирургического лечения, в результате исключенным пациентам провести цистометрию и таким образом избежать проведения цистометрии определенной доли мужчин. Необходимо решить фундаментальный вопрос: в какой степени ТСМП связана с обструкцией как таковой по сравнению с высокой распространенностью гиперактивности детрузора (ГАД), которая наблюдается у пациентов с инфравезикальной обструкцией, и в каких случаях увеличение ТСМП на самом деле можно объяснить регулярными изометрическими сокращениями, рассматриваемыми в контексте ГАД?

Еще одним методом обследования является использование теста с пенильной манжетой, при котором пневматическую манжету накладывают вокруг полового члена и при ее надувании поток мочи прерывается. Давление столбика жидкости в уретре равно внутрипузырному давлению, если считать, что непрерывный столбик жидкости соединяет обе эти конечные точки. Было описано две методики проведения измерений. При методике дефляции сначала раздувают манжету, затем при надутой манжете пациент должен помочиться, и манжета начинают сдувать до тех пор, пока пациент не почувствует мочу в уретре [51]. Другая методика известна как метод прерывания, при котором опорожнение мочевого пузыря со средней скоростью мочевого потока прерывают, а затем манжету быстро сдувают, что приводит к скачкообразному повышению скорости потока мочи ($Q_{\text{surge}} - \text{surge of urine}$) с последующей равномерной скоростью мочевого потока ($Q_{\text{ss}} - \text{steady state flow}$) [52]. Описанный цикл измерений можно повторять несколько раз. Индекс пенильной декомпрессии рассчитывается по формуле $(Q_{\text{surge}} - Q_{\text{ss}})/Q_{\text{ss}}$. При использовании этого метода при повторном обследовании была продемонстрирована хорошая воспроизводимость результатов и высокая межэкспертная согласованность, особенно при объеме мочеиспускания >150 мл [53, 54].

Максимальные показатели давления в манжете при прерывании мочеиспускания, нанесенные на неинвазивную номограмму давления потока, имеют высокую диагностическую точность [55]. Положительная прогностическая ценность метода составила 82%, отрицательная прогностическая ценность — 88% [56]. Более интересно, что у мужчин, у которых по результатам теста с пенильной манжетой предполагали наличие обструкции, вероятность развития благоприятного исхода после ТУРП составила 87%, в то время как у мужчин без предполагаемой обструкции — только 56% [57]. Это различие может быть полезным для исключения пациентов с предполагаемой обструкцией, которым, следовательно, не нужно проводить инвазивную оценку уродинамики. К ограничениям этого метода относятся высокая частота исключения пациентов из-за технических проблем, неучтенное напряжение передней брюшной стенки и высокая частота развития неопределенных исходов, при которых ТУРП успешна в 78% случаев [57].

В целом доказательная база в отношении обследования мужчин с СНМП бедна и основана прежде всего на экспертных мнениях или результатах

когортных исследований с использованием малоинвазивных методов диагностики. Доказательства в отношении цистометрии избирательны, и, несмотря на наличие данных мета-анализа об ее использовании у женщин со стрессовым недержанием мочи, результатов мета-анализа применения цистометрии для оценки инфравезикальной обструкции у мужчин нет. В связи с широким использованием в урологической практике цистометрия получила статус «золотого» стандарта в оценке СНМП, особенно в сложных случаях, и следовательно, менее инвазивные методы изучения функции нижних мочевыводящих путей следует сравнивать именно с ней. До появления обратных доказательств эти новейшие методы по-прежнему требуют накопления более значимых фактических данных об эффективности их использования, прежде чем их можно будет включить в алгоритм обследования мужчин с СНМП.

Медикаментозные методы лечения СНМП у мужчин

Фитопрепараты иногда используют в лечении СНМП у мужчин, их применение также описано в многочисленных исследованиях, но, к сожалению, большинство из них страдает от недостатка научной строгости. Из фитопрепаратов наиболее изучены препараты *Serenoa repens* (пальмы сереноа). В мета-анализе данных 14 рандомизированных контролируемых исследований (РКИ, RCT – randomized control trial) продемонстрировано, что применение препаратов пальмы сереноа привело к уменьшению оценки по шкале IPSS на 4,8 балла, увеличению максимальной скорости потока мочи (Q_{max}) на 1,2 мл/с без изменения объема простаты или уровня простатического специфического антигена (ПСА) [59]. В 18 РКИ изучали эффективность препаратов коры африканской сливы по сравнению с плацебо. Было показано, что их использование приводит к улучшению симптомов и увеличению скорости потока мочи. Тем не менее большинство РКИ были низкого качества и представленные в них результаты не позволили провести мета-анализ [60]. Кроме того, в двух РКИ низкого качества изучали эффективность применения препаратов ржи посевной, и результаты их мета-анализов были изъяты из литературы в 2011 г. [61].

В связи с низкой частотой развития системных побочных эффектов было предложено использование селективных α_{1a} - и α_{1d} -адреноблокаторов. Предположительно α_{1a} -адреноблокаторы действуют на предстательную железу и шейку мочевого пузыря, α_{1d} -адреноблокаторы — на мочевой пузырь и спинной мозг. В 12 мета-анализах продемонстрировали эффективность α -адреноблокаторов [62]. Данные об эффективности и частоте развития побочных эффектов накоплены на протяжении более пяти лет. По сравнению с плацебо применение нового селективного α_{1a} -адреноблокатора — силодозина — приводит к значительному улучшению показателей при оценке по шкале IPSS, увеличению Q_{max} , но незначительному улучшению симптомов опорожнения мочевого пузыря по сравнению с тамсулозином; кроме того, препарат обладает потенциально лучшим профилем сердечно-сосудистой безопасности, но и более высо-

ким риском развития нарушения эякуляции [63]. Применение α -адреноблокаторов приводит к изменению уродинамических показателей, а именно снижению $P_{det}Q_{max}$ на 10–20 см H_2O и увеличению Q_{max} на 2–3 мл/с [64]. Эти препараты следует применять в отношении мужчин с преобладанием симптомов опорожнения мочевого пузыря; их действие развивается быстро и не зависит от размера предстательной железы.

Chapple и соавт. провели мета-анализ эффективности нескольких М-холиноблокаторов и обнаружили снижение частоты мочеиспусканий, ургентных позывов к мочеиспусканию и уменьшение объема мочеиспускания [65]. Была обеспокоенность по поводу теоретического риска увеличения эпизодов острой задержки мочи у мужчин с СНМП на фоне применения М-холиноблокаторов, однако это не было подтверждено в литературе, поскольку лиц с объемом остаточной мочи более 200 мл исключали из исследований, и поэтому эти препараты можно смело использовать мужчинам с преобладанием симптомов накопления мочи.

При проведении мета-анализа также обнаружили значительные улучшения на фоне терапии мирабегроном, заключающиеся в уменьшении количества эпизодов недержания мочи и снижения частоты мочеиспускания с низким профилем побочных эффектов [66]. Тем не менее следует признать, что в исследованиях ГМП принимали участие преимущественно женщины, и хотя при объединении всех этих данных получится большое количество участников-мужчин, их реакция на терапию (ее эффективность) может быть затменена большим количеством женщин.

В последнее время в клинической практике начали использовать β_3 -адреномиметик мирабегрон, к потенциальным преимуществам которого относится отсутствие влияния на увеличение объема остаточной мочи. Несмотря на наличие неподтвержденных данных в пользу его применения, доказательной базы в отношении лечения СНМП у мужчин пока нет.

Комбинированная терапия α -адреноблокаторами и М-холиноблокаторами рассматривается как оптимальный метод лечения мужчин с сочетанием симптомов накопления мочи и симптомов опорожнения мочевого пузыря. В семи РКИ продемонстрировали превосходство такого комбинированного лечения над монотерапией и плацебо. Были приведены доводы, согласно которым различия в симптомах невелики, но значимы. Тем не менее в исследовании по оценке восприятия эффективности лечения выявили существенное различие, свидетельствующее о том, это различие для пациентов сохраняет значимость изменений [67]. Следует также отметить, что для участия в этих исследованиях отбирали мужчин с преобладанием симптомов накопления мочи, и их результаты нельзя применять в отношении всех мужчин с СНМП. Кроме того, к критериям исключения в большинстве этих исследований относился объем остаточной мочи <250 мл, и нужно признать, что мужчины с большим объемом остаточной мочи не были субъектами исследования.

В развитии ДГПЖ принимают участие андрогены, и давно известно, что двусторонняя орхидэкто-

мия позволяет купировать задержку мочи. Как было показано, использование агонистов рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (РФЛГ) приводит к уменьшению объема простаты на 25%, улучшению оценки по шкале IPSS и увеличению $Q_{\max}$, но при условии длительного лечения [68]. Такая терапия часто сопровождается развитием известных побочных эффектов, таких как снижение либидо, импотенция и приливы. С другой стороны, при изучении эффективности антагонистов РФЛГ (цетрореликса и озареликса) не смогли показать существенные различия по сравнению с плацебо. Дегареликс не изучали в плацебо-контролируемых РКИ мужчин с СНМП/ИВО (инфравезикальной обструкцией). Таким образом, можно рекомендовать применение агонистов РФЛГ тщательно отобранными пациентами, которым не показано хирургическое лечение и не рекомендуется лечение антагонистами РФЛГ.

В нескольких крупных РКИ продемонстрировали эффективность и безопасность финастерида [69, 70]. В этих исследованиях риск развития сексуальной дисфункции составил 6–10%. Кроме того, была продемонстрирована безопасность лечения в течение 10 лет [71]. На фоне применения финастерида отмечено уменьшение оценки по шкале IPSS на 3 балла и увеличение $Q_{\max}$ на 2 мл/с в течение периода от 6 месяцев до 4 лет. Тем не менее было показано, что не всем мужчинам показано лечение финастеридом. Мета-анализ показал, что эффективность терапии выше у мужчин с уровнем ПСА >1,4 нг/мл или объемом простаты >30 мл [72]. Было отмечено среднее уменьшение объема простаты на 20% и уменьшение содержания ПСА на 50% через 6 месяцев лечения. При проведении долгосрочных исследований выявили снижение частоты развития эпизодов острой задержки мочи с 2,7 до 1,1%. В исследовании PLESS (Proscar Long-Term Efficacy and Safety Study) продемонстрировали снижение вероятности проведения ТУРП с 10 до 5% [73]. Очевидно, что снижение риска развития эпизодов острой задержки мочи и необходимости хирургического лечения зависит от характеристик популяции исследования и пациенты с низкой скоростью мочевого потока, большим объемом предстательной железы и высоким содержанием ПСА находятся в группе повышенного риска прогрессирования заболевания, следовательно, такая терапия будет для них наиболее эффективной [74].

Дутастерид ингибирует оба изофермента 5- α -редуктазы и, следовательно, приводит к более выраженному снижению уровня интрапростатического дигидротестостерона (95 против 70%) [75]. Аналогичным образом в нескольких РКИ продемонстрировали эффективность препарата в отношении улучшения симптомов, увеличения скорости потока мочи и улучшения качества жизни в течение двух лет, а результаты обобщили в мета-анализе [76]. В открытом исследовании, в котором пациентов группы плацебо перевели в группу дутастерида и продолжали вести наблюдение за пациентами обеих групп, продемонстрировано менее выраженное улучшение в группе, которую перевели на прием дутастерида, чем в группе, получавшей дутастерид изначально, что свидетельствует о большей эффективности раннего начала медикаментозной терапии [22]. У всех пациентов, отобранных для участия в исследованиях

по изучению эффективности дутастерида, объем простаты был >30 мл и/или содержание ПСА >1,5 нг/мл. Это может объяснить различия между результатами этих исследований и исследований по изучению эффективности финастерида. По данным последнего клинического исследования, через год после лечения финастеридом или дутастеридом различий в терапевтической эффективности двух препаратов не было [77].

В другом важном исследовании изучали влияние прекращения терапии финастеридом и дутастеридом [78]. Все участники принимали финастерид или дутастерид с тамсулозином в течение года, а затем прекращали прием ингибиторов 5- α -редуктазы. Через год после прекращения лечения объем простаты и уровень ПСА вернулись к показателям, составившим 90–95% от исходного уровня. В связи с этим прекращения лечения не рекомендуется. В испытаниях PCPT (Prostate Cancer Prevention Trial) и REDUCE (Reduction by Dutasteride of Prostate Cancer Events) привели данные об относительном снижении риска развития СНМП, связанных с ДГПЖ, на 40% на фоне применения финастерида в течение 7 лет или дутастерида в течение 4 лет соответственно [79].

Эффективность применения сочетания α -адреноблокаторов и ингибиторов 5- α -редуктазы изучали в недавнем систематическом обзоре [80]. В трех исследованиях сравнивали эффективность комбинированной терапии и плацебо. Крупнейшими исследованиями были MTOPS (Medical Therapy of Prostate Symptoms) и CombAT (Combination of Avodart and Tamsulosin) [81]. В первом исследовании оценивали риск прогрессирования симптомов у 3047 мужчин с умеренными и выраженными СНМП. Монотерапия доксазолином привела к снижению риска на 39%, монотерапия финастеридом — на 34%, а комбинированная терапия — на 66%. Тем не менее риск проведения инвазивного лечения на фоне терапии доксазолином сохранялся, но с отсрочкой необходимости вмешательства, а на фоне лечения финастеридом происходило снижение этого риска. В последнем упомянутом исследовании 4500 пациентов рандомизировали в группы лечения плацебо, тамсулозином, дутастеридом или комбинированной терапии. Основное различие между этим исследованием и исследованием MTOPS заключалось во включении в исследование CombAT только мужчин с объемом простаты более 30 мл. В этом исследовании дутастерид превосходил по эффективности тамсулозин, но только после 18 месяцев лечения. Однако комбинированная терапия превосходила по эффективности все виды монотерапии и плацебо.

Ингибиторы фосфодиэстеразы-5 также можно использовать в лечении мужчин с инфравезикальной обструкцией, связанной с доброкачественной гиперплазией простаты. В четырех РКИ оценивали эффективность тадалафила, в одном — силденафила, и в одном — вardenафила. Улучшения приведены в показателях оценки по шкале IPSS, увеличении $Q_{\max}$ и оценки по шкале IIEF (International Index of Erectile Function). Только в одном исследовании сравнивали эффективность тадалафила и тамсулозина и продемонстрировали аналогичное улучшение оценки по шкале IPSS и скорости потока мочи

[82]. В одном открытом исследовании показали стойкое улучшение показателей в течение года [83]. В мета-анализе были приведены данные о развитии таких побочных эффектов, как гиперемия, гастро-эзофагеальный рефлюкс, головная боль, диспепсия, боли в спине и синусит [84]. Применение ингибиторов фосфодиэстеразы-5 служит хорошим вариантом лечения мужчин с сочетанием эректильной дисфункции и СНМП.

Было проведено пять плацебо-контролируемых нерандомизированных исследований по оценке эффективности использования α -адреноблокаторов и ингибиторов ФДЭ-5 в качестве комбинированной терапии, результаты которых сравнивали в мета-анализе [84]. Улучшения в показателях IPSS и Q_{max} были более выраженными на фоне проведения монотерапии α -адреноблокаторами. Комбинированная терапия была безопасной и не сопровождалась развитием серьезных побочных эффектов. Следует помнить, что указанные исследования были нерандомизированными, и ожидаются данные о долгосрочной эффективности и безопасности применения этого сочетания препаратов [85].

Необходимость назначения комбинированной терапии зависит от индивидуальных особенностей пациентов, и только с их учетом можно выбирать определенные сочетания препаратов. При наличии большого выбора лекарственных средств важно получить более детальную информацию о беспокоящих симптомах. Это позволит обеспечить индивидуальный подход к лечению СНМП у мужчин и избежать применения метода проб и ошибок, а также уменьшить частоту развития побочных эффектов и замедлить прогрессирование симптомов.

ЛИТЕРАТУРА

- Haidinger G., Waldhor T., Madersbacher S., Schatzl G., Vutuc C. Prevalence of lower urinary tract symptoms in Austrian males: update 2009. *Urol. Int.* 2011;87:385–391.
- Tuncay A.F., Aygun C., Bilir N., Erkan I., Ozen H. Prevalence of lower urinary tract symptoms in a community-based survey of men in Turkey. *Int. J. Urol.* 2003;10:364–370.
- Boyle P., Robertson C., Mazzetta C., Keech M., Hobbs F.D., Fourcade R., Kiemeny L., Lee C. The prevalence of lower urinary tract symptoms in men and women in four centres. The UrEpiK study. *BJU Int.* 2003;92:409–414.
- Seim A., Hoyo C., Ostbye T., Vatten L. The prevalence and correlates of urinary tract symptoms in Norwegian men: the HUNT study. *BJU Int.* 2005;96:88–92.
- Shamlilyan T.A., Wyman J.F., Ping R., Wilt T.J., Kane R.L. Male urinary incontinence: prevalence, risk factors, and preventive interventions. *Rev. Urol.* 2009;11:145–165.
- Homma Y., Yamaguchi O., Hayashi K. Epidemiologic survey of lower urinary tract symptoms in Japan. *Urology.* 2006;68:560–564.
- Coyne K.S., Sexton C.C., Thompson C.L., Milsom I., Irwin D., Kopp Z.S., Chapple C.R., Kaplan S., Tubaro A., Aiyer L.P., Wein A.J. The prevalence of lower urinary tract symptoms (LUTS) in the USA, the UK and Sweden: results from the Epidemiology of LUTS (EpiLUTS) study. *BJU Int.* 2009;104:352–360.
- Irwin D.E., Milsom I., Kopp Z., Abrams P., Artibani W., Herschorn S. Prevalence, severity, and symptom bother of lower urinary tract symptoms among men in the EPIC study: impact of overactive bladder. *Eur. Urol.* 2009;56:14–20.
- Malmsten U.G., Molander U., Peecker R., Irwin D.E., Milsom I. Urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms: a longitudinal population-based survey in men aged 45–103 years. *Eur. Urol.* 2010;58:149–156.
- Fukuta F., Masumori N., Mori M., Tsukamoto T. Natural history of lower urinary tract symptoms in Japanese men from a 15-year longitudinal community-based study. *BJU Int.* 2012;10:1023–1029.
- Irwin D.E., Milsom I., Kopp Z., Abrams P. Symptom bother and health care-seeking behavior among individuals with overactive bladder. *Eur. Urol.* 2008;53:1029–1037.
- Braun M.H., Sommer F., Haupt G., Mathers M.J., Reifemrath B., Engelmann U.H. Lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: co-morbidity or typical «Aging Male» symptoms? Results of the «Cologne Male Survey». *Eur. Urol.* 2003;44:588–594.
- Parsons J.K., Messer K., White M., Barrett-Connor E., Bauer D.C., Marshall L.M. Obesity increases and physical activity decreases lower urinary tract symptom risk in older men: the Osteoporotic Fractures in Men study. *Eur. Urol.* 2011;60:1173–1180.
- Martin S.A., Haren M.T., Marshall V.R., Lange K., Wittert G.A. Prevalence and factors associated with uncomplicated storage and voiding lower urinary tract symptoms in community-dwelling Australian men. *World J. Urol.* 2011;29:179–184.
- Ohgaki K., Hikima N., Horiuchi K., Kondo Y. Association between metabolic syndrome and male lower urinary tract symptoms in Japanese subjects using three sets of criteria for metabolic syndrome and International Prostate Symptom Score. *Urology.* 2011;77:1432–1438.
- Maserejian N.N., Giovannucci E.L., McVary K.T., McKinlay J.B. Dietary, but not supplemental, intakes of carotenoids and vitamin C are associated with decreased odds of lower urinary tract symptoms in men. *J. Nutr.* 2011;141:267–273.
- Rohrmann S., Crespo C.J., Weber J.R., Smit E., Giovannucci E., Platz E.A. Association of cigarette smoking, alcohol consumption and physical activity with lower urinary tract symptoms in older American men: findings from the third National Health And Nutrition Examination Survey. *BJU Int.* 2005;96:77–82.
- Cartwright R., Mangera A., Tikkinen K.A., Rajan P., Pesonen J., Kirby A.C., Thiagamoorthy G., Ambrose C., Gonzalez-Maffe J., Bennett P.R., Palmer T., Walley A., Jarvelin M.R., Khullar V., Chapple C. Systematic Review and Meta-analysis of Candidate Gene Association Studies of Lower Urinary Tract Symptoms in Men. *Eur. Urol.* 2014;66(4):752–768.
- Abrams P., Cardozo L., Fall M., Griffiths D., Rosier P., Ulmsten U., Van Kerrebroeck P., Victor A., Wein A. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol. Urodyn.* 2002;21:167–178.
- Khullar V. Patient-reported outcomes and different approaches to urinary parameters in overactive bladder: what should we measure? *Int. Urogynecol. J.* 2012;23:179–192.
- Yap T.L., Cromwell D.C., Emberton M. A systematic review of the reliability of frequency-volume charts in urological research and its implications for the optimum chart duration. *BJU Int.* 2007;99:9–16.
- McConnell J.D., Roehrborn C.G., Bautista O.M., Andriole G.L., Dixon C.M., Kusek J.W., Lepor H., McVary K.T., Nyberg L.M., Clarke H.S., Crawford E.D., Diokno A., Foley J.P., Foster H.E., Jacobs S.C., Kaplan S.A., Kreder K.J., Lieber M.M., Lucia M.S., Miller G.J., Menon M., Milam D.F., Ramsdell J.W., Schenkman N.S., Slawin K.M., Smith J.A. The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* 2003;349:2387–2398.
- Roehrborn C.G. Alfuzosin 10 mg once daily prevents overall clinical progression of benign prostatic hyperplasia but not acute urinary retention: results of a 2-year placebo-controlled study. *BJU Int.* 2006;97:734–741.
- Roehrborn C.G., Boyle P., Bergner D., Gray T., Gittelman M., Shown T., Melman A., Bracken R.B., deVere W.R., Taylor A., Wang D., Waldstreicher J. Serum prostate-specific antigen and prostate volume predict long-term changes in symptoms and flow rate: results of a four-year, randomized trial comparing finasteride versus placebo. PLESS Study Group. *Urology.* 1999;54:662–669.
- Miah S., Catto J. BPH and prostate cancer risk. *Indian J. Urol.* 2014;30:214–218.
- McConnell J.D., Roehrborn C.G., Bautista O.M., Andriole G.L., Dixon C.M., Kusek J.W., Lepor H., cVary K.T., Nyberg L.M., Clarke H.S., Crawford E.D., Diokno A., Foley J.P., Foster H.E., Jacobs S.C.,

- Kaplan S.A., Kreder K.J., Lieber M.M., Lucia M.S., Miller G.J., Menon M., Milam D.F., Ramsdell J.W., Schenkman N.S., Slawin K.M., Smith J.A. The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* 2003;349:2387–2398.
27. Oelke M., Baard J., Wijkstra H., de la Rosette J.J., Jonas U., Hofner K. Age and bladder outlet obstruction are independently associated with detrusor overactivity in patients with benign prostatic hyperplasia. *Eur. Urol.* 2008;54:419–426.
 28. Hashim H., Abrams P. Is the bladder a reliable witness for predicting detrusor overactivity? *J. Urol.* 2006;175:191–194.
 29. Wyndaele J.J., De W.S. Cystometrical sensory data from a normal population: comparison of two groups of young healthy volunteers examined with 5 years interval. *Eur. Urol.* 2002;42:34–38.
 30. Kageyama S., Watanabe T., Kurita Y., Ushiyama T., Suzuki K., Fujita K. Can persisting detrusor hyperreflexia be predicted after transurethral prostatectomy for benign prostatic hypertrophy? *Neurourol. Urodyn.* 2000;19:233–240.
 31. Abrams P. Bladder outlet obstruction index, bladder contractility index and bladder voiding efficiency: three simple indices to define bladder voiding function. *BJU Int.* 1999;84:14–15.
 32. Thomas A.W., Cannon A., Bartlett E., Ellis-Jones J., Abrams P. The natural history of lower urinary tract dysfunction in men: the influence of detrusor underactivity on the outcome after transurethral resection of the prostate with a minimum 10-year urodynamic follow-up. *BJU Int.* 2004;93:745–750.
 33. Jeong S.J., Kim H.J., Lee Y.J., Lee J.K., Lee B.K., Choo Y.M., Oh J.J., Lee S.C., Jeong C.W., Yoon C.Y., Hong S.K., Byun S.S., Lee S.E. Prevalence and Clinical Features of Detrusor Underactivity among Elderly with Lower Urinary Tract Symptoms: A Comparison between Men and Women. *Korean J. Urol.* 2012;53:342–348.
 34. Rodrigues P., Lucon A.M., Freire G.C., Arap S. Urodynamic pressure flow studies can predict the clinical outcome after transurethral prostatic resection. *J. Urol.* 2001;165:499–502.
 35. Witjes W.P., Aarnink R.G., Ezz-el-Din K., Wijkstra H., Debruyne E.M., de la Rosette J.J. The correlation between prostate volume, transition zone volume, transition zone index and clinical and urodynamic investigations in patients with lower urinary tract symptoms. *Br. J. Urol.* 1997;80:84–90.
 36. Lieber M.M., Jacobson D.J., McGree M.E., St Sauver J.L., Gorman C.J., Jacobsen S.J. Intravesical prostatic protrusion in men in Olmsted County, Minnesota. *J. Urol.* 2009;182:2819–2824.
 37. Cumpas A.A., Botoca M., Minciu R., Bucuras V. Intravesical prostatic protrusion can be a predicting factor for the treatment outcome in patients with lower urinary tract symptoms due to benign prostatic obstruction treated with tamsulosin. *Urology.* 2013;81:859–863.
 38. Seo Y.M., Kim H.J. Impact of intravesical protrusion of the prostate in the treatment of lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia of moderate size by alpha receptor antagonist. *Int. Neurourol. J.* 2012;16:187–190.
 39. Lee J.W., Ryu J.H., Yoo T.K., Byun S.S., Jeong Y.J., Jung T.Y. Relationship between Intravesical Prostatic Protrusion and Postoperative Outcomes in Patients with Benign Prostatic Hyperplasia. *Korean J. Urol.* 2012;53:478–482.
 40. Aganovic D., Hasanbegovic M., Prcic A., Kulovac B., Hadziosmanovic O. Which is a better indicator of bladder outlet obstruction in patients with benign prostatic enlargement--intravesical protrusion of prostate or bladder wall thickness? *Med. Arh.* 2012;66:324–328.
 41. Franco G., De N.C., Leonardo C., Tubaro A., Ciccariello M., De D.C., Miano L., Laurenti C. Ultrasound assessment of intravesical prostatic protrusion and detrusor wall thickness – new standards for noninvasive bladder outlet obstruction diagnosis? *J. Urol.* 2010;183:2270–2274.
 42. Syazarina S.O., Zulkifli M.Z., Hamzaini A.H. Predicting outcome of trial of voiding without catheter in acute urinary retention with intravesical prostatic protrusion. *Malays J. Med. Sci.* 2013; 20:56–59.
 43. Ku J.H., Ko D.W., Cho J.Y., Oh S.J. Correlation between prostatic urethral angle and bladder outlet obstruction index in patients with lower urinary tract symptoms. *Urology.* 2010;75:1467–1471.
 44. Bright E., Oelke M., Tubaro A., Abrams P. Ultrasound estimated bladder weight and measurement of bladder wall thickness – useful noninvasive methods for assessing the lower urinary tract? *J. Urol.* 2010;184:1847–1854.
 45. Manieri C., Carter S.S., Romano G., Trucchi A., Valenti M., Tubaro A. The diagnosis of bladder outlet obstruction in men by ultrasound measurement of bladder wall thickness. *J. Urol.* 1998;159:761–765.
 46. Hakenberg O.W., Linne C., Manseck A., Wirth M.P. Bladder wall thickness in normal adults and men with mild lower urinary tract symptoms and benign prostatic enlargement. *Neurourol. Urodyn.* 2000;19:585–593.
 47. Oelke M., Hofner K., Jonas U., de la Rosette J.J., Ubbink D.T., Wijkstra H. Diagnostic accuracy of noninvasive tests to evaluate bladder outlet obstruction in men: detrusor wall thickness, uroflowmetry, postvoid residual urine, and prostate volume. *Eur. Urol.* 2007;52:827–834.
 48. Huang T., Qi J., Yu Y.J., Xu D., Jiao Y., Kang J., Chen Y.Q., Zhu Y.K. Predictive value of resistive index, detrusor wall thickness and ultrasound estimated bladder weight regarding the outcome after transurethral prostatectomy for patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction. *Int. J. Urol.* 2012;19:343–350.
 49. Kessler T.M., Gerber R., Burkhard F.C., Studer U.E., Danuser H. Ultrasound assessment of detrusor thickness in men-can it predict bladder outlet obstruction and replace pressure flow study? *J. Urol.* 2006;175:2170–2173.
 50. Oelke M. International Consultation on Incontinence-Research Society (ICI-RS) report on non-invasive urodynamics: the need of standardization of ultrasound bladder and detrusor wall thickness measurements to quantify bladder wall hypertrophy. *Neurourol. Urodyn.* 2010;29:634–639.
 51. Gleason D.M., Bottaccini M.R., McRae L.P. Noninvasive urodynamics: a study of male voiding dysfunction. *Neurourol. Urodyn.* 1997;16:93–100.
 52. Griffiths C.J., Rix D., MacDonald A.M., Drinnan M.J., Pickard R.S., Ramsden P.D. Noninvasive measurement of bladder pressure by controlled inflation of a penile cuff. *J. Urol.* 2002;167:1344–1347.
 53. McIntosh S.L., Drinnan M.J., Griffiths C.J., Robson W.A., Ramsden P.D., Pickard R.S. Noninvasive assessment of bladder contractility in men. *J. Urol.* 2004;172:1394–1398.
 54. Drinnan M.J., McIntosh S.L., Robson W.A., Pickard R.S., Ramsden P.D., Griffiths C.J. Inter-observer agreement in the estimation of bladder pressure using a penile cuff. *Neurourol. Urodyn.* 2003;22: 296–300.
 55. Harding C.K., Robson W., Drinnan M.J., Ramsden P.D., Griffiths C., Pickard R.S. Variation in invasive and noninvasive measurements of isovolumetric bladder pressure and categorization of obstruction according to bladder volume. *J. Urol.* 2006;176:172–176.
 56. Borriani L., Lukacs B., Ciofu C., Gaibisso B., Haab F., Amarengo G. Predictive value of the penile cuff-test for the assessment of bladder outlet obstruction in men. *Prog. Urol.* 2012;22: 657–664.
 57. Harding C., Robson W., Drinnan M., Sajeel M., Ramsden P., Griffiths C., Pickard R. Predicting the outcome of prostatectomy using noninvasive bladder pressure and urine flow measurements. *Eur. Urol.* 2007;52:186–192.
 59. Boyle P., Robertson C., Lowe F., Roehrborn C. Updated meta-analysis of clinical trials of Serenoa repens extract in the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia. *BJU Int.* 2004;93:751–756.
 60. Wilt T., Ishani A., Mac D.R., Rutks I., Stark G. Pygeum africanum for benign prostatic hyperplasia. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2002;CD001044.
 61. Wilt T.J., Macdonald R., Ishani A., Rutks I., Stark G. WITHDRAWN: Cernilton for benign prostatic hyperplasia. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011;CD001042.
 62. Yuan J., Liu Y., Yang Z., Qin X., Yang K., Mao C. The efficacy and safety of alpha-1 blockers for benign prostatic hyperplasia: an overview of 15 systematic reviews. *Curr. Med. Res. Opin.* 2013;29:279–287.
 63. Kawabe K., Yoshida M., Homma Y. Silodosin, a new alpha1A-adrenoceptor-selective antagonist for treating benign prostatic hyperplasia: results of a phase III randomized, placebo-controlled, double-blind study in Japanese men. *BJU Int.* 2006;98:1019–1024.
 64. Bosch J.L. Urodynamic effects of various treatment modalities for benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* 1997;158:2034–2044.

65. Chapple C.R., Khullar V., Gabriel Z., Muston D., Bitoun C.E., Weinstein D. The effects of antimuscarinic treatments in overactive bladder: an update of a systematic review and meta-analysis. *Eur. Urol.* 2008;54:543–562.
66. Wu T., Duan X., Cao C.X., Peng C.D., Bu S.Y., Wang K.J. The role of mirabegron in overactive bladder: a systematic review and meta-analysis. *Urol. Int.* 2014;93:326–337.
67. MacDiarmid S.A., Peters K.M., Chen A., Armstrong R.B., Orman C., Aquilina J.W., Nitti V.W. Efficacy and safety of extended-release oxybutynin in combination with tamsulosin for treatment of lower urinary tract symptoms in men: randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Mayo Clin. Proc.* 2008;83:1002–1010.
68. Oesterling J.E. Endocrine therapies for symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 1994;43:7–16.
69. Tenover J.L., Pagano G.A., Morton A.S., Liss C.L., Byrnes C.A. Efficacy and tolerability of finasteride in symptomatic benign prostatic hyperplasia: a primary care study. Primary Care Investigator Study Group. *Clin. Ther.* 1997;19:243–258.
70. Andersen J.T., Ekman P., Wolf H., Beisland H.O., Johansson J.E., Kontturi M., Lehtonen T., Tveter K. Can finasteride reverse the progress of benign prostatic hyperplasia? A two-year placebo-controlled study. The Scandinavian BPH Study Group. *Urology.* 1995;46:631–637.
71. Vaughan E.D. Long-Term Experience With 5- α -Reductase Inhibitors. *Rev. Urol.* 2003;5(5):S22–S27.
72. Roehrborn C.G., Boyle P., Bergner D., Gray T., Gittelman M., Shown T., Melman A., Bracken R.B., deVere W.R., Taylor A., Wang D., Waldstreicher J. Serum prostate-specific antigen and prostate volume predict long-term changes in symptoms and flow rate: results of a four-year, randomized trial comparing finasteride versus placebo. PLESS Study Group. *Urology.* 1999;54:662–669.
73. McConnell J.D., Roehrborn C.G., Bautista O.M., Andriole G.L., Dixon C.M., Kusek J.W., Lepor H., McVary K.T., Nyberg L.M., Clarke H.S., Crawford E.D., Diokno A., Foley J.P., Foster H.E., Jacobs S.C., Kaplan S.A., Kreder K.J., Lieber M.M., Lucia M.S., Miller G.J., Menon M., Milam D.F., Ramsdell J.W., Schenkman N.S., Slawin K.M., Smith J.A. The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* 2003;349:2387–2398.
74. Roehrborn C.G., McConnell J.D., Lieber M., Kaplan S., Geller J., Malek G.H., Castellanos R., Coffield S., Saltzman B., Resnick M., Cook T.J., Waldstreicher J. Serum prostate-specific antigen concentration is a powerful predictor of acute urinary retention and need for surgery in men with clinical benign prostatic hyperplasia. PLESS Study Group. *Urology.* 1999;53:473–480.
75. Amory J.K., Wang C., Swerdloff R.S., Anawalt B.D., Matsumoto A.M., Bremner W.J., Walker S.E., Haberer L.J., Clark R.V. The effect of 5 α -reductase inhibition with dutasteride and finasteride on semen parameters and serum hormones in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007;92:1659–1665.
76. O'Leary M.P., Roehrborn C., Andriole G., Nickel C., Boyle P., Hofner K. Improvements in benign prostatic hyperplasia-specific quality of life with dutasteride, the novel dual 5 α -reductase inhibitor. *BJU Int.* 2003;92:262–266.
77. Nickel J.C., Gillig P., Tammela T.L., Morrill B., Wilson T.H., Rittmaster R.S. Comparison of dutasteride and finasteride for treating benign prostatic hyperplasia: the Enlarged Prostate International Comparator Study (EPICS). *BJU Int.* 2011;108:388–394.
78. Parsons J.K., Schenk J.M., Arnold K.B., Messer K., Till C., Thompson I.M., Kristal A.R. Finasteride reduces the risk of incident clinical benign prostatic hyperplasia. *Eur. Urol.* 2012;62:234–241.
79. Toren P., Margel D., Kulkarni G., Finelli A., Zlotta A., Fleshner N. Effect of dutasteride on clinical progression of benign prostatic hyperplasia in asymptomatic men with enlarged prostate: a post hoc analysis of the REDUCE study. *BMJ.* 2013;346:f2109.
80. Fullhase C., Chapple C., Cornu J.N., De N.C., Gratzke C., Kaplan S.A., Marberger M., Montorsi F., Novara G., Oelke M., Porst H., Roehrborn C., Stief C., McVary K.T. Systematic review of combination drug therapy for non-neurogenic male lower urinary tract symptoms. *Eur. Urol.* 2013;64:228–243.
81. Roehrborn C.G., Barkin J., Tubaro A., Emberton M., Wilson T.H., Brotherton B.J., Castro R. Influence of baseline variables on changes in International Prostate Symptom Score after combined therapy with dutasteride plus tamsulosin or either monotherapy in patients with benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms: 4-year results of the CombAT study. *BJU Int.* 2014;113:623–635.
82. Oelke M., Giuliano F., Mirone V., Xu L., Cox D., Viktrup L. Monotherapy with tadalafil or tamsulosin similarly improved lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia in an international, randomised, parallel, placebo-controlled clinical trial. *Eur. Urol.* 2012;61:917–925.
83. Donatucci C.F., Brock G.B., Goldfischer E.R., Pommerville P.J., Elion-Mboussa A., Kissel J.D., Viktrup L. Tadalafil administered once daily for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a 1-year, open-label extension study. *BJU Int.* 2011;107:1110–1116.
84. Gacci M., Corona G., Salvi M., Vignozzi L., McVary K.T., Kaplan S.A., Roehrborn C.G., Serni S., Mirone V., Carini M., Maggi M. A systematic review and meta-analysis on the use of phosphodiesterase 5 inhibitors alone or in combination with α -blockers for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia. *Eur. Urol.* 2012;61:994–1003.
85. Fullhase C., Chapple C., Cornu J.N., De N.C., Gratzke C., Kaplan S.A., Marberger M., Montorsi F., Novara G., Oelke M., Porst H., Roehrborn C., Stief C., McVary K.T. Systematic review of combination drug therapy for non-neurogenic male lower urinary tract symptoms. *Eur. Urol.* 2013;64:228–243.

Поступила 09.02.15

СУПЕРСЕЛЕКТИВНАЯ ЭМБОЛИЗАЦИЯ ПРОСТАТИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ КАК ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП ПЕРЕД ТРАНСУРЕТРАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИЕЙ ПРОСТАТЫ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БОЛЬШИХ РАЗМЕРОВ

Кафедра урологии и нефрологии (зав. — д.м.н., проф. А. И. Неймарк) ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул

Автор для связи: Д. В. Торбик — аспирант кафедры урологии и нефрологии; e-mail: demid.tor@yandex.ru

В исследование включены 59 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) с высокой степенью анестезиологического риска, которым была выполнена суперселективная эмболизация простатических артерий. Обследование включало анкетирование по международной системе суммарной оценки симптомов при заболеваниях простаты (I-PSS), оценку качества жизни QoL, трансректальное УЗИ с определением объема предстательной железы и узла, исследование крови на содержание простатспецифического антигена, в сомнительных случаях произведена пункционная биопсия предстательной железы. Для анализа качества мочеиспускания проведена урофлоуметрия. Эффективность лечения оценивали через 6, 12 и 24 мес после процедуры. К 6-му месяцу наблюдения статистически значимо снизилась оценка по шкале I-PSS, увеличилась максимальная скорость мочеиспускания. Эта тенденция сохранялась и в течение последующего полугодового периода. По результатам наблюдения за пациентами в течение 24 мес после эмболизации констатирован стабильный эффект. Объем предстательной железы и узлового образования в среднем уменьшился на 53 и 47% соответственно; максимальный эффект — уменьшение объема железы на 82%. Семнадцати (28,8%) пациентам после редукции размеров предстательной железы меньше 80 см³ удалось выполнить трансуретральную резекцию простаты, что позволяет рассматривать эмболизацию простатических артерий как метод предоперационной подготовки к лечению больных ДГПЖ больших размеров с выраженной сопутствующей патологией за счет перевода их в группу показаний к эндоскопическому лечению. Дальнейшее изучение позволит отработать методику проведения эмболизации, точно определить показания и противопоказания к применению, широко внедрить ее в практическое здравоохранение.

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия простаты, эмболизация простатических артерий, трансуретральная резекция предстательной железы

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Неймарк А.И., Неймарк Б.А., Тачалов М.А., Арзамасцев Д.Д., Торбик Д.В. Суперселективная эмболизация простатических артерий как подготовительный этап перед трансуретральной резекцией простаты в лечении больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы больших размеров. Урология. 2015;2:60–64.

Введение. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) — одно из наиболее распространенных заболеваний у мужчин пожилого и старческого возраста [1]. Несмотря на возможности современной медикаментозной терапии, до 30% мужчин за период от 40 до 80 лет переносят оперативное лечение по поводу ДГПЖ [2].

В российских урологических клиниках лечение ДГПЖ у 65–70% больных проводится хирургическим методом, при этом стандартом оперативного лечения остаются травматичная, связанная с высоким риском интра- и послеоперационных осложнений открытая аденомэктомия (27,2% операций) и трансуретральная резекция простаты (ТУРП) — 27,8%. Она наиболее эффективна и показана при объеме предстательной железы (ПЖ) от 30 до 80 см³ [3, 4].

Некоторые новые технологии позволяют выполнять операцию и при большем объеме ПЖ. Например, плазмокинетическая ТУРП, преимущество которой состоит в формировании вокруг режущей петли резектоскопа феномена плазменной короны, которая быстро и точно удаляет ткань, в то же время уплотняя подлежащую ткань с остановкой кровотечения и вапоризацией. Эффективный интра-

операционный гемостаз позволяет за одно и то же время резецировать больший объем ткани. Однако все это не избавляет пациента от анестезиологического риска [5]. Учитывая то, что ДГПЖ — заболевание того жизненного периода мужчин, в котором с каждым годом прогрессивно увеличивается отягощенность сопутствующей патологией, вопрос о методе оперативного лечения больных ДГПЖ при объеме простаты более 80 см³ остается открытым.

За последние годы отмечается повышенный интерес врачей различных специальностей к эндоваскулярной хирургии. К достоинствам эндоваскулярных вмешательств относятся минимальная инвазивность, низкий операционный риск, быстрое восстановление пациентов, отсутствие необходимости в проведении анестезиологического пособия, возможность проведения операции пожилым людям и пациентам с тяжелой соматической патологией.

Первоначально эндоваскулярная эмболизация в урологии использовалась для остановки опасных для жизни кровотечений из мочевого пузыря и ПЖ [6].

В 2010 г. португальские исследователи во главе с J. Pisco представили данные по результатам нового метода лечения ДГПЖ — эмболизации артерий про-

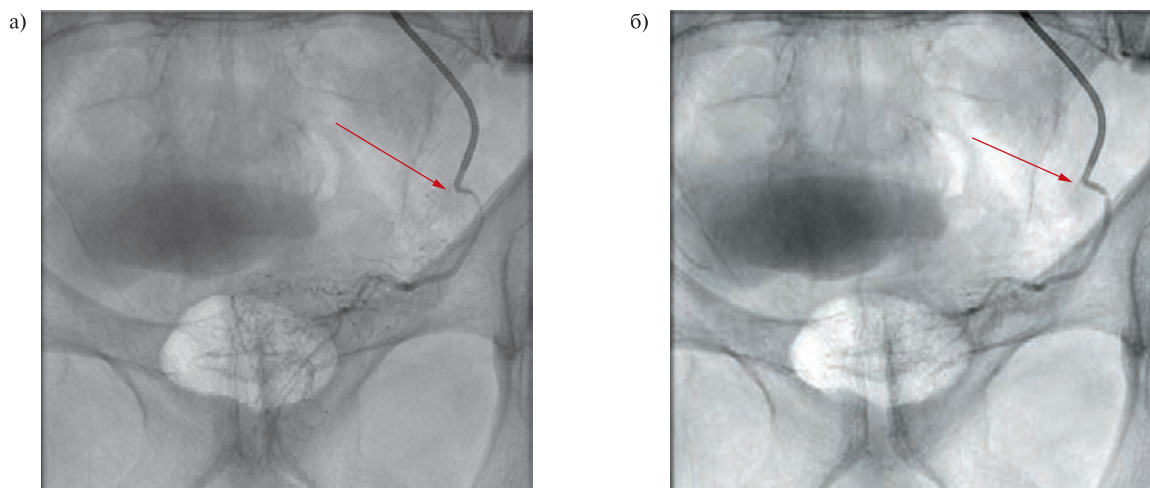


Рис. 1. Данные интраоперационной ангиографии

а — ангиографический катетер подведен суперселективно к простатическим ветвям нижней мочепузырной артерии слева, стрелкой отмечен дистальный конец катетера; б — после эмболизации артерий ПЖ: кровоток блокирован, стрелкой отмечен дистальный конец катетера.

статы. Метод оказался технически успешным для 14 (93,3%) из 15 пациентов [7]. Отечественные исследователи [8] в 2010 г. представили данные 40 больных с высоким риском оперативного вмешательства по эмболизации простатических артерий. Результатом эмболизации стало снижение выраженности клинических проявлений, уменьшение объема ПЖ на 50%, объем аденоматозного узла на 43%. О высокой эффективности эмболизации свидетельствуют работы и других авторов [9–11].

В 2014 г. опубликованы результаты сравнительных исследований, посвященных оценке эффективности эндоваскулярной эмболизации ($n=57$) и трансуретральной резекции ($n=57$) при ДГПЖ. Эффект лечения был достигнут в 100% наблюдений в группе ТУРП и в 94,7% — в группе эмболизации [12].

Целью настоящего исследования было оценить эффективность и безопасность суперселективной эмболизации простатических артерий как самостоятельного метода лечения больных ДГПЖ, а также как метода предоперационной подготовки перед ТУРП.

Материалы и методы. С 2004 по 2014 г. на базе отделения рентгеноперационных методов диагностики и лечения Краевой клинической больницы обследованы и пролечены 59 пациентов с ДГПЖ. Возраст больных составил $68,2 \pm 6,2$ года, объем ПЖ варьировался от 35 до 296 см³. Все пациенты были проинформированы о преимуществах и возможных осложнениях при проведении процедуры, об альтернативных методах лечения. Подавляющее большинство пациентов имели сопутствующие заболевания — сахарный диабет, избыточную массу тела, патологию сердечно-сосудистой системы, что в значительной степени увеличивало риск оперативного лечения общепринятыми методами.

Пациенты подвергались анкетированию по международной системе суммарной оценки симптомов при заболеваниях ПЖ (I-PSS), оценке качества жизни QoL. Объем ПЖ и узла определяли в ходе трансректального УЗИ (ТРУЗИ). Перед оперативным вмешательством у всех больных определяли уровень простатспецифического антигена (ПСА) в крови,

в сомнительных случаях выполняли пункционную биопсию ПЖ.

Для анализа качества мочеиспускания проводили урофлоуметрию.

Критерии исключения для проведения эмболизации:

- непереносимость рентгенконтрастных веществ;
- наличие острых инфекционно-воспалительных заболеваний;
- декомпенсированные заболевания внутренних органов (серечно-сосудистой системы, паренхиматозных органов);
- декомпенсированная патология эндокринной системы;
- нарушения сердечного ритма независимо от причины;
- тяжелая форма бронхиальной астмы;
- состояние после перенесенного инфаркта миокарда или острого нарушения мозгового кровообращения в срок до 6 мес;
- наличие флотирующих тромбов в бассейне вен нижних конечностей;
- анемия тяжелой и средней степени;
- окклюзионно-стеноотические поражения подвздошных сосудов;
- аномалии анатомического строения подвздошных сосудов, не позволяющие выполнять операцию.

Эмболизация простатических артерий проведена под местной анестезией трансфemorальным либо чресплечевым доступом по методике Сельдингера. Под рентгеновским контролем выполнена суперселективная катетеризация ветвей внутренней подвздошной артерии (рис. 1 а). Затем осуществлена эмболизация сосудов, питающих ПЖ, с использованием микрокатетерной техники с введением микросфер EmboGold (Merit Medical Systems Inc., США) размером 100–300 мкм или 300–500 мкм до полной блокады кровотока (рис. 1 б).

Диаметр микросфер определен диаметром артерий, питающих предстательную железу. Для катетеризации применены катетеры конфигурации Roberts5F или Cobra5F, которые выступали в роли проводнико-

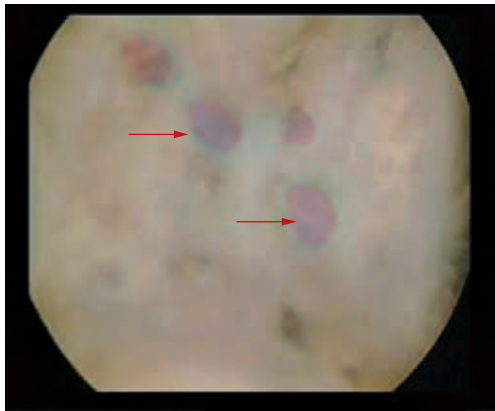


Рис. 2. Интраоперационные фото в процессе ТУРП

вого катетера. Через просвет проводникового катетера провели микрокатетер на микропроводнике. После эмболизации артерий простаты с одной стороны проводниковый катетер 5F установили в контра- либо ипсилатеральную артерию в зависимости от доступа и процедуру повторили. В ряде случаев требовалась пункция обеих бедренных артерий с проведением проводникового катетера контралатерально.

Эффективность лечения оценивали через 6, 12 и 24 мес после процедуры.

Для предупреждения и уменьшения выраженности болевого синдрома перед вмешательством и после операции в течение 7 дней больным назначали нестероидные противовоспалительные препараты в стандартных дозировках.

Данные подвергали статистической обработке посредством программы Statistica 10.0 и пакета прикладных программ, встроенного в программную среду Microsoft Excel 2010.

Результаты. При поступлении все пациенты имели симптомы нижних мочевых путей различной степени выраженности, не купируемые лекарственными препаратами. Индекс I-PSS в среднем составил 18 баллов, уровень общего ПСА — 1,52 нг/мл. При урофлоуметрии констатировали «обструктивный» тип кривой, максимальная скорость мочеиспускания ($Q_{\max}$) составила 5,9 мл/с, объем ПЖ по данным ТРУЗИ — $104,56 \pm 53,7 \text{ см}^3$, объем узла — $70,34 \pm 21,2 \text{ см}^3$.

В послеоперационном периоде у 63% больных наблюдались явления так называемого постэмболизационного синдрома, проявлявшегося умеренными болями в области промежности, режками по

ходу уретры при мочеиспускании, в небольшом проценте случаев — субфебрилитетом не более суток. Остальные (47%) больные не испытывали никакого дискомфорта в послеоперационном периоде.

У 1 больного в послеоперационном периоде развилась острая задержка мочеиспускания, что потребовало троакарной цистостомии.

К 6-му месяцу наблюдения статистически значимо снизилась оценка по шкале I-PSS, увеличилась максимальная скорость мочеиспускания (см. таблицу). Эта тенденция сохранилась и в течение последующего полугодового периода. По результатам наблюдения за пациентами в течение 24 мес после эмболизации констатирован стабильный эффект. Объем предстательной железы и узлового образования в среднем уменьшился на 53 и 47% соответственно; максимальный эффект — уменьшение объема ПЖ на 82%.

По истечении срока наблюдения выделилась группа из 17 (28,8%) пациентов. Соматический статус этих пациентов не позволял выполнять открытое оперативное вмешательство, но после эмболизации стало возможным проведение ТУРП за счет уменьшения объема железы менее 80 см^3 благодаря эмболизации простатических артерий. Помимо редукции объема ПЖ критериями включения в данную группу стали наличие нижеуказанных факторов или их сочетание: сохранение выраженных СНМП (I-PSS более 15 баллов), QoI более 3, значение $Q_{\max}$ менее 12 мл/с.

У всех больных данной группы мочеиспускание восстановлено не позднее 2 сут после вмешательства, результаты долгосрочного наблюдения — 6 и более мес достоверно не отличались от таковых после стандартной ТУРП по данным других исследований.

Приводим клиническое наблюдение.

Б о л ь н о й Ш. 74 лет поступил в отделение рентгенологических методов диагностики и лечения № 2 Алтайской краевой клинической больницы с жалобами на ноктурию, ослабление струи мочи, ощущение неполного опорожнения мочевого пузыря. Данные обследования на амбулаторном этапе: объем ПЖ 116 см^3 , размер узла $58,81 \text{ см}^3$, васкуляризация образования средняя. Множественные дивертикулы мочевого пузыря. Объем остаточной мочи 299,4 мл, уровень общего ПСА 4,4 нг/мл. Консервативная терапия в течение более 6 мес без эффекта. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь II стадии III степени, риск 4, гипертрофия левого желудочка. Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, ремиссия. От предложенной чреспузырной аденомэктомии больной отказался, в связи с чем было предложено выполнить суперселективную эмболизацию артерий ПЖ. Процедура была успеш-

Т а б л и ц а
Результаты обследования больных ДГПЖ после проведения суперселективной эмболизации простатических артерий

Показатель/Сроки	Через 6 мес	Через 12 мес
Объем остаточной мочи, мл	$62,2 \pm 11,5^1$	$28,0 \pm 5,7^2$
Симптомы по шкале IPSS	$6,2 \pm 2,1^1$	$4,0 \pm 1,7^2$
ПСА (общий), нг/мл	$1,3 \pm 0,42^1$	$1,08 \pm 0,32^2$
$Q_{\max}$, мл/с	$14,7 \pm 4,5^1$	$15,9 \pm 3,7^2$
Объем предстательной железы, см^3	$83,4 \pm 8,3^1$	$54,29 \pm 5,37^2$
Объем узла, см^3	$52,9 \pm 5,17^1$	$33,26 \pm 6,67^2$

П р и м е ч а н и е. IPSS — The International Prostate Symptom Score (Международная система суммарной оценки заболеваний предстательной железы), ПСА — простатспецифический антиген, $Q_{\max}$ — максимальная скорость мочеиспускания.

¹ — результат, достоверный по сравнению с данными до лечения ($p < 0,01$), ² — результат, достоверный по сравнению с данными через 6 мес после лечения ($p < 0,01$).

но выполнена по описанной выше методике, проявлений постэмболизационного синдрома больной не отметил. За 1-е сутки после эмболизации развилась острая задержка мочеиспускания, консервативным путем мочеиспускание восстановить не удалось, поэтому была выполнена троакарная цисто-стомия. При обследовании через 2 мес констатирована выраженная редукция объема ПЖ с 116 до 54 см³. С учетом положительной динамики цистостомический свищ был заживлен, мочеиспускание восстановлено, однако качество мочеиспускания, несмотря на значительное улучшение (значение индекса I-PSS снизилось с 25 до 12), не устраивало больного. В связи с чем больному была предложена ТУРП с учетом уменьшения размера ПЖ. Оперативное вмешательство проходило с минимальной кровоточивостью резецируемой ткани, периодически визуализировались микроэмболы, заполнявшие просвет кровеносных сосудов (рис. 2). Гистологическое заключение: доброкачественная железисто-стромальная гиперплазия простаты. Часть сосудов с эмболами, эпителий ацинусов десквамирован, некротизирован, очаговые некрозы фиброзной ткани с лимфолейкоцитарной инфильтрацией (рис. 3). Результаты контрольного обследования через 2 мес: Q_{max} 18 мл/с, индекс I-PSS 3, QoL 1. В настоящее время пациент находится под динамическим наблюдением.

Обсуждение. Эмболизация простатических артерий при ДГПЖ — относительно новый и эффективный метод лечения, расширяющий возможности оказания медицинской помощи различным группам пациентов. При этом она продемонстрировала свою эффективность и безопасность не только как метод лечения при ДГПЖ, но и как способ предоперационной подготовки пациентов с большим объемом железы, позволяющий расширить показания к выполнению эндоскопических вмешательств. Кроме того, по данным исследований зарубежных авторов, выполнение эмболизации простатических артерий не сопровождается развитием такого побочного явления, характерного для других методов хирургического лечения, как ретроградная эякуляция, что позволяет рассматривать данную методику как метод выбора в лечении молодых пациентов, желающих сохранить физиологичную репродуктивную функцию [11]. В данном направлении необходимы дополнительные исследования.

Дальнейшее изучение этого метода позволит отработать методику, точно определить показания и противопоказания к применению, широко внедрить в практическое здравоохранение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горюловский Л.М., Зингеренко М. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы. Лечащий врач. 2003;7:32–34.
2. Кузьменко В.В., Кочетов М.В., Семенов Б.В. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы: Монография. Воронеж: Новый Взгляд, 2008. 141 с.

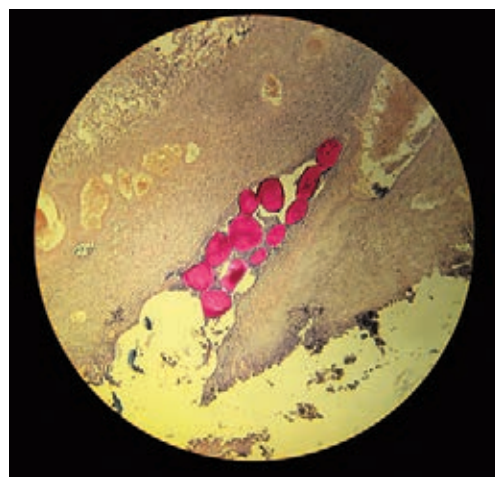


Рис. 3. Гистологическая картина удаленных участков ПЖ. Ув. 200

Видны микроэмболы в просвете сосуда.

3. Болезни предстательной железы. Под ред. Ю.Г. Аляева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 240 с.
4. Севрюков Ф.А. Использование биполярной трансуретральной энуклеации для лечения доброкачественной гиперплазии простаты больших размеров. Современные технологии в медицине. 2012;3:33–37.
5. Неймарк Б.А., Торбик Д.В. Особенности эндоскопического лечения крупных аденом простаты. Медицина и образование в Сибири. 2014;3:http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1385.
6. Jeong C.W., Park Y.H., Ku J.H., Kwak C., Kim H.H. Minimally invasive management of postoperative bleeding after radical prostatectomy: transarterial embolization. J. Endourol. 2010;24(9):1529–1533.
7. Pisco J.M., Pinheiro L.C., Bilhim T., Duarte M., Mendes J.R., Oliveira A.G. Prostatic arterial embolization to treat benign prostatic hyperplasia. J. Vasc. Interv. Radiol. 2011;22(1):11–19.
8. Яковец Е.А., Неймарк А.И., Карпенко А.А., Яковец Я.В. Эмболизация артерий предстательной железы в лечении больных аденомой предстательной железы с высоким хирургическим риском. Андрология и генитальная хирургия. 2010;1:38–43.
9. Carnevale F.C., Antunes A.A., da Motta Leal Filho J.M., de Oliveira Cerri L.M., Baroni R.H., Marcelino A.S., Freire G.C., Moreira A.M., Srougi M., Cerri G.G. Prostatic artery embolization as a primary treatment for benign prostatic hyperplasia: preliminary results in two patients. Cardiovasc. Interv. Radiol. 2010;33:355–361.
10. Carnevale F.C., da Motta Leal Filho J.M., Antunes A.A., Baroni R.H., Marcelino A.Z., Cerri L.M., Yoshinaga E.M., Cerri G.G., Srougi M. Quality of life and symptoms relief support prostatic artery embolization for patients with acute urinary retention due to benign prostatic hyperplasia. J. Vasc. Interv. Radiol. 2013;24(4):535–542.
11. Pisco J.M., Rio Tinto H., Campos Pinheiro L., Bilhim T., Duarte M., Fernandes L., Pereira J., Oliveira A.G. Embolisation of prostatic arteries as treatment of moderate to severe lower urinary symptoms (LUTS) secondary to benign hyperplasia: results of short- and mid-term follow-up. Eur. Radiol. 2013;23(9):2573–2574.
12. Gao Y.A., Huang Y., Zhang R., Yang Y.D., Zhang Q., Hou M., Wang Y. Benign prostatic hyperplasia: prostatic arterial embolization versus transurethral resection of the prostate — a prospective, randomized, and controlled clinical trial. Radiology. 2014;270(3):920–928.

Поступила 29.01.15



Омник® 100

капсул

первый оригинальный*
альфа-блокатор
в большой упаковке**



* С 01 июля 2015 года – референтный лекарственный препарат – лекарственный препарат, который впервые зарегистрирован в Российской Федерации, качество, эффективность и безопасность которого доказаны на основании результатов доклинических исследований лекарственных средств и клинических исследований лекарственных препаратов, проведенных в соответствии с требованиями части 3 статьи 18 настоящего Федерального закона, и который используется для оценки биоэквивалентности или терапевтической эквивалентности, качества, эффективности и безопасности воспроизведенного или биоаналогового (биоподобного) лекарственного препарата; (п. 11 в ред. Федерального закона от 22.12.2014 N 429-ФЗ).

** Инструкция по медицинскому применению препарата Омник (П №013915/01 от 21.05.08). С инструкцией можно ознакомиться на сайте www.grls.roszdrav.ru

Информация для специалистов здравоохранения

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56.

 **astellas**
Свет, ведущий к жизни

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

ПН013915/01 от 21.05.2008

Реклама

OMN/2016/0050/RU/OC/T/Kasht

КОМПЬЮТЕР-АССИСТИРОВАННЫЕ ОПЕРАЦИИ ПРИ ОПУХОЛИ ПОЧКИ

НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека
Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва

Автор для связи: Е. С. Сирота — к.м.н., врач-уролог клиники урологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова; e-mail: essirota@mail.ru

В статье продемонстрированы возможности современных компьютерных технологий в моделировании патологического процесса и оперативных пособий при опухоли почки, используя которые можно виртуально выполнять различные виды вмешательств и строго индивидуально определять стратегию и тактику лечения больного.

Ключевые слова: трехмерные технологии, виртуальное планирование, навигация, трехмерные напечатанные модели

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Аляев Ю.Г., Сирота Е.С., Фиев Д.Н., Проскура А.В. Компьютер-ассистированные операции при опухоли почки. Урология. 2015;2:4–8.

Введение. В 1985 г. американский изобретатель Ч. Халл запатентовал процесс «стереолитографии» и основал компанию «3D-Systems», положившую начало виртуальным технологиям. Однако развитие трехмерных технологий было бы невозможным без компьютерной томографии — метода рентгеновской визуализации органов и тканей, предложенного в 1972 г. американским физиком А. Кормиком и английским инженером-физиком Г. Хаунсфилдом. В 1979 г. ученые были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины. В последние десятилетия компьютерные технологии прочно вошли во все сферы деятельности человека, в том числе в медицину, в особенности в хирургию. Первая лапароскопическая операция с использованием метода виртуальной реальности была произведена в 1989 г. В России наибольшим опытом использования виртуальных технологий в хирургии обладает Институт хирургии им. А. В. Вишневского. В частности, в 2003 г. среди 349 пациентов с различными заболеваниями органов брюшной полости у 16 операции были выполнены по поводу опухоли почки [1]. Урологи и онкоурологи стали использовать трехмерное моделирование с целью планирования операций в последние 5–7 лет [2–6].

В настоящей работе мы хотели бы продемонстрировать актуальность трехмерного моделирования в урологической практике как в целом, так и на примере опыта клиники урологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова.

Материалы и методы. За 2014 г. в клинике урологии Первого ММУ им. И. М. Сеченова прооперированы 206 пациентов с опухолями почки, которым проводились лапароскопические ($n=133$) и открытые ($n=71$) вмешательства. У двух пациентов группы лапароскопического пособия почка была единственной. При этом у пациентов с функционально или анатомически единственной почкой, а также тех больных, у которых однозначно определить локализацию опухолевого узла не представлялось возможным, было выполнено трехмерное компьютерное моделирование ($n=118$).

Интегральное объемное изображение получали путем совмещения четырех основных фаз контрастного усиления мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ): артериальной, паренхиматозной, венозной и экскреторной (рис. 1).

Полученное интегральное изображение тщательно анализируют и на основании полученных данных делают вывод о возможности оперативного вмешательства как такового, оценивают вероятность проведения органосохраняющего пособия и выбирают оптимальный доступ и тип операции.

Рассмотрим анализ трехмерных моделей патологического процесса более детально. Благодаря специальному программному обеспечению существует возможность загружать данные в формате Dicom/Dacs, в результате чего получаются 3D-изображения виртуальной реальности. После построения объемной модели рентгенолог, хирург и программист отбирают необходимые изображения, располагают их в соответствующем порядке и положении, производят вычитание и соединение отдельных фрагментов. Самым простым вариантом виртуальной хирургии является околоопухолевая резекция или энуклеация, которые можно выполнить благодаря возможности подробнейшего изучения трехмерной модели в различных проекциях, в статичном и динамичном режимах. Все это позволяет оценить индивидуальные особенности как внеорганные, так и интраорганные почечного кровоснабжения с учетом взаимоотношений с элементами чашечно-лоханочной системы. Для получения возможно полной информации трехмерную анатомическую реконструкцию необходимо изучать в различных режимах: прозрачности (интраорганные структуры в «стеклянном стакане» — паренхима виртуально удалена), полупрозрачности (интраорганные структуры определяются по передней и задней поверхностям почки (рис. 2)), выполняя тот или иной вид виртуальной операции.

Полученная из разных ракурсов максимально подробная визуальная картина является основой для следующего процесса — непосредственного выполнения виртуальной операции, которая может

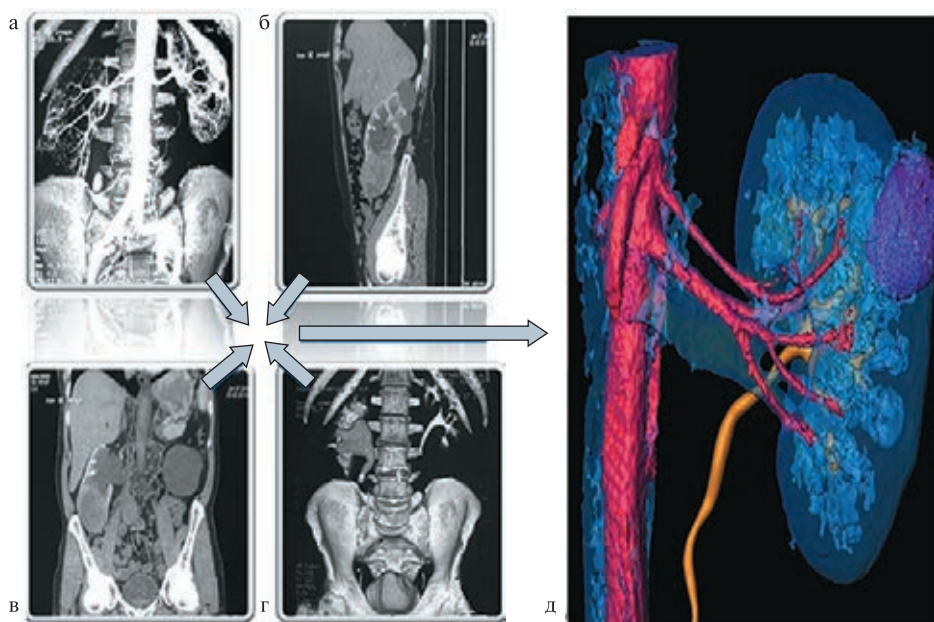


Рис. 1. Получение интегрального изображения (д) путем слияния артериальной (а), паренхиматозной (б), венозной (в) и экскреторной (г) фаз МСКТ

быть многократно исполнена с тем, чтобы оценить результат каждого из вариантов и определить наиболее подходящий. Например, «сечение» паренхимы путем общепринятой плоскостной резекции почки у конкретного пациента может быть сопряжено с высоким риском повреждения чашечки, а «клиновидная» резекция паренхимы к подобному осложнению не приведет, поэтому выбор должен быть сделан в пользу последнего варианта.

Изучение раневой поверхности после того или иного вида резекции позволяет спланировать наиболее рациональный из них. Возможность виртуального сечения в любой плоскости представляет широчайшие возможности для планирования оптимальной, но уже реальной операции.

Результаты. Лапароскопическая нефрэктомия при раке почки была проведена у 60 больных, резекция — у 73 (в том числе у 8 ретроперитонеоскопически). Открытые нефрэктомии по поводу рака почки выполнены 60 пациентам, открытые резекции — 11 больным. Средний возраст пациентов, которым выполнялось лапароскопическое органосохраняющее пособие, составил 55,7 года, органоуносящее — 59,8 года, открытые нефрэктомии и резекции — 72 года и 65 лет соответственно.

В группе больных, которым было выполнено лапароскопическое пособие, у 73 пациентов проведена органосохраняющая операция, из них у 59 (80,8%) заболевание соответствовало стадии pT1a, у 7 (9,6%) — pT1b и у 7 (9,6%) — pT3a. У 60 больных ввиду небла-

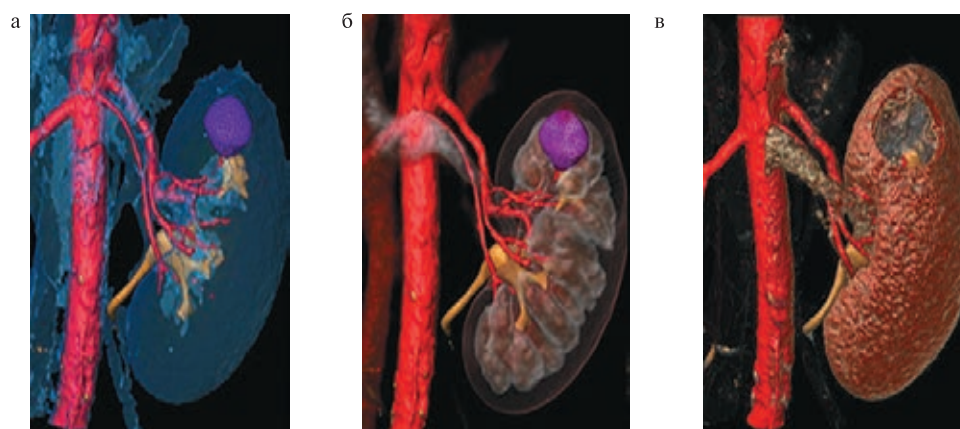


Рис. 2. Некоторые возможности визуализации при выполнении трехмерной реконструкции

а — режим «прозрачности паренхимы»; б — режим «послойной тканевой прозрачности»; в — опухоль почки виртуально удалена.

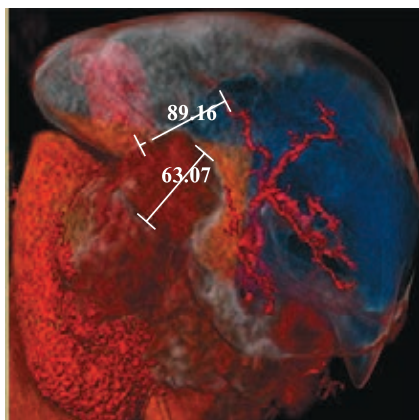


Рис. 3. Данные компьютерного моделирования больного К. 59 лет (вид спереди); режим «последней тканевой прозрачности» паренхимы печени

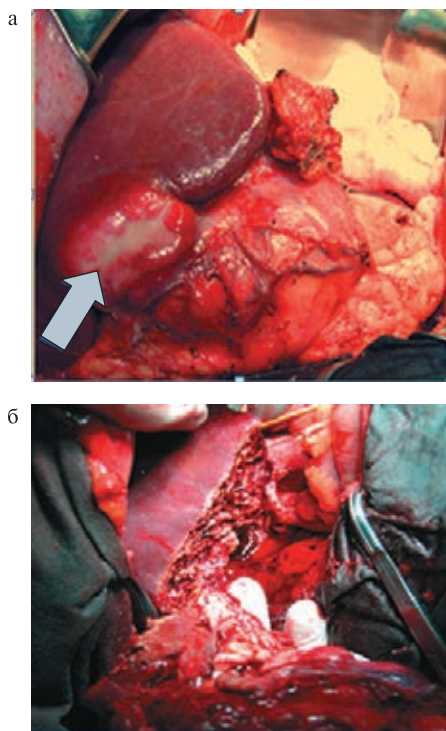


Рис. 4. Тот же больной. Интраоперационная картина

а — опухолевый конгломерат, включающий в себя правую почку с опухолью, паренхиму печени и передний листок брюшины; б — этап атипичной резекции печени.

гоприятного анатомического расположения опухолевого узла или тяжелой сопутствующей патологии выполнена лапароскопическая нефрэктомия, из них у 7 (11,66%) диагностирована стадия pT1a, у 19 (31,66%) — pT1b, у 10 (16,66%) — pT2a, у 3 (5%) — pT2b, у 21 (35%) — pT3a.

В группе открытых оперативных пособий нефрэктомия проведена у 1 (1,6%) больного с опухолью стадии pT1a, у 4 (6,7%) — pT1b, у 41 (68,3%) — pT3a, у 7 (11,7%) — pT3b и у 7 (11,7%) — pT4. Резекция почки

выполнена 7 (63,6%) пациентам со стадией pT1b и 4 (36,4%) — pT3a.

Средняя продолжительность лапароскопической резекции почки составила 140 мин, открытой резекции — 180 мин. Аналогичный показатель при органосоносящих пособиях был равен 159 и 183 мин соответственно.

Время тепловой ишемии почки при лапароскопической резекции составило в среднем 15 мин, при открытой — 14 мин.

Как уже было сказано выше, для получения максимально достоверной информации о локализации опухолевого узла, особенностях его кровоснабжения и вариантах клинической анатомии элементов почечной ножки использовали МСКТ с трехмерной реконструкцией изображений. Подробный анализ трехмерных реконструкций позволял не только выбрать оптимальный вид операции для данного пациента, но и в целом решить вопрос об операбельности или иноперабельности при местно-распространенном процессе, а также резектабельности при локальном процессе.

Трудно переоценить возможности трехмерного моделирования в решении вопросов, касающихся технического исполнения расширенной операции при опухоли почки с резекцией соседнего органа. Для иллюстрации данного утверждения приводим клиническое наблюдение.

Б о л ь н о й К. 59 лет поступил в клинику урологии с опухолью правой почки стадии T4N0M0 (инвазия в печень), а также кистой той же почки. Очевидно, что у данного пациента вопрос об органосоносящем оперативном пособии был решен однозначно, а вот об объеме операции на печени оставался открытым. На основании данных различных методов визуализации сказать однозначно, имела ли место инвазия опухоли в VI–VIII сегменты печени, какова глубина инвазии и, соответственно, каков объем предстоящего оперативного пособия, было невозможно. Однако детальный анализ трехмерных реконструкций патологического процесса позволил дать ответы на все указанные вопросы. У данного пациента опухоль почки проникала в вещество печени на 3,7 см в области только VII сегмента органа. Кроме того, на объемной модели удалось предельно точно рассчитать расстояние от края опухолевого узла до крупной артериальной ветви печени (рис. 3). Таким образом, именно виртуальная технология указала на возможность выполнения наряду с нефрэктомией реальной резекции печени у больного, ранее признанного в другом лечебном учреждении иноперабельным (рис. 4).

В некоторых ситуациях изучение трехмерных моделей позволило избежать оперативного пособия, которое могло неблагоприятно закончиться для больного.

Убедительным примером может послужить история болезни п а ц и е н т к и В. 64 лет с четвертой стадией опухоли правой почки, инвазией в печень. При анализе трехмерной реконструкции патологического процесса у данной пациентки было установлено, что опухолевый узел расположен в непосредственной близости от крупных вен печени, а потому выполнение резекции органа невозможно, поскольку сопряжено с риском повреждения крупных сосудов (рис. 5).

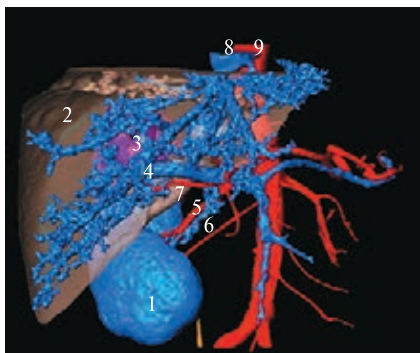


Рис. 5. Результаты компьютерного моделирования больной В. 64 лет: прорастание опухоли правой почки в паренхиму печени (вид спереди)

1 — почка; 2 — печень; 3 — опухоль почки; 4 — вены печени; 5 — почечная артерия; 6 — почечная вена; 7 — правая печеночная артерия; 8 — нижняя полая вена; 9 — аорта.

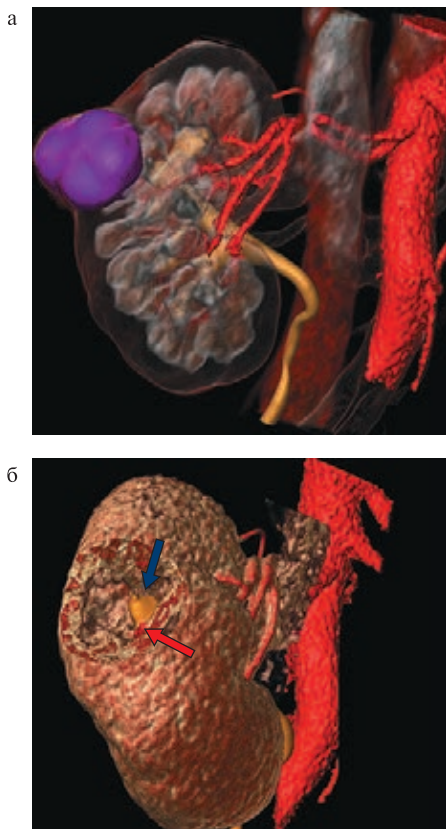


Рис. 6. Результаты компьютерного моделирования у больной П. 61 года, диагноз: опухоль левой почки T1aN0M0

а — режим послойной тканевой прозрачности (опухоль правой почки — вид спереди); б — правая почка: опухоль виртуально удалена, что дает исчерпывающую информацию об анатомических структурах, располагающихся в ложе удаленной опухоли. Синяя стрелка — верхняя чашечка; красная стрелка — артериальная ветвь.

С целью попытки продления жизни больной было решено на первом этапе лечения прибегнуть к пункционной биопсии опухоли почки с последующим выполнением эмболизации почечных сосудов справа. Далее провести курс таргетной химиотерапии, после чего вновь рассмотреть вопрос о возможности выполнения органосохраняющего оперативного пособия.

Широкое внедрение органосохраняющих операций при локализованной опухоли почки заставляет проводить анализ так называемой резектабельности опухоли. Тенденция сохранить почку, удалив новообразование методом резекции органа или энуклеации опухоли с использованием всех технически осуществимых пособий, в том числе у пациентов со здоровой противоположной почкой, заставляет на основании предоперационной информации отвечать на вопрос: выполнима ли реально органосохраняющая операция? Логично, если этот ответ будет базироваться на данных виртуально выполненной операции с подробным анализом возможных вариантов, то есть не на субъективной оценке, а на объективных данных. Виртуальная операция становится жизненно необходимой при опухоли единственной почки. Всесторонний анализ топографо-анатомических нюансов, планирование безишемической резекции почки, обеспечение гемостаза из раны почки, сохранение или восстановление целостности внутривнепочечных мочевых путей, ревизия глубинной раны почки после удаления опухоли — эти и другие вопросы требуют максимально достоверной информации на дооперационном этапе. Именно виртуальное планирование и выполнение оперативного пособия позволяют снять данные вопросы еще на дооперационном этапе. Такой всесторонний анализ виртуальной операции позволит осуществлять реальную операцию у каждого конкретного пациента, ориентируясь на изображение на экране персонального компьютера непосредственно в операционной. Перечисленные моменты в подходе к планированию операции у больной раком правой почки представлены на рис. 6, 7.

Заключение. В настоящей работе мы попытались продемонстрировать, насколько необходима и жизненно важна для пациента трехмерная реформация анатомических структур и «виртуальная репетиция» показанного реального оперативного пособия. В ситуации, когда хирург неоднократно выполнит операцию в различных вариантах и выяснит, что оперативное вмешательство сопряжено с риском для жизни пациента, никто не осудит его, если он все-



Рис. 7. Та же больная. Этап резекции почки и удаления опухоли

таки откажется от операции, ссылаясь на ее сложность и рискованность. В то же время, признавая больного иноперабельным, хирург возлагает на себя огромную ответственность, т.к. наиболее эффективным методом лечения больных раком почки остается оперативный, а отказ от операции практически лишает пациента надежд на выздоровление или хотя бы на продление жизни. Если же все-таки хирург принимает решение об операции, несмотря на ее высокий риск, ему необходимы доводы в пользу такого решения. И более весомого довода, чем виртуальное осуществление операции в разных вариантах, вряд ли можно привести. В последнее время появились сообщения о 3D-принтинге макета почки с опухолью у конкретного больного. Напечатанная на основании виртуальной трехмерной модели почка потеряла свою абстрактность (по выражению одного из соавторов, «она была вырвана из виртуальных лап»), имела материальную структуру (специальный прозрачный материал), поддавалась воздействию хирургических инструментов. Наблюдение было представлено на конгрессе EAU в Стокгольме в 2014 г. Несмотря на то что напечатанная 3D-принтинговая копия почки не является функциональной, возможность получить манипуляционные ощущения и выполнить рациональное «виртуально-мануально-реальное» пособие при опухоли почки открывает новые перспективы в решении проблемы инжиниринга органов и заставляет задуматься о смысле фразы известного философа Р. Юнга «Если Вам не лень, то будущее уже наступило».

Глубокий смысл фразы может восприниматься по-разному, неоднозначно, призывает достойно оценить достигнутое, творчески подойти к выполнению намеченного, а применительно к тематике операции на почке — заставляет хирурга, it-технолога и рентгенолога совместно создавать трехмерное изображение почки и патологического процесса, творчески спланировать и осуществить виртуальную операцию и оценить результаты своего «творчества».

ЛИТЕРАТУРА

1. Coll D.M., Herts B.R., Davros W.J., Uzzo R.G., Novick A.C. Preoperative use of 3D volume rendering to demonstrate renal tumors and renal anatomy. *Radiographics*. 2000;20:431–438.
2. Виртуальное хирургическое моделирование на основе данных компьютерной томографии. Под ред. Федорова В.Д. М., 2003. 184 с.
3. Lasser M.S., Doscher M., Keehn A., Chernyak V., Garfein E., Ghavamian R. Virtual surgical planning: a novel aid to robot-assisted laparoscopic partial nephrectomy. *J. Endourol*. 2012; 26(10):1372–1379.
4. 3D-технологии при операциях на почке: от хирургии виртуальной к хирургии реальной. Под ред. Глыбочко П.В., Аляева Ю.Г. М.: ГЭОТАР- Медиа, 2014.
5. Komai Y., Sakai Y., Gotohda N., Kobayashi T., Kawakami S., Saito N. A novel 3-dimensional image analysis system for case-specific kidney anatomy and surgical simulation to facilitate clampless partial nephrectomy. *Urology*. 2014;83(2):500–506.
6. Аляев Ю.Г., Терновой С.К., Ахвледиани Н.Д., Фиев Д.Н. Инновационная диагностика урологических заболеваний. ВРАЧ. 2010;6:2.

Поступила 12.02.15

ОПЕРАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ СТРИКТУР И ОБЛИТЕРАЦИЙ УРЕТРЫ

Кафедра урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом
детской урологии-андрологии ФПК и ППС (зав. — проф. М. И. Коган)
Ростовского государственного медицинского университета

Автор для связи: В. П. Глухов — к.м.н., ассистент кафедры урологии и репродуктивного здоровья человека
с курсом детской урологии-андрологии; e-mail: glukhovladimir@rambler.ru

В статье представлен клинико-статистический анализ лечения 113 пациентов со стриктурами уретры (СУ) в урологической клинике Ростовского государственного медицинского университета в 2013 г. У 58% больных имел место рецидивирующий характер течения болезни. Радикальные подходы к излечивающей хирургии оказалось возможным применить в отношении 93 (82,3%) пациентов. В других же наблюдениях была показана безоперационная тактика (13,3%) либо операция по поводу СУ являлась противопоказанной по соматическим причинам (4,4%). Резекцию с концевым анастомозом уретры, которая является наиболее эффективным подходом к лечению больных СУ, удалось осуществить лишь половине (51,8%) пациентов. Остальным больным была выполнена заместительная уретропластика, произведенная в один, два или несколько этапов. К концу 2013 г. в клинике было завершено лечение 84 (90,3%) пациентов при выполнении 110 операций, продолжение оперативного лечения в 2014 г. намечено 9 (9,7%) пациентам.

К л ю ч е в ы е с л о в а: стриктура уретры, радикальная хирургия, резекция уретры, одно-, двух- и многоэтапная уретропластика

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Коган М.И., Красулин В.В., Митусов В.В., Шангичев А.В., Глухов В.П., Наранов С.В. Оперативное лечение стриктур и облитераций уретры. Урология. 2015;2:17–23.

Введение. Второй по частоте причиной развития обструктивного мочеиспускания у мужчин после доброкачественной гиперплазии предстательной железы являются приобретенные сужения (стриктуры) и облитерации мочеиспускательного канала (СУ) [1–3]. При этом статистически к ним не относятся меатостеноз и первичный стеноз шейки мочевого пузыря, возникновение которых, как правило, связано со склеротическим баланитом и склерозом предстательной железы соответственно.

В основе возникновения стриктур и облитераций мочеиспускательного канала в настоящее время различают несколько наиболее часто встречающихся причин:

- травмы костного тазового кольца со смещением отломков, приводящие к дистракционным повреждениям уретры на уровне тазовой диафрагмы;
- прямые открытые и закрытые травмы промежности;
- ятрогенные повреждения мочеиспускательного канала при трансуретральных эндоскопических вмешательствах на простате, мочевом пузыре и верхних мочевыводящих путях;
- недостаточная эффективность антибактериального лечения острых уретритов (гонорейных, хламидийных и др.);
- длительная уретральная катетеризация больных в палатах реанимации и интенсивной терапии (так называемые катетерные стриктуры);
- использование при коротких стриктурах уретры паллиативных методик лечения, главным образом внутренней оптической уретротомии (ВОУТ) [1, 3–7].

Общепризнанным и доказанным фактом является то, что при возникновении рецидива СУ, а также

вследствие повторных хирургических вмешательств в виде резекции протяженность дефекта мочеиспускательного канала увеличивается на 2–3 см и более [1, 8–10]. Главной причиной такого «роста дефицита» уретральной ткани служит особенность анатомической структуры спонгиозного тела, которая в свою очередь является не чем иным, как обширным и протяженным венозным сплетением, где возникает типичное флебитическое воспаление с исходом в спонгиофиброз [1]. Именно эти два обстоятельства — хроническое вялотекущее воспаление и дефицит естественной уретральной ткани — определяют сложность повторной хирургии, увеличивают раз от раза риск неудовлетворительного результата и нередко побуждают хирурга выбирать многоэтапную тактику выполнения оперативного лечения [1, 11–13].

Целью данного исследования стал клинико-статистический анализ «годового среза» хирургии стриктур и облитераций уретры различного генеза в урологическом центре, имеющем опыт лечения более 5500 больных СУ на протяжении 60 лет.

Материалы и методы. В 2013 г. для лечения стриктур и облитераций уретры были госпитализированы 113 мужчин в возрасте 18–80 лет. В табл. 1 и 2 представлены показатели возраста пациентов и длительности болезни в зависимости от этиологического фактора ее возникновения. Только 23 пациента были жителями г. Ростова-на-Дону и Ростовской области, 78 больных — россияне из других регионов страны и 12 пациентов — граждане стран СНГ.

Согласно существующим клиническим рекомендациям по диагностике данного заболевания, всем больным были выполнены ретроградная и микционная уретроцистографии. Урофлоуметрия

Средний возраст, лет

Т а б л и ц а 1

Травматические стриктуры	Ятрогенные стриктуры	Воспалительные стриктуры	Идиопатические стриктуры
39,96±15,23 (18–76)	59,05±15,04 (29–80)	50,73±12,47 (40–75)	41,1±15,39 (19–60)

Средняя продолжительность заболевания, лет

Т а б л и ц а 2

Травматические стриктуры	Ятрогенные стриктуры	Воспалительные стриктуры	Идиопатические стриктуры
10,57±13,6 (0,5–52)	6,05±7,92 (0,5–30)	8,28±8,1 (0,5–24)	4,98±3,5 (0,6–25)

была возможна для пациентов с сохраненным естественным мочеиспусканием. Для определения степени выраженности и распространенности спонгиоза при рецидивных спонгиозных поражениях выполняли МРТ уретры и кавернозных тел полового члена по оригинальной методике [14].

Хирургическое лечение не было выполнено 20 (17,7%) больным по следующим причинам:

- у 5 пациентов — противопоказания к соматической патологии;
- у 15 пациентов — после обследования были выявлены СУ, не требующие хирургической коррекции, в связи с чем им было рекомендовано программное бужирование (самобуживание) с диспансерным наблюдением.

Из 113 больных прооперированы 93 (82,3%). В 46,2% (43 пациента) наблюдений на момент выполнения реконструктивной операции на уретре деривация мочи осуществлялась по цистостомическому дренажу. Оперативное лечение СУ у 18 (19,4%) пациентов было выполнено без цистотомии; а 9 пациентам из 43 с цистостомой потребовалась рецистотомия.

В табл. 3 представлены общие сведения о больных с СУ, находившихся на лечении в 2013 г.

Результаты и обсуждение. Главными факторами, которые определяли выбор той или иной операции для лечения СУ, являлись:

- причина возникновения СУ;
- локализация СУ и ее протяженность;
- первичность хирургии СУ или хирургия рецидивного состояния.

Анализ пациентов со стриктурами уретры в 2013 г. (n=113)

Т а б л и ц а 3

Причина возникновения	Количество пациентов	Не оперировано	Хирургическое лечение	Число пациентов и протяженность СУ	
				первичные СУ	рецидивные СУ
Травматическая	n=53	n=4	n=49	n=21	n=28
	46,9%	7,6%	92,4%	(1,0–4,0 см)	(2,0–15 см; с/т)+
Дистракционный разрыв	40	1	39	1–4 см	2,0–15 см; с/т
Прямое травматическое воздействие	11	3	8	2–3 см	5–8 см
Огнестрельная травма	2	—	—	8; 9 см	—
Ятрогенная	20	8	12	n=5	n=7
	17,7%	40%	60%	(2,0 см – м/ф)*	(2,0 см – м/ф)
Аденомэктомия	2	—	2	3; 4 см	—
ТУРП	5	1	4	—	3; 3; 3; 4 см
Уретроцистоскопия	1	—	1	2 см	—
Неоднократные бужирования	6	4	2	м/ф (?)	6 см
Травма уретры при катетеризации	3	2	1	—	2 см
Ожог уретры	3	1	2	м/ф	м/ф
Воспалительная	26 23%	7	19	n=7	n=12
		27%	73%	(3,0–10,0 см; с/т)	(4,0–9,0 см)
Ксеротический баланит	3	1	2	10 см	8 см
Гнойный уретрит, гонорея	19	5	14	5,5; 7; 7,5 см; с/т	4, 5, 5, 5, 5, 6, 6, 8, 8, 9 см
Длительная катетеризация мочевого пузыря при неврологической соматической патологии	4	1	3	3; 4 см	8 см
Неизвестна (идиопатические СУ)	14	1	13	n=6	n=7
	12,4%	7,2%	92,8%	(2,5–5,5 см)	(0,5–8,0 см)
В С Е Г О	113	20–17,7%	93–82,3%	39–42%	54–58%

Примечание. м/ф* — многофокусные СУ; с/т+ — субтотальные СУ.

Т а б л и ц а 4

Типы оперативных вмешательств

Резекция уретры с анастомозом «конец в конец»	57	51,8%
Заместительная уретропластика:		45,5%
одноэтапная	20 (40%)	
многоэтапная	30 (60%)	
ВОУТ	2	1,8%
Удаление камней уретры	1	0,9%
В С Е Г О	110	100%

Т а б л и ц а 5

Одноэтапное хирургическое лечение

Характер операции	Число	Процент*
Резекция уретры с концевым анастомозом, в том числе:	57	51,8
формирование уретроцистоанастомоза	2	
ушивание уретроректального свища	2	
Уретропластика с дорзальным позиционированием буккального трансплантата (техника Asopa)	14	12,7
Кожная уретропластика (техника Orandi)	3	2,7
Гландулярная уретропластика (техника Asopa, Jordan)	3	2,7
В С Е Г О	77	69,9

* — значения показаны от общего числа операций (110=100%).

93 больным было выполнено 110 операций (табл. 4), т.е. 1,18 операции на одного пациента.

Тактика оперативного лечения представлена следующим образом:

- одноэтапная хирургия — 70,9%;
- двухэтапная хирургия — 23,6%;
- многоэтапная хирургия — 3,6%;
- внутренняя оптическая уретротомия (ВОУТ) — 1,8%.

Варианты одноэтапного хирургического лечения СУ представлены в табл. 5.

Спектр операций, позволивших осуществить излечение больных одномоментным вмешательством, преимущественно был представлен резекцией уретры с концевым анастомозом и только треть из них составили заместительные уретропластики. Сложность выполнения резекций уретры определялась тем, что у 28 (49%) пациентов имели место

рецидивные СУ, в 2 наблюдениях одномоментно с восстановлением целостности мочеиспускательного канала при резекции производилось ушивание прямой кишки, а 2 больным анастомоз бульбарного отдела уретры производили с шейкой мочевого пузыря (уретроцистоанастомоз). В особо сложных случаях для наложения швов на проксимальный конец уретры и шейку мочевого пузыря использовали авторские инструменты: «игла-полуавтомат» и «буж-игла» [15]. На рис. 1–4 представлены ретроградные уретрограммы и микционные цистоуретрограммы больных, которым была произведена одномоментная хирургия СУ.

Двухэтапный подход к лечению больных (табл. 6) осуществлен двумя способами. Первый вариант оперативного лечения предполагал использование при уретропластике буккального трансплантата, а при вто-

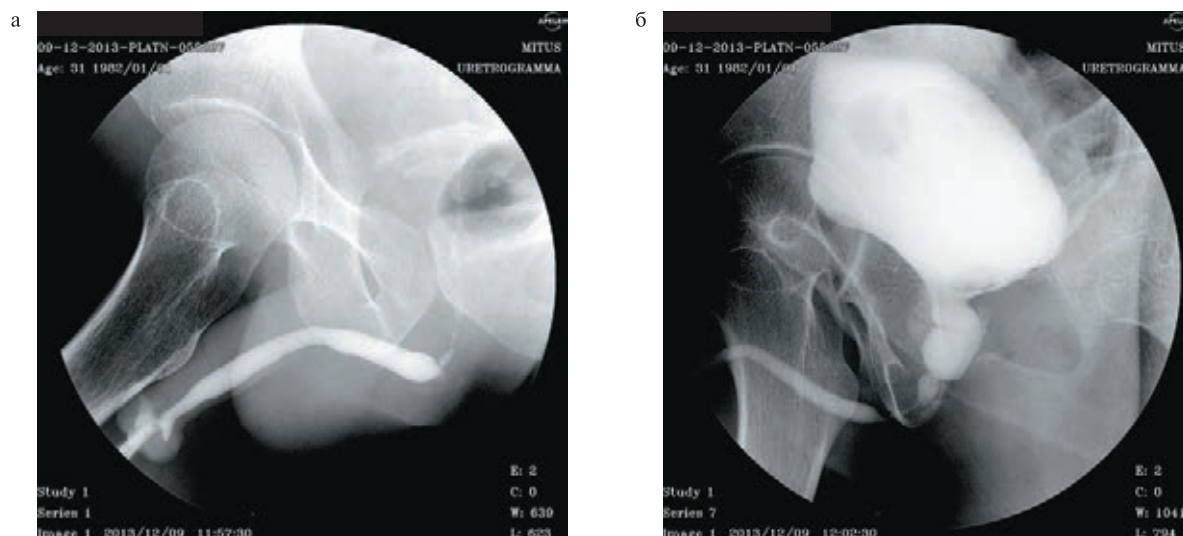


Рис. 1. а — ретроградная уретрограмма при рецидивной травматической стриктуре бульбозно-перепончатого отдела уретры; б — микционная цистоуретрограмма того же пациента. Тип операции — резекция уретры с концевым анастомозом

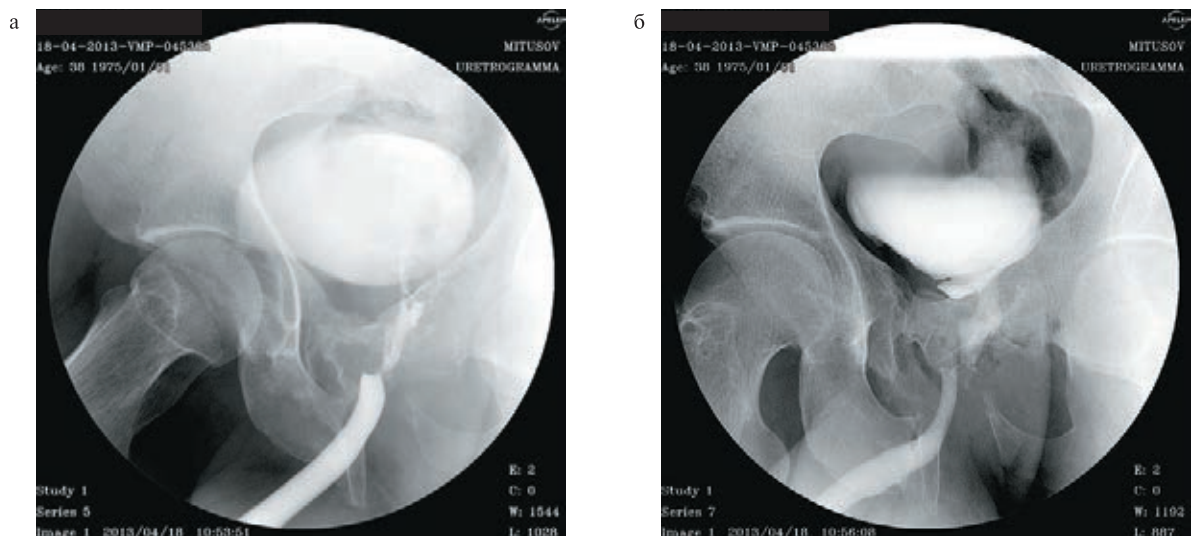


Рис. 2. а – ретроградная уретрограмма при ятрогенной стриктуре (ТУРП) простатического отдела уретры; б – микционная цистоуретрограмма того же пациента. Тип операции – резекция уретры с формированием уретроцистоанастомоза

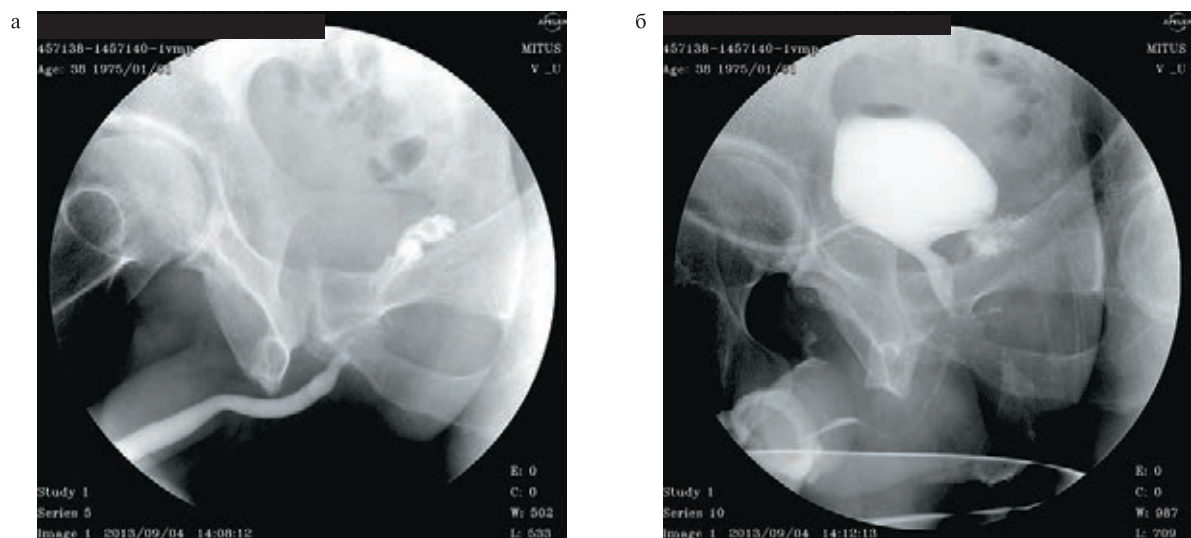


Рис. 3. а – ретроградная уретрограмма при рецидивной травматической стриктуре перепончатого отдела уретры; уретроректальный свищ; б – микционная цистоуретрограмма того же пациента. Тип операции – резекция уретры с концевым анастомозом и ушивание прямой кишки

Двухэтапное хирургическое лечение СУ

Т а б л и ц а 6

	Характер операции	Число	Процент*
1-й вариант	I этап – Формирование уретральной площадки с использованием буккального трансплантата:	6	
	без удаления уретральной пластинки	3	5,4
	с фрагментарной резекцией уретральной пластинки	2	
	с тотальным удалением уретральной пластинки	1	
	II этап – Формирование неоуретры (техника Duplay)	3	2,7
2-й вариант	I этап – Марсупиализация уретры по Йогансену с формированием 2 неомеатусов	12	10,9
	II этап – Заместительная уретропластика бульбозного отдела (техника Browne)	5	4,5
	В С Е Г О	26	23,6

* – значения показаны от общего числа операций (110=100%).

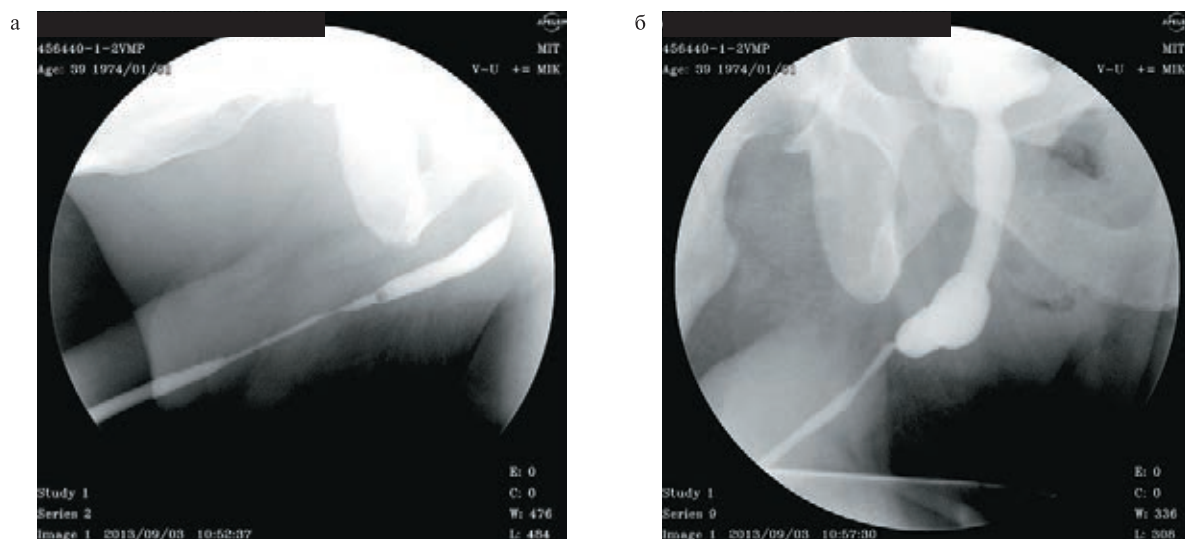


Рис. 4. а — ретроградная уретрограмма при протяженной стриктуре пенильно-бульбозного отдела уретры; б — микционная цистоуретрограмма того же пациента. Тип операции — уретропластика с дорзальным позиционированием буккального трансплантата (L=10 см) по Asara

ром варианте для формирования неоуретры использована собственная уретральная пла-стинка, которую на I этапе марсупиализировали по Йогансену.

Главными причинами выбора двухэтапной тактики лечения стриктурной болезни стали не столько большая протяженность поражения уретры, сколько наличие активной фазы воспаления как в самой стенке уретры, так и в парауретральных тканях. При наличии данных факторов было крайне рискованно выполнять одномоментную уретропластику. Это обстоятельство оказалось определяющим для выполнения на I этапе лечения в 12 наблюдениях марсупиализации уретры по Йогансену с формированием 2 неомеатусов, что позволило избавить больных от деривации мочи через цистостому и восстановить мочеиспускание естественным путем через сформированный проксимальный неомеатус в промежности или пеноскротальном углу.

Завершенный спонгиоз с полной облитерацией уретры, требовавший выполнения ее фрагментарной резекции (2 наблюдения) или тотального удаления уретральной пластинки на большом протяжении (1 наблюдение), также послужили основанием к проведению двухэтапного лечения.

Клинический пример

П а ц и е н т С. 42 лет. Госпитализирован 11.02.2013 с жалобами на отсутствие мочеиспускания естественным путем, наличие надлобкового мочепузырного свища.

Болен 4 года, когда после острого уретрита появилась тенденция к ухудшению мочеиспускания. При обследовании была выявлена стриктура уретры, в связи с чем проводили бужирование и однократно выполняли оптическую уретротомию. С сентября по ноябрь 2012 г. прогрессирование болезни усилилось, и в декабре возникла острая задержка мочи, которая ввиду невозможности проведения катетера по уретре была разрешена путем выполнения троакарной цистостомии.

Объективно: буж № 16 на расстоянии 1,5 см от меатуса встречает непреодолимое препятствие.

На ретроградной уретрограмме — протяженная стриктура glandулярного и пенильного отделов уретры (рис.5).

14.02.2013 выполнена операция: резекция 5 см пенильного отдела уретры. Замещение пенильного и glandулярного отделов уретры буккальным трансплантатом длиной 11 см. Формирование неомеатуса в пеноскротальном углу.

Характер вмешательства был окончательно определен интраоперационно, когда было выявлено наличие фрагмента уретры (5 см) с тотальным спонгиозом и отсутствием уретелиальной пластинки, что исключало выполнение одномоментной уретропластики. Внешний вид полового члена после I этапа уретропластики представлен на рис. 6 а.

Послеоперационный период протекал без осложнений. На 7-е сутки больной выписан на амбулаторное лечение без цистостомического дренажа, но с дери-



Рис. 5. Ретроградная уретрограмма при протяженной стриктуре glandулярного и пенильного отделов уретры



Рис. 6. Вид полового члена (а) сразу после операции, (б) через 6 мес после операции и (в) после 2-го этапа уретропластики



Рис. 7. Ретроградная уретрограмма через 3,5 мес после уретропластики

вацией мочи посредством уретрального катетера и следующими рекомендациями:

- удаление уретрального катетера через 14–18 дней после операции;
- выполнение следующего этапа уретропластики через 5–6 месяцев.

5.09.2013 пациент госпитализирован для уретропластики. Больной мочится самостоятельно, свободно через неомеатус, расположенный в пенокротальном углу. Внешний вид трансплантата, служащего дорзальной стенкой будущей неоуретры, удовлетворительный (рис. 6 б).

9.09.2013 выполнена операция: модифицированная уретропластика по Дюплею с использованием кожи

полового члена и буккального трансплантата, конечный результат которой представлен на рис. 6 в.

Послеоперационный период без осложнений. Уретральный катетер удален на 14-е сутки. Пациент выписан из отделения с восстановленным мочеиспусканием на 15-е сутки после операции.

Контрольное обследование 25.12.2013 — жалоб нет. Пациент мочится свободно, хорошей струей. Эректильных расстройств нет. По данным урофлоуметрии максимальная скорость мочеиспускания — 22 мл/с. Уретрограмма представлена на рис. 7.

Многоступенчатое хирургическое лечение с целью восстановления мочеиспускательного канала при его стриктурном поражении всегда не стандартное, сложное и требует действительно индивидуального подхода: как по последовательности оперативных шагов, так и по четкому пониманию задач, которые требуется решить на каждом из этапов хирургии. В табл. 7 приведены данные о числе наблюдений СУ, где изначально лечение пациентов предполагало тактику многоступенчатого хирургического лечения.

Следует особо подчеркнуть, что интервалы между этапами хирургического лечения при двух- или многоступенчатом подходе должны быть не менее 4–6 месяцев.

Редкие эндоскопические вмешательства в клинике (2 операции в год) объясняются тем, что мы на протяжении многих лет придерживаемся вполне определенных принципов использования данного метода лечения СУ, которые разделяются многими исследованиями в последние годы [16–19].

К ним относятся:

- ВОУТ как попытка излечения СУ может быть использована в отношении больного только 1 раз и при протяженности поражения не более 0,5 см;

Многоступенчатое хирургическое лечение СУ

Т а б л и ц а 7

Характер операции	Число	Процент, %*
Многоступенчатая уретропластика	2	1,8
I этап — формирование трубчатой неоуретры из кожного лоскута и буккального трансплантата		
II этап — заместительная уретропластика зоны бульбозного отдела мочеиспускательного канала ранее сформированной неоуретрой	2	1,8
В С Е Г О	4	3,6

* — значения показаны от общей величины: 110 операций — 100%.

- эффективным следует считать тот результат, при котором отсутствует необходимость бужирования уретры в течение года после выполнения БОУТ;
- при нарастании признаков инфравезикальной обструкции после выполнения БОУТ в течение года пациенту показана открытая операция на уретре в виде резекции или уретропластики.

К концу 2013 г. в клинике было завершено лечение 84 (90,3%) пациентов при выполнении 101 операции, продолжение хирургического лечения в 2014 г. наметено 9 (9,7%) пациентам.

Как и при всякой хирургической деятельности, мы наблюдали ближайшие осложнения, связанные с особенностями конкретных наблюдений СУ:

- при резекции уретры и концевых анастомозов — осложнений не было; имел место 1 ранний (через 4 мес) рецидив стриктуры уретры;
- при одноэтапной уретропластике:
 - поверхностная флегмона раны — 1 наблюдение;
 - уретрокожный свищ на промежности — 1 наблюдение;
- при многоэтапных уретропластиках:
 - поверхностная флегмона раны — 5 наблюдений;
 - уретрокожный свищ на промежности — 1 наблюдение;
 - диастаз краев послеоперационной раны с вторичным заживлением — 3 наблюдения.

Все воспалительные осложнения были купированы консервативно. В 2 наблюдениях уретрокожных свищей промежности длительное дренирование уретральным катетером (32 и 38 суток) способствовало заживлению свищей без ущерба для результатов уретропластики.

Выводы. Клинико-статистический анализ хирургического лечения стриктур и облитераций уретры за год работы показывает следующее:

1. Значительная часть (58%) больных имеют рецидивные СУ как вследствие неэффективности предшествующего оперативного лечения, так и из-за прогрессирующего течения самой стриктурной болезни.
2. Радикальная хирургия СУ выполнена 93 (82,3%) пациентам. В других же наблюдениях была показана безоперационная тактика (13,3%); либо оперативное лечение являлось противопоказанным по соматическим причинам (4,4%).
3. Резекция уретры с концевым уретроуретроанастомозом является наиболее эффективным методом лечения СУ, но ее выполнение возможно лишь для 51,8% пациентов с СУ.
4. Уретропластика при СУ в значительной части случаев является многовариантной хирургией, где необходимо применение различных хирургических техник.

1. Коган М.И. Стриктуры уретры у мужчин. Реконструктивно-восстановительная хирургия. М.: Практическая медицина, 2010.
2. Hampson L.A., McAninch J.W., Breyer B.N. Male urethral strictures and their management. *Nat. Rev. Urol.* 2014;11(1):43–50.
3. Latini J.M., McAninch J.W., Brandes S.B., Chung J.Y., Rosenstein D. 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):1–7.
4. Lumen N., Hoebeke P., Willemsen P., De Troyer B., Pieters R., Oosterlinck W. Etiology of Urethral Stricture Disease in the 21st Century. *J. Urol.* 2009;182(3):983–987.
5. Сидоренко С.В. Тенденции в распространении антибиотикорезистентности среди грамположительных микроорганизмов и перспективы ее преодоления. *Клиническая фармакология и терапия.* 2006;2:7–13.
6. Тенке П., Ковач Б., Бьерклунд Йохансен Т.Е., Мацумото Т., Тамбья П.А., Набер К.Г. Европейско-азиатские рекомендации по ведению пациентов с инфекциями, связанными с уретральным катетером, и по профилактике катетер-ассоциированных инфекций. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2008;3:201–216.
7. Мартов А.Г., Фахрединев Г.А., Максимов В.А., Корниенко С.И., Ергаков Д.В. Осложнения и неудачи трансуретральных операций на мочеиспускательном канале. *Вестник РНЦПР МЗ РФ* 2011; 11.
8. Русаков В.И. Хирургия мочеиспускательного канала. Ростов н/Д.: Феникс, 1998.
9. Русаков В.И., Красулин В.В. Восстановительные операции при больших дефектах уретры у мужчин. Ташкент: Медицина, 1968.
10. Schreiter F., Jordan G.H. Urethral Reconstructive Surgery. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006.
11. Лоран О.Б., Велиев Е.И., Живов А.В., Беломытцев С.В., Котов С.В. Морфологические особенности стриктур уретры. *Материалы пленума правления РОУ.* 2010. 163 с.
12. Коган М.И., Митусов В.В., Дементьева И.Ю., Пакус С.М. Риск рецидива стриктуры уретры в зависимости от морфологии хирургического края, резецированного спонгиозного тела. *Материалы Российской научной конференции с международным участием «Фундаментальные исследования в уронефрологии».* 2009. С. 189–192.
13. Da Silva E.A., Schiavini J.L., Santos B.P., Damião R. Histological Characterization of the Urethral Edges in Patients Who Underwent Bulbar Anastomotic Urethroplasty. *American J. Urol.* 2008;180(5): 2042–2046.
14. Банчик Э.Л., Домбровский В.И., Коган М.И., Митусов В.В. Динамическая магнитно-резонансная томография в диагностике заболеваний уретры у мужчин (комплекс импульсных последовательностей). *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2013;4: 33–40.
15. Красулин В.В., Серебренников С.М., Жульнев А.П., Чибичян М.Б. Хирургическое лечение стриктур и облитераций уретры. Ростов н/Д, 2000.
16. Santucci R., Eisenberg L. Urethrotomy has a much lower success rate than previously reported. *J. Urol.* 2010;183:1859.
17. Morey A. Urethral strictures is now an open surgical disease. *J. Urol.* 2009;181:953.
18. Wessells H. Cost-effective approach to short bulbar urethral strictures supports single internal urethrotomy before urethroplasty. *J. Urol.* 2009;181:954.
19. Коган М.И., Митусов В.В., Красулин В.В., Шангичев А.В., Глухов В.П., Аметов Р.Э., Митусова Е.В. Внутренняя оптическая уретротомия при стриктурной болезни уретры усложняет последующую реконструктивную операцию. *Урология.* 2012;3:27–30.

Поступила 08.10.14

Омник Окас для лечения СНМП/ДГПЖ*

Когда поход
в туалет может стать
ночным кошмаром



 **Омник Окас**
тамсулозин

Заряд силы на следующий день

* в соответствии с инструкцией по медицинскому применению препарата Омник Окас (Рег. уд.: ЛС-000849 от 24.02.11).

Информация для специалистов здравоохранения с распространением на специализированных мероприятиях.

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56. Факс +7 (495) 737-07-50.

 **astellas**
Свет, ведущий к жизни

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

П. В. Глыбочко¹, Ю. Г. Аляев³, В. Н. Николенко¹, А. Б. Шехтер², А. З. Винаров³, Л. П. Истратов², Е. В. Истратова², Р. К. Абоянц², А. В. Люндун², М. И. Данилевский³, А. Е. Гуллер², П. А. Елистратов², Д. В. Бутнару³, Д. Ф. Кантимеров¹, Г. А. Машин¹, А. С. Титов¹, А. В. Проскура¹, К. В. Кудричевская¹

ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ УРЕТРОПЛАСТИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ И АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЩЕКИ: ПЕРВЫЙ ОПЫТ

¹ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», ² НИИ молекулярной медицины, ³ НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека, Москва

Автор для связи: Д. Ф. Кантимеров — e-mail: kantimeroff@gmail.com

Стриктуры и аномалии мочеиспускательного канала остаются сложной урологической проблемой. Реконструктивно-пластические операции — наиболее эффективный способ их лечения. Существует два основных вида уретропластики: формирование анастомоза (анастомотическая уретропластика) и увеличение просвета уретры за счет применения лоскутов и трансплантатов (заместительная уретропластика). Идеального материала для заместительной уретропластики в настоящее время не существует. Тканевая инженерия мочеиспускательного канала представляется одним из наиболее перспективных подходов к решению этой проблемы. Для заместительной уретропластики предложены различные тканеинженерные конструкции. В настоящей работе основой тканеинженерной конструкции послужила децеллюляризированная трупная артериальная стенка. Показана возможность создания стабильной тканеинженерной конструкции с использованием культивированных аутологичных эпителиоцитов слизистой щеки человека и децеллюляризированной матрицы из трупной артериальной стенки (ДМТАС). Отмечено полное приживание тканеинженерной конструкции на основе ДМТАС и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки, использованной при заместительной уретропластике пациенту со стриктурой луковичного отдела уретры. В послеоперационном периоде (в течение 4 мес с момента операции) не отмечено осложнений и/или нежелательных явлений. Однако в отдаленном послеоперационном периоде (12 мес) возник рецидив стриктуры мочеиспускательного канала в средней части тканеинженерной конструкции и нативной уретры, потребовавший повторного оперативного вмешательства. Тканеинженерная конструкция на основе ДМТАС и аутологичных эпителиоцитов щеки безопасна в качестве материала для заместительной уретропластики. Вопрос об эффективности требует дополнительных исследований.

Ключевые слова: стриктуры уретры, уретропластика, регенеративная медицина, тканевая инженерия, тканеинженерная конструкция, матрицы, децеллюляризация, эпителиоциты

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Николенко В.Н., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истратов Л.П., Истратова Е.В., Абоянц Р.К., Люндун А.В., Данилевский М.И., Гуллер А.Е., Елистратов П.А., Бутнару Д.В., Кантимеров Д.Ф., Машин Г.А., Титов А.С., Проскура А.В., Кудричевская К.В. Заместительная уретропластика с использованием тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной сосудистой матрицы и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки: первый опыт. Урология. 2015;3:4–10.

Введение. Одной из сложных урологических проблем остаются стриктуры мочеиспускательного канала и гипоспадии. В настоящее время не существует общепризнанных алгоритмов оперативного лечения данных заболеваний, хотя определенный прогресс, безусловно, наблюдается [1–3]. Заболеваемость стриктурами уретры в развитых странах ниже, чем в развивающихся. Так, в США заболеваемость стриктурами уретры в потенциально предрасположенной группе составляет 0,6% и обуславливает 5000 первичных обращений к урологу в год [4]. Лечение стриктур уретры, как правило, только хирургическое. К малоинвазивным методам относятся бужирование и внутренняя оптическая уретротомия [5]. Однако при их использовании частота рецидивов стриктуры уретры составляет не менее 50% [6]. Применение различных видов открытых хирургических операций на уретре (уретропла-

стик) позволяет добиваться гораздо более высокой эффективности, составляющей от 73 до 98%, а в некоторых случаях — и 100% (при длительном сроке наблюдения) [7–11].

При коротких стриктурах луковичного отдела уретры наиболее эффективна и целесообразна анастомотическая уретропластика [3, 11]. Если же имеет место рецидив стриктуры, либо ее длина превышает 2 см, либо стриктура локализуется в пенильном отделе уретры, оптимально применение различных вариантов заместительной уретропластики. Диаметр уретры в этом случае увеличивается за счет «вставки» фрагмента ткани в рассеченные края мочеиспускательного канала. Вставляемым фрагментом ткани может быть лоскут/flap (на питающей ножке) либо трансплантат/graft (перемещенный участок ткани без собственного осевого кровоснабжения). Лоскутами могут служить крайняя плоть, кожа полового члена

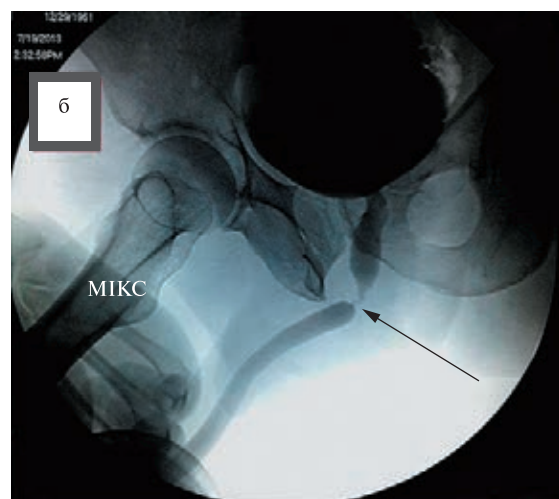
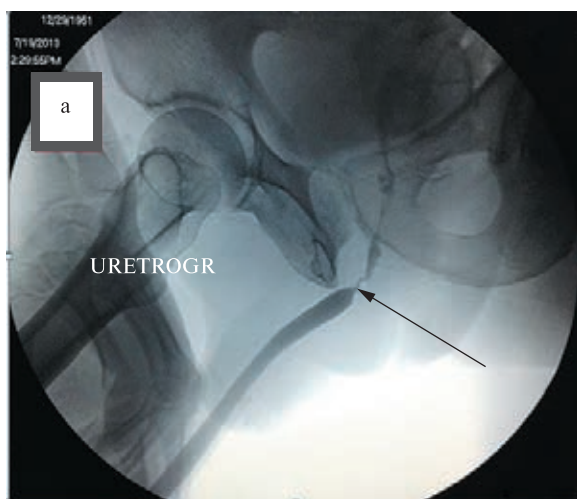


Рис. 1. Данные ретроградной уретрографии (а) и микционной цистоуретрографии (б). Зона стриктуры указана стрелкой

или мошонки (в настоящее время не рекомендуется к применению), влагалищная оболочка яичка и др. В качестве трансплантатов используются позади-ушная кожа, слизистая оболочка мочевого пузыря, слизистая оболочка ротовой полости, особенно слизистая щеки, и др. [12–16].

Как правило, при заместительной уретропластике применяются не тубуляризованные, а плоскостные трансплантаты. Использование тубуляризованных трансплантатов сопряжено с крайне высоким риском неудач (более 50%) [17].

Принимая во внимание тот факт, что с точки зрения реконструктивно-пластической хирургии заместительная уретропластика подразумевает использование лоскутов или трансплантатов, предпринимались и предпринимаются попытки внедрения альтернативных материалов для замещения суженной части просвета мочеиспускательного канала [18, 19]. Одним из наиболее перспективных подходов к созданию оптимального по свойствам материала для заместительной уретропластики является тканевая инженерия.

Представленная ниже работа служит логическим продолжением ранее опубликованного экспериментального исследования по созданию тканеинженерной матрицы на основе децеллюляризированной сосудистой стенки [20]. Результатом эксперимента стало получение матрицы, свойства которой позволили предложить ее в качестве материала для заместительной уретропластики человеку.

Цель исследования: оценить безопасность и эффективность заместительной уретропластики при стриктуре уретры у мужчины с использованием тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной матрицы из трупной артериальной стенки (ДМТАС) и аутологичных эпителиоцитов слизистой оболочки щеки.

Для достижения данной цели были поставлены и решены следующие задачи:

- создать тканеинженерную конструкцию на основе ДМТАС и эпителиоцитов слизистой оболочки щеки человека;

- выполнить заместительную уретропластику с использованием тканеинженерной конструкции на основе ДМТАС и аутологичных эпителиоцитов слизистой оболочки щеки при стриктуре луковичного отдела уретры.

Материалы и методы. Больной Б. 1951 года рождения с 2003 г. стал отмечать ухудшение мочеиспускания. В 2005 г. диагностирована доброкачественная гиперплазия предстательной железы, выполнена позадилобная аденомэктомия. После удаления уретрального катетера мочеиспускание восстановилось. Спустя 1 мес стал отмечать прогрессивное ухудшение мочеиспускания. При обследовании диагностирована стриктура уретры. С 2005 по 2013 г. выполнены многократные бужирования уретры, оптические уретротомии с временным положительным эффектом. По данным рентгенологических методов обследования (ретроградная уретрография, микционная цистоуретрография), протяженность стриктуры проксимальной части луковичного отдела уретры составила 2,5 см (рис. 1).

С учетом анамнеза заболевания, нетравматической этиологии, а также протяженности стриктуры уретры было принято решение о выполнении заместительной уретропластики. В качестве материала для субституции была выбрана тканеинженерная конструкция. Пациентом было подписано информированное согласие на проведение операции и необходимые исследования, а также получено разрешение независимого локального этического комитета на проведения исследования.

В качестве матрицы была использована ДМТАС, полученная ранее описанным методом [20]. После изъятия трупной артерии механически удалены периаартериальная клетчатка и фасциальный футляр, выделены отходящие сосудистые ветви. Затем артерию промыли различными растворами и произвели ферментную обработку раствором террилитина при 40°C в течение 4 ч в фосфатном буфере с pH 7,5–8,0 и расходе фермента 15–25 ПЕ/г влажной ткани. Контроль децеллюляризации осуществлен морфологически (по отсутствию клеток на гистологиче-

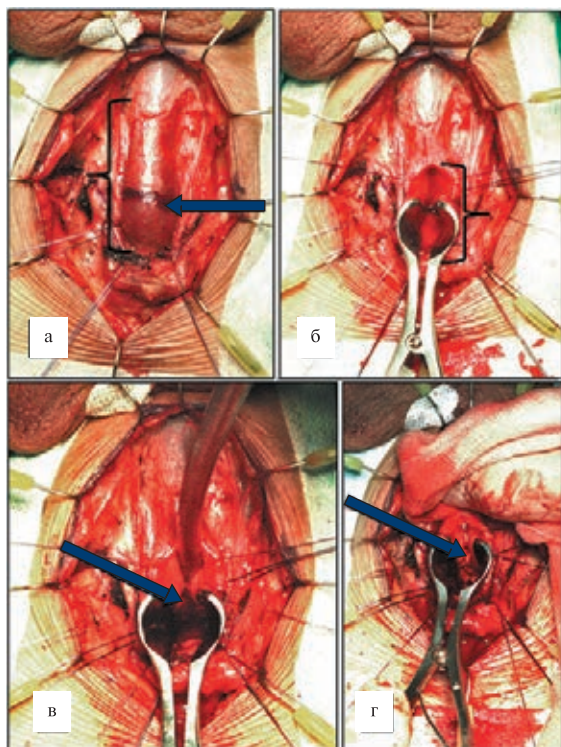


Рис. 2. Этапы операции

а — доступ к луковичному отделу уретры (бульбоспонгиозные мышцы сохранены); б — выполнена вентральная уретротомия; в — выполнена дорсальная уретротомия; г — тканеинженерная конструкция фиксирована к уретральной площадке по дорсальной поверхности уретры.

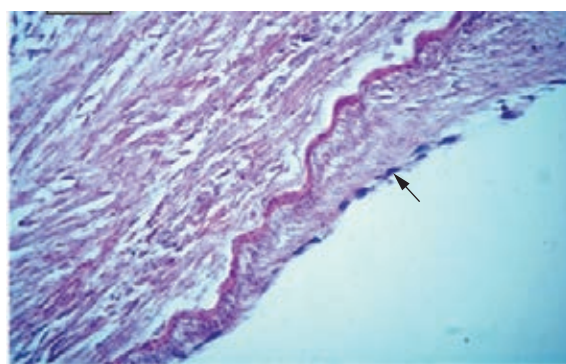


Рис. 3. Фрагмент тканеинженерной конструкции: клетки эпителиального строения формируют слой на внутренней (интимальной) поверхности матрицы

ских срезах артерии). Промытые сосуды подвергли отжиму салфетками для удаления избыточной влаги и радиационной стерилизации (дозой 2,5 Мрад).

Далее фрагмент слизистой оболочки щеки размером 5×5 мм иссекли под местной анестезией 2%-ным раствором лидокаина. Рана донорской зоны зажила первичным натяжением (без наложения швов). Клетки выделили из данного фрагмента с использованием 0,2%-ного раствора диспазы («Sigma», США). Полученные клетки культивировали в полной культуральной среде, состоявшей из бессывороточной среды Keratinocyte-SFM («Life Technologies», США) с добавлением инсулина в концентрации 5 мкг/мл, гидрокортизона 5 мкг/мл, эпидермального фактора роста 10 нг/мл, холерного токсина 10×10^{-10} М, трансферрина 5 мг/мл, аденина $1,8 \times 10^{-4}$ М, лиоитиронина 2×10^{-11} М, в увлажненной среде при температуре 37°C в CO₂-инкубаторе при концентрации CO₂ 5%. Смену питательной среды осуществляли каждые 48 ч. Продолжительность культивирования клеток перед высеванием на матрицу составила 5 нед. При высевании на подготовленную матрицу размером 17×43 мм был использован третий пассаж эпителиоцитов из расчета 3×10^6 клеток на 1 см², после чего культивирование продолжалось в течение 5 сут до имплантации конструкции. Тканеинженерная конструкция была доставлена в урологическую клинику в специальном термоконтейнере. Полученная тканеинженерная конструкция имплантирована пациенту в проксимальную часть луковичного отдела уретры по технике Asopa (dorsal inlay).

Техника операции. Через срединный разрез промежности осуществлен доступ к луковичному отделу уретры без пересечения бульбоспонгиозных мышц (мышце-, нервосберегающая техника; рис. 2.а). Последовательно выполнены вентральная и дорсальная уретротомии над зоной стриктуры (рис. 2, б, в), а также по 1 см дополнительно (проксимально и дистально) в пределах визуально неизмененных тканей уретры. Фиксация тканеинженерной конструкции к краям нативной слизистой оболочки мочеиспускательного канала, а также к подлежащей белочной оболочке кавернозных тел (дорсальная фиксация) осуществлена одиночными узловыми швами Vicryl 6-0 (рис. 2, г). После проведения силиконового уретрального катетера Фолея № 16 Ch целостность спонгиозного тела по вентральной поверхности восстановлена одиночными узловыми швами Vicryl 5-0 и 4-0 в два ряда.

Мочевой пузырь дополнительно дренирован цистостомическим дренажом. На 28-й день после операции уретральный катетер удален, выполнены ретроградная и микционная цистоуретрография, урофлоуметрия, проведена оценка объема остаточной мочи. Полученные в ходе адаптации формы и размеры тканеинженерной конструкции под форму и размеры уретральной площадки фрагменты тканеинженерной конструкции были подвергнуты гистологическому исследованию.

Результаты. Гистологическое исследование срезов эпителизированной матрицы показало, что клетки эпителиального строения формируют слой на внутренней (интимальной) поверхности матрицы (рис. 3).

Течение послеоперационного периода без особенностей. Через 4 нед после операции уретральный катетер был удален. По данным ретроградной уретрографии и микционной цистоуретрографии стриктур и затеков контрастного вещества в зоне операции не выявлено (рис. 4).

Максимальная скорость мочеиспускания составила 24,6, средняя — 16,3 мл/с при объеме 132 мл без остаточной мочи. Спустя 4 мес после операции у пациента был диагностирован рецидив стриктуры уретры. Выполнены уретроскопия, оптическая уретротомия. При уретроскопии выявлено, что рецидив стриктуры возник вне зоны расположения ткане-

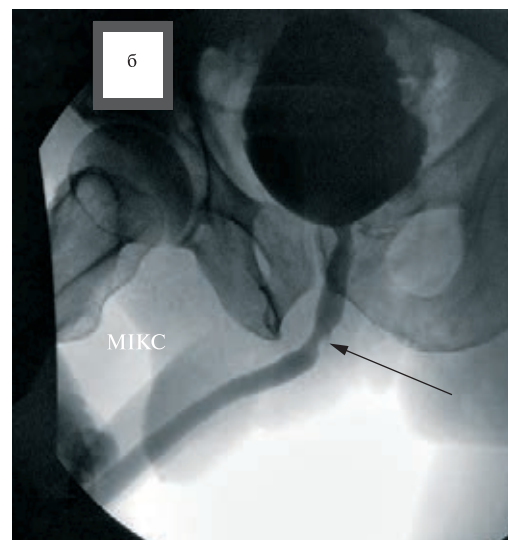
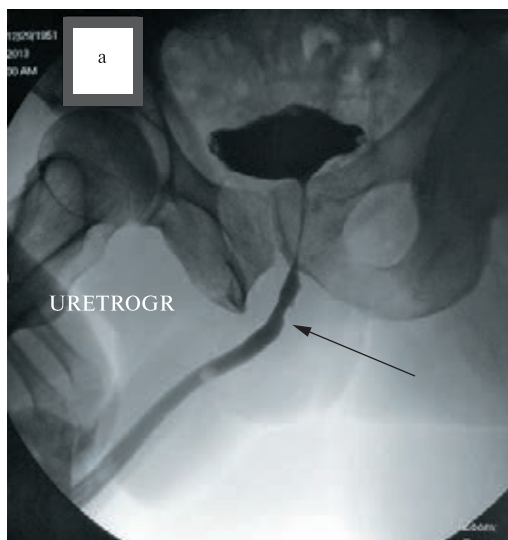


Рис. 4. Данные ретроградной уретрографии (а) и микционной цистоуретрографии (б) после операции. Зона операции указана стрелкой

инженерной конструкции (на границе дистальной части тканеинженерной конструкции и нативной уретры). В течение последующих 8 мес пациенту дважды выполнено бужирование уретры в связи со снижением интенсивности струи мочи. Спустя год после тканеинженерной уретропластики при обследовании был выявлен рецидив стриктуры луковичного отдела уретры (рис. 5, а). Протяженность рецидива стриктуры составила 0,5 см (включая зону облитерации). Выполнено повторное оперативное вмешательство: иссечение суженного участка уретры, уретро-уретральный анастомоз (операция Хольцова). Течение послеоперационного периода без особенностей. Спустя 10 дней после операции уретральный катетер удален. По данным микцион-

ной цистоуретрографии патологических изменений не выявлено (рис. 5, б). Через 5 мес после повторной операции признаков ухудшения качества мочеиспускания нет.

При гистологическом исследовании резецированных во время повторной операции фрагментов уретры выявлено следующее. *Зона облитерации*: данный участок уретры представляет собой массивный блок грубой рубцовой соединительной ткани разной структуры. В центре биоптата (возможно, в бывшем просвете уретры) ткань состоит из беспорядочно переплетенных, но относительно тонких коллагеновых волокон; клетки в ней представлены фибробластами, лимфоцитами, макрофагами и немногочисленными нейтрофильными лейко-

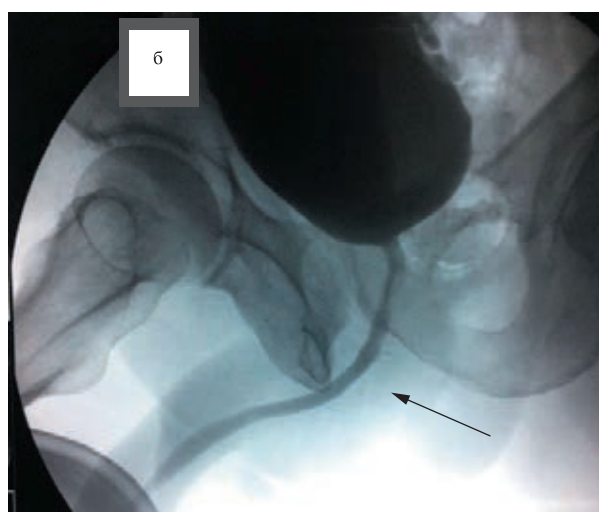
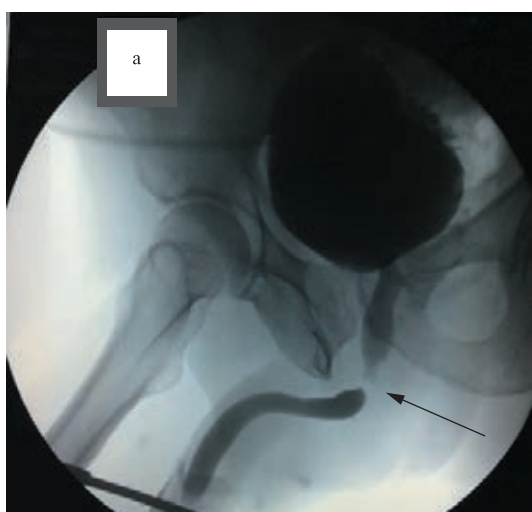


Рис. 5. Данные микционной цистоуретрографии

а — через 1 год после тканеинженерной уретропластики (зона стриктуры указана стрелкой);
б — через 10 дней после повторной операции (зона операции указана стрелкой).

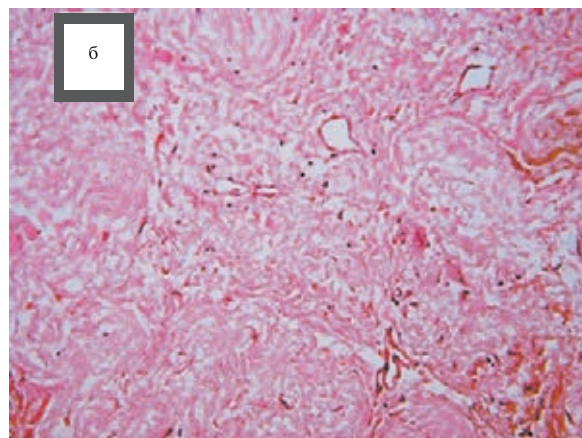
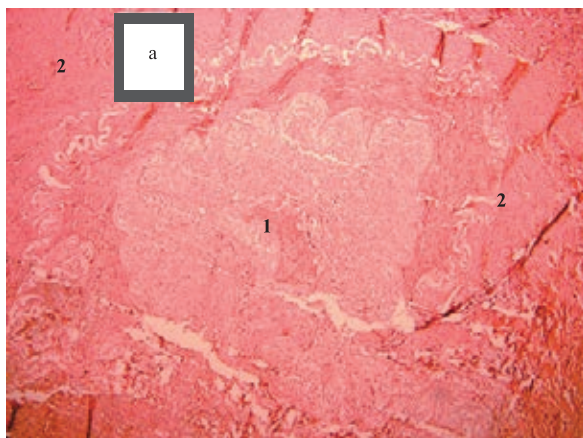


Рис. 6. Зона облитерации. Окраска гематоксилином и эозином.

а — в центре — соединительная ткань, заполняющая бывший просвет уретры (1), вокруг нее — фиброзная соединительная ткань (2). $\times 100$; б — тот же препарат при увеличении $\times 400$: в центральном участке видны сравнительно тонкие переплетенные коллагеновые волокна, фибробласты, лимфоциты, макрофаги и тонкостенные сосуды.

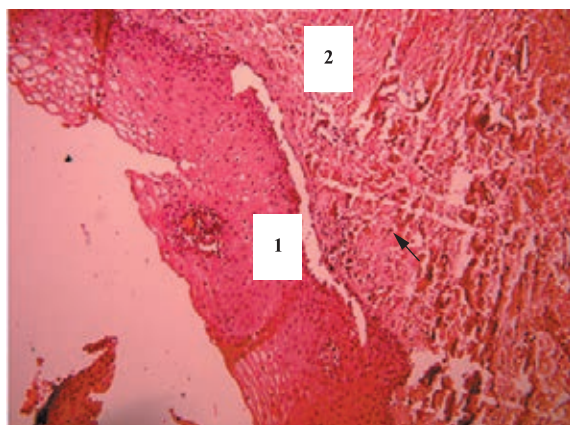


Рис. 7. Гипертрофированный многослойный плоский эпителий (1), выстилающий полость в рубцовой ткани (2) (сохранный просвет уретры). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

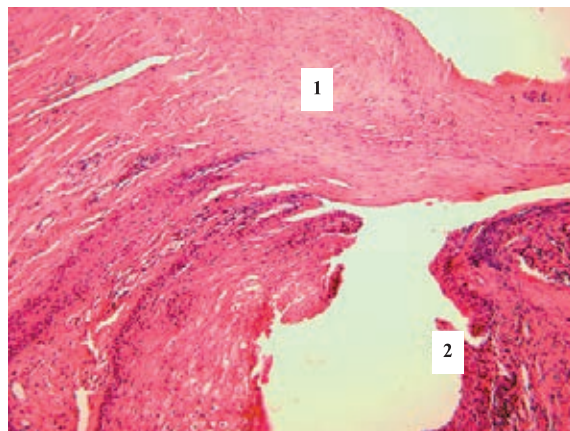


Рис. 8. Проксимальная зона вблизи облитерации. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

Плотная фиброзная ткань (1), внизу — многослойный плоский эпителий, обрамляющий просвет уретры (2).

цитами. Кроме того, в ткани видны тонкостенные сосуды: капилляры, венулы и артериолы (рис. 6). Фиброзно-рубцовая соединительная ткань, окружающая вышеописанный центральный участок, состоит из плотно упакованных пучков толстых коллагеновых волокон. Между волокнами видны фибробласты, немногочисленные лимфоциты и макрофаги, воспалительная инфильтрация практически отсутствует. Таким образом, в области облитерации просвет уретры и окружающие его ткани практически полностью замещены рубцовой соединительной тканью различной степени зрелости. Однако на периферии образца выявлен участок, где ткань покрыта многослойным плоским эпителием (рис. 7).

Проксимальная зона, близкая к участку облитерации. В участке ткани, взятой в этой области, имеется грубая рубцовая соединительная ткань, частично выстланная многослойным плоским эпителием (рис. 8). Это свидетельствует о сохранении в этой зоне просвета уретры. Вне этого участка также обнаруживается фиброзная рубцовая ткань, но менее плотная.

Таким образом, данные гистологического исследования указывают на то, что:

- тканеинженерная конструкция, матриком которой служит лишенная клеток стенка артерии, полностью резорбируется, замещаясь фиброзной тканью;
- в области облитерации соединительная ткань, заполняющая просвет уретры, имеет более рыхлый и незрелый характер, чем окружающая ее фиброзно-рубцовая ткань;
- практически не определяется воспалительная инфильтрация, что свидетельствует о незначительной иммуногенности тканеинженерной конструкции;
- примыкающий к зоне облитерации участок уретры сохраняет просвет; его внутренняя поверхность эпителизирована, что свидетельствует о функциональной состоятельности тканеинженерной конструкции и/или регенерации этой части уретры.

Обсуждение. Как уже было сказано выше, настоящее клиническое исследование является второй

частью единой научной работы. В первой части путем децеллюляризации трупной артериальной стенки была получена тканеинженерная матрица — ДМТАС. Сроки и характер биодеградации данной матрицы были оценены в эксперименте на крысах. Далее тубуляризованная ДМТАС использовалась для замещения дефекта уретры у самцов кроликов.

Результаты указанных выше экспериментов позволили заключить:

1. Коллагеновая матрица на основе децеллюляризованной трупной артерии человека обладает низкой биологической активностью и безопасна в качестве материала для заместительной уретропластики.
2. В эксперименте на крысах биодеградация сосудистой матрицы (ДМТАС) наступает в течение 60–90 сут.
3. В эксперименте на кроликах при пластике уретры сосудистой матрицей (ДМТАС) имеют место медленная деструкция матрицы и прогрессирующая эпителизация соединительнотканной капсулы.
4. Использование ДМТАС в качестве материала для заместительной уретропластики в эксперименте на кроликах показало хороший структурный и функциональный результат.

Полученные данные позволили предложить данную матрицу в качестве основы для тканеинженерной конструкции, которая (после одобрения этическим комитетом) была использована при заместительной уретропластике в данном клиническом исследовании.

В литературе представлено несколько работ по клиническому использованию рецеллюляризованных матриц при заместительной уретропластике человеку. В двух из них была использована монокультура клеток [21, 22], в остальных — ко-культура [23–25].

М. Fossum и соавт. [22] получали уротелиальные клетки путем промывания мочевого пузыря. Полученные клетки культивировали и наносили на децеллюляризованный дермальный матрикс, который затем использовали для создания неоуретры 6 мальчикам с мошоночной или промежностной формой гипоспадии. При среднем сроке наблюдения (87 мес) только у одного мальчика была выполнена оптическая уретротомия с целью восстановления нормального мочеиспускания.

О. Engel и соавт. [21] представили работу, в которой была использована матрица собственного производства на основе коллагена (MukoCell®). Матрицу засеивали культивированными эпителиоцитами слизистой оболочки щеки. Полученную тканеинженерную конструкцию имплантировали в область стриктуры. Эффективность составила 90%, однако авторы не указывают длительность наблюдения.

С. Bhargava и соавт. [23] впервые использовали тканеинженерную конструкцию для реконструкции уретры у людей. Матрицей служила донорская дезэпидермизированная дерма (donor deperidermised dermis), на которую высаживались культивированные кератиноциты и фибробласты щеки. В исследование были включены 5 пациентов со сложными рецидивными стриктурами уретры на фоне склеротического лихена. Трем пациентам была выполнена двухэтапная операция, двум — одноэтапная.

В двух случаях потребовалось полное либо частичное удаление трансплантата из-за выраженного фиброза и гипертрофии тканей соответственно. В трех оставшихся случаях требовались инструментальные вмешательства для коррекции возникших стриктур.

А. Raya-Rivera и соавт. [24] использовали тубуляризованную матрицу из полимера полигликолевой кислоты (PGA), на внутреннюю поверхность которой высаживали культивированные эпителиальные клетки мочевого пузыря, а на внешнюю — гладкомышечные клетки мочевого пузыря. Все пациенты страдали посттравматической облитерацией мембранозного отдела уретры. После иссечения рубцовых тканей была выполнена имплантация тканеинженерной уретры. При среднем сроке наблюдения 71 мес эффективность составила 100%.

В настоящем исследовании мы успешно культивировали эпителиоциты слизистой оболочки щеки пациента, посеянные на матрицу, полученную путем децеллюляризации трупной артериальной стенки. Полученная тканеинженерная конструкция была использована при заместительной уретропластике. Следует отметить, что ранний послеоперационный период не сопровождался какими-либо осложнениями и побочными эффектами. Отсутствие затеков контрастного вещества во время микционной цистоуретрографии (при удалении уретрального катетера) свидетельствует о полном приживлении тканеинженерной конструкции и отсутствии реакции отторжения.

В позднем послеоперационном периоде (через 4 мес после операции) в средней части тканеинженерной конструкции отмечен рецидив стриктуры. Рецидив мог возникнуть в результате как использования конкретной тканеинженерной конструкции, так и естественного течения стриктурной болезни уретры. Следует отметить, что протяженность рецидива стриктуры уретры (вместе с зоной облитерации) составила 0,5 см, в то время как протяженность использованной тканеинженерной конструкции была 4,5 см, а протяженность стриктуры до операции — 2,5 см. Исходя из этого, можно предположить, что локальный ограниченный рецидив стриктуры уретры был связан с неадекватной васкуляризацией тканеинженерной конструкции в зоне контакта с резидентными тканями (фиброз), а также ее ишемией и постишемическим склерозом. Наличие у пациента в анамнезе множества трансуретральных вмешательств (оптической уретротомии, бужирования, катетеризации) могли способствовать развитию рубцово-склеротических процессов в зоне стриктуры, что косвенно подтверждает предположение, высказанное выше. Тем не менее наличие нормального просвета уретры, покрытого эпителиальной выстилкой, в зоне, прилегающей к рецидиву стриктуры, указывает на функциональность конструкции, а отсутствие элементов матрицы в резецированных тканях свидетельствует о полной биодеградации тканеинженерной конструкции.

Тканевая инженерия мочеиспускательного канала является клинической реальностью. Требуются дополнительные доклинические и клинические исследования для определения оптимального вида матрицы и типа клеток, что позволит максимально эффективно использовать тканеинженерные кон-

струкции в реконструктивной хирургии мочеиспускательного канала.

Выводы

1. Коллагеновая матрица на основе децеллюляризированной трупной артерии человека формирует стабильную тканеинженерную конструкцию с культивированными аутологичными эпителиоцитами щеки.
2. Тканеинженерная конструкция на основе ДМТАС и аутологичных эпителиоцитов щеки безопасна в качестве материала для заместительной уретропластики. Решение вопроса об эффективности требует дополнительных исследований.

Благодарности

Авторы благодарят за помощь в работе над проектом зав. виварием А.В. Лузина, зав. каф. оперативной хирургии и топографической анатомии проф. С.С. Дыдыкина, зав. каф. иностранных языков И.Ю. Марковину, начальника отдела клинических исследований И.И. Ермолаеву, председателя независимого этического комитета проф. Д.А. Балалыкина, независимых экспертов проф. Н.А. Григорьева и проф. Е.А. Безрукова.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №13-02-01363 А – Тканеинженерные конструкции для уретропластики) и РНФ (проект №15-15-00132 – Новые фотополимеризующиеся биосовместимые композиции и скаффолды для регенеративной и реконструктивной урологии, создаваемые методом лазерного 3D принтинга).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Chapple C.* Anterior urethral surgery: current concepts and future directions. *Eur Urol.* 2010;58(1):42–45.
2. *Chapple C., Andrich D., Atala A., Barbagli G., Cavalcanti A., Kulkarni S., Mangera A., Nakajima Y. et al.* SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: The management of anterior urethral stricture disease using substitution urethroplasty. *Urology.* 2014;83(3 Suppl.):S31–47.
3. *Morey A.F., Watkin N., Shenfeld O., Eltahawy E., Giudice C.* SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: Anterior urethra – primary anastomosis. *Urology.* 2014;83(3 Suppl.):S23–26.
4. *Santucci R.A., Joyce G.F., Wise M.* Male urethral stricture disease. *J Urol.* 2007;177(5):1667–1674.
5. *Boccon Gibod L., Le Portz B.* Endoscopic urethrotomy: does it live up to its promises? *J Urol.* 1982;127(3):433–435.
6. *Wong S.S., Aboumarzouk O.M., Narahari R., O’Riordan A., Pickard R.* Simple urethral dilatation, endoscopic urethrotomy, and urethroplasty for urethral stricture disease in adult men. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;12:CD006934.
7. *Santucci R.A., Mario L.A., McAninch J.W.* Anastomotic urethroplasty for bulbar urethral stricture: analysis of 168 patients. *J Urol.* 2002;167(4):1715–19.
8. *Barbagli G., Palminteri E., Guazzoni G., Montorsi F., Turini D., Lazzeri M.* Bulbar urethroplasty using buccal mucosa grafts placed on the ventral, dorsal or lateral surface of the urethra: are results affected by the surgical technique? *J Urol.* 2005;174(3):955–57; discussion 957–958.
9. *Alsikafi N.F., McAninch J.W.* Long-term outcomes of penile skin graft versus buccal mucosal graft for substitution urethroplasty of the anterior urethra. *J Urol.* 2005;173(87).
10. *Barbagli G., Palminteri E., Bartoletti R., Selli C., Rizzo M.* Long-term results of anterior and posterior urethroplasty with actuarial evaluation of the success rates. *J Urol.* 1997;158(4):1380–1382.
11. *Andrich D.E.* The long-term results of urethroplasty. *J Urol.* 2003;170(1):90–92.
12. *Dubey D., Vijan V., Kapoor R., Srivastava A., Mandhani A., Kumar A., Ansari M.S.* Dorsal onlay buccal mucosa versus penile skin flap urethroplasty for anterior urethral strictures: results from a randomized prospective trial. *J Urol.* 2007;178(6):2466–2469.
13. *Godwin R.J.* Urethral stone formation following urethroplasty. *Br J Radiol.* 1977;50(590):113–115.
14. *Mangera A., Chapple C.R.* Tissue engineering in urethral reconstruction – an update. *Asian J Androl.* 2013;15(1):89–92.
15. *Bhargava S., Chapple C.R.* Buccal mucosal urethroplasty: is it the new gold standard? *BJU Int.* 2004;93(9):1191–1193.
16. *Barbagli G., Vallasciani S., Romano G., Fabbri F., Guazzoni G., Lazzeri M.* Morbidity of oral mucosa graft harvesting from a single cheek. *Eur Urol.* 2010;58(1):33–41.
17. *Mangera A., Patterson J.M., Chapple C.R.* A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2011;59(5):797–814.
18. *el-Kassaby A., AbouShwareb T., Atala A.* Randomized comparative study between buccal mucosal and acellular bladder matrix grafts in complex anterior urethral strictures. *J Urol.* 2008;179(4):1432–1436.
19. *Fiala R., Vidlar A., Vrtal R., Belej K., Student V.* Porcine small intestinal submucosa graft for repair of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2007;51(6):1702–08; discussion 1708.
20. *Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Николенко В.Н., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истранов Л.П., Истранова Е.В., Абоянц Р.К., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Гуллер А.Е., Елистратов П.А., Бутнару Д.В., Кантимиров Д.Ф., Машин Г.А., Титов А.С., Проскура А.В., Кудричевская К.В.* Экспериментальное обоснование создания матрицы на основе децеллюляризированной сосудистой стенки с целью последующей заместительной уретропластики. *Урология.* 2014; 6:41–46.
21. *Engel O., Reiß P., Schwaiger B., Pfalzgraf D., Dahlem R., Fisch M.* Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty. Outcome of our first 10 patients. *J Urol.* 2012;187(4):e6.
22. *Fossum M., Skikuniene J., Orrego A., Nordenskjöld A.* Prepubertal follow-up after hypospadias repair with autologous in vitro cultured urothelial cells. *Acta Paediatr.* 2012;101(7):755–760.
23. *Bhargava S., Patterson J.M., Inman R.D., MacNeil S., Chapple C.R.* Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes. *Eur. Urol.* 2008;53(6):1263–1269.
24. *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. *Lancet.* 2011;377(9772):1175–1182.
25. *Роговая О.С., Васильев А.В., Файзулин А.К., Демин Н.В.* Применение клеточных технологий для реконструкции уретры в детской урологии. *Андрология и генитальная хирургия.* 2009;4:36–39.

Поступила 15.03.15

ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ В МОЧЕ У БОЛЬНЫХ С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ДЕТРУЗОРНОЙ ГИПЕРАКТИВНОСТЬЮ И ГИПЕРАКТИВНЫМ МОЧЕВЫМ ПУЗЫРЕМ БЕЗ ДЕТРУЗОРНОЙ ГИПЕРАКТИВНОСТИ

¹ Кафедра урологии (и.о. зав. кафедрой — д.м.н., проф. А. К. Чепуров) ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва;

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича»

Автор для связи: Г. Г. Кривобородов — д.м.н., проф.; e-mail: dr.krivoborodov@hotmail.ru

Целью работы стало определение концентрации нейротрофина фактора роста нервов в моче для оценки его роли в качестве возможного маркера в диагностике различных форм гиперактивного мочевого пузыря. В исследование были включены больные симптомами ургентного и учащенного мочеиспускания: 21 пациент с идиопатической детрузорной гиперактивностью, 18 — с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности, а также 11 здоровых добровольцев (контрольная группа). Всем участникам исследования определен уровень фактора роста нервов в моче посредством иммуноферментного анализа (ELISA). В контрольной группе среднее значение показателя фактора роста нервов по отношению к уровню креатинина мочи составило $0,2 \pm 0,06$, у больных гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности — $0,33 \pm 0,06$ ($p > 0,05$). Данный показатель пациентов с идиопатической детрузорной гиперактивностью был значительно выше и составил $6,04 \pm 0,9$ ($p < 0,05$). Таким образом, измерение концентрации фактора роста нервов в моче может быть методом дифференциальной диагностики наличия или отсутствия детрузорной гиперактивности у больных гиперактивным мочевым пузырем.

Ключевые слова: гиперактивный мочевой пузырь, детрузорная гиперактивность, фактор роста нервов, ургентность, гиперактивный мочевой пузырь без детрузорной гиперактивности

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Кривобородов Г.Г., Колесанова Е.Ф., Тур Е.И., Ефремов Н.С. Фактор роста нервов в моче у больных с идиопатической детрузорной гиперактивностью и гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности. Урология. 2015;3:19–22.

Введение. Гиперактивный мочевой пузырь без детрузорной гиперактивности — это форма гиперактивного мочевого пузыря, при которой имеют место симптомы ургентного учащенного мочеиспускания, однако произвольные сокращения детрузора при цистометрии наполнения не определяются. По данным разных авторов, распространенность такого состояния среди больных гиперактивным мочевым пузырем составляет от 10 до 30% [1, 2]. Гиперактивный мочевой пузырь без детрузорной гиперактивности — наименее изученная форма заболевания, что, безусловно, отрицательно сказывается на результатах лечения этой категории больных.

За последние годы активно проводятся экспериментальные и клинические исследования, направленные на выяснение этиологии и патогенеза, разработку способов диагностики и лечения гиперактивного мочевого пузыря без детрузорной гиперактивности. Большое внимание уделяется изучению роли уротелия в развитии данного заболевания. Необходимо отметить, что исторически он считался простым барьером между мочой и детрузором. Однако оказалось, что уротелий представляет собой высокоспециализированную структуру, способную к метаболической секреции и участию в рефлекс мочеиспускания [3], обладает функциями, характерными для нервной ткани. В частности, оказалось, что клетки уротелия способны отве-

чать на механические и химические раздражители, выделяя собственные нейромедиаторы и факторы роста. Эти вещества, с одной стороны, действуют непосредственно на клетки детрузора, вызывая их расслабление, с другой — на чувствительные нервные волокна субуротелиального пространства, что приводит к неминусемому повышению чувствительности нервных волокон и запуску рефлекс мочеиспускания. Одним из таких «активных» веществ служит фактор роста нервов (ФРН, Nerve Growth Factor — NGF). Используя высокочувствительные и специфические методы, удалось выделить этот белок из мочи. Есть данные, что концентрация ФРН в моче при функциональных нарушениях акта мочеиспускания, в частности при гиперактивном мочевом пузыре, может отличаться от этого показателя в норме [4–6]. Так, изменение уровня ФРН в моче отмечали как у больных гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности, так и при наличии последней [7, 8]. Точный ответ на данный вопрос мог бы помочь в диагностике и выборе метода лечения пациентов с различными формами гиперактивного мочевого пузыря.

Целью настоящей работы стало оценить содержание ФРН в моче больных гиперактивным мочевым пузырем с детрузорной гиперактивностью и без нее, проходивших обследование и лечение в стационаре клиники.

Материалы и методы. В исследование были включены 39 пациентов с клинической картиной гиперактивного мочевого пузыря (23 женщины и 16 мужчин). Средний возраст больных составил 50,2 года (от 19 до 75 лет). Больные предъявляли жалобы на urgentные позывы к мочеиспусканию, эпизоды urgentного недержания мочи, на учащенное мочеиспускание в течение всего времени суток.

Обследование включило общий и биохимический анализ крови, микроскопическое и культуральное исследование мочи, УЗИ почек, мочевого пузыря и предстательной железы (у мужчин) с определением объема остаточной мочи, а также комплексное уродинамическое исследование. Последнее выполнено согласно стандартам, рекомендованным Международным обществом по удержанию мочи [9]. Число мочеиспусканий, их объем, число urgentных позывов на мочеиспускание и эпизодов urgentного недержания мочи учитывали, используя дневник мочеиспусканий, за период не менее 72 ч.

На основании данных цистометрии наполнения больные были разделены на две группы. Первую составили 18 больных гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности (11 женщин и 7 мужчин), вторую — 21 больной с идиопатической детрузорной гиперактивностью (12 женщин и 9 мужчин). В контрольную группу вошли 11 человек (8 мужчин и 3 женщины) без симптомов патологии нижних мочевыводящих путей, их средний возраст составил 36,8 года (от 25 до 49 лет). Показатели клинических анализов крови и мочи, биохимического анализа мочи в трех группах статистически значимо не различались.

Все пациенты дали информированное согласие на проведение обследования.

Методика определения концентрации ФРН в моче. Концентрация ФРН в моче определена методом иммуноферментного сорбционного анализа (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA) с использованием набора NGF Emax ImmunoAssay System фирмы «Promega» (США), чувствительность определения ФРН — 7,8 пг/мл. Образцы мочи, собранной утром натощак, немедленно помещали в лед, но не замораживали. Охлажденную мочу центрифугировали при 3000g и 4°C в течение 10 мин. Две аликвоты не менее чем по 1 мл надосадочной жидкости поместили в пробирки типа «эппендорф» по 1,5 мл и подвергли шоковой заморозке при температуре не выше -80°C. Хранили замороженные образцы при -35°C. Другая часть мочи, отделенная от осадка, оставлена для определения уровня креатинина в данных образцах.

Замороженные аликвоты мочи разморозили при 4°C и определили в них концентрацию ФРН с помощью ELISA в соответствии с инструкцией к набору. Калибровочную кривую для расчета концентрации ФРН строили с использованием прилагаемого к набору стандартного образца ФРН с известной концентрацией в разведениях и по методике согласно инструкции. Определенную методом ELISA концентрацию ФРН нормализовали путем вычисления ее отношения к уровню креатинина мочи. Показатель ФРН/креатинин сравнили у пациентов всех трех групп.

Статистическая обработка данных проведена на основании критерия Стьюдента с использованием пакета статистических программ Statistica 8.0.

Результаты. У 8 пациентов с симптомами urgentного учащенного мочеиспускания (5 пациентов с идиопатической детрузорной гиперактивностью и 3 — с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности), а также у 1 обследованного контрольной группы выявлены аномально высокие концентрации ФРН в моче (от 167 до 191 пг/мл). Такие показатели могут быть как симптомом какого-либо заболевания, связанного с аномально высокой продукцией и экскрецией ФРН, так и ошибкой в подготовке образцов. В связи с этим данные этих пациентов были исключены из статистической обработки.

Таким образом, концентрация ФРН в моче проанализирована у 31 пациента (15 с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности [9 женщин и 6 мужчин] и 16 с идиопатической детрузорной гиперактивностью [10 женщин и 6 мужчин], а также у 10 человек контрольной группы (8 мужчин и 2 женщины).

Самые низкие значения отношения ФРН/креатинин в моче были зарегистрированы у обследованных контрольной группы. Его среднее значение составило $0,2 \pm 0,06$. У больных гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности имела место тенденция к повышению показателя ФРН/креатинин на 50% по сравнению с контрольным значением $0,33 \pm 0,06$, однако это различие было статистически незначимым ($p > 0,05$). Самое высокое среднее значение отношения ФРН/креатинин в моче отмечено у пациентов с идиопатической детрузорной гиперактивностью — $6,04 \pm 0,9$. Эти значения статистически значимо отличались от показателей представителей двух других групп ($p < 0,05$).

Обсуждение. Фактор роста нервов представляет собой полипептид, относящийся к группе нейротрофинов. Он стимулирует рост симпатических аксонов и во многом определяет наличие или отсутствие симпатической иннервации [10].

За последнее время ФРН рассматривается в качестве медиатора, провоцирующего запуск патологических рефлекторных путей мочеиспускания, в которых принимают участие афферентные немиелинизированные С-волокна. Данная реакция, как известно, приводит к развитию симптомов urgentного и учащенного мочеиспускания [11, 12]. Повышение концентрации ФРН в задних корешках и ганглиях пояснично-крестцового отдела спинного мозга у животных после экспериментальной травмы спинного мозга коррелировало с высоким содержанием ФРН в моче и развитием у них детрузорной гиперактивности [11, 13, 14].

Данное наблюдение подтверждает тот факт, что длительное «пребывание» ФРН в моче каким-то образом провоцирует развитие произвольных сокращений детрузора [13–17].

По результатам проведенного нами исследования оказалось, что у пациентов с идиопатической детрузорной гиперактивностью показатель ФРН/креатинин в моче оказался статистически значимо выше, чем в контроле ($p < 0,05$), тогда как в груп-

пе больных гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности он не отличался от такового ($p>0,05$).

Полученные нами результаты в отношении уровня ФРН/креатинина у больных с идиопатической детрузорной гиперактивностью согласуются с данными других исследователей [18]. Так, ранее было показано повышение уровня ФРН в моче у больных с детрузорной гиперактивностью вследствие различных неврологических заболеваний и идиопатического характера [19].

В работе [20] авторы исследовали концентрацию ФРН в моче у 23 больных гиперактивным мочевым пузырем вследствие идиопатической детрузорной гиперактивности и сравнили ее с показателями 22 человек контрольной группы. Отмечено статистически значимое превышение показателя ФРН/креатинин в моче больных с детрузорной гиперактивностью.

В литературе представлены лишь отдельные исследования, касающиеся определения уровня ФРН у больных с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности. Так, Н. Куо и соавт. [19] показали, что отношение ФРН/креатинин в моче пациентов с сенсорной urgenностью (прежнее определение гиперактивного мочевого пузыря без детрузорной гиперактивности) ($0,033\pm 0,02$) было даже ниже, чем в моче пациентов контрольной группы ($0,041\pm 0,026$).

Принимая во внимание, что показатель ФРН/креатинин имеет низкие значения у больных с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности, можно предположить, что эта категория пациентов обладает иными, отличными от больных детрузорной гиперактивностью, механизмами формирования urgenности. С другой стороны, необходимо учесть тот факт, что urgenность как симптом трудно поддается описанию как врачами, занимающимися проблемой гиперактивного мочевого пузыря, так и пациентами с жалобами на выраженные сильные позывы к акту мочеиспускания, порой заканчивающиеся недержанием мочи. Возможно, пациенты с гиперактивным мочевым пузырем с и без детрузорной гиперактивности по-разному оценивают сильно выраженные позывы к акту мочеиспускания. Так, больные детрузорной гиперактивностью имеют истинную urgenность вследствие непроизвольных сокращений детрузора. В то же время больные без детрузорной гиперактивности имеют сниженный порог рефлекторной возбудимости мочевого пузыря с появлением позыва к акту мочеиспускания, который расценивается ими как urgenность. Нельзя исключить, что такой позыв к акту мочеиспускания не имеет ничего общего с urgenностью, вызванной детрузорной гиперактивностью. Оценивая полученные нами и другими авторами данные, можно также предположить, что ирритативные симптомы у больных с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности не связаны с гиперпродукцией ФРН вегетативными нейронами мочевого пузыря. Иными словами, сегодня мы должны поставить вопрос в отношении пациентов с гиперактивным мочевым пузырем без детрузорной гиперактивности как о пациентах с неизвестным современной

медицине состоянием. Возможно, они не имеют ничего общего с пациентами, страдающими детрузорной гиперактивностью.

В пользу такой точки зрения могут свидетельствовать данные ряда исследований, которые наглядно демонстрируют наличие четкой корреляции между концентрацией ФРН в моче и наличием детрузорной гиперактивности. Подтверждением указанной гипотезы служит также положительный эффект таких методов лечения, как применение антихолинергических препаратов, различные виды нейромодуляции и инъекции ботулинического токсина типа А в детрузор [20–22].

Заключение. Принимая во внимание данные литературы и результаты настоящего исследования, можно сделать следующий вывод: измерение концентрации ФРН в моче может быть адекватным и перспективным методом дифференциальной диагностики различных форм гиперактивного мочевого пузыря и маркером эффективности его лечения. Требуется дальнейшие исследования для определения механизма, отвечающего за повышение концентрации ФРН в моче у больных с функциональными нарушениями акта мочеиспускания. Можно надеяться, что, изучив до конца этот процесс, мы сможем по-настоящему раскрыть роль ФРН в формировании urgenных, а возможно, и других форм нарушений акта мочеиспускания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Guralnick M.L., Grimsby G., Liss M., Szabo A., O'Connor R.C. Objective differences between overactive bladder patients with and without urodynamically proven detrusor overactivity. *Int. Urogynecol. J.* 2010;21:325–329.
2. Haylen B.T., Chetty N., Logan V., Schulz S., Verity L., Law M., Zhou J. Is sensory urgency part of the same spectrum of bladder dysfunction as detrusor overactivity? *Int. Urogynecol. J. Pelvic Floor. Dysfunct.* 2007;18:123–128.
3. Southgate J., Varley C.L., Garthwaite M.A., Hinley J., Marsh F., Stahlschmidt J., Trejdosiewicz L.K., Eardley I. Differentiation potential of urothelium from patients with benign bladder dysfunction. *BJU Int.* 2007;99(6):1506–1516.
4. Steers W.D., Kolbeck S., Creedon D., Tuttle J.B. Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. *J. Clin. Invest.* 1991;88:1709–1715.
5. Okragly A.J., Niles A.L., Saban R., Schmidt D., Hoffman R.L., Warner T.F., Moon T.D., Uehling D.T., Haak-Frendscho M. Elevated tryptase, nerve growth factor, neurotrophin-3 and glial cell line-derived neurotrophic factor levels in the urine of interstitial cystitis and bladder cancer patients. *J. Urol.* 1999;161:438–441.
6. Lowe E.M., Anand P., Terenghi G., Williams-Chestnut R.E., Sinicropi D.V., Osborne J.L. Increased nerve growth factor levels in the urinary bladder of women with idiopathic sensory urgency and interstitial cystitis. *Br. J. Urol.* 1997;79:572–577.
7. Tuttle J.B., Steers W.D., Albo M., Nataluk E. Neural input regulates tissue NGF and growth of the adult urinary bladder. *J. Auton. Nerv. Syst.* 1994;49:147–158.
8. Dupont M.C., Spitsbergen J.M., Kim K.B., Tuttle J.B., Steers W.D. Histological and neurotrophic changes triggered by varying models of bladder inflammation. *J. Urol.* 2001;166:1111–1118.
9. Abrams P., Cardozo L., Fall M., Griffiths D., Rosier P., Ulmsten U., van Kerrebroeck P., Victor A., Wein A.; Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol. Urodyn.* 2002;21(2):167–178.
10. Родионов И.М. Фактор роста нервов, гипертрофия и деструкция

симпатической системы в эксперименте. Соросовский образовательный журнал. 1996;3:17–22.

11. *Vizzard M.A.* Changes in urinary bladder neurotrophic factor mRNA and NGF protein following urinary bladder dysfunction. *Exp. Neurol.* 2000;161:273–284.
12. *Yoshimura N.* Bladder afferent pathway and spinal cord injury: possible mechanisms inducing hyperreflexia of the urinary bladder. *Prog. Neurobiol.* 1999;57:583–606.
13. *Seki S., Sasaki K., Igawa Y., et al.* Detrusor overactivity induced by increased levels of nerve growth factor in bladder afferent pathways in rats. *Neurourol. Urodyn.* 2003;22:375–377.
14. *Vizzard M.A.* Neurochemical plasticity and the role of neurotrophic factors in bladder reflex pathways after spinal cord injury. *Prog. Brain Res.* 2006;152:97–115.
15. *Lamb K., Gebhart G.F., Bielefeldt K.* Increased nerve growth factor expression triggers bladder overactivity. *J. Pain.* 2004;5:150–156.
16. *Yoshimura N., Bennett N.E., Hayashi Y., Ogawa T., Nishizawa O., Chancellor M.B., de Groat W.C., Seki S.* Bladder overactivity and hyperexcitability of bladder afferent neurons after intrathecal delivery of nerve growth factor in rats. *J. Neurosci.* 2006;26:10847–10855.
17. *Zvara P., Vizzard M.A.* Exogenous overexpression of nerve growth factor in the urinary bladder produces bladder overactivity and altered micturition circuitry in the lumbosacral spinal cord. *BMC Physiol.* 2007;7:9.
18. *Liu H.T., Kuo H.C.* Urinary nerve growth factor level could be a potential biomarker for diagnosis of overactive bladder. *J. Urol.* 2008;179: 2270–2274.
19. *Kuo H.C., Liu H.T., Chancellor M.B.* Can urinary nerve growth factor be a biomarker for overactive bladder? *Rev. Urol.* 2010;12(2–3):e69–77.
20. *Shalom D.F., Pillalamarri N., Xue X., Kohn N., Lind L.R., Winkler H.A., Metz C.N.* Sacral Nerve Stimulation reduces elevated urinary nerve growth factor levels in women with symptomatic detrusor overactivity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014;211(5):561.
21. *Knippschild S., Frohme C., Olbert P., Hofmann R., Hegele A.* Value of nerve growth factor levels in overactive bladder syndrome: alterations after botulinum toxin therapy *Urologe A.* 2012;51(3):379–383.
22. *Kim J.C., Park E.Y., Seo S.I., Park Y.H., Hwang T.K.* Nerve growth factor and prostaglandins in the urine of female patients with overactive bladder. *J. Urol.* 2006;175:1773–1776.

Поступила 01.04.15

Инъекционная эффективность в таблетках*

при хроническом
простатите^{2,3}



№1 в назначениях
антибиотиков¹

Юнидокс Солютаб®

доксицилин

Вильпрафен®

джозамицин

Препараты выбора для терапии
обострений хронического простатита^{4,5**}

- Широкий спектр действия^{2,3}
- Высокая эффективность⁶
- Улучшение показателей спермограммы^{7,8}



* Яковлев С. В., Довгань Е. В. Аспекты эффективности антибиотиков. Справочник поликлинического врача. 2014, №6, стр. 4–6.

** Вызванных внутриклеточными возбудителями *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*.

1. Препараты компании Астеллас занимают первое место по назначениям врачами антибиотиков в крупнейших городах России. Настоящая информация основана на исследовании, проводимых ООО «Синовейт Комкон» и действительна по состоянию на апрель 2015 года.

2. Инструкция по медицинскому применению препарата Вильпрафен® (П N012028/01-230112). С инструкцией можно ознакомиться на сайте ГРЛС: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?idReg=38847&t

3. Инструкция по медицинскому применению препарата Юнидокс Солютаб® (П N013102/01-120908). С инструкцией можно ознакомиться на сайте ГРЛС: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?idReg=131893&t

4. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов: Федеральные клинические рекомендации / Под ред. Перепановой Т. С. с соавт. М., 2015. 72 с.

РОДВК. РОАГ. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных хламидийной инфекцией, урогенитальными заболеваниями, вызванными *M. genitalium*, *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis*. 2015.

5. Grabe M. et al. European Association of Urology. Guidelines on Urological Infections 2015.

6. Винаров А. 3. и соавт. Лечение больных простатитом доксициклином (Юнидокс Солютаб®) и/или джозамицином (Вильпрафен®) в реальной клинической практике. Результаты наблюдательного исследования TAURUS / Урология, 2015; 3.

7. Schramm P. et al. Josamycin concentration in human ejaculate and its influence on sperm motility – a contribution to antibiotic therapy in andrological patients. Andrologia 1998; 20 (6): 521–5.

8. Hamada A. et al. Empirical Treatment of Low-level Leukocytospermia With Doxycycline in Male Infertility Patients. UROLOGY. 2011; 78: 1320–1325.

Информация для специалистов здравоохранения с распространением на специализированных мероприятиях

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56. Факс +7 (495) 737-07-50.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

В. Н. Павлов, А. А. Бакиров, И. Р. Кабилов, А. А. Измайлов, Л. М. Кутлияров,
Р. И. Сафиуллин, М. Ф. Урманцев, И. М. Султанов, Р. В. Абдрахимов

РЕКОНСТРУКТИВНО-ПЛАСТИЧЕСКОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ТАЗОВОГО ДНА ПОСЛЕ ЭВИСЦЕРАЦИИ МАЛОГО ТАЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОЖНО-МЫШЕЧНОГО ЛОСКУТА ТОНКОЙ МЫШЦЫ БЕДРА

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

Автор для связи: И. Р. Кабилов — ассистент кафедры урологии с курсом ИПО; e-mail: ildarkabirov@gmail.com

Эвисцерация органов малого таза (ЭОМТ) является довольно редкой операцией, в ходе которой полностью удаляется все содержимое малого таза. Для восстановления тазового дна после ЭОМТ мы используем кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра.

С ноября 2013 по декабрь 2014 г. 10 пациенткам с местнораспространенными опухолями малого таза была выполнена ЭОМТ с реконструктивно-пластическим восстановлением тазового дна с использованием кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы бедра. Мы описываем процедуру оперативного лечения и исход операций этим пациентам.

Средний возраст пациентов составил 55 лет. Средняя продолжительность операции ЭОМТ с восстановлением тазового дна составила 285 мин, объем кровопотери в среднем — 595 мл. Среднее пребывание пациента в стационаре — 19 дней. Кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра обладает достаточным артериальным кровоснабжением и мобильностью для реконструктивной пластики тазового дна. В одном из 10 клинических случаев был зафиксирован некроз дистального края, в то время как остальные лоскуты остались полностью сохранены. Во время наблюдения полное заживление ран без признаков ослабления мышц тазового дна наблюдается во всех случаях. Реконструкция тазового дна — необходимая процедура для снижения осложнений, связанных с эвисцерацией органов малого таза. Кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра является логичным выбором для замещения дефекта, который не приводит к функциональному дефициту нижней конечности, не осложняет формирование стом и не ослабляет мышцы передней брюшной стенки живота.

К л ю ч е в ы е с л о в а: эвисцерация органов малого таза, тазовое дно, кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Павлов В.Н., Бакиров А.А., Кабилов И.Р., Измайлов А.А., Кутлияров Л.М., Сафиуллин Р.И., Урманцев М.Ф., Султанов И.М., Абдрахимов Р.В. Реконструктивно-пластическое восстановление тазового дна после эвисцерации малого таза с использованием кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы бедра. Урология. 2015;3:39–42.

Введение. Для большинства пациентов с местнораспространенными первичными или рецидивирующим злокачественными новообразованиями малого таза эвисцерация остается лучшим вариантом лечения. Тотальная эвисцерация органов малого таза (ЭОМТ) — удаление единым блоком всех органов малого таза, включая прямую кишку, мочевого пузыря, а также органов репродуктивной системы, которое заканчивается формированием коло- и уретеростом на передней брюшной стенке (в исключительных случаях ортотопической пластикой мочевого пузыря и низким ректальным анастомозом [1–4]). В 1950 г. Bricker разработал технику уретероилеостомии, которая остается одним из самых часто используемых методов реконструктивной пластики нижних мочевыводящих путей после ЭОМТ [1, 2].

В случаях, когда в опухолевый процесс вовлечены половые органы (у женщин — стенки влагалища и большие половые губы), оперативное лечение приводит к образованию обширных дефектов промежности, закрыть которые только посредством сведения краев раны невозможно. Применение современных методик реконструктивной хирургии

при образовании дефектов промежности — необходимая процедура для снижения осложнений, связанных с эвисцерацией органов малого таза [1, 2, 5, 6]. Использование кожно-мышечных лоскутов или пересадка свободного лоскута на микрососудистых анастомозах открывает новые возможности в закрытии практически любого дефекта мягких тканей. В литературе описано несколько вариантов кожно-мышечного лоскута для замещения дефекта промежности. Хирургические методы восстановления тазового дна у таких пациентов изучены довольно хорошо [4]; в некоторых случаях возможна даже реконструкция влагалища, позволяющая сохранять сексуальную функцию и улучшать качество жизни [5, 8].

Материалы и методы. С ноября 2013 по декабрь 2014 г. в отделении онкологии клиники БГМУ 10 пациенткам с местнораспространенными опухолями малого таза была выполнена ЭОМТ с реконструктивно-пластическим восстановлением тазового дна с использованием кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы бедра. Наиболее частым диагнозом являлся рак шейки матки (см. таблицу). Средний возраст пациенток составил 55 лет, средняя про-

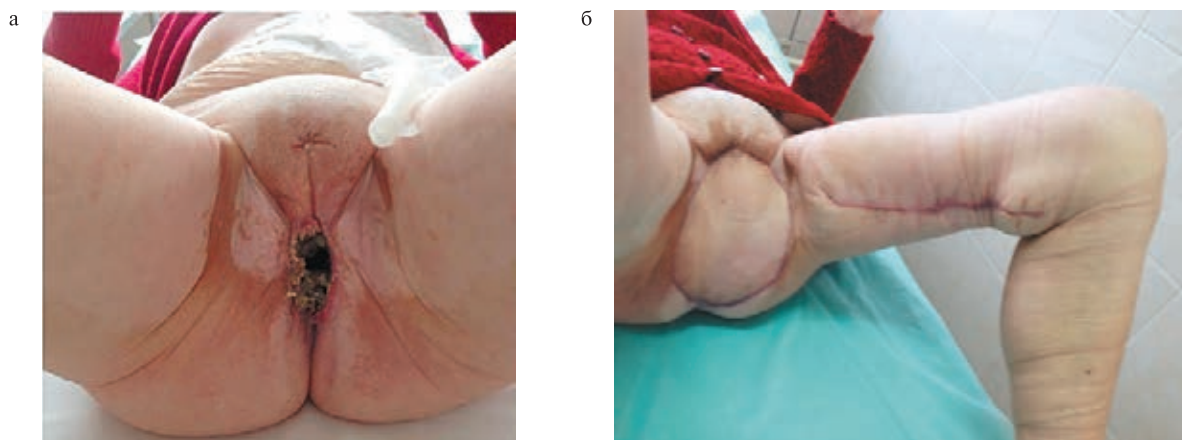


Рис. Внешний вид пациентки X. 54 лет

а — при поступлении: рецидивный рак влагалища; б — через 1 мес после реконструктивно-восстановительной операции с использованием мышечно-кожного лоскута тонкой мышцы бедра.

должительность операции — 285 мин, объем кровопотери в среднем — 595 мл. Среднее пребывание пациентки в стационаре — 19 дней. Все пациентки были проинформированы о предстоящей операции и получили рекомендации специалиста по вопросу ранних и поздних послеоперационных осложнений. Срок наблюдения за пациентками составил 12 мес после операции. Ранних осложнений, связанных с заживлением кожно-мышечного лоскута, не было отмечено; у одного из пациентов был зафиксирован некроз дистального отдела лоскута. Заживление раневого дефекта у этого пациента произошло вторичным натяжением.

Клинический пример

У одной из пациенток был диагностирован рецидивный рак влагалища с распадом опухоли (см. рисунок, а), вследствие чего возникла необходимость в проведении широкой резекции кожи промежности.

П а ц и е н т к а X. 54 лет поступила в отделение онкологии Клиники БГМУ с диагнозом: *tumor* вульвы

T3N1M0. Состояние после комбинированной химиолучевой терапии. Прорастание в матку, прямую кишку, мочевой пузырь. В анамнезе в 2008 г. выявлено злокачественное новообразование влагалища, в том же году было выполнено иссечение новообразования с последующей дистанционной лучевой терапией на паховые лимфоузлы СОД 44,5 Гр, ложе опухоли 39 Гр. В 2010, 2011, 2012 г. по поводу рецидива трижды было выполнено иссечение образования, в 2012 г. — с последующей дистанционной лучевой терапией (паховые лимфоузлы СОД 30 Гр, ложе опухоли 33 Гр). В 2013 г. по поводу рецидива опухоли проведена химиолучевая, а также местная химиотерапия с использованием салфеток Колетекс-фтор с 5-фторурацилом 3 мг/см. В сентябре 2014 г. по результатам рентгенкомпьютерной томографии, в ходе которой выявлено прорастание опухоли в матку, прямую кишку и мочевой пузырь, была выполнена эксплоративная лапаротомия, наложена двустольная сигмостома. После дополнительного обследования в ноябре 2014 г. проведена ЭОМТ с реконструктивно-пластическим восстановлением

Т а б л и ц а

Характеристика пациентов, перенесших ЭОМТ с реконструктивно-пластическим восстановлением тазового дна

Диагноз	Возраст, годы	Продолжительность операции, мин	Объем кровопотери, мл	Количество проведенных койко-дней
Тумор вульвы	54	270	500	16
Рак шейки матки	66	300	550	21
Рак яичников	52	255	400	18
Рак шейки матки	58	315	600	17
Рак шейки матки	63	285	1100	23
Тумор вульвы	59	290	700	16
Рак шейки матки	49	315	350	28
Рак шейки матки	50	305	400	20
Рак прямой кишки	48	280	700	14
Рак шейки матки	57	275	650	16

тазового дна кожно-мышечным лоскутом тонкой мышцы бедра.

Техника операции и результаты. Операция ЭОМТ была выполнена в соответствии с рекомендациями, представленными в современной литературе, и включала удаление дистальных отделов мочевыводящих путей, матки с придатками и прямой кишки [1, 2, 12, 13]. Заключительным этапом резекции стало удаление в составе единого блока больших половых губ, мягких тканей промежности и перианальной области. В результате резекции размер дефекта кожи промежности составил 250х160 мм. Кожно-мышечный лоскут правой тонкой мышцы бедра шириной 110 и длиной 220 мм был сформирован в виде вертикального островка по стандартной методике от дистальной границы к проксимальной. Сосудистая ножка рассечена на составляющие, чтобы увеличить ее длину и предупредить перегиб питающих артерий. В подкожной клетчатке паховой области был сформирован тоннель, по которому кожно-мышечный лоскут проведен к месту дефекта промежности. Затем лоскут был ротирован на 180°, чтобы полностью закрыть данный дефект. Дефект, сформированный в результате забора кожно-мышечного лоскута, был ушит с установлением дренажей. В дополнение к обычным процедурам послеоперационного ухода больная находилась в лежачем положении с отведением левой ноги на 20°.

Состояние кожно-мышечного лоскута оценивали по показателям микроциркуляции: цвету кожи, температуре поверхности; с помощью ультразвукового доплеровского сканирования визуализировали перфорантные артерии в лоскуте. Контроль микроциркуляции осуществлен методом лазерной доплеровской флоуметрии. В послеоперационном периоде проведена профилактическая терапия препаратами простагландина E1 (вазапростан 40 мкг внутривенно 1 раз в сут), низкомолекулярного гепарина (клексан 40 мг подкожно 1 раз в сут). Пациентка активизирована на 5-е сутки после операции. Спустя 20 сут после операции было достигнуто заживление раны, приживление лоскута на месте дефекта промежности и заживление донорского участка левого бедра без видимых осложнений. В настоящее время пациентка получает лучевую терапию, поэтому оценка онкологических результатов не проводилась (см. рисунок, б).

Обсуждение. Кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра был описан Schoeller и соавт. для реконструктивной пластики груди, а также как свободный лоскут для использования в других областях [10, 11]. Кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра довольно давно вошел в практику реконструктивно-пластических хирургов и широко используется в настоящее время [3–5, 12]. Тем не менее на сегодняшний день в литературе представлены единичные работы, касающиеся возможностей использования кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы для реконструкции больших дефектов аналогичных тем, для замещения которых используется лоскут прямой мышцы живота или широчайшей мышцы спины [11, 12]. Тонкая мышца бедра применяется в реконструктивно-пластической хирургии в виде свободного лоскута, а также в виде перенесенного лоскута на сосудистой ножке. Кожно-мышечный лоскут тонкой мышцы бедра используется при восстановлении тазового дна и реконструкции влагали-

ща после онкологических операций, в лечении рецидивирующих пузырно-влагалищных, ректовагинальных свищей. Вертикальные и поперечные мышечно-кожные лоскуты тонкой мышцы бедра в последние годы стали использовать в виде свободных лоскутов для реконструктивно-пластического восстановления груди с заявленными размерами кожных островков 5–9 см в длину и 10–18 см в ширину [9, 11]. Ввиду близкого расположения донорского участка к малому тазу и половым органам представляется вполне обоснованным замещать дефект промежности кожно-мышечным лоскутом тонкой мышцы бедра после ЭОМТ. В свою очередь забор данного лоскута не создает функциональных проблем для пациентов, не ослабляет переднюю брюшную стенку пациентов и не приводит к проблемам, связанным с выведением стом на переднюю брюшную стенку.

Благополучное закрытие раневого дефекта произошло у всех пациентов в нашей небольшой серии. Однако не стоит забывать об очень высоком риске некроза кожной части лоскута, связанного с нарушением микроциркуляции кожи в сложном лоскуте. По нашему мнению, эти осложнения связаны с предшествующей хирургическому лечению лучевой и химиотерапии.

Заключение. Эвисцерация органов малого таза и ее модификации считаются одним из вариантов лечения пациентов с местнораспространенными опухолями малого таза. Прогресс, достигнутый в улучшении отбора пациентов, хирургической техники и интраоперационной помощи привел к снижению послеоперационных осложнений. Восстановление тазового дна после ЭОМТ продолжает оставаться серьезной проблемой в мировой хирургической практике. Использование кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы бедра для реконструктивной пластики является важным дополнением к арсеналу хирурга. Как показал наш опыт, мышечная часть лоскута служит хорошей основой кровоснабжения кожного островка, чем снижает риск нарушения микроциркуляции кожи. Это объясняется тем, что мышца в составе лоскута неизменно остается жизнеспособной, совместно с большей частью подкожно-жировой клетчатки обеспечивая заживление раневого дефекта, что обуславливает наиболее частое использование кожно-мышечных лоскутов в реконструктивно-пластической хирургии.

Считаем, что реконструктивно-пластическое восстановление тазового дна с использованием кожно-мышечного лоскута тонкой мышцы бедра — обоснованная процедура и рекомендуем специалистам использовать эту технику в отношении соответствующих пациентов, подвергающихся ЭОМТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хинман Ф. Оперативная урология: атлас. Под ред. Ю.Г. Аляева, В.А. Григоряна. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 1192 с.
2. Wechselberger G. Versatility of the free gracilis muscle flap for coverage of soft tissue defects. Oper. Orthop. Traumatol. 2008;20(2):119–127.
3. Агуллин И.Р., Дидакунан Ф.И., Зиганшин М.И., Агуллин Т.И. Эвисцерация тазовых органов — способ повышения резектабельности местнораспространенного рака прямой кишки. Материалы пятой международной конференции «Мультидисциплинарный подход в лечении рака прямой

- кишки». 2011. С. 85.
4. Давыдов М.И., Одарюк Т.С., Нечушкин М.И. и др. Тактика оперативного лечения при местнораспространенных опухолях органов малого таза с поражением мочевого пузыря. Онкоурология. 2006;2:26–30.
 5. Петров Л.О., Алексеев Б.Я., Сидоров Д.В. и др. Возможности реконструкции мочевыделительной системы после тотальных экзентераций малого таза у пациентов с местно-распространенными первичными и рецидивными опухолями прямой кишки. Онкоурология. 2011; 1:95–100.
 6. Salom E.M., Penalver M.A. Pelvic exenteration and reconstruction. Cancer J. 2003;9:415–424.
 7. Berek J.S., Howe C., Lagasse L.D., Hacker N.F. Pelvic exenteration for recurrent gynecologic malignancy: survival and morbidity analysis of the 45-year experience at UCLA. Gynecol. Oncol. 2005;99(1):153–159.
 8. Schmidt V.J., Horch R.E., Dragu A., Weber K., Göhl J., Mehlhorn G., Kneser U. Perineal and vaginal wall reconstruction using a combined inferior gluteal and pudendal artery perforator flap: a case report. J. Plast. Reconstr. Aesthetic. Surg. 2012;65(12): 1734–1737.
 9. Kind G.M., Foster R.D. The longitudinal gracilis myocutaneous flap, broadening options in breast reconstruction. Ann. Plast. Surg. 2008;61(5):513–520.
 10. Schoeller T., Huemer G.M., Wechselberger G. The transverse musculocutaneous gracilis flap for breast reconstruction: guidelines for flap and patient selection. Plast. Reconstr. Surg. 2008;122(1):29–38.
 11. Arnez Z.M., Pogorelec D., Planinsek F., Ahcan U. Breast reconstruction by the free transverse gracilis (TUG) flap. Br. J. Plast. Surg. 2004;57:20–26.
 12. Giordano P.A., Abbes M., Pequignot J.P. Gracilis blood supply: anatomical and clinical re-evaluation. Br. J. Plast. Surg. 1990;43:266–272.
 13. Hussey A.J., Laing A.J., Regan P.J. An anatomical study of the gracilis muscle and its application in groin wounds. Ann. Plast. Surg. 2007;59:404–409.

Поступила 13.03.15

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТРАКАВЕРНОЗНОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ, В ЛЕЧЕНИИ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

¹НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека; ²кафедра урологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова

Автор для связи: — М. В. Епифанова; e-mail: epifanova_maya@mail.ru

Данная статья посвящена новому методу лечения эректильной дисфункции (ЭД) у мужчин с помощью аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (АОТ). В последнее время отмечился значительный рост интереса к данной технологии регенеративной медицины, что связано с ее высокой эффективностью при высоком уровне безопасности и низкой себестоимости. Сегодня АОТ успешно применяется в различных областях медицины (хирургии, травматологии и ортопедии, спортивной медицине, косметологии). Однако до сих пор отсутствуют исследования с точки зрения доказательной медицины по оценке эффективности и отдаленных результатов применения АОТ в лечении ЭД. В настоящей статье приведены результаты клинического исследования по применению АОТ у мужчин с ЭД, подведен сравнительный анализ эффективности разных способов введения АОТ и в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5, а также обсуждены вероятные механизмы действия АОТ в восстановлении эректильной функции.

Ключевые слова: АОТ (аутоплазма, обогащенная тромбоцитами), PRP (platelet-rich plasma), эректильная дисфункция (ЭД), ингибиторы ФДЭ-5, факторы роста, ангиогенез, регенеративная медицина

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Чалый М.Е., Григорян В.А., Епифанова М.В., Краснов А.О. Эффективность интракавернозного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в лечении эректильной дисфункции. Урология. 2015;4:76–79.

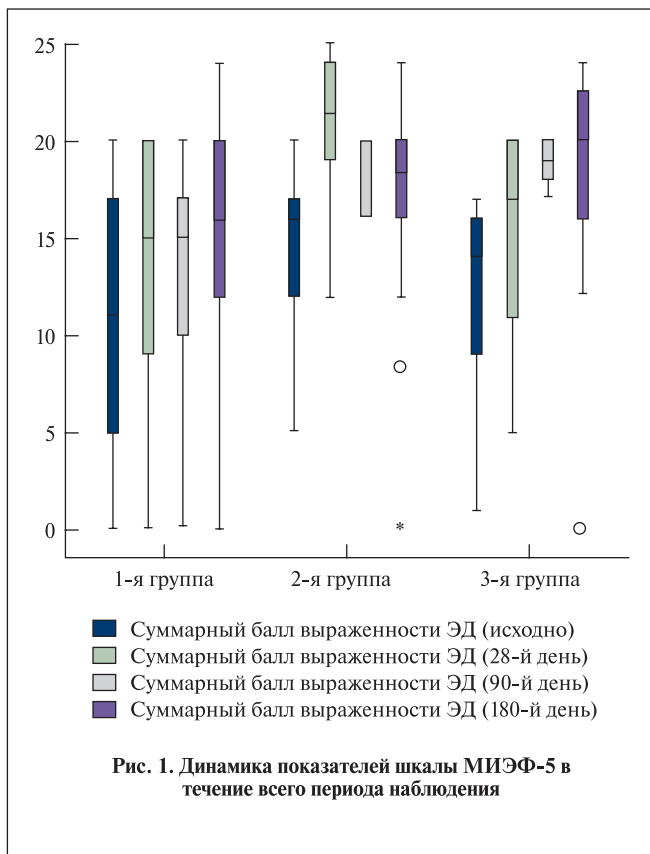
Введение. Согласно последнему эпидемиологическому исследованию, проведенному на территории России, из 1225 мужчин в возрасте от 20 до 75 лет только у 10% отсутствовали признаки эректильной дисфункции (ЭД) [1]. На сегодняшний день «золотым» стандартом терапии ЭД является прием ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа (ФДЭ-5). Данные препараты применяются с конца 1990-х гг. и доказали свою высокую эффективность. Несмотря на это, существуют пациенты, для которых любая фармакотерапия оказывается неэффективной. По данным зарубежных коллег, эффективность ингибиторов ФДЭ-5 достигает 71% [2]. При этом 62 и 78% мужчин продолжают принимать ингибиторы ФДЭ-5 после первого и второго приемов препарата соответственно [3]. Доказано, что в течение 2,5-летнего наблюдения 38–51% пациентов прекращают прием ингибиторов ФДЭ-5 [4]. Основной причиной отказа от продолжения применения ингибиторов ФДЭ-5 74–83% респондентов стало отсутствие эффекта [5]. Также при опросе было выявлено, что по крайней мере 23% мужчин хотя бы однажды разочаровывались в результате действия ингибиторов ФДЭ-5 [6].

Причиной снижения эффективности ингибиторов ФДЭ-5 для разных людей могут быть как несоблюдение инструкции по применению лекарства, так и физиологические особенности, а также патологические изменения в организме. Задержанная эвакуация желудочного содержимого, повышенный или сниженный метаболизм печени, нарушение кровообращения, дефицит нейрональной или эндотелиальной синтазы оксида азота (после радикальной простатэктомии, при сахарном диабете), различия в проницаемости клеточной мембраны для ингибито-

ров ФДЭ-5, различия в чувствительности к фосфодиэстеразе на молекулярном уровне обуславливают снижение потенциала эффективности лекарственного средства.

Не теряет актуальности поиск новых методов лечения ЭД. Получение и клиническое применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, — перспективное направление, связанное с использованием факторов роста, содержащихся внутри тромбоцитов, с целью активации собственных регенеративных и репаративных способностей организма.

В норме концентрация тромбоцитов в крови составляет 150–300 тыс. в 1 мкл. Доказано, что стимулирующий эффект АОТ проявляется, если концентрация тромбоцитов превышает 750 тыс./мкл [8]. Чем больше концентрация тромбоцитов, тем больше высвобождается факторов роста, которые содержатся в тромбоцитах. Факторы роста — это естественные полипептиды, близкие к гормонам. Подобно гормонам, они обладают широким спектром биологического воздействия на многие клетки — стимулируют и ингибируют митогенез, хемотаксис, дифференцировку клеток. Однако, в отличие от гормонов, факторы роста действуют локально и не циркулируют в свободной форме. Поскольку АОТ получают из собственной крови пациента, процедура инъекционирования безопасна с точки зрения переноса инфекционных заболеваний, например ВИЧ или вирусный гепатит. Аутоплазма, обогащенная тромбоцитарными факторами роста, стимулирует образование коллагена, ускоряет регенерацию кожи и слизистых, индуцирует рост сосудов, эндотелия, обеспечивает гемостаз, уменьшает боль, обладает противовоспалительным эффектом [9, 10].



Цель настоящей работы: оценить эффективность и безопасность интракавернозного введения АОТ в лечении ЭД.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 75 пациентов, обратившихся в клинику урологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова в период с 2013 по 2015 г. с жалобами на ЭД. Возраст пациентов составил $43,7 \pm 13,1$ года, продолжительность ЭД — $2,96 \pm 1,6$ мес.

Все пациенты были рандомизированы на 3 группы. В 1-й группе пациентам ($n=30$) вводили активированную АОТ, во 2-й группе ($n=30$) вместе с введением активированной АОТ назначали ингибиторы ФДЭ-5, в лечении пациентов 3-й группы ($n=15$) использовали неактивированную АОТ.

Аутоплазму, обогащенную тромбоцитарными факторами роста, получали методом двухэтапного центрифугирования 72 мл аутокрови для получения максимальной концентрации тромбоцитов до 2400 тыс./мкл. Для высвобождения тромбоцитарных факторов роста использовали 10%-ный раствор хлорида кальция (CaCl_2) — активированную АОТ. Инъекции АОТ проводили с помощью инсулинового шприца в каждое кавернозное тело по 4 мл по латеральной поверхности полового члена. Общее количество АОТ составило 8 мл. Процедуру повторяли трижды с интервалом в 1 нед [11].

Оценку эффективности лечения проводили на основании данных анкетирования по шкалам МИЭФ-5, SEP (профиль половых отношений), фармакодоплерографии сосудов полового члена (ФДГ) с простагландин Е1 (ПГ Е1) и оценки функции эндотелия сосудов аппаратным комплексом Ангиоскан-01 через 28 дней после первой инъекции, через 90 и 180 дней после начала лечения.

Результаты, полученные в ходе уточнения анамнеза, клинического обследования, фармакодоплерографии полового члена, оценки ближайших и отдаленных результатов применения АОТ были обработаны с применением методов описательной статистики.

Результаты. По данным контрольного обследования пациентов 1-й группы отмечено значимое повышение суммарного балла эректильной функции по шкале МИЭФ-5 ($p=0,046$). Результаты анкетирования по SEP свидетельствовали об увеличении способности достижения минимальной эрекции в течение всего времени наблюдения ($p=0,001$), увеличении способности к пенетрации ($p=0,001$), значимом увеличении числа пациентов, которым удалось сохранить эрекцию достаточно долго ($p=0,001$). Кроме того, возросло число пациентов, удовлетворенных силой эрекции ($p=0,001$), значимо возросла удовлетворенность половым актом в целом ($p=0,001$). В группе отмечено достоверное увеличение числа пациентов с повышением максимальной скорости кровотока на 30 см/с и более после инъекции простагладина Е1 с индексом резистентности 0,8 и более ($p=0,001$). Статистически значимых изменений индекса окклюзии и модуля сдвига фаз выявлено не было ($p=0,144$).

Введение активированной АОТ в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5 (2-я группа) обусловило значимое повышение суммарного балла эректильной функции по шкале МИЭФ-5 ($p=0,046$). При оценке по SEP отмечено статистически значимое увеличение способности достижения минимальной эрекции в течение всего времени наблюдения ($p=0,001$). Также констатировано увеличение способности к пенетрации ($p=0,026$), увеличение числа пациентов, которым удалось сохранить эрекцию достаточно долго ($p=0,021$). Достоверно возросло число пациентов, удовлетворенных силой эрекции ($p=0,001$), значимо возросла удовлетворенность половым актом в целом ($p=0,003$). Данные ФДГ сосудов полового члена свидетельствовали о значимом увеличении числа пациентов с повышением максимальной скорости кровотока на 30 см/с и более после инъекции ПГ Е1 ($p=0,028$) с индексом резистентности 0,8 и более. Зарегистрировано значимое изменение индекса окклюзии ($p=0,001$) и модуля сдвига фаз при исследовании на аппарате «Ангиоскан-01» ($p=0,006$).

В 3-й группе пациентов имело место значимое повышение суммарного балла эректильной функции по шкале МИЭФ-5 ($p=0,002$). Оценка по SEP указывала на статистически значимое увеличение способности достижения минимальной эрекции в течение всего времени наблюдения ($p=0,001$). Способность к пенетрации изменилась незначительно ($p=0,392$) при значимом увеличении числа пациентов, которым удалось сохранить эрекцию достаточно долго ($p=0,058$). Также достоверно возросло число пациентов, которые стали удовлетворены силой эрекции ($p=0,003$). Доказательно возросла удовлетворенность половым актом в целом ($p=0,003$). Согласно данным ФДГ сосудов полового члена с ПГ Е1 увеличение числа пациентов с повышением максимальной скорости кровотока на 30 см/с и более и индексом резистентности 0,8 и более хотя и увеличилось, но было

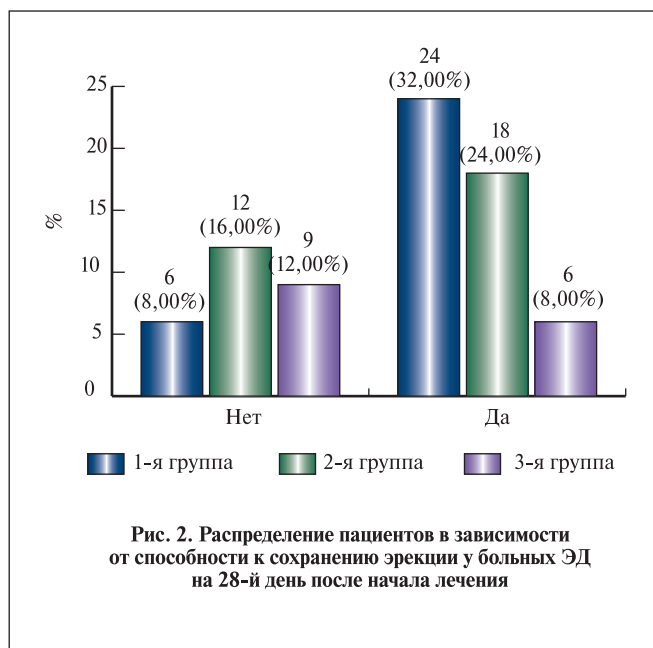


Рис. 2. Распределение пациентов в зависимости от способности к сохранению эрекции у больных ЭД на 28-й день после начала лечения

статистически незначимым — $p=0,261$ и $p=0,872$ соответственно. Показатели индекса окклюзии и модуля сдвига фаз не выявили статистически значимой динамики ($p=0,95$).

Суммарный балл по шкале МИЭФ-5 имел значимые изменения на 28-й день у пациентов с применением активированной АОТ в комбинации с ФДЭ-5 ($p=0,001$), а также на 90-й день при лечении неактивированной АОТ ($p=0,001$). К 180-му дню наблюдения значимых различий между группами не выявлено ($p=0,331$; рис. 1).

На 28-й день наблюдения значимых различий в способности достижения минимальной эрекции между группами, получавшими различные виды лечения, не выявлено ($p=0,443$). Также не отмечено различий в способности к пенетрации ($p=0,123$). Зарегистрировано значимое увеличение числа пациентов, которым удалось сохранить эрекцию достаточно долго после применения активированной АОТ ($p=0,026$; рис. 2).

Степень эрекции после введения ПГ Е1 на 28-й день лечения между группами не имела значимых различий ($p=0,337$). На 90-й день значимо большая степень эрекции отмечена в группе, которая получала лечение активированной АОТ в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5 ($p=0,002$). На 180-й день наиболее выраженный клинический ответ был зафиксирован в 3-й группе, получавшей лечение неактивированной АОТ $p=0,001$; рис. 3).

На 28-й день наблюдения преобладали пациенты с индексом резистентности 0,8 и более в группе пациентов, получавших лечение активированной аутоплазмой ($p=0,003$; рис. 4).

Обсуждение. Применение АОТ, активированной и неактивированной, как изолированно, так и в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5, пациентами с ЭД позволило статистически значимо уменьшить выраженность симптомов заболевания. Отмечено увеличение суммарного балла по шкале МИЭФ-5, SEP, повышение максимальной скорости кровотока и индекса резистентности по данным ФДГ сосудов полового члена. Однако значимое улучшение эндо-

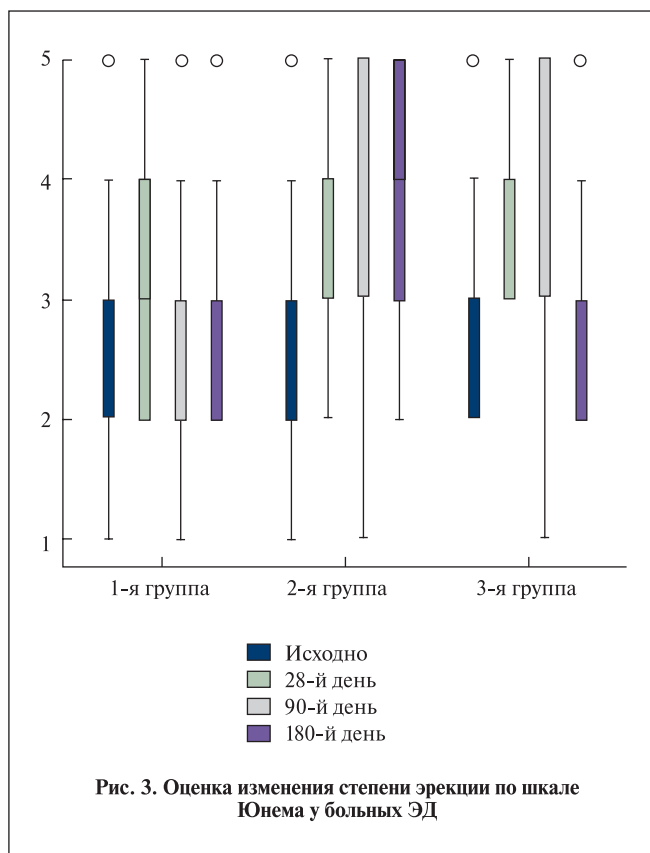


Рис. 3. Оценка изменения степени эрекции по шкале Юнема у больных ЭД

телиальной функции было отмечено только во 2-й группе, в которой применяли активированную АОТ в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5.

При сравнении результатов эффективности было отмечено более значимое увеличение показателя МИЭФ-5 при введении активированной АОТ по сравнению с неактивированной АОТ. Показатель SEP не имел значимых различий. Также не было выявлено различий в увеличении прироста кровотока и в динамике индекса резистентности при ФДГ сосудов полового члена. Было отмечено достовер-

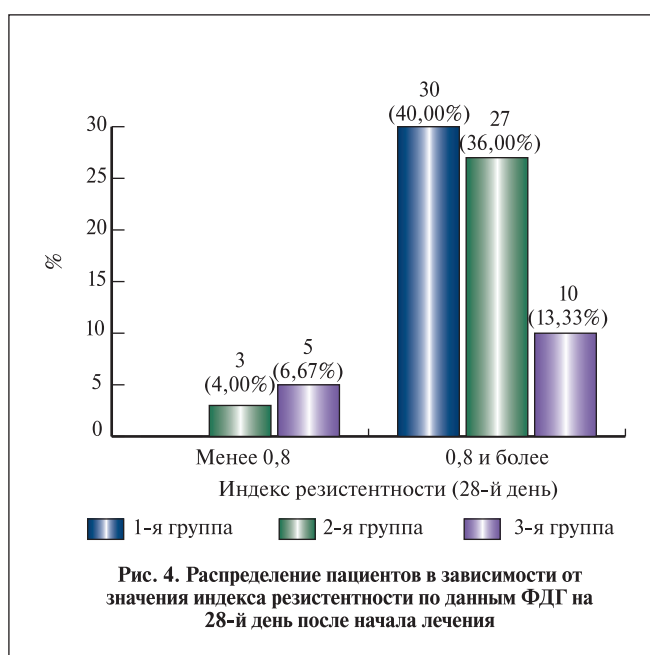


Рис. 4. Распределение пациентов в зависимости от значения индекса резистентности по данным ФДГ на 28-й день после начала лечения

ное увеличение показателя МИЭФ-5 при лечении активированной АОТ в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5 по сравнению с введением только активированной АОТ. Показатель SEP не имел значимых различий, как и не было выявлено различий в увеличении прироста кровотока в динамике индекса резистентности при ФДГ сосудов полового члена.

Заключение. Комбинированное применение АОТ и ингибиторов ФДЭ-5 позволяет повышать эффективность лечения ЭД.

Полученные результаты свидетельствуют об эффективности аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, и позволяют рекомендовать данный способ лечения ЭД.

В данной работе была продемонстрирована роль тромбоцитарных факторов роста в восстановлении эректильной функции. При обследовании мужчин с ЭД после лечения АОТ были получены многообещающие результаты, позволившие как субъективно (МИЭФ-5, SEP), так и объективно (ФДГ сосудов полового члена, Ангиоскан-01) свидетельствовать в пользу улучшения эректильной функции.

Проводимое сравнение эффективности 3 способов применения АОТ позволяет рекомендовать использование АОТ в комбинации с ингибиторами ФДЭ-5. Механизм синергизма 2 методов лечения до конца не изучен. Однако можно предположить, что за счет улучшения функции эндотелия сосудов полового члена после введения АОТ увеличивается количества нейрональной и эндотелиальной синтазы оксида азота, что приводит к повышению уровня цГМФ, расслаблению гладких мышц кавернозных тел и притоку к ним крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пушкарь Д.Ю., Камалов А.А., Аль-Шукри С.Х., Еркович А.А., Коган М.И., Павлов В.Н., Журавлев В.Н., Берников А.Н. Эпидемиологическое исследование распространенности эректильной дисфункции в Российской Федерации. Уральский медицинский журнал. 2012;3:75–79.
2. Ferguson J.E. Phosphodiesterase type 5 inhibitors as a treatment for erectile dysfunction: Current information and new horizons. *AJU*. 2013;11(3):222–229.
3. Fagelman E., Fagelman A., Shabsigh R. Efficacy, safety, and use of sildenafil in urologic practice. *Urology*. 2001;57:1141–1144.
4. Gonzalgo M.L., Brotzman M., Trock B.J., Geringer A.M., Burnett A.L., Jarow J.P. Clinical efficacy of sildenafil citrate and predictors of long-term response. *J. Urol*. 2003;170:503–506.
5. Souverein P.C., Egberts A.C., Meuleman E.J., Urquhart J., Leufkens H.G. Incidence and determinants of sildenafil (dis) continuation: the Dutch cohort of sildenafil users. *Int. J. Impot. Res*. 2002;14:259–265.
6. Eardley I., Rosen R., Fisher W., Niederberger C., Sand M. Attitudes toward treatment of erectile dysfunction: results from the MALES study. *Eur. Urol*. 2003;42(2).
7. Глыбочко П.В., Чалый М.Е., Епифанова М.В., Краснов А.О. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, в лечении эректильной дисфункции. *Урология*. 2015;1:100–103.
8. Lee J.W., Kwon O.H., Kim T.K., Cho Y.K., Choi K.Y., Chung H.Y., Cho B.C., Yang J.D., Shin J.H. Platelet-Rich Plasma: Quantitative Assessment of Growth Factor Levels and Comparative Analysis of Activated and Inactivated Groups. *Arch. Plast. Surg*. 2013;40:530–535.
9. Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M., Schimmele S.R., Strauss J.E., Georgeff K.R. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod*. 1998;85:638–646.
10. Weiser L., Bhargava M., Attia E., Torzilli P.A. Effect of serum and platelet-derived growth factor on chondrocytes grown in collagen gels. *Tissue Eng*. 1999;5:533e44.
11. Чалый М.Е., Епифанова М.В. Способ лечения эректильной дисфункции, патент РФ № 2514639 от 27.04.2014.

Поступила 05.06.15

Инъекционная эффективность в таблетках*

при циститах
и пиелонефритах²



№1 в назначениях
антибиотиков¹

Супракс® Солютаб® цефиксим

Препарат выбора для терапии
неосложненных ИМП в условиях
растущей резистентности
к фторхинолонам^{3,5}

- Высокая активность в отношении *E. coli*⁴⁻⁶
- Высокая концентрация в моче и тканях⁷⁻⁹
- Удобный режим дозирования 1 раз в день²



* Яковлев С. В., Довгань Е. В. Аспекты эффективности антибиотиков.

Справочник поликлинического врача. №6, 2014 г., стр. 4-6.

1. Препараты компании Астеллас занимают первое место по назначениям врачами антибиотиков в крупнейших городах России. Настоящая информация основана на исследованиях, проводимых ООО «Синовейт Комкон», и действительна по состоянию на апрель 2015 года.

2. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Супракс® Солютаб® (ЛСР-005995/10-250610). С инструкцией можно ознакомиться на сайте ГРЛС: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?idReg=85825&t

3. Синякова Л. А., Косова И. В. Антимикробная терапия неосложненных инфекций мочевых путей. Consilium medicum, 2014 (16), №7, с. 29-33.

4. Kresken M. et al. Comparative in vitro activity of oral antimicrobial agents against Enterobacteriaceae from patients with community-acquired urinary tract infections in three European countries. Clin Microbiol Infect 2016; 22: 63.e1-63.e5.

5. Яковлев С. В., Рафальский В. В., Сидоренко С. В. и соавт. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике: Российские практические рекомендации. Москва: Издательство «Пре100 принт», 2014. 121 с.

6. Палагин И. С. и соавт. Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России. Клин микробиол антимикроб химиотер 2012, Том 14, № 4, с. 280-302.

7. Гаджиева З. К. Особенности подхода к диагностике и лечению рецидивирующих инфекций нижних мочевыводящих путей. Урология, 2013, №3, с. 84-91.

8. Stone J. W. et al. Cefixime, in-vitro activity, pharmacokinetics and tissue penetration Journal of Antimicrobial Chemotherapy (1989) 23, 221-228.

9. Leroy A. Antimicrob. Agents Chemother. 1995. 39 (6): 1240-1242.

Информация для специалистов здравоохранения с распространением на специализированных мероприятиях

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56. Факс +7 (495) 737-07-50.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

О. Б. Лоран¹, М. И. Коган², Л. А. Синякова¹, А. Г. Иванов², А. З. Винаров³, Л. Г. Спивак³,
К. Л. Локишин³, А. В. Зайцев⁴, И. Л. Корсунская⁴, Ф. П. Капсаргин⁵, Е. Ю. Хлебнова⁵

РАЦИОНАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ИНФЕКЦИЙ НИЖНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОЙ НАБЛЮДАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ПО ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ЦЕФОРАЛ® СОЛЮТАБ® И УРО-ВАКСОМ® У ПАЦИЕНТОК С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ НЕОСЛОЖНЕННЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НИЖНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ (FLORA)

¹ ГБОУ ВПО РМАПО Минздрава России, ² ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»,
³ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», ⁴ ГБОУ ВПО МГМСУ им. А. И. Евдокимова, ⁵ ГБОУ ВПО
«Красноярский государственный медицинский университет им. В. Ф. Войно-Ясенецкого»

Автор для связи: Л. А. Синякова — проф. кафедры урологии и хирургической андрологии РМАПО;
e-mail: l.a.sinyakova@mail.ru

Схемы терапии инфекций мочевыводящих путей (ИМП), в целом оставаясь неизменными, требуют постоянного контроля ввиду растущей антибактериальной резистентности и снижения иммунного статуса большинства пациенток. В статье представлены результаты проведенной в РФ проспективной наблюдательной программы по оценке эффективности и безопасности применения препаратов Цефорал® Солютаб® и Уро-Ваксом® пациентками с рецидивирующими неосложненными инфекциями нижних мочевыводящих путей (FLORA). Полученные данные свидетельствуют о том, что препараты Цефорал® Солютаб® и Уро-Ваксом®, назначаемые в рамках повседневной клинической практики, способствуют значительному снижению числа рецидивов ИМП и характеризуются хорошим профилем безопасности, что позволяет рекомендовать данную схему терапии для лечения пациенток с рецидивирующими ИМП с учетом индивидуальных и эпидемиологических особенностей.

К л ю ч е в ы е с л о в а: рецидивирующий цистит, инфекции мочевыводящих путей, антибиотикотерапия, иммунопрофилактика, цефиксим, Уро-Ваксом

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Лоран О.Б., Коган М.И., Синякова Л.А., Иванов А.Г., Винаров А.З., Спивак Л.Г., Локишин К.Л., Зайцев А.В., Корсунская И.Л., Капсаргин Ф.П., Хлебнова Е.Ю. Рациональная терапия рецидивирующих инфекций нижних мочевыводящих путей. Результаты проспективной наблюдательной программы по оценке эффективности и безопасности применения препаратов Цефорал® Солютаб® и Уро-Ваксом® у пациенток с рецидивирующими неосложненными инфекциями нижних мочевыводящих путей (FLORA). Урология. 2015;4:12–18.

Рецидивирующими инфекциями нижних мочевых путей в России страдают около 10% женщин. Основным методом лечения бактериальных инфекций, в том числе и ИМП, является антибактериальная терапия. Антибиотикорезистентность, которая традиционно считалась проблемой только для внутрибольничных и осложненных ИМП, выходит сейчас на первый план и при неосложненных амбулаторных ИМП [1]. За последние десятилетия в мире отмечено несколько тенденций в динамике антибиотикорезистентности уropатогенной *E. coli*, заставляющих пересматривать требования к выбору антибиотиков для терапии ИМП. Прежде всего это распространение штаммов, устойчивых к ампициллину и ко-тримоксазолу, а в некоторых странах мира — и к фторхинолонам [2, 3].

В рекомендациях Европейской ассоциации урологов (EAU) по ведению больных инфекциями почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов 2008 г. все исследования классифицированы в соответствии с уровнями доказательности данных, и каждая разработанная на их основе рекомендация отнесена в соответствующую категорию (табл. 1, 2) [4].

Будущее — за медициной не только предупредительной, но и доказательной. Любой теоретический постулат: прежде чем внедряться в рутинную практику, должен быть проверен и подтвержден данными кли-

нических исследований и наблюдательных программ, определяющими уровень доказательности этого тезиса.

В настоящее время как отечественные, так и зарубежные рекомендации предлагают практикующим врачам для терапии рецидивирующих ИМП, во-первых, антибиотик, подобранный с учетом определения чувствительности возбудителя или с учетом данных о локальной резистентности возбудителей, эмпирически, во-вторых, препарат для профилактики, среди которых наивысший уровень рекомендаций имеют иммуномодулирующие препараты [4, 5]. С учетом продолжающегося роста резистентности к фторхинолонам, с одной стороны, и современных эпидемиологических особенностей цистита, демонстрирующих расширение спектра возбудителей и изменение их антигенных свойств, с другой — сохраняется потребность в антибактериальном препарате, эффективном в отношении как *E. coli*, так и других наиболее частых этиологических агентов цистита, в том числе условнопатогенных. С учетом результатов международного исследования ARES (2003–2006), а также данных, полученных в российском исследовании ДАРМИС (2010–2011) [6], больным рецидивирующими инфекциями нижних мочевыводящих путей [5, 7, 8] рекомендуется применение полных курсов антибактериальной терапии препаратами фосфомицина трометамол, фуразидина

калевая соль с магния карбонатом, цефиксим, цефтибутен, левофлоксацин или ципрофлоксацин.

Чем уже показания к применению антибиотика, тем дольше сохраняется чувствительность возбудителей к данному препарату. При этом неизменным требованием к антибиотику для лечения цистита является его безопасность, которая во многом определяется его фармакокинетикой, а именно способностью создавать избирательно высокие концентрации — в первую очередь в моче. Перечисленным требованиям соответствует цефалоспориин III поколения цефиксим (Супракс® Солютаб®, ранее Цефорал® Солютаб®, «Астеллас Фарма Юроп Б.В.») [9, 10]. Кроме того, при рецидивирующих ИМП, когда невозможно полностью избавиться от проблемы, задачей является увеличение безрецидивного периода путем проведения адекватной профилактики рецидивов. В настоящее время наибольшую доказательную базу в качестве средства профилактики рецидивов имеет представленный на российском рынке препарат Уро-Ваксом® — лиофилизированный лизат 18 штаммов уропатогенной *E. coli* (LE: 1a, GR: B) [11–14].

В целях анализа эффективности и безопасности препаратов цефиксим (Цефорал® Солютаб®) и Уро-Ваксом® при неосложненных рецидивирующих ИМП у женщин в рутинной клинической практике в России была проведена проспективная наблюдательная программа FLORA.

Материалы и методы. По дизайну исследование представляло проспективную наблюдательную программу и проводилось без какого-либо вмешательства в существующую терапевтическую практику врачей — участников исследования и полностью соответствовало общепринятым стратегиям лечения цистита, применяемым в клинических центрах. Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения наблюдательных программ. Набор пациенток осуществлен в 5 центрах на территории Российской Федерации: Российской медицинской академии

последипломного образования, Первом Московском государственном медицинском университете им. И. М. Сеченова, Московском государственном медико-стоматологическом университете им. А. И. Евдокимова, Красноярском государственном медицинском университете им. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Ростовском государственном медицинском университете.

В программу включены пациентки, подписавшие информированное согласие на участие в данном исследовании, соответствующие критериям включения и исключения, с установленным диагнозом рецидивирующей ИМП, которым были назначены препараты Цефорал® Солютаб® и Уро-Ваксом®. План обследования, инструментальные методы диагностики и процедуры контроля эффективности лечения определены лечащим врачом в рамках рутинной практики лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) и в РФ.

Критерии включения в наблюдательную программу: наличие в анамнезе до включения в программу как минимум двух обострений рецидивирующих ИМП в течение 6 мес по данным истории болезни, наличие клинических признаков обострения ИМП как минимум в течение двух последних дней, наличие бактериурии $\geq 10^3$ КОЕ/мл. Критерии исключения: продолжающаяся антимикробная профилактика или любая иммуностимулирующая терапия за 3 мес до включения в исследование.

Каждая пациентка, за исключением выбывших преждевременно, в ходе программы выполнила 5 визитов к врачу (табл. 3).

Во время визита 1 врач-исследователь подписывал информированное согласие от пациентки на участие в программе, оценивал соответствие пациентки критериям включения/исключения, осуществлял сбор и фиксацию данных анамнеза, демографических данных, проводил оценку клинических проявлений и данных лабораторных обследований (общий анализ мочи, бактериологический анализ мочи), принимал решение о назначении терапии препаратами

Т а б л и ц а 1

Уровни доказательности данных

Уровень	Тип доказательств
Ia	Доказательства, полученные в мета-анализах рандомизированных исследований
Ib	Доказательства, полученные как минимум в одном рандомизированном исследовании
IIa	Доказательства, полученные как минимум в одном хорошо спланированном контролируемом исследовании без рандомизации
IIb	Доказательства, полученные как минимум в одном хорошо спланированном полуконтрольном исследовании другого типа
III	Доказательства, полученные в хорошо спланированных неэкспериментальных исследованиях, таких как сравнительные, корреляционные, и описания клинических случаев
IV	Доказательства, полученные из отчетов экспертных комиссий, на основе мнений или клинического опыта авторитетных специалистов

Т а б л и ц а 2

Категории рекомендаций

Категория	Основа рекомендаций
A	Основаны на клинических исследованиях надлежащего качества и единообразия, касающегося специфических рекомендаций, включая как минимум одно рандомизированное исследование
B	Основаны на адекватно проведенных, но нерандомизированных клинических исследованиях
C	Разработаны, несмотря на отсутствие прямо применимых клинических исследований надлежащего качества

Цефторал® Соллютаб® и Уро-Ваксом®. На визите 2 через 10 ± 2 дня после визита 1 врач проводил оценку эффекта назначенной терапии, делал отметки об изменении режима терапии (если оно по какой-либо причине производилось), отмечал наличие нежелательных явлений. Визит 3 через $1 \text{ мес} \pm 1$ неделя после визита 1 предусматривал оценку тех же параметров, что и на визите 2. На визите 4 через $3 \text{ мес} \pm 2$ нед после визита 1 наряду с обозначенными для визитов 2 и 3 параметров исследователь отмечал количество рецидивов ИМП за истекший 3-месячный период наблюдения и общую продолжительность рецидивов за данный период в днях, общую продолжительность лечения антибиотиками. Целью заключительного визита 5 через $6 \text{ мес} \pm 4$ нед после визита 1 было оценить исходы назначенной терапии по параметрам, оцениваемым на визите 4, но за период 6-месячного наблюдения за пациенткой. В целом клинико-диагностические процедуры в рамках исследования проведены согласно существующей в центрах врачебной практике.

Оценка эффективности и безопасности терапии в рамках программы проведена по конечным точкам. Первичная конечная точка рассматривалась как частота обострений рецидивирующих ИМП на 1 пациентку через 6 мес с момента включения в программу (общее количество рецидивов ИМП по сравнению с исходным уровнем). Вторичными конечными точками были продолжительность обострений рецидивирующих ИМП на 1 пациентку через 6 мес с момента включения в программу по сравнению с исходным уровнем, продолжительность лечения антибиотиками обострений рецидивирующих ИМП на 1 пациентку через 6 мес после включения в программу по сравнению с исходным уровнем и частота нежелательных реакций.

Статистический анализ данных эффективности осуществлен в ИТТ (intent to treat)-популяции, т.е. среди всех пациенток, которые получили хотя бы одну дозу Цефторала® Соллютаб® или Уро-Ваксома® в рамках исследования, при включении имели пригодные для оценки показатели и от которых был получен по крайней мере один результат оценки исхода лечения. Безопасность

оценивали у всех пациенток, получавших в рамках исследования хотя бы одну дозу препаратов Цефторал® Соллютаб® и/или Уро-Ваксом®. Для основных показателей были рассчитаны значения среднего, среднеквадратичного отклонений, медианы, квартилей.

Результаты. Информированное согласие на участие в исследование подписали 52 пациентки, составившие популяцию для оценки безопасности, а также клинико-демографических данных.

Клинико-демографические данные и информация о заболевании. Все включенные пациенты ($n=52$) были женского пола. Средний возраст пациенток составил $42,4 \pm 16,2$ года, средняя продолжительность заболевания (цистита) — $1,1 \pm 2,6$ года, в течение 6 мес до включения в исследование среднее количество рецидивов составило $2,9 \pm 1,0$ и средняя длительность рецидива — $8,6 \pm 2,7$ дня. В течение 6 мес, предшествовавших включению в исследование, среднее суммарное количество дней антибиотикотерапии составило $10,0 \pm 4,5$ дня. Дизурические проявления на основании жалоб были отмечены у всех 52 (100%) пациенток. Согласно исходным показателям общего и бактериологического анализов мочи, у 51 (98,1%) пациентки имела место лейкоцитурия, у 11 (21,2%) — эритроцитурия, у 48 (92,3%) — бактериурия $\geq 10^3$ КОЕ/мл.

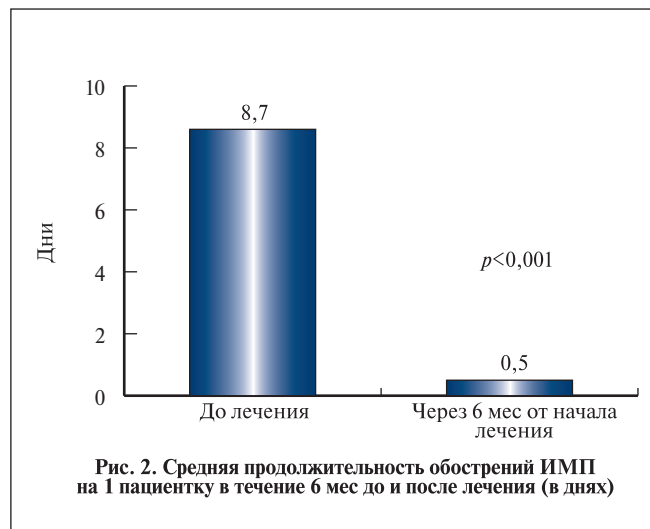
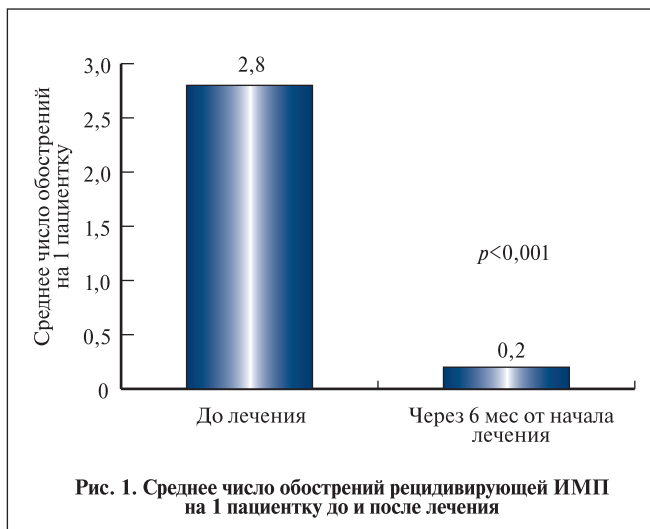
Всем пациенткам, включенным в исследование, была назначена терапия препаратами Цефторал® Соллютаб® и Уро-Ваксом®. Средняя продолжительность курса лечения препаратом Цефторал® Соллютаб®, который назначали в дозе 400 мг 1 раз в день, составила $8,3 \pm 1,1$ дня (доступны данные 51 пациентки, у одной пациентки дата окончания терапии не указана). Уро-Ваксом® был назначен на первом визите всем пациенткам в дозе 6 мг 1 раз в день, средняя продолжительность лечения составила $95,2 \pm 17,9$ дня. Причины прекращения лечения препаратами представлены в табл. 4.

В ходе программы 5 пациенток получали сопутствующую терапию препаратами Фурамаг® — 1 (1,9%), доксицилин — 1 (1,9%), Вагинорм С® — 1 (1,9%), Экофемин® — 1 (1,9%), Везикар® — 1 (1,9%).

Т а б л и ц а 3
Схема проведения процедур исследования

Процедура	Период приема исследуемой терапии				Последующее наблюдение
	визит 1	визит 2	визит 3	визит 4	визит 5
Информированное согласие	X				
Сбор демографических данных	X				
Оценка данных анамнеза ¹	X				
Клинические данные ²	X	X	X	X	X
Критерии включения/исключения	X				
Оценка частоты рецидивов ³	X			X	X
Оценка продолжительности рецидива ³	X			X	X
Оценка длительности антибиотикотерапии ³	X			X	X
Общий анализ мочи	X	X	X	X	X
Бактериологический анализ мочи	X	X	X	X	X
Назначение терапии препаратами Цефторал® Соллютаб® и Уро-Ваксом®	X				
Нежелательные явления		X	X	X	X

¹ Данные анамнеза, требуемые для заполнения индивидуальной регистрационной карты (ИРК), включали длительность основного заболевания и дату настоящего обострения; ² клиническая оценка ИМВП предусматривала оценку дизурических явлений; ³ частота обострений, продолжительность обострений, длительность антибиотикотерапии обострений ИМП на визите 1 оценивалась за 6 мес, предшествовавших включению в исследование, на основании данных анамнеза и медицинской документации, на визите 4 — за 3 мес, на визите 5 — за 6 мес исследования.



Оценка эффективности. В качестве первичной конечной точки анализировали частоту обострений рецидивирующих ИМП на 1 пациентку через 6 мес от момента включения в программу (общее количество рецидивов ИМП по сравнению с исходным уровнем, отмеченным за 6 мес, предшествующих включению в программу). Среднее число рецидивов за 6 мес до включения и в течение 6 мес после включения в исследование представлено на рис. 1. Отмечено значимое снижение числа обострений в течение 6 мес (медиана разности числа обострений ИМП в течение 6 мес с момента включения и в течение 6 мес до включения статистически значимо [$p<0,001$] отличалась от 0 [критерий знаковых рангов Уилкоксона для связанных выборок]).

Вторичные конечные точки включали продолжительность обострений рецидивирующей ИМП на 1 пациентку через 6 мес с момента включения в программу по сравнению с исходным уровнем, а также продолжительность антимикробной терапии и число нежелательных явлений. Средняя продолжительность обострений рецидивирующих ИМП представлены на рис. 2. Изменение средней длительности обострений через 6 мес наблюдения по сравнению с исходным составило $-8,0\pm 3,0$, изменение медианы — $-8,0 [-10,0; -7,0]$, что значимо ($p<0,001$) отличалось от 0 (критерий знаковых рангов Уилкоксона для связанных выборок).

Средняя продолжительность лечения антибиотиками обострений рецидивирующей ИМП до включения в программу и через 6 мес после включения пред-

ставлена на рис. 3. Изменение средней длительности антибиотикотерапии составило $-9,3\pm 5,0$, медианы — $-8,0 [-11,0; -7,0]$, что значимо ($p<0,001$) отличалось от 0 (критерий знаковых рангов Уилкоксона для связанных выборок).

На рис. 4 представлена динамика клинико-лабораторных показателей на фоне лечения.

Оценка безопасности. В процессе анализа безопасности ни у одной из пациенток, принявших хотя бы однократно препараты Цефторал® Соллютаб® и/или Уро-Ваксом®, в ходе программы не было выявлено нежелательных явлений.

Обсуждение. Результаты, полученные в наблюдательной программе FLORA, позволяют сделать следующее заключение: режим терапии, включающий Цефторал® Соллютаб® и Уро-Ваксом®, пациенток с рецидивирующей ИМП позволяет значительно снизить число рецидивов — через 6 мес у пациенток отмечено уменьшение среднего количества обострений на 93% по сравнению с исходным уровнем ($2,8\pm 1,0$ против $0,2\pm 0,4$). В схожих исследованиях [15, 16] по оценке динамики числа рецидивов через 6 мес у пациенток, принимавших Уро-Ваксом® в течение 3 мес после стандартного курса антибиотикотерапии, продемонстрировано снижение количества обострений на 62–76%. Подобные различия могут быть связаны с тем, что эффективность режима терапии при цистите в равной степени может быть связана как с антибактериальным препаратом, обеспечивающим своевременную и полноценную эрадикацию возбудителя, так и с

Т а б л и ц а 4

Причины окончания лечения препаратами Цефторал® Соллютаб® и Уро-Ваксом®

Препарат	Причина окончания первого курса приема	Число больных	
		абс.	%
Цефторал® Соллютаб®	Эффект достигнут	25	48,0
	Окончание лечения	12	23,1
	Согласно схеме лечения	8	15,4
	Неизвестно	7	13,5
	Всего	52	100,0
Уро-Ваксом®	Окончание лечения	29	55,7
	Согласно схеме лечения	8	15,4
	Неизвестно	8	15,4
	Эффект достигнут	7	13,5
	Всего	52	100,0

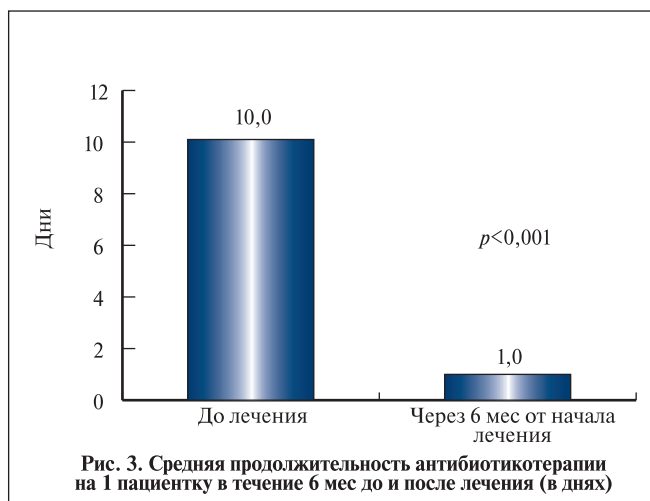


Рис. 3. Средняя продолжительность антибиотикотерапии на 1 пациентку в течение 6 мес до и после лечения (в днях)

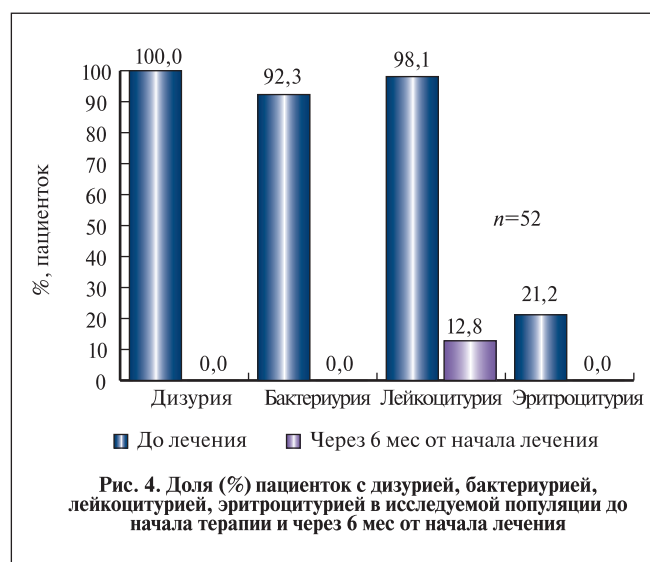


Рис. 4. Доля (%) пациенток с дизурией, бактериурией, лейкоцитурией, эритроцитурией в исследуемой популяции до начала терапии и через 6 мес от начала лечения

иммунопрофилактикой, позволяющей восстанавливать местные и системные защитные механизмы с прицелом на иммунитет против основного возбудителя цистита — *E. coli*. Следует отметить, что исходя из различий между планируемым ($n=250$) и числом пациентов, включенных в исследование ($n=52$), экстраполяция данных в популяции ограничена.

Для больных, страдающих рецидивирующими инфекциями нижних мочевых путей, выбор антибактериального препарата должен основываться на результатах бактериологического исследования и анализа предшествующей антибиотикотерапии.

При обращении пациенток в период обострения цистита рекомендуется лечение полными курсовыми дозами антимикробных препаратов [7]:

- Фосфомицина трометамол 3 г одна доза каждые 10 дней в течение 3 мес или
- Фуразидина калиевая соль в сочетании с магния карбонатом основным по 100 мг 2 раза 7 дней, или
- Левофлоксацин по 500 мг 1 раз 5 дней, или
- Ципрофлоксацин по 500 мг 2 раза 5 дней, или
- Цефиксим 400 мг 1 раз в сутки 7 дней, или
- Цефтибутен 400 мг 1 раз в сутки 7 дней.

Цефиксим может быть одним из препаратов выбора с учетом региональных данных по определению чувствительности возбудителей рецидивирующих ИМП (ДАРМИС, 2010–2011) [6].

Итоги наблюдательной программы FLORA подтверждают эффективность комплексного подхода к терапии рецидивирующих ИМП препаратами Цефорал® Солютаб® и Уро-Ваксом® в условиях клинической практики врача-уролога.

Заключение. На основании данных, полученных в наблюдательной программе FLORA, можно утверждать, что схема лечения рецидивирующего цистита, включающая цефиксим по 400 мг 1 раз в день в течение 5–7 дней и Уро-Ваксом® по 1 капсуле 1 раз в день в течение 3 мес (одновременно с началом или после антибиотикотерапии) эффективна и хорошо переносима.

Исследование проведено при поддержке компании «Астеллас Фарма Юроп Б.В.».

ЛИТЕРАТУРА

1. Рафальский В.В., Ходневич Л.В. Влияние резистентности возбудителей инфекций мочевыводящих путей на исходы антибактериальной терапии. Урология. 2008;4:3–9.
2. Talan D.A. Urinary tract infections. N. Engl. J. Med. 2003;349(17):612–618.
3. Hooton T., Besser R., Foxman B., Fritsche T., Nicole L. Acute Uncomplicated Cystitis in Era of Increasing Antibiotic Resistance: A Proposed Approach. Clin. Infect. Dis. 2004; 39(1):75–80.
4. Naber K.G., Bergman B., Bjerklund-Johansen T.E., Botto H., Label B., Jimenes Cruz F., Selvaggi F.P. Guidelines on urinary and male genital infections. European Association of Urology, 2001.
5. Лоран О.Б., Зайцев А.В., Годунов Б.Н. Современные аспекты диагностики и лечения хронического цистита у женщин. Урология и нефрология. 1997;6:7–14.
6. Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Шевелев А.Н., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С., исследовательская группа «ДАРМИС». Антибиотико-резистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России. Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2012;14(4):280–302.
7. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Российские национальные рекомендации. Под ред. Перепановой Т.С., Козлова Р.С., Руднова В.А., Синяковой Л.А. М., 2014. 63 с.
8. Лоран О.Б. Синякова Л.А. Воспалительные заболевания органов мочевой системы. Актуальные вопросы. Пособие для врачей. М.: МИА, 2014. 84 с.
9. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике. Российские практические рекомендации. Под ред. Яковлева С.В., Сидоренко С.В., Рафальского В.В., Спичак Т.В. М.: Престо, 2014. 121 с.
10. Рафальский В.В., Белокрысенко С.С., Малев И.В., Деревницкий А.В., Галкин В.В., Остроумова М.В., Ляхова О.А. Чувствительность возбудителей инфекций мочевыводящих путей, выделенных в Российской Федерации, к пероральному цефалоспорино III поколения цефиксиму. Лечащий врач. 2008;8:27–29.
11. Grabe M et al. European Association of Urology Guidelines on Urological Infections 2014. www.uroweb.org.
12. Галкин В.В., Довгань Е.В., Козлов С.Н., Рафальский В.В. Цефиксим в сравнении с ципрофлоксацином при остром неосложненном цистите: клинко-экономическое исследование. KMAX. 2012;1:50–66.
13. Naber K.G., Cho Y.H., Matsumoto T., Schaeffer A.J. Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a meta-analysis. Int. J. Antimicrob. Agents. 2009;33(2):111–119.
14. Bauer H.W., Rahlfs V.W., Lauener P.A., Blessmann G.S. Prevention of recurrent tract infections with immuno-active *E. coli* fractions: a meta-analysis of five placebo-controlled double-blind studies. Int. J. Antimicrob. Agents. 2002;19:451–456.
15. Tammen H., Frey Ch. Treatment of recurrent urinary tract infections with Uro-Vaxom®. Open multicenter study with 521 patients. Urologe B. 1988;28:294–296.
16. Baertschi R., Balmer J.A., Eduah S.B., Liechti A., Lurie D., Schams H. Bacterial extract for the prevention of recurrent urinary tract infections in pregnant women: a pilot study. Int. J. Immunother. 2003;19:25–31.

Поступила 16.06.15

РОЛЬ 3D-КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ В УЛУЧШЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ КОРАЛЛОВИДНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

Кафедра урологии лечебного факультета Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, клиника урологии
Клинического центра Первого МГМУ им. И. М. Сеченова

Автор для связи: С. В. Песегов; e-mail: s_pesegov@mail.ru

В статье представлен опыт применения метода 3D-компьютерного моделирования при планировании лечения пациентов с коралловидным нефролитиазом (КН). Проведен анализ влияния внутреннего строения почки и стадии КН на результаты лечения пациентов с коралловидными камнями на основании собственного опыта, а также отмечена целесообразность использования компьютерного моделирования при предоперационном планировании для улучшения результатов лечения и профилактики развития интраоперационных осложнений.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, коралловидный нефролитиаз, компьютерное моделирование, виртуальная операция, строение чашечно-лоханочной системы, чрескожная нефролитотрипсия, комбинированное лечение

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Аляев Ю.Г., Саенко В.С., Песегов С.В. Роль 3D-компьютерного моделирования в улучшении результатов лечения коралловидного нефролитиаза. Урология. 2015;4:7–10.

Введение. Мочекаменная болезнь занимает одно из ведущих мест среди всех урологических заболеваний и продолжает оставаться одной из самых актуальных проблем современной медицины, подтверждением чего служит неуклонный рост ее распространенности. Ежегодная заболеваемость мочекаменной болезнью в мире варьируется от 0,5 до 5,3% [1]. По данным официальной статистики Министерства здравоохранения РФ, за период 2002–2010 гг. заболеваемость выросла с 440,5 до 535,7 на 100 тыс. взрослого населения. В абсолютных числах рост зарегистрированных больных составил с 629 453 до 760 237 [2].

Наиболее тяжелой формой мочекаменной болезни является коралловидный нефролитиаз (КН), вопросы диагностики, выбора тактики и способа лечения которого остаются одними из наиболее обсуждаемых и противоречивых [3].

Факторами, определяющими выбор тактики лечения, служат не только форма коралловидного камня, индивидуальная стереоанатомия чашечно-лоханочной системы (ЧЛС) и ангиоархитектоники нормально развитой почки, но и их пространственные взаимоотношения [4]. Кроме того, необходимо помнить об альтернативных вариантах строения, аномалиях развития почек и сопутствующих заболеваниях [5].

Стремление хирурга улучшить результаты операции толкает его на поиск новых технологий в сфере диагностики и лечения. Как правило, диагностика нефролитиаза строится вокруг ультразвукового и рентгенологического методов исследования. Однако, несмотря на их объективность и информативность, при определении тактики лечения и характера предстоящей операции данные, получаемые с помощью этих методов, не всегда позволяют полностью и правильно ответить на поставленные вопросы. Очевидно, что только при комплексном анализе ситуации можно рассчитывать на качественный результат лечения. Неоценимую помощь в этом оказывают современные методы компьютерной визуализации — мультиспиральная компьютерная томография с трехмерной реконструк-

цией, 3D-компьютерное моделирование, позволяющие получать детальное представление об индивидуальных особенностях строения органа и течения заболевания [6, 7].

В недавнем прошлом планирование лечения имело место только в сознании уролога, где формировались представления топографо-анатомических взаимоотношений, течение патологического процесса и прогноза эффективности предстоящего лечения. Сегодня же новые технологии компьютерной графики позволяют не только подтвердить свои предположения, но и предварительно оценить эффективность и безопасность планируемой операции [8]. Важной особенностью применения компьютерного моделирования перед стандартными методами обследования счи-

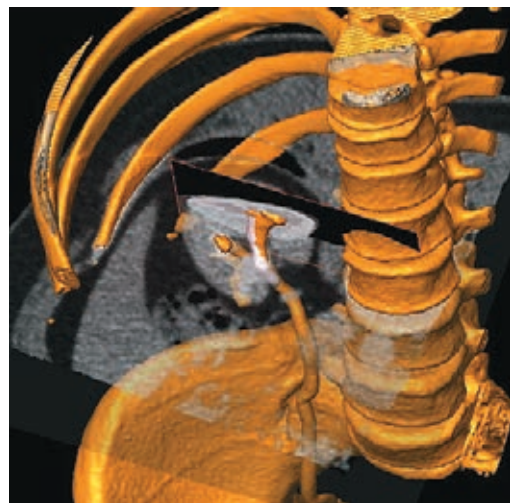


Рис. 1. Компьютерное моделирование. Выявление топографо-анатомических особенностей при проекции трехмерной модели мочевых путей на аксиальные и фронтальные сканы компьютерных томограмм при планировании доступа

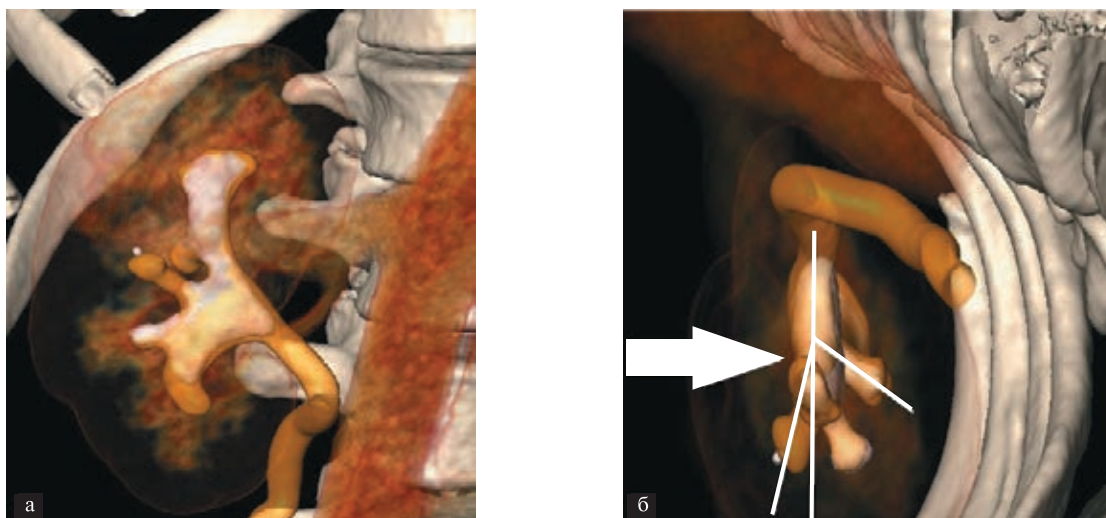


Рис. 2. Компьютерное моделирование. Определение формы чашечно-лоханочной системы (а) и типа ротации чашечек (б)

Стрелкой отмечена фронтальная плоскость и направление осей чашечек.

тается возможность выполнения виртуального планирования манипуляции с учетом индивидуальных топографо-анатомических особенностей строения органа в совокупности с патологическим процессом (рис. 1).

Созданная компьютерная модель почки позволяет хирургу в виртуальном режиме детально проанализировать форму строения ЧЛС и тип ротации чашечек, что играет важную роль при оценке технических аспектов предстоящего пособия и прогнозировании эффективности лечения коралловидного нефролитиаза (рис. 2).

К другой отличительной особенностью компьютерного моделирования относится возможность проведения анализа эффективности перкутанного вмешательства из выбранного хирургом доступа. Владение информацией о стереоанатомии чашечно-лоханочной системы позволяет хирургу во время виртуальной операции оценить возможность интратрениальных манипуляций ригидным инструментом и визуализации всей ЧЛС из планируемого доступа для достижения ее полной элиминации от камня (рис. 3).

Также важной особенностью компьютерного моделирования служит возможность оценки сосудистого строения почки при создании пункционного доступа на виртуальной модели в планировании предстоящего лечения (рис. 4). Полученная информация – решающий фактор в профилактике интраоперационных кровотечений.

Таким образом, целью исследования стало изучение роли компьютерного моделирования в улучшении результатов лечения коралловидного нефролитиаза.

Материалы и методы. В рамках исследования проведен анализ результатов обследования и лечения 143 пациентов с К2–К4-стадиями КН. С учетом отсутствия серьезных затруднений при выборе тактики и способа лечения при К1-форме КН, а также высокой эффективности различных оперативных методик эта группа пациентов не включалась в исследование. Оценка эффективности лечения КН проведена на основании анализа результатов оперативных вмешательств в отношении пациентов, которым выполнялась чрескожная нефролитотрипсия (ЧНЛТ) в качестве моно-

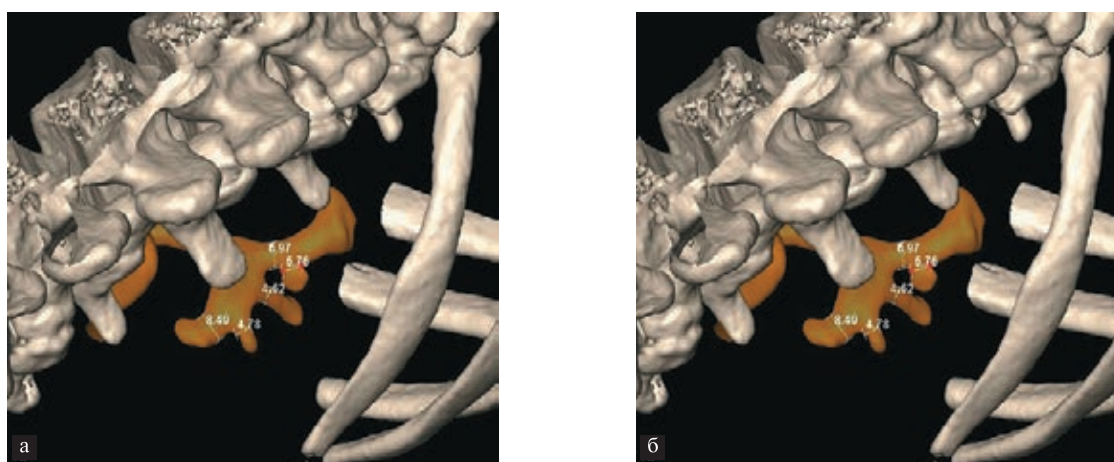


Рис. 3. Компьютерное моделирование. Определение геометрических параметров ЧЛС

А – расчет ширины шейки чашечки; б – расчет угла оси впадения чашечек в лоханку.



Рис. 4. Компьютерное моделирование. Оценка топографической анатомии почки и особенности ее ангиоархитектоники в зависимости от выбранной для пункции чашечки

А — особенности сосудистого строения, скелетотопия и синтопия почки на фронтальных сканах томограмм в проекции нижней группы чашечек; б — особенности сосудистого строения почки, скелетотопия и синтопия почки на фронтальных сканах томограмм в проекции средней группы чашечек; в — особенности сосудистого строения почки, скелетотопия и синтопия почки на фронтальных сканах томограмм в проекции верхней группы чашечек.

терапии, «sandwich»-терапии — чрескожная нефролитотрипсия в сочетании с дистанционной литотрипсией (ЧНЛТ+ДЛТ) и ЧНЛТ в комбинации с дополнительным эндоскопическими методиками — second-look perphroscopу или mini-perc technique. ЧНЛТ в режиме монотерапии была осуществлена 118 (82,52%) пациентам, ЧНЛТ в сочетании с ДЛТ 11 (7,69%), ЧНЛТ в комбинации с дополнительным эндоскопическими методиками выполнена 14 (9,79%) пациентам. Повторное оперативное лечение в отдаленном послеоперационном периоде по поводу резидуальных камней более 4 мм потребовалось 5 пациентам.

Среди пациентов были 71 (49,65%) мужчина и 72 (50,35%) женщины. Средний возраст пациентов составил 49 лет. Форма К2 диагностирована 47 (32,87%) пациентам, К3 — 49 (34,26%), К4 — 47(32,87%). Коралловидные камни 120 (83,9%) пациентов носили одиночный характер, 23 (16,1%) — множественный.

Все пациенты были разделены на две группы. В контрольной группе предоперационное обследование проведено без использования 3D-компьютерного моделирования, в основной — с 3D-моделированием (табл. 1). Все группы отвечали аналогичным критериям отбора. Критерием эффективности лечения стала полная элиминация камней из ЧЛС или наличие резидуальных камней до 4 мм.

Тип строения ЧЛС оценивали согласно классификации, предложенной F. Samraio, в соответствии с которой выделяют две основные группы в зависимости

от варианта слияния собирательной системы почки в лоханку. В обеих группах чашечки верхнего и нижнего сегментов сливаются в крупные верхнюю и нижнюю чашечки. Вариабелен лишь путь дренирования среднего сегмента почки. При типе А средний сегмент дренируется через одну или обе полярные чаши. Чашечно-лоханочная система типа А имеет два подтипа: при подтипе АI чашечки среднего сегмента впадают в одну или обе полярные чаши так, что бассейны паренхимы вокруг верхней и нижней чашечек не пересекаются, при подтипе АII две чашечки среднего сегмента пересекаются во фронтальной плоскости. При типе В средний сегмент дренируется самостоятельно — через третью, среднюю, чашку (подтип ВI) или же путем непосредственного впадения чашечек среднего сегмента в лоханку (подтип ВII).

Варианты ротации чашечек распределены по принадлежности к Броделевскому или Ходсоновскому типу. Разделение по типу ротации определяется углом, формируемым чашечками передней и задней групп между своими осями и фронтальной плоскостью почки. При варианте ротации, предложенной Броделем, угол между осью задних чашечек и фронтальной плоскостью почки составляет около 20°, в то время как для чашечек передней группы этот угол составляет около 70°. Ходсон описал зеркально противоположный тип строения ЧЛС, при котором чашечки передней группы отклонялись от фронтальной плоскости на 20° и проецировались латеральнее чашечек задней группы,

Т а б л и ц а 1
Распределение пациентов в зависимости от стадии КН, метода лечения и выполненного 3D-компьютерного моделирования

Метод лечения	Форма КН					
	К2		К3		К4	
	контрольная группа	основная группа	контрольная группа	основная группа	контрольная группа	основная группа
ЧНЛТ-монотерапия	21	24	18	21	16	18
ЧНЛТ+ДЛТ	1	—	3	1	4	2
Комбинированные эндоскопические методики	1	—	4	2	4	3
Всего (%)	23 (16,1)	24 (16,8)	25 (17,4)	24 (16,8)	24 (16,8)	23 (16,15)

Т а б л и ц а 2

Распределение больных в зависимости от типа ротации чашечек и формы ЧЛС

Тип ротации чашечек	Форма ЧЛС				Итого (%)
	AI	API	BI	BII	
Броделевский	33	11	16	14	74 (51,7)
Ходсоновский	26	14	17	12	69 (48,3)
Всего (%)	59 (41,3)	25 (17,4)	33 (23,1)	26 (18,2)	143 (100)

Т а б л и ц а 3

Встречаемость интраоперационных осложнений

Осложнение	Контрольная группа	Основная группа	Всего (%)
Интраоперационные кровотечения	8	4	12 (8,39)
Перфорация лоханки	1	1	2 (1,40)
Резидуальные камни	17	8	25 (17,48)

отходящих под углом 70° к фронтальной плоскости почек (табл. 2) [9, 10].

Для оценки роли компьютерного моделирования в предоперационном планировании ретроспективно проведен анализ частоты интраоперационных осложнений.

Результаты и обсуждение. Эффективность лечения КН в целом составила 96,5%, эффективность ЧНЛТ монотерапии — 82,52%, осложнения регистрировали в 27,27% наблюдений (табл. 3).

При анализе структуры методов лечения в зависимости от применения компьютерного моделирования патологического процесса установлено, что ЧНЛТ в качестве монотерапии в группе с моделированием выполняли на 12,34% чаще, чем в контрольной. Это обусловлено достижением лучших показателей элиминации ЧЛС от камней в этой группе и как следствие — снижением необходимости проведения комбинированного лечения для избавления от резидуальных камней.

Ведущее место среди всех осложнений — 39 (27,27%) случаев — занимали резидуальные камни. Повторное оперативное лечение потребовалось 25 (17,48%) пациентам. Основными причинами резидуальных камней послужили миграция фрагментов в труднодоступную чашечку, неправильно выбранный доступ и интраоперационное кровотечение. Применение компьютерного моделирования патологического процесса позволило сократить встречаемость резидуальных камней на 12,34% ($p < 0,5$).

Интраоперационное кровотечение развилось у 12 (8,39%) пациентов. В зависимости от формы ЧЛС наиболее часто кровотечения встречались в группе пациентов с формами API (41,7%) и BII (33,3%). Все осложнения купированы консервативным путем и не потребовали дополнительных вмешательств. Использование компьютерного моделирования позволило сократить количество случаев интраоперационных кровотечений на 5,48% ($p < 0,5$).

Заключение. Залогом успеха лечения КН наряду с неотъемлемыми составляющими, такими как квалификация хирурга, его опыт и оснащение урологиче-

ского стационара, остается адекватная оценка патологического процесса, особенностей индивидуального строения органа, планирование лечения, а главное — прогнозирование результата. Влияние внутреннего строения почки на эффективность лечения КН определяет целесообразность применения компьютерного моделирования для оптимизации выбора тактики и улучшения результатов лечения, а также с целью снижения риска развития интраоперационных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аполичин О.И., Сивков А.В., Солнцева Т.В. Эпидемиология МКБ в различных регионах РФ по данным официальной статистики. Саратовский научно-медицинский журнал. 2011;7:120.
2. Заболеваемость населения России в 2010 году. Статистика, Минздрав России, 16.12.2011. <http://www.rosminzdrav.ru>
3. Аляев Ю.Г., Руденко В.И., Газимиев М.-С.А. Мочекаменная болезнь. Актуальные вопросы диагностики и выбора метода лечения. М.; Тверь: ООО «Изд-во «Триада», 2006.
4. Филимонов Г.П., Аляев Ю.Г., Васильев П.В., Руденко В.И. Тактика лечения нефролитиаза: роль спиральной компьютерной томографии. Радиология — практика. 2001;34—35.
5. Аляев Ю.Г., Сеницын В.Е., Рапопорт Л.М., Цариченко Д.Г. Заболевания аномалийных почек и верхних мочевых путей. М., 2007.
6. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Дзеранов Н.К., Хохлачев С.Б. Компьютерное моделирование — метод планирования операций при заболеваниях почек. Научно-практическая конференция «Фундаментальная и практическая урология». Сборник тезисов. 2012. С. 47—49.
7. Аляев Ю.Г., Руденко В.И., Газимиев М.-С.А., Кузьмичева Г.М. Современные аспекты диагностики и лечения мочекаменной болезни. Урология. 2006;2:6—12.
8. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г. 3D-технологии при операциях на почке: от хирургии виртуальной к реальной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.
9. Smith's Textbook of Endourology. Smith A.D., Badlani G.H., Bagley D.H., Clayman R.V., eds. St Louis.: Quality Medical Publishing, 1996.
10. Kaye K.W., Reinke D.B. Detailed caliceal anatomy for endourology. J. Urol. 1984;132(6):1085—1088.

Поступила 03.06.15

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ОБРАЗОВАНИЯ МНОЖЕСТВЕННЫХ КАМНЕЙ ПОЧЕК В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

¹ НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н. А. Лопаткина — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России; ² Институт молекулярной генетики РАН, Москва

Автор для связи: О. В. Константинова — д.м.н., гл.н.с. отдела мочекаменной болезни; e-mail: konstant-ov@yandex.ru

Проведено изучение ассоциации множественных камней почек с полиморфизмами кандидатных генов уролитиаза в российской популяции. Обследованы 75 взрослых пациентов с множественными камнями (основная группа) из Центральной России и 189 здоровых взрослых (контрольная группа) из того же региона. Средний возраст больных основной группы составил 44,5±14 лет. В основной группе были 41 (54,7%) мужчина и 34 (45,3%) женщины. Материалом для исследований служили образцы венозной крови. С помощью метода ПЦР в режиме реального времени определяли спектр и частоты полиморфных вариантов четырех кандидатных генов уролитиаза: гена Клото (KL, rs526906), гена рецептора витамина D (VDR, rs1540339), гена внеклеточного кальцийчувствительного рецептора (CASR, rs2202127), гена модулятора активатора высвобождения кальция 1 (ORAI1, rs7135617). С помощью методов углового преобразования Фишера и χ^2 установлена связь между полиморфными вариантами гена ORAI1 и образованием множественных камней почек в российской популяции. Ассоциации между множественными камнями почек и полиморфизмами генов KL, VDR, CASR не обнаружено. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на формирование множественных камней при уролитиазе в российской популяции могут влиять генетические факторы, в частности полиморфные варианты гена модулятора активатора высвобождения кальция 1 (ORAI1, rs7135617).

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, множественные камни, генетические факторы риска, российская популяция

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Аполихин О.И., Сивков А.В., Константинова О.В., Сломинский П.А., Тупицына Т.В., Калиниченко Д.Н. Генетические факторы риска образования множественных камней почек в российской популяции. Урология. 2015;4:4–6.

Введение. Причины возникновения мочекаменной болезни целенаправленно изучают многие и многие десятилетия. Это обусловлено широкой распространенностью заболевания: по мировым данным, уролитиазом страдают до 13% населения [1]. По российским официальным статистическим данным 2012 г., показатель заболеваемости уролитиазом на 100 тыс. населения по Российской Федерации составил 550,5, а абсолютное число зарегистрированных пациентов — 787 555, также отмечается увеличение количества заболевших за 10 лет на 25,1% [2]. В урологических отделениях доля больных уролитиазом составляет 30–40% [3].

За последние годы в диагностике и лечении заболевания достигнуты большие успехи [4–7], однако все равно рецидивы возникают у 11% — через 2 года после первого эпизода и у 39% пациентов через 15 лет [8].

Это заставляет вновь обратить пристальное внимание на вопросы этиологии и патогенеза заболевания, потому что единой концепции камнеобразования до настоящего времени не существует [9]. В то же время, по данным литературы, у 40–50% пациентов с уролитиазом обнаруживают отягощенный семейный анамнез по этому заболеванию [1, 9].

В последнее десятилетие основным направлением изучения генетических факторов риска развития уролитиаза стало выявление его ассоциации с полиморфными вариантами того или иного

гена. В зарубежных работах была выявлена ассоциация возникновения мочекаменной болезни с полиморфизмом некоторых генов, таких как KL [10], VDR [11], CASR [12], ORAI1 [13]. В НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н. А. Лопаткина также проводятся исследования ассоциации мочекаменной болезни с полиморфизмами разных кандидатных генов. Выявлена связь возникновения мочекаменной болезни в российской популяции с полиморфизмом генов VDR и ORAI1. Для генов TNFRSF11B, TNFSF11, ESR1, KL, CASR, SLC26A6 такой зависимости обнаружено не было [14]. Выявлена ассоциация полиморфизма гена ORAI1 с развитием кальцийоксалатного уролитиаза [15]. Также была установлена связь между рецидивной формой заболевания и полиморфизмом гена ORAI1, между рецидивной формой и полиморфизмом гена CASR [16].

Целью данного исследования явился поиск ассоциации множественных камней почек с полиморфизмами кандидатных генов уролитиаза в российской популяции.

Материалы и методы. С помощью методов молекулярной генетики обследованы 75 пациентов с множественными камнями (основная группа) из Центральной России и 189 здоровых лиц (контрольная группа) из того же региона. Средний возраст больных основной группы составил 44,5±14 лет. В основную группу вошли 41 (54,7%) мужчина и 34 (45,3%) женщины.

Для проведения анализа полиморфных ДНК-маркеров в кандидатных генах у пациентов с уролитиазом и в контрольной группе были созданы две коллекции ДНК, выделенной из венозной крови обследуемых лиц посредством стандартного фенолхлороформного метода или с использованием набора AxyPrepBlood Genomic DNA Miniprep Kit («Ахугене», США). Осуществлен анализ полиморфных вариантов четырех кандидатных генов мочекаменной болезни: гена Клото (*KL*, *rs526906*), гена рецептора витамина D (*VDR*, *rs1540339*), гена внеклеточного кальцийчувствительного рецептора (*CASR*, *rs2202127*), гена модулятора активатора высвобождения кальция 1 (*ORAI1*, *rs7135617*).

Полиморфные варианты анализируемых генов определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-систем компании «Applied Biosystems» в контрольной группе и у больных мочекаменной болезнью.

Для определения достоверности различия частот встречаемости генотипов между сравниваемыми группами использовали критерий χ^2 , для определения достоверности различия частот встречаемости аллелей между сравниваемыми группами — метод углового преобразования Фишера.

Результаты и обсуждение. В таблице представлены результаты, свидетельствующие как о достоверных различиях в частотах полиморфизмов кандидатных генов уролитиаза между основной и контрольной группами, так и о недостоверных.

При определении полиморфизма гена *KL* частота генотипов оказалась следующей: в контрольной группе генотип С/С был выявлен в 70,3% случаев; С/Т — в 26,6%; Т/Т — в 3,1%, у пациентов с множественными камнями — в 72, 26,7 и 1,3% случаев соответственно. Установлено, что отличия в частотах генотипов в группах являются недостоверными ($p=0,704$, $\chi^2=0,7$). В контрольной группе частота аллеля С составила 83,6%, Т — 16,4%, в основной —

85,3 и 14,7% соответственно. Различия в частотах аллелей также оказались недостоверными ($p=0,351$; см. таблицу).

Для гена *VDR* частота генотипа G/G в контрольной группе составила 26,5%, в основной — 38,7%; генотипа G/A — 50,8 и 41,3%, генотипа A/A — 22,7 и 20% соответственно в отсутствие достоверности различий между группами ($p=0,1$, $\chi^2=4,6$). В контрольной группе частота аллеля G отмечена в 51,9% случаев, A — в 48,1%, в основной — в 59,3 и 40,7% соответственно ($p=0,056$; см. таблицу).

При определении полиморфизма гена *CASR* частоты генотипов оказались следующими: в контрольной группе генотип A/A регистрировали в 47% случаев, A/G — в 42,5%; G/G — в 10,5%, у пациентов с множественными камнями — в 41,3, 45,3 и 13,4% соответственно; различия между группами недостоверны ($p=0,587$, $\chi^2=1,03$). Частота аллеля A в контрольной группе составила 68,3%, G — 31,7%, в основной — 64 и 36% соответственно ($p=0,175$; см. таблицу).

Для гена *ORAI1* частота генотипа G/G в контрольной группе — 13,2%; G/T — 50,8%; T/T — 36%, у пациентов с множественными камнями — 33,3, 42,7 и 24% соответственно. Выявлено, что отличия в частоте генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с мочекаменной болезнью статистически значимы ($p=0,0007$, $\chi^2=14,56$). Частота аллеля G в контрольной группе — 38,6%; в основной — 54,7%, аллеля Т — 61,4 и 45,3% соответственно. Различия в частоте аллелей в группах также оказались достоверными ($p=0,0005$; см. таблицу).

Таким образом, определены достоверные отличия в частотах полиморфизмов гена *ORAI1* между контрольной группой и группой больных с множественными камнями. Отличия достоверны как по генотипам, так и по аллелям. Анализ частот генотипов и аллелей показывает, что у больных с множественными мочевыми камнями повышается частота аллеля G с 38,6 до 54,7%, генотипа G/G — с 13,2 до

Частоты генотипов и аллелей в контрольной и основной группах

Ген	Варианты генотипов и аллелей	Частота генотипов и аллелей		Достоверность различий
		контрольная группа	основная группа	
<i>KL</i>	C/C	275	54	$p=0,704$ $\chi^2=0,7$
	C/T	104	20	
	T/T	12	1	
	C	654	128	$p=0,351$
	T	128	22	
<i>VDR</i>	G/G	104	29	$p=0,1$ $\chi^2=4,6$
	G/A	199	31	
	A/A	89	15	
	G	407	89	$p=0,056$
	A	377	61	
<i>CASR</i>	A/A	184	31	$p=0,587$ $\chi^2=1,03$
	A/G	166	34	
	G/G	41	10	
	A	534	96	$p=0,175$
	G	248	54	
<i>ORAI1</i>	G/G	25	25	$p=0,0007$ $\chi^2=14,56$
	G/T	96	32	
	T/T	68	18	
	G	146	82	$p=0,0005$
	T	232	68	

33,3% по сравнению с контрольной группой. Для остальных трех генов (*KL*, *VDR*, *CASR*) отличия были недостоверными.

Сравнение полученных данных с результатами, полученными Y. Chou [13] в единственной зарубежной работе по данному гену, проведенной в китайской популяции, указывает на то, что связь мочекаменной болезни с геном *ORAI1* выявлена в российской и китайской популяциях. В единственной зарубежной работе [13] по гену *ORAI1*, проведенной в китайской популяции, также установлена ассоциация мочекаменной болезни с геном *ORAI1*. Стоит отметить, что в китайскую работу при подобном объеме основной и контрольной групп были включены только пациенты с кальциевым уролитиазом и не проводилось изучение возможной связи между формированием множественных мочевых камней и полиморфизмом указанного гена.

Выводы

1. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на характер течения мочекаменной болезни в российской популяции могут оказывать влияние генетические факторы. Существует связь между характером течения уролитиаза в российской популяции и полиморфными вариантами генов: выявлена ассоциация множественных камней почек с геном модулятора активатора высвобождения кальция 1 (*ORAI1*, *rs7135617*) как по генотипам, так и по аллелям.
2. Зависимости между формированием множественных камней при уролитиазе и полиморфизмами гена Клото (*KL*, *rs526906*), гена рецептора витамина D (*VDR*, *rs1540339*), гена внеклеточного кальцийчувствительного рецептора (*CASR*, *rs2202127*) не обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Attanasio M. The genetic components of idiopathic nephrolithiasis. *Pediatr. Nephrol.* 2011;26(3):337–346.
2. Аполихин О.И., Сивков А.В., Москалева Н.Г., Солнцева Т.В., Комарова В.А. Анализ урологической заболеваемости и смертности в Российской Федерации за десятилетний период (2002–2012). *Экспериментальная и клиническая урология.* 2014;2:4–12.
3. Избранные лекции по урологии. Под ред. Лопаткина Н.А., Мартова А.Г. М.: Литтерра, 2008.
4. Аляев Ю.Г., Кузьмичева Г.М., Колесникова М.О., Руденко В.И., Мельников Д.В., Чернобровкин М.Г. Клиническое значение

физико-химического исследования состава мочевых камней и мочи. *Урология.* 2009;1:8–12.

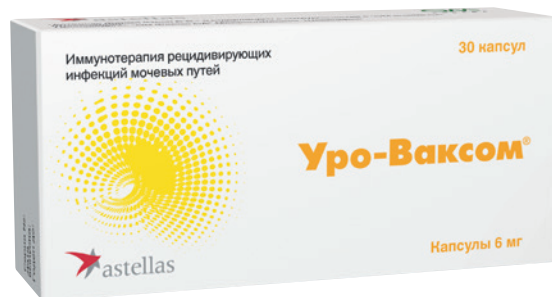
5. Дутов В.В., Уренков С.Б., Паршенкова И.Г., Румянцев А.А., Мамедов Э.А. Особенности чрескожной нефролитотрипсии у пациентов с мочекаменной болезнью единственной почки. *Урология.* 2015;2:52–55.
6. Eisner B.H., Goldfarb D.S., Pareek G. Pharmacologic treatment of kidney stone disease. *Urol. Clin. North Am.* 2013;40(1):21–30.
7. Bagga H.S., Chi T., Miller J., Stoller M.L. New insights into the pathogenesis of renal calculi. *Urol. Clin. North Am.* 2013;40(1):1–12.
8. Rule A., Lieske J., Li X., Melton L.J., Krambeck A.E., Bergstralh E.J. The ROKS nomogram for predicting a second symptomatic stone episode. *American Society of Nephrology.* 2014;25:2878–2886.
9. Тиктинский О.Л., Александров В.П. Мочекаменная болезнь. СПб.: Питер, 2000. 384 с.
10. Xu C., Song R., Yang J., Jiang B., Wang X.L., Wu W., Zhang W. Klotho gene polymorphism of rs3752472 is associated with the risk of urinary calculi in the population of Han nationality in Eastern China. *Gene.* 2013;2:494–497.
11. Wang S., Wang X., Wu J., Lin Y., Chen H., Zheng X., Zhou C., Xie L. Association of vitamin D receptor gene polymorphism and calcium urolithiasis in the Chinese Han population. *Urol. Res.* 2012;4:277–284.
12. Vezzoli G., Terranegra A., Aloia A., Arcidiacono T., Milanesi L., Mosca E., Mingione A., Spotti D., Cusi D., Hou J., Hendy G.N., Soldati L.; GENIAL network (Genetics and Environment in Nephrolithiasis Italian Alliance), Paloschi V., Dogliotti E., Brasacchio C., Dell'Antonio G., Montorsi F., Bertini R., Bellinzoni P., Guazzoni G., Borghi L., Guerra A., Allegri F., Ticinesi A., Meschi T., Nouvenne A., Lupo A., Fabris A., Gambaro G., Strazzullo P., Rendina D., De Filippo G., Brandi M.L., Croppi E., Cianferotti L., Trinchieri A., Caudarella R., Cupisti A., Anglani F., Del Prete D. Decreased transcriptional activity of calciumsensing receptor gene promoter 1 is associated with calcium nephrolithiasis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98:3839–3847.
13. Chou Y., Juo S., Chiu Y., Liu M.E., Chen W.C., Chang C.C., Chang W.P., Chang J.G., Chang W.C. A polymorphism of the *ORAI1* gene is associated with the risk and recurrence of calcium nephrolithiasis. *J. Urol.* 2011;5:1742–1746.
14. Аполихин О.И., Сивков А.В., Константинова О.В., Сломинский П.А., Тупицына Т.В. Калиниченко Д.Н. Поиск полиморфных вариантов кандидатных генов мочекаменной болезни в российской популяции. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2013;3:56–60.
15. Аполихин О.И., Сивков А.В., Константинова О.В., Сломинский П.А., Тупицына Т.В. Калиниченко Д.Н. Генетические факторы риска различных форм уролитиаза в российской популяции. Тезисы докладов XXII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». 2015. С. 16.
16. Константинова О.В., Аполихин О.И., Сивков А.В., Сломинский П.А., Тупицына Т.В. Калиниченко Д.Н. Генетические факторы риска рецидивирования мочекаменной болезни в российской популяции. Тезисы докладов XXII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». 2015. С. 54.

Поступила 27.05.15



Уро-Ваксом®

капсулы 6 мг



**Эффективная иммунотерапия
инфекций мочевых путей¹**

**На 93% снижает количество
обострений рецидивирующей ИМП¹**

П N011541/01 от 06.10.2011²

1. Лоран О. Б. и соавт. Рациональная терапия рецидивирующих инфекций нижних мочевыводящих путей. Результаты проспективной наблюдательной программы по оценке эффективности и безопасности применения препаратов Цефалор® Солютаб® и Уро-Ваксом® у пациенток с рецидивирующими неосложненными инфекциями нижних мочевых путей (FLORA). Урология, 2015, №4.
2. Инструкция по медицинскому применению препарата Уро-Ваксом (П N011541/01-061011).
С инструкцией можно ознакомиться на сайте ГРЛС: http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?idReg=4680&t

Информация для специалистов здравоохранения с распространением на специализированных мероприятиях

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56. Факс +7 (495) 737-07-50.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

astellas
Свет, ведущий к жизни

реклама

UXX/2016/0005/RU/Kash

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ПОЗИТИВНЫХ ХИРУРГИЧЕСКИХ КРАЕВ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ РОБОТАССИСТИРОВАННУЮ ИЛИ ПОЗАДИЛОННУЮ РАДИКАЛЬНУЮ ПРОСТАТЭКТОМИЮ ПО ПОВОДУ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кафедра урологии и хирургической андрологии РМАПО

Автор для связи: Е. А. Соколов — аспирант кафедры урологии и хирургической андрологии РМАПО;
e-mail: rmapo@yandex.ru

Вопрос сравнительной оценки онкологических и функциональных результатов роботассистированной радикальной простатэктомии (РАРПЭ) и позадилоной радикальной простатэктомии (ПРПЭ) активно обсуждается в международной литературе. В контексте изучения онкологической эффективности обеих методик принципиальным моментом служит сравнительная оценка частоты позитивных хирургических краев (ПХК) как одного из основных прогностических факторов, определяющих дальнейшее течение рака предстательной железы (РПЖ). Доступные к настоящему времени данные противоречивы, что побудило нас к проведению собственного исследования. Ретроспективный анализ проведен в двух группах пациентов, перенесших РАРПЭ (n=63) и ПРПЭ (n=116) с января 2014 по апрель 2015 г. Несмотря на тенденцию к меньшей общей частоте ПХК в группе РАРПЭ по сравнению с группой ПРПЭ (12,7 и 21,6% соответственно, p=0,09), значимых различий при стратификации пациентов обеих групп в зависимости от риска прогрессирования и патологической стадии РПЖ выявлено не было. Полученные данные указывают на потенциальное равенство обеих методик в отношении интраоперационного онкологического контроля заболевания.

Ключевые слова: рак предстательной железы, позадилоная радикальная простатэктомия, роботассистированная радикальная простатэктомия, позитивный хирургический край

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Велиев Е.И., Соколов Е.А., Лоран О.Б. Сравнительный анализ частоты позитивных хирургических краев у пациентов, перенесших роботассистированную или позадилоную радикальную простатэктомию по поводу рака предстательной железы. Урология. 2015;4:44–47.

Введение. Радикальная простатэктомия (РПЭ) остается высокоэффективным методом лечения больных как локализованным [1, 2], так и местнораспространенным [3] раком предстательной железы (РПЖ), продемонстрировавшим преимущество в раковоспецифической выживаемости по сравнению с выжидательной тактикой в двух проспективных рандомизированных исследованиях [4, 5].

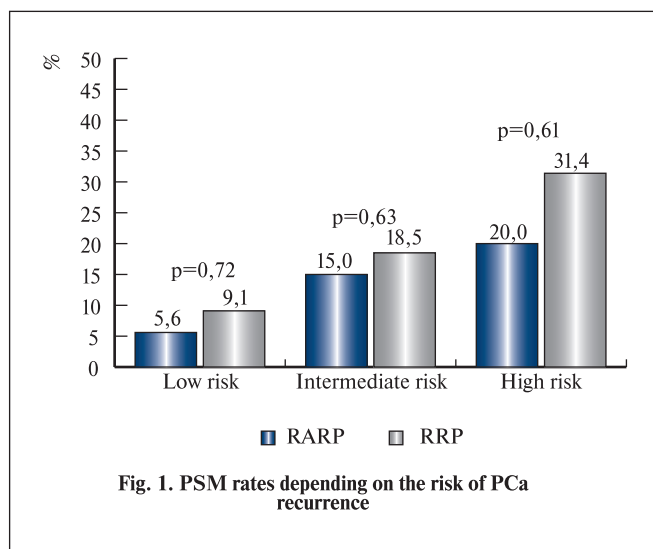
Последнее десятилетие ознаменовалось широким внедрением роботассистированной радикальной простатэктомии (РАРПЭ), особенно в странах с развитой экономикой, несмотря на отсутствие рандомизированных исследований, указывающих на преимущество данной методики по сравнению с «классической» позадилоной радикальной простатэктомией (ПРПЭ) [6]. Наличие противоречивых данных обусловило активную полемику относительно целесообразности признания РАРПЭ новым «золотым» стандартом РПЭ [7, 8]. Стоит отметить, что клинические рекомендации ведущих урологических ассоциаций в отсутствие достаточной доказательной базы указывают на равенство всех вариантов РПЭ [9].

Одним из принципиальных, не разрешенных к настоящему времени вопросов остается онкологическая эффективность РАРПЭ и ПРПЭ, в частности частота позитивных хирургических краев (ПХК). Несмотря на то что ПХК, по данным последних исследований, не является независимым предиктором раковоспецифической смертности, его наличие может увеличить риск биохимического рецидива,

потребность в дополнительной терапии РПЖ, а также быть источником значительного беспокойства пациентов [10]. Различные результаты ряда работ, указывающих как на преимущество РАРПЭ [11, 12], так и на равенство обеих методик в частоте ПХК [13, 14], побудили к проведению собственного исследования, целью которого стал сравнительный анализ частоты ПХК у пациентов, перенесших РАРПЭ и ПРПЭ (опыт одного хирурга).

Материалы и методы. В исследование (ретроспективный анализ) включены 179 пациентов, которым с января 2014 по апрель 2015 г. в урологическом отделении ГКБ им. С. П. Боткина одним хирургом выполнена РАРПЭ (n=63) и ПРПЭ (n=116) соответственно. Все РАРПЭ выполнены с использованием роботизированной хирургической системы da Vinci Si («Intuitive Surgical»®) трансперитонеальным доступом.

Стратификация пациентов по группам риска развития рецидива после лечения проведена согласно классификации Европейской ассоциации урологов (EAU) [9]: низкий риск — пациенты с клинической стадией cT1–T2a, суммарным индексом Глисона после биопсии ≤6 и уровнем простатического специфического антигена (ПСА) <10 нг/мл; промежуточный риск — пациенты с клинической стадией cT2b–T2c, суммарным индексом Глисона после биопсии, равным 7, и уровнем ПСА 10–20 нг/мл; высокий риск — пациенты с клинической стадией cT3a, суммарным индексом Глисона после биопсии, равным 8–10, и уровнем ПСА >20 нг/мл; очень



высокий риск – пациенты со стадией cT3b–T4 и/или данными за поражение лимфатических узлов. В исследование не включены 9 пациентов с РПЖ очень высокого риска, перенесших РРПЭ, по причине отсутствия пациентов очень высокого риска в группе РАРПЭ.

Гистологическое исследование всех удаленных препаратов (предстательная железа [ПЖ] с семенными пузырьками; при наличии – лимфатические узлы, отдельные участки дистальной уретры/шейки мочевого пузыря) проводилось в патологоанатомическом отделении ГКБ им. С. П. Боткина. Наличие опухолевой ткани в окрашенном крае резекции определено как ПХК.

Для характеристики групп исследования использованы методы описательной статистики: среднее значение со стандартным отклонением. Для срав-

нения непрерывных переменных использовали U-тест Манна–Уитни, при сравнительном анализе категориальных данных использовали критерий χ^2 Пирсона. При всех видах статистического анализа за достоверное принималось значение $p < 0,05$. Для статистической обработки использовано программное обеспечение Graph Pad Prism 6 (Graph Pad Software Inc, La Jolla, США).

Результаты. В первую очередь необходимо отметить существенные различия между двумя группами. Так, в группе РРПЭ у пациентов чаще выявляли более высокое содержание ПСА, низкодифференцированные опухоли, среди них было больше пациентов с местнораспространенным процессом и высоким риском развития рецидива (см. таблицу).

При оценке общей частоты ПХК в обеих группах отмечена тенденция к их меньшей встречаемости в группе РАРПЭ по сравнению с РРПЭ, однако различия не достигли статистической значимости – 12,7 против 21,6% ($p = 0,09$). В группе РАРПЭ ПХК наиболее часто констатировали в зоне шейки мочевого пузыря (4,7%), в базальных (3,2%) и боковых (3,2%) отделах ПЖ и реже всего – в зоне апекса ПЖ (1,6%). В группе РРПЭ, напротив, ПХК наиболее часто имел место в зоне апекса (6,9%) и далее в базальном отделе ПЖ (6%), боковых отделах (2,6%) и области шейки мочевого пузыря (2,6%); в 3,5% случаев определен мультифокальный ПХК.

При сравнительной оценке частоты ПХК в зависимости от группы риска развития рецидива различий между группами выявлено не было (рис. 1). Более того, использование обеих методик сопровождалось одинаковой частотой ПХК после стратификации пациентов в зависимости от патологической стадии (рис. 2).

Обсуждение. Интенсивная экспансия РАРПЭ как в США, так и в экономически развитых странах

Сравнительная характеристика пациентов, включенных в исследование			
Характеристика	Группа РАРПЭ (n=63)	Группа РРПЭ (n=116)	p
Возраст, годы	61,7±0,9	63,5±0,6	0,08
Уровень ПСА, нг/мл	8,8±0,54	11,9±0,7	<0,001
Объем ПЖ, см ³	37,9±2,2	48,9±2,9	0,003
Группа риска (EAU):			<0,001
низкий риск	18 (28,6%)	11 (9,5%)	
промежуточный риск	40 (63,4%)	70 (60,3%)	
высокий риск	5 (8,8%)	35 (30,2%)	
Индекс Глисона после биопсии			<0,001
≤6	47 (74,6%)	53 (45,7%)	
7 (3+4)	8 (12,7%)	29 (25%)	
7 (4+3)	6 (9,5%)	14 (12%)	
8–10	2 (3,2%)	20 (17,3%)	
Клиническая стадия			<0,001
cT1	21 (33,2%)	14 (12,1%)	
cT2	39 (62%)	89 (76,7%)	
cT3	3 (4,8%)	13 (11,2%)	
Индекс Глисона после РПЭ			<0,001
≤6	36 (57,1%)	52 (44,9%)	
7 (3+4)	22 (34,9%)	31 (26,7%)	
7 (4+3)	2 (3,2%)	15 (12,9%)	
8–10	3 (4,8%)	18 (15,5%)	
Патологическая стадия			<0,001
pT2N0	59 (93,7%)	77 (66,4%)	
pT3N0	4 (6,3%)	32 (27,6%)	
pTxN1	–	7 (6%)	

Европы и Азии породила в экспертной среде активную дискуссию о научной обоснованности данного явления. Опубликованные к настоящему моменту исследования позволяют сделать вывод о как минимум схожей онкологической и функциональной эффективности РАРПЭ по сравнению с ПРПЭ, причем отдельные работы указывают на ее большую эффективность.

Так, ряд исследований продемонстрировал меньшую частоту ПХК после РАРПЭ. Например, J. Smith и соавт. [11] отметили меньшую частоту ПХК после РАРПЭ по сравнению с ПРПЭ как при оценке всех включенных в исследование случаев (15 и 35% соответственно, $p < 0,001$), так и отдельно при стадии pT2 (9,4 и 24,1%, $p < 0,001$) и pT3 (50 и 60%, $p < 0,001$). В крупном ретроспективном исследовании [15] также продемонстрировано преимущество РАРПЭ в общем количестве ПХК (13,6 против 18,3%, $p < 0,001$), при клинически локализованном (pT2) и местнораспространенном (pT3a) процессе и при РПЖ промежуточной и высокой групп риска (достоверных различий при РПЖ низкой группы риска выявлено не было). Схожие данные представлены в ретроспективном обзоре [12]; в качестве ограничений исследования указаны большая доля пациентов высокого риска и более ранние сроки операции в группе ПРПЭ.

В то же время существенное количество работ демонстрирует отсутствие различий в частоте ПХК между двумя методиками. В частности, L.-O. Gagnon и соавт. [16] не выявили различий между РАРПЭ и ПРПЭ ни по общей доле ПХК (24,6 и 31% соответственно, $p = 0,18$), ни при патологической стадии pT2 (17,3 и 21,7%, $p = 0,43$) и pT3–4 (51,2 и 43,5%, $p = 0,45$). Отсутствие различий продемонстрировано также в ретроспективном исследовании M. Alemozaffar и соавт. [13] (24,4% после РАРПЭ и 23,1% после ПРПЭ), проспективном мультицентровом исследовании E. Haglund и соавт. [14] (21,8% после РАРПЭ и 20,9% после ПРПЭ) и в работе П. И. Раснера и соавт. [17] (6,4% после РАРПЭ и 6,1% после ПРПЭ).

В настоящем исследовании, несмотря на имевшую место тенденцию к меньшей частоте ПХК в группе РАРПЭ (может объясняться значительно более неблагоприятными клиническими характеристиками больных группы ПРПЭ), не выявлено различий при стратификации пациентов в зависимости от группы риска и патологической стадии РПЖ. Интересно отметить различную преобладающую локализацию ПХК – апекс при ПРПЭ, шейка мочевого пузыря и базальные отделы при РАРПЭ – потенциально указывающую на более благоприятные условия для этапа апикальной диссекции при РАРПЭ. Из ограничений исследования в первую очередь необходимо отметить его ретроспективный характер и нерандомизированный дизайн, что является общим недостатком всех работ, посвященных сравнению данных методик. Кроме того, продолжающаяся кривая обучения в РАРПЭ позволяет рассчитывать на улучшение результатов в процессе накопления опыта [18].

Заключение. При ретроспективной оценке результатов выполненных одним хирургом РАРПЭ и ПРПЭ не выявлено значимых различий в частоте ПХК. В настоящее время приоритет РАРПЭ в отношении

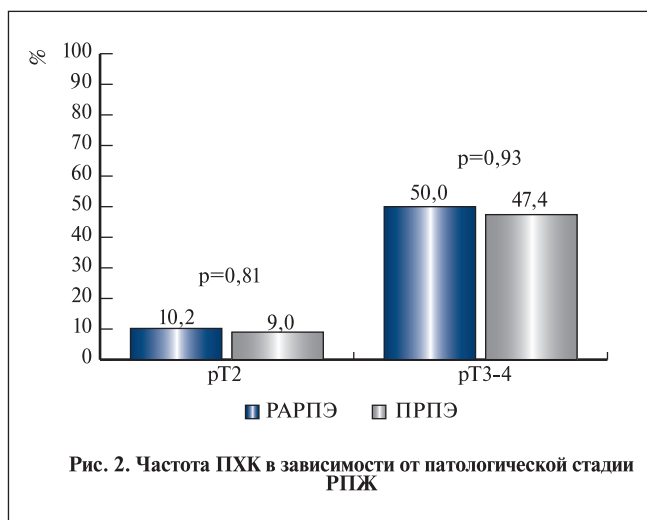


Рис. 2. Частота ПХК в зависимости от патологической стадии РПЖ

онкологического контроля РПЖ не доказан и требует дальнейшего исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Mullins J.K., Feng Z., Trock B.J., Epstein J.I., Walsh P.C., Loeb S. The impact of anatomical radical retropubic prostatectomy on cancer control: the 30-year anniversary. *J. Urol.* 2012;188:2219–2224.
- Велиев Е.И., Соколов Е.А., Лоран О.Б., Петров С.Б. Сравнительный анализ гистологических и отделенных онкологических результатов радикальной простатэктомии у пациентов, соответствующих критериям активного наблюдения Johns Hopkins и Royal Marsden Hospital. *Урология.* 2014;2:55–58.
- Mitchell C.R., Boorjian S.A., Umbreit E.C., Rangel L.J., Carlson R.E., Karnes R.J. 20-Year survival after radical prostatectomy as initial treatment for cT3 prostate cancer. *BJU Int.* 2012;110:1709–1713.
- Bill-Axelsson A., Holmberg L., Garmo Rider J.R., Taari K., Busch C., Nordling S., Häggman M., Andersson S.O., Spångberg A., Andrén O., Palmgren J., Steineck G., Adami H.O., Johansson J.E. Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. *N. Eng. J. Med.* 2014;370:932–942.
- Wilt T.J., Brawer M.K., Jones K.M., Barry M.J., Aronson W.J., Fox S., Gingrich J.R., Wei J.T., Gilhooly P., Grob B.M., Nsouli I., Iyer P., Cartagena R., Snider G., Roehrborn C., Sharifi R., Blank W., Pandya P., Andriole G.L., Culin D., Wheeler T. Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *N. Eng. J. Med.* 2012;367:203–213.
- Sammon J.D., Karakiewicz P.I., Sun M., Sukumar S., Ravi P., Ghani K.R., Bianchi M., Peabody J.O., Shariat S.F., Perrotte P., Hu J.C., Menon M., Trinh Q.D. Robot-assisted versus open radical prostatectomy: the differential effect of regionalization, procedure volume and operative approach. *J. Urol.* 2013;189:1289–1294.
- Sood A., Jeong W., Peabody J.O., Hemal A.K., Menon M. Robot-assisted radical prostatectomy: inching toward gold standard. *Urol. Clin. North Am.* 2014;41:473–484.
- Lepor H. Does the medical evidence justify robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy as the new gold standard for radical prostatectomy? *Urol. Oncol.* 2013;31:137–139.
- Heidenreich A., Bastian P.J., Bellmunt J., Bolla M., Joniau S., van der Kwast T., Mason M., Matveev V., Wiegel T., Zattoni F., Mottet N. European Association of Urology. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: Screening, diagnosis, and local treatment with curative intent – update 2013. *Eur. Urol.* 2014;65:124–137.
- Stephenson A.J., Eggener S.E., Hernandez A.V., Klein E.A., Kattan M.W., Wood D.P.Jr., Rabah D.M., Eastham J.A., Scardino P.T. Do margins matter? The influence of positive surgical margins on prostate cancer-specific mortality. *Eur. Urol.* 2014;65:675–680.
- Smith J.A. Jr., Chan R.C., Chang S.S., Herrell S.D., Clark P.E.,

- Baumgartner R., Cookson M.S.* A comparison of the incidence and location of positive surgical margins in robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy and open retropubic radical prostatectomy. *J. Urol.* 2007;178:2385–2389.
12. *Sooriakumaran P., Srivastava A., Shariat S.F., Stricker P.D., Ahlering T., Eden C.G., Wiklund P.N., Sanchez-Salas R., Motttrie A., Lee D., Neal D.E., Ghavamian R., Nyirady P., Nilsson A., Carlsson S., Xylinas E., Loidl W., Seitz C., Schramek P., Roehrborn C., Cathelineau X., Skarecky D., Shaw G., Warren A., Delprado W.J., Haynes A.M., Steyerberg E., Roobol M.J., Tewari A.K.* A multinational, multi-institutional study comparing positive surgical margin rates among 22 393 open, laparoscopic, and robot-assisted radical prostatectomy patients. *Eur. Urol.* 2014;66:450–456.
 13. *Alemozaffar M., Sanda M., Yecies D., Mucci L.A., Stampfer M.J., Kenfield S.A.* Benchmarks for operative outcomes of robotic and open radical prostatectomy: results from the health professionals follow-up study. *Eur. Urol.* 2015;67:432–438.
 14. *Haglund E., Carlsson S., Stranne J., Wallerstedt A., Wilderäng U., Thorsteinsdottir T., Lagerkvist M., Damber J.E., Bjartell A., Hugosson J., Wiklund P., Steineck G.* LAPPRO steering committee. Urinary incontinence and erectile dysfunction after robotic versus open radical prostatectomy: a prospective, controlled, nonrandomised trial. *Eur. Urol.* 2015;68(2):216–225.
 15. *Hu J.C., Gandaglia G., Karakiewicz P.I., Nguyen P.L., Trinh Q.D., Shih Y.C., Abdollah F., Chamie K., Wright J.L., Ganz P.A., Sun M.* Comparative effectiveness of robot-assisted versus open radical prostatectomy cancer control. *Eur. Urol.* 2014;66:666–672.
 16. *Gagnon L.O., Goldenberg S.L., Lynch K., Hurtado A., Gleave M.E.* Comparison of open and robotic-assisted prostatectomy: The University of British Columbia experience. *CUAJ.* 2014;8:92–97.
 17. *Раснер П.И., Котенко Д.В., Колонтарев К.Б., Пушкарь Д.Ю.* Сравнительный анализ функциональных результатов радикальной позадилоной и робот-ассистированной простатэктомии у больных локализованным раком предстательной железы. Экспериментальная и клиническая урология. 2014;4:26–30.
 18. *Thompson J.E., Egger S., Böhm M., Haynes A.M., Matthews J., Rasiah K., Stricker P.D.* Superior quality of life and improved surgical margins are achievable with robotic radical prostatectomy after a long learning curve: a prospective single-surgeon study of 1552 consecutive cases. *Eur. Urol.* 2014;65:521–531.

Поступила 21.04.15

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ КАМНЕЙ ПОЧЕК И МОЧЕТОЧНИКОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ

¹ ГБУЗ ГКБ № 57 ДЗМ (главврач — к.м.н. И. А. Назарова); ² кафедра эндоскопической урологии (зав. кафедрой — д.м.н., проф. О. В. Теодорович) ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России; ³ ГБУЗ РКБ Министерства здравоохранения Кабардино-Балкарской Республики, Нальчик

Автор для связи: А. Г. Мартов — д.м.н., профессор, зав. 2-м урологическим отделением; e-mail: martovalex@mail.ru

Эффективное лечение уролитиаза, особенно у пациентов с избыточной массой тела, имеет важное медицинское и социальное значение. Дистанционная литотрипсия (ДЛТ) и чрескожная нефролитотрипсия (ЧНЛТ) в положении больного на животе являются стандартными оперативными пособиями при камнях почек и мочеточников. В то же время данные вмешательства не всегда эффективны для пациентов с сопутствующим ожирением, сопряжены с техническими трудностями и повышенным риском развития осложнений. В исследование включены 175 пациентов с ожирением. Первую группу составили 96 (54,8%) больных, которым оперативное лечение производилось путем трансуретральной контактной литотрипсии. Во 2-ю группу вошли 54 (30,9%) пациента, перенесших ЧНЛТ в положении на спине. Третью группу составили 25 (14,3%) пациентов с множественными камнями почек и мочеточников, у которых были выполнены сочетанные трансуретральные и чрескожные вмешательства в положении на спине. В 1-й и 3-й группах преобладали пациенты со II степенью ожирения, во 2-й — с I степенью ожирения. Средняя продолжительность оперативного вмешательства в 1-й группе составила 43,4 мин, во 2-й — 70,3, в 3-й — 84,6 мин. Способ дренирования почки зависел в основном от наличия, локализации и размеров резидуальных фрагментов. Средняя продолжительность дренирования почки внутренним стентом у пациентов 1-й группы составила 39 дней (мочеточниковым катетером — 1,3 дня). У всех больных 2-й и 3-й групп операция завершалась установкой нефростомического дренажа в среднем на 2,7 дня. Средний послеоперационный койко-день составил в 1-й группе 2,9 дня, во 2-й — 4,1, в 3-й — 4,5 дня. В 1-й группе полного удаления конкрементов (SFR) удалось достичь 81 (84,4%) пациенту. При этом еще 10 (10,4%) пациентам для полного избавления от камней в последующем потребовалось выполнение ДЛТ. Во 2-й группе полное освобождение почек от конкрементов констатировали у 49 (90,7%) больных. Еще 3 (5,6%) пациентам для достижения статуса SFR потребовалось дополнительное проведение ДЛТ. В 3-й группе полностью избавить пациентов от конкрементов удалось в 22 (88%) наблюдениях. У остальных больных резидуальные фрагменты не имели клинически значимый характер. Среди послеоперационных осложнений во всех группах преобладал послеоперационный пиелонефрит. Высокая эффективность трансуретральной литотрипсии и ЧНЛТ в положении на спине, а также их комбинации позволяют рекомендовать данные оперативные пособия для лечения больных камнями почек и мочеточников с сопутствующим ожирением.

Ключевые слова: трансуретральная литотрипсия, чрескожная нефролитотрипсия на спине, ожирение, эффективность, безопасность

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Мартов А.Г., Дутов С.В., Андронов А.С., Кильчуков З.И., Тахаев Р.А. Новые возможности эндоскопического лечения камней почек и мочеточников у пациентов с ожирением. Урология. 2015;4:55–62.

Введение. Проблема распространенности ожирения у пациентов активного трудоспособного возраста чрезвычайно актуальна в настоящее время. Во многих странах мира отмечается увеличение числа людей с избыточной массой тела. Так, в США за последние 20 лет XX в. прирост пациентов с ожирением составил порядка 30%, что стало причиной многомиллиардных расходов в связи с потерей трудоспособности и необходимостью лечения осложнений [1]. Согласно данным ООН, Россия находится на 25-м месте в мире по количеству людей, страдающих от ожирения или избыточной массы тела. По данным на 2013 г., распространенность ожирения в РФ варьируется от 24,9 до 25,3% [2].

Под ожирением понимают хроническое заболевание обмена веществ, проявляющееся избы-

точным развитием жировой ткани, прогрессирующее при естественном течении, имеющее определенный круг осложнений и характеризующееся высокой вероятностью рецидива после окончания курса лечения [3]. Сочетание мочекаменной болезни (МКБ) и ожирения часто встречается в урологической практике. По данным [4], до 98% пациентов с избыточной массой тела имеют хотя бы один литогенный фактор риска при исследовании суточной мочи (гипероксалурия, гиперкальциурия и др.), а 80% — 3 и более. Таким образом, принимая во внимания тот факт, что в 30–40% случаев МКБ носит хронический рецидивирующий характер, что заставляет пациентов длительное время находиться на листах нетрудоспособности, эффективное лечение уролитиаза, особенно у пациентов с избы-



Рис. 1. Типичное глубокое расположение почечного кожных Amplatz при выполнении ЧНЛТ в положении на животе у пациента с ожирением

На снимке стандартный нефроскоп находится внутри углубленного почечного кожных, рядом с которым виден страховый проводник.

точной массой тела, имеет важное медицинское и социальное значение.

Определение эффективного и безопасного метода оперативного лечения МКБ у пациентов с сопутствующим ожирением — актуальная задача современной медицины. Дистанционная литотрипсия (ДЛТ), стандартная чрескожная нефролитотрипсия (ЧНЛТ) в положении больного на животе и трансуретральная литотрипсия (ТУЛТ) с помощью ригидных уретеропиелоскопов на сегодняшний день чаще всего используются при лечении уролитиаза. В то же время данные вмешательства не всегда эффективны для пациентов с сопутствующим ожирением, сопряжены с техническими трудностями и повышенным риском развития осложнений. Так, например, у пациентов с ожирением при выполнении чрескожных операций на животе практически всегда имеет место более глубокое расположение кожных (рис. 1),

что резко ограничивает подвижность нефроскопа, эндовизуализацию внутрипочечных структур и может сопровождаться миграцией кожных вглубь пункционного канала — в подкожно-жировую клетчатку.

Последние инновации в эндоскопическом лечении камней почек и мочеточников, связанные с разработкой и внедрением в клиническую практику трансуретральной лазерной нефролитотрипсии с помощью гибких фиброэндоскопов, ЧНЛТ в положении больного на спине или одновременной комбинированной (сочетанной) чрескожной и трансуретральной литотрипсии, позволяют эффективно удалять камни верхних мочевых путей у больных с сопутствующим ожирением.

Изучение возможностей данных методик в лечении камней почек и мочеточников у больных ожирением и послужило целью настоящей работы.

Материалы и методы. В исследование были включены 175 пациентов с ожирением, которым в период с 2007 по 2015 г. предпринималось оперативное лечение по поводу камней почек и мочеточников. Все операции выполнялись на базе ГКБ № 57 и бывшей ГКУБ № 47 Москвы.

Первую группу пациентов составили 96 (54,8%) больных, у которых оперативное лечение производилось путем ТУЛТ (с применением как ригидных, так и гибких инструментов). Во 2-ю группу вошли 54 (30,9%) пациента, перенесших ЧНЛТ в положении на спине. В 3-й группе оказалось 25 (14,3%) пациентов, которым одновременно выполнялась трансуретральная и чрескожная нефролитотрипсия.

В 1-й группе мужчин оказалось 42 (43,8%), женщин — 54 (56,2%). Во 2-й группе также большую часть составили женщины — 30 (55,5%) больных. В 3-й группе преобладали мужчины — 17 (68%). Возраст больных варьировался от 27 до 72 лет. Средний возраст пациентов 1-й группы составил $48,6 \pm 11,2$ года, 2-й — $44 \pm 8,6$, 3-й — $54 \pm 10,4$ года. Таким образом, большинство (69,3%) больных оказались людьми среднего трудоспособного возраста 40–60 лет.

Для стратификации пациентов с избыточной массой тела использовали разработанный бельгийским социологом и статистиком А. Кетле показатель индекса массы тела (ИМТ). Это величина, позволяющая оценивать степень соответствия массы человека и его роста и тем самым косвенно оценивать, является ли масса недостаточной, нормальной или избыточной (ожирение). Согласно рекомендациям ВОЗ, показатель ИМТ 18,5–24,99 соответствует норме или отсутствию лишней массы тела, 25,00–29,99 — избыточной массе тела или предожирению. Индекс массы

Распределение больных в зависимости от вида операции и степени ожирения

Т а б л и ц а

Степень ожирения	1-я группа	2-я группа	3-я группа	Итого
Предожирение	25 (26%)	3 (5,6%)	7 (28,0%)	35
I степень	27 (28,1%)	25 (46,3%)	7 (28,0%)	59
II степень	32 (33,3%)	20 (37,0%)	9 (36,0%)	61
III степень	12 (12,6%)	6 (11,1%)	2 (8,0%)	20
Всего	96	54	25	175

тела более 30 свидетельствует о наличии ожирения той или иной степени: 30,00–34,99 – ожирение I степени, 35,00–39,99 – ожирение II степени, свыше 40 – ожирение III степени (морбидное ожирение) [5].

Распределение пациентов в зависимости от степени ожирения и вида операции представлено в таблице. В группе пациентов, которым были выполнены трансуретральные вмешательства (1-я группа), большинство составили таковые со II степенью ожирения – 32 (33,3%), во 2-й группе (ЧНЛТ на спине) преобладали (46,3%) больные с I степенью ожирения. Всего лишь 3 (5,6%) пациентам 2-й группы с предожирением выполнена ЧНЛТ в положении на спине, что было обусловлено тем фактом, что этой категории больных в основном производилась стандартная ЧНЛТ на животе. В 3-й группе большинство (36%) составили пациенты со II степенью ожирения.

Среди сопутствующих заболеваний у пациентов всех групп встречались артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки.

В комплекс стандартного предоперационного комплексного клиничко-лабораторного обследования входили посев мочи с определением чувствительности к антибиотикам, УЗИ с доплерографией сосудов почек, обзорная и экскреторная урография, радиоизотопная ренография. Мультиспиральная компьютерная томография брюшной полости и почек была выполнена 65, 73 и 84% 1, 2 и 3-й групп соответственно.

Результаты проведенного предоперационного обследования позволили определить локализацию, форму и размеры камней. В 1-й группе больных с камнями мочеточников оказалось 42 (43,8%), с изолированными камнями лоханки – 19 (19,8%), с сочетанием камней лоханки и чашечек – 18 (18,8%), с крупными симптоматическими камнями чашечек – 10 (10,4%), с сочетанием камней почки и мочеточника – 7 (7,2%) пациентов. Во 2-й группе преобладали пациенты с крупными одиночными камнями лоханки – 38%, лоханки и нижней чашечки – 32%, коралловидными камнями с небольшими отростками – 30%. В 3-й группе абсолютное большинство составили пациенты с сочетанием множественных камней почек и мочеточников – 23 (92%) человека. При этом у 8 (32%) больных были выявлены коралловидные камни со сложной стереометрической конфигурацией.

Поскольку размер конкремента существенно влияет на скорость его дезинтеграции и как следствие – на продолжительность оперативного вмешательства и возможность развития различных осложнений, данный параметр наряду с его локализацией был ключевым при отборе пациента в ту или иную группу. Наличие крупных, более 2,5 см, конкрементов почек, а также коралловидных конкрементов служило показанием к выполнению ЧНЛТ в положении больного на спине. При меньших размерах камней почек, а также при нахождении конкрементов в мочеточнике либо при выявлении нефроуретеролитиаза предпочтение отдавали трансуретральному доступу. В работе оценивали наибольший поперечный размер конкремента. При наличии у больного камней как почек, так и мочеточников их размер



Рис. 2. Литотомическое положение больного с ожирением для выполнения одновременной комбинированной ЧПНЛ на спине слева и ТУЛТ. Объяснения в тексте

подсчитывали отдельно. При наличии у пациента множественных конкрементов почек определяли их суммарный размер. Подавляющее большинство (86,7%) 1-й группы составили пациенты с суммарным размером конкрементов от 1,5 до 2,0 см. Во 2-й группе преобладали больные с размером камней от 2 до 4 см – 67,4%. Третью группу составили пациенты с множественными камнями почек и мочеточников, средний суммарный размер конкрементов у которых превышал 4 см (у 84% больных).

Большинство во всех группах составили больные, имевшие указание на наличие в анамнезе МКБ, – 57,1%. У 32% больных ранее производились различные оперативные вмешательства, из них ДЛТ – у 66%, трансуретральные вмешательства – у 22%, ЧНЛТ в положении больного на животе – у 9%, открытые операции – у 3%. Следует отметить, что у 16 (16,7%) пациентов 1-й группы и у 10 (18,5%) – 2-й после ранее выполненной ДЛТ отхождения фрагментов отмечено не было, что послужило основанием к выбору иной тактики лечения. Двадцать девять (16,6%) пациентов перед операцией имели нефростомический дренаж, установленный по поводу атаки острого пиелонефрита. Двадцати трем (24%) пациентам 1-й группы и 2 больным 3-й одновременно с удалением камней выполнена трансуретральная лазерная эндоуретеропиелотомия по поводу сопутствующей стриктуры мочеточника или лоханочно-мочеточникового сегмента.

Все операции выполняли в условиях рентгеноперационной в литотомическом положении больного с разведенными нижними конечностями (рис. 2). Пациенты, которым производилась ЧНЛТ на спине, были уложены в полубоковое положение с подложенным под соответствующую сторону рентгенопрозрачным валиком (или 3–5-литровым мешком с физиологическим раствором) как можно ближе к краю стола с ипсилатеральной стороны [6]. Большинство оперативных вмешательств в 1-й группе проходили под спинальной анестезией – в 78,1% наблюдений. У остальных пациентов 1-й группы и всех пациентов 2-й и 3-й групп использовали эндо-трахеальный наркоз.

Среди пациентов 1-й группы 29 (30,2%) больным выполнялись операции с использованием гибких фиброуретеропиелоскопов диаметром 7,5–9 Fr, что было обусловлено необходимостью достижения конкрементов, расположенных в чашечках почки или для поиска и удаления мигрировавших в процессе литотрипсии фрагментов. При этом у 17 больных для создания трансуретрального доступа в почку применяли мочеточниковые бужи с кожухом 12–14 Fr. Остальным пациентам предпринималась ригидная уретеропиелоскопия с помощью инструментов диаметром 7,5–9,5 Fr. К большинству (85%) пациентов с целью дезинтеграции конкрементов применяли гольмиевый лазер мощностью 30–50 Вт. При ригидной уретеропиелоскопии для литотрипсии использовали лазерные волокна диаметром 365 и 600 нм. В ходе фиброуретеропиелоскопии с целью воздействия на камень либо применяли лазерные волокна диаметром 230 нм, либо осуществляли контактную электроимпульсную наносекундную литотрипсию с помощью гибких зондов диаметром 2,–2,4 Fr (15% пациентов). Для удаления фрагментов камней применяли ригидные и гибкие нитиноловые литоэкстракторы диаметром 1,8–5 Fr. При полном освобождении больного от камней операцию заканчивали установкой мочеточникового катетера или наружного стента с 1–3-го дня при наличии резидуальных фрагментов, большого количества песка или необходимости интубации стриктуры устанавливали внутренний стент на 4–6 нед.

Всем больным 2-й группы первым этапом выполняли уретроцистоскопию, катетеризацию ипсилатеральной почки. Пункцию чашечно-лоханочной системы в положении больного на спине проводили под сочетанным ультразвуковым и рентгеновским контролем. В подавляющем большинстве случаев доступ к конкременту осуществляли через нижнюю группу чашечек – у 75% больных. Сорока больным ЧНЛТ на спине выполняли с помощью стандартных ригидных нефроскопов диаметром 24–26 Fr и ультразвуковой литотрипсии. В отношении 10 пациентов использовали технику миниперкутанной лазерной ЧНЛТ (нефроскоп 12 Fr, лазерное волокно 600 мкм) и 4 – микроперкутанной ЧНЛТ (нефроскоп 7,5 Fr, лазерное волокно 365 мкм). После стандартной ЧНЛТ на спине почку дренировали 2–3 дня нефростомическим дренажем с баллоном диаметром 18–22 Fr, после мини- и микроперкутанной хирургии устанавливали на те же сроки pig tail диаметром 8–10 Fr.

Оперативное вмешательство пациентам 3-й группы начиналось с этапа ригидной (16 больных) или гибкой (9 больных) уретеропиелоскопии. После достижения лоханки ретроградно под сочетанным рентгенотелевизионным контролем формировали чрескожный доступ на спине с последующей одновременной дезинтеграцией конкремента через уретеропиелоскоп и нефроскоп. В большинстве (92%) наблюдений пункцию осуществляли через нижнюю группу чашечек. В отношении 18 больных для ЧНЛТ использовали стандартный нефроскоп в сочетании с ультразвуковой литотрипсией, 5 – мининефроскоп и 2 – микронефроскоп в сочетании с лазерным дроблением камней. Операцию заканчивали нефростомией сроком 2–4 дня.

В послеоперационном периоде проводилось контрольное обследование, включившее лабораторные анализы, УЗИ, обзорную урографию, антеградную пиелоуретрографию (пациентам 2-й и 3-й групп). Результаты лечения оценивали через 1–3 мес после операции.

Результаты. Основными параметрами при оценке результатов выполненных оперативных вмешательств были продолжительность операции, сроки дренирования почки, послеоперационный койко-день, процент полного освобождения мочевых путей от конкрементов (stone free rate – SFR), количество и характер осложнений.

Продолжительность операции мы определяли с момента начала уретероскопии в 1-й и 3-й группах либо цистоскопии, катетеризации почки во 2-й группе вплоть до установки того или иного дренажа в почку. Средняя продолжительность оперативного вмешательства в 1-й группе составила 43,4 мин, во 2-й – 70,3, в 3-й – 84,6 мин.

Продолжительность дренирования почки внутренним стентом у пациентов 1-й группы составила в среднем 39 дней (мочеточниковым катетером – 1,4 дня). Операция всем больным 2-й и 3-й групп завершилась установкой нефростомического дренажа в среднем на 2,7 дня. Продолжительность нахождения больного в стационаре после операции составила в 1-й группе в среднем 3,6 дня, во 2-й – 5,1, в 3-й – 5,5 дня.

Наличие резидуальных конкрементов определено по результатам выполненных в послеоперационном периоде рентгеновского и ультразвукового исследований почек. Резидуальным клинически значимым конкрементом считали фрагменты камней размером более 3 мм. В 1-й группе полного удаления конкрементов удалось достичь 81 (84,4%) пациенту. При этом еще 10 (10,4%) прооперированным для полного избавления от камней в последующем потребовалось выполнение ДЛТ. У остальных больных резидуальные фрагменты имели клинически незначимый характер (располагались в изолированных чашечках).

Во 2-й группе полное освобождение почек от конкрементов констатировали у 49 (90,7%) больных. Еще 3 (5,6%) пациентам для достижения статуса SFR потребовалось дополнительное применение ДЛТ.

В 3-й группе полностью избавиться от конкрементов удалось 22 (88%) пациентов. У остальных больных резидуальные фрагменты не имели клинически значимый характер.

Среди послеоперационных осложнений большую часть составил послеоперационный пиелонефрит, купированный антибактериальной терапией. В 1-й группе было зафиксировано 13 (13,5%) подобных наблюдений, во 2-й – 8 (14,8%), в 3-й – 5 (20%). Одному пациенту 2-й группы была диагностирована послеоперационная пневмония и одному 3-й группы – послеоперационный пневмоторакс; осложнения купированы консервативно. У 4 (7,4%) больных 2-й группы и у 3 (12%) пациентов 3-й группы интраоперационно возникло кровотечение, купированное консервативными мероприятиями и потребовавшее переливания компонентов крови. Других значимых осложнений зафиксировано не было.

Обсуждение. Определение оптимального способа удаления камней почек и мочеточников у пациентов с сопутствующим ожирением чрезвычайно важно

в связи с большим распространением данной категории больных и наличием сложностей при проведении стандартных оперативных вмешательств, снижающих эффективность выполненной операции и предрасполагающих к развитию осложнений.

Методом первой линии оперативного лечения, направленного на избавление пациента от конкрементов небольшого размера, согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов (2015), является дистанционная литотрипсия. В лечении камней мочеточников размером до 1 см эффективность ДЛТ достигает 90% и более [7]. В то же время зачастую адекватное дистанционное разрушение конкремента становится затруднительным для пациентов повышенного питания ввиду невозможности выведения камня в фокус ударной волны литотриптора. Данный фактор коррелирует с увеличением толщины подкожно-жировой клетчатки больного и уровнем рентгенпозитивности конкремента [8]. В работе D. Delakas и соавт. [9] показано снижение эффективности дробления конкрементов у тучных больных в 1,9 раз по сравнению с пациентами, не страдавшими ожирением. В. Olivi и соавт. [10], пролечив с помощью ДЛТ пациентов с ИМТ более 35 и размером камня до 11 мм, эффект констатировали у 56,3% больных, при этом в среднем потребовалось 1,67 сеанса ДЛТ. Другие авторы указывают на эффективность ДЛТ до 73% у больных с морбидным ожирением и размером камней от 6 до 20 мм. Однако для достижения такого результата потребовалось несколько сеансов ДЛТ [11].

В лечении камней почек, особенно крупных (более 2 см), а также множественных и коралловидных камней применение ДЛТ ограничено ввиду большого риска обструктивных осложнений и необходимости выполнения нескольких сеансов для достижения адекватного результата, что приводит к увеличению затрат на лечение больного. В связи с этим, согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов (2015), в настоящее время основным методом оперативного лечения нефролитиаза у данной категории больных является чрескожная (перкутанная) нефролитотрипсия. Тем не менее выполнение стандартной ЧНЛТ на животе у пациентов с ожирением затруднительно. Это обусловлено трудностями формирования доступа к почке у тучных пациентов, сопряжено с повышенным риском потери пункционного хода, нередко сопровождается глубоким залеганием кожных Amplatz в толще подкожно-жировой клетчатки, а также ограниченной подвижностью нефроскопа и меньшей доступностью визуализации внутривидеочечных структур, находящихся под углом от оси пункционного доступа. Кроме того, необходимость перемещения пациента из положения на спине в положение на животе требует участия массы персонала и может сопровождаться травмированием пациента, особенно при наличии у него существенной избыточной массы тела. Нахождение на животе больного ожирением обуславливает развитие вентилиционно-перфузионных нарушений, связанных с ограничением подвижности дыхательных мышц, что может стать фактором риска развития соответствующих осложнений, особенно у пожилых пациентов [12].

Выявленные недостатки различных методов оперативного лечения камней почек и мочеточников

у пациентов с высоким ИМТ являются причиной поиска оптимального способа избавления подобных пациентов от конкрементов.

Развитие и совершенствование оборудования для трансуретральных вмешательств по поводу камней почек и мочеточников, активное внедрение в клиническую практику гибких фиброуретеропиелоскопов позволяют решать проблему эффективного лечения уролитиаза у больных ожирением. Согласно исследованиям [13], эффективность удаления конкрементов путем ТУЛТ с применением фиброскопов сопоставима у пациентов с высоким ИМТ и у больных с нормальной массой тела, составляя 68 и 67,4% соответственно, достигая 92,6% после выполнения повторного вмешательства. При этом процент полного освобождения мочевых путей от конкрементов ухудшался с увеличением размера исходного конкремента и особенностями его локализации. Средняя продолжительность ТУЛТ у больных с избыточной массой тела составила 73–77 мин [13]. Однако подобная продолжительность во многом была обусловлена тем фактом, что в исследование были включены пациенты с большими размерами камней почек – более 3 см, что требовало большего времени для дезинтеграции камней. Сходные результаты получены в многоцентровом исследовании [14]. В нашей работе полного освобождения почек и мочеточников от конкрементов путем ТУЛТ удалось добиться в 84,4% наблюдений при средней продолжительности операции 43,4 мин, однако в наших наблюдениях ТУЛТ в основном выполнялась при размерах конкрементов от 1,5 до 2,0 см (86,7% наблюдений). Исходя из нашего опыта, мы можем сделать следующее заключение: выполнение трансуретральной фиброуретеропиелоскопии пациентам с ожирением не сопряжено с увеличением трудностей по сравнению с таковыми с нормальной массой тела. В то же время при ригидной уретеропиелоскопии у мужчин-гиперстеников с ожирением определенные проблемы могут возникать при проведении инструмента в верхние мочевые пути из-за так называемого низкого лона – иногда бывает трудно или невозможно преодолеть пузырный изгиб мочеточника.

Выполнение ЧНЛТ в положении больного на спине также считается предпочтительным для больных ожирением, так как позволяет избежать развития кардиореспираторных нарушений в ходе вмешательства и сокращать время операции из-за отсутствия необходимости перекладывания больного на операционном столе. J. Valdivia Uria и соавт. [15], впервые заявившие о возможности выполнения подобного рода вмешательств, отмечают полное избавление пациентов от конкрементов в 93 % наблюдений при средней продолжительности операции 85 мин. Среди преимуществ укладки пациента на спине авторы отметили следующие: удобное положение для больного, что позволяет выполнять операцию больным ожирением и сопутствующими общесоматическими заболеваниями; достаточно легкий доступ к почке в связи с близким ее расположением к брюшной стенке; возможность выполнения одномоментного перкутанного и трансуретрального вмешательства в отношении больных со сложными камнями почек. По данным рандомизированного исследования De M. Sio и соавт. [16] полное освобождение чашечно-

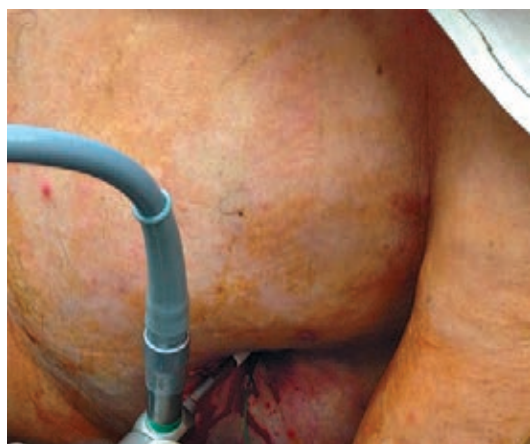


Рис. 3. Миниперкутанная ЧПНЛ в положении на спине у пациента с ожирением

Мининефроскоп 12 Fr находится внутри почечного кобуха Amplatz 14 Fr, рядом с которым виден страховый проводник. Кожух пространственно расположен книзу, что способствует самостоятельной элиминации фрагментов камня наружу.

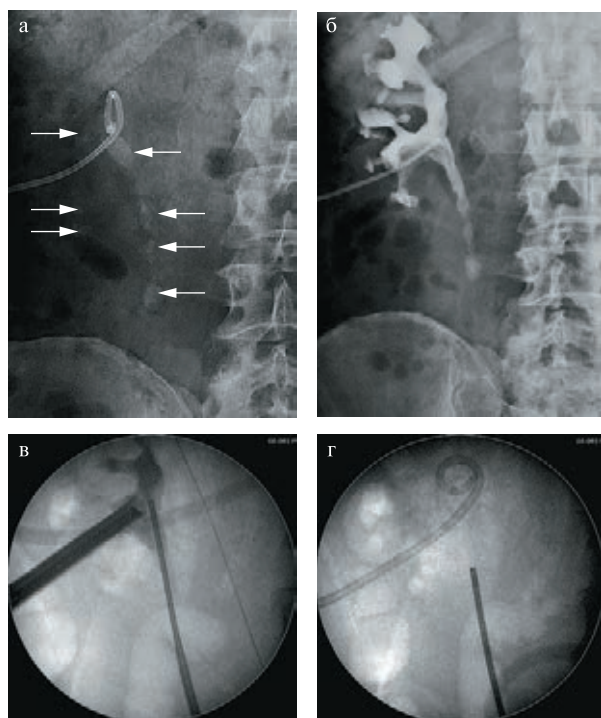


Рис. 4. Рентгенограммы больного В. 52 лет с множественными камнями правой почки и мочеточника, ожирением II степени. Операция: комбинированная ЧПНЛ и ТУЛТ в положении больного на спине

а — обзорная урограмма: стрелкой указаны множественные камни почки и мочеточника, нефростома установлена по поводу атаки острого пиелонефрита; б — антеградная пиелоуретерограмма; в — одновременная ЧПНЛ и ТУЛТ в положении больного на спине; г — завершающий этап операции: камни удалены, в почку установлен нефростомический дренаж, выполняется контрольная уретероскопия.

лоханочной системы от конкрементов при минимальной частоте осложнений наблюдалось в среднем у 90% больных. Эффективность и безопасность метода были сравнимы с таковыми при стандартной укладке оперируемого. При этом средняя продолжительность операции была существенно меньше. Авторы также обратили внимание, что пространственное расположение почечного кобуха книзу, что обычно бывает при выполнении ЧПНЛ на спине, поддерживает низкое давление в почечной лоханке. Это уменьшает риск всасывания ирригационной жидкости в системный кровоток и может быть клинически значимым для пациентов с болезнями сердечно-сосудистой и дыхательной систем и ожирением [16]. В нашем исследовании эффективность ЧНЛТ в положении больного на спине составила 90,7% при средней продолжительности операции 70,3 мин, но в этой группе больных практически не было камней со сложной стереометрической конфигурацией и множественных камней почки. Наш собственный опыт выполнения ЧНЛТ на спине помимо описанных выше преимуществ позволяет подчеркнуть ряд особенностей операции пациентам с ожирением. Действительно, пункционный кожно-почечный канал обычно бывает короче, чем при ЧПНЛ на животе, и кобух Amplatz часто пространственно расположен книзу, что при выполнении лазерной мини- и микроперкутанной ЧНЛТ на спине способствует лучшей эвакуации фрагментов (рис. 3). Однако, в связи с тем что для безопасного пункционного доступа чаще всего используется только нижняя группа чашечек почки, это в значительной степени ограничивает осмотр полостной системы, что необходимо учитывать при выборе операции. Однако данные недостатки ЧНЛТ на спине нивелируются возможностью одновременного выполнения ригидной и гибкой уретеропиелоскопии.

Основные показания к выполнению симультанной ЧНЛТ и ТУЛТ, по нашему мнению: сочетанные камни почек и мочеточников, а также множественные сложные и коралловидные камни почек со сложной стереометрической конфигурацией (рис. 4). По результатам исследования С. Scoffone и соавт. [17], полное избавление больных от камней после симультанной ЧПНЛ и ТУЛТ наступало в 81,9% случаев при средней продолжительности операции 70 мин. При оставленных резидуальных фрагментах повторное перкутанное вмешательство повышалось до 87,4%. В нашей работе полного освобождения почек и мочеточников от конкрементов сочетанным трансуретральным и чрескожным доступом удалось достичь в 88% наблюдений. Длительность операции составила 84,6 мин, что в целом коррелирует с общемировыми данными. Следует принять во внимание тот факт, что симультанное выполнение ЧНЛТ и ТУЛТ требует повышенного технического оснащения операционной (2 эндоскопических стойки, 2 литотриптора и др.) и удвоение персонала.

Выполнение трансуретральной уретеро- и пиелолитотрипсии обычно не предрасполагает к большой частоте осложнений. В исследовании [13] частота осложнений составила 2,44%. При этом интраоперационных осложнений зафиксировано не было. Тем не менее в нашем исследовании отмечено 13,5% случаев развития послеоперационного пиелонефрита у

больных 1-й группы. Однако все они были купированы консервативными мероприятиями путем рационально подобранной антибактериальной терапии.

Частота осложнений ЧНЛТ на спине также в целом низкая и не превышает таковую при выполнении данного вмешательства в положении больного на животе. Различными авторами подтверждается, что риск повреждения толстой кишки при пункции почки в положении пациента на спине минимален [18]. Самым распространенным осложнением данного оперативного вмешательства является кровотечение, требующее переливания компонентов крови 3,8–9,4% пациентов [19, 20], что в целом соответствует нашим результатам — 7,4% у пациентов 2-й группы. При этом случаев повреждения кишки, легкого, необходимости выполнения ревизии почки в нашем исследовании отмечено не было. С нашей точки зрения, одним из факторов, позволивших свести к минимуму риск осложнений у пациентов 2-й и 3-й групп, было послеоперационное дренирование почки нефростомическим дренажем у всех пациентов, что, с одной стороны, способствовало адекватному оттоку мочи, с другой — гемостазу. В целом риск осложнений оперативных вмешательств у пациентов всех групп был минимальным.

Одной из самых серьезных проблем любой хирургии у тучных пациентов является снятие больного с операционного стола и перемещение его на медицинскую каталку после операции. Ручное перекалывание обездвиженного пациента сопряжено с огромными физическими трудностями и различными потенциальными опасностями как для пациента, так и для медицинского персонала. С целью предотвращения травматизации пациента и персонала, исключения смещения или насильственного извлечения дренажей, мы использовали специальное приспособление для перемещения больного — роликовую перекладку (ролбор). После предварительного выравнивания высоты операционного стола и каталки больного немного запрокидывают на бок, после чего под него подводят ролбор и пациент безопасно перемещается благодаря роликовому механизму приспособления на каталку (рис. 5). Данная манипуляция не требует задействования большого числа медицинского персонала.

Заключение. Высокая эффективность трансуретральной литотрипсии и чрескожной нефролитотрипсии в положении на спине, возможность их сочетанного выполнения при малой частоте осложнений и удобстве для оперирующей бригады и самого пациента позволяют рекомендовать данные оперативные пособия для лечения больных с камнями почек и мочеточников и сопутствующим ожирением.

ЛИТЕРАТУРА

1. Willett W., Dietz W., Colditz G. Guidelines for healthy weight. N. Engl. J. Med. 1999;341:427–434.
2. Попова И.Р. Клиническая характеристика и распространенность ожирения по данным поликлинического отделения многопрофильной клиники. Дис. докт. мед. наук. М., 2013.
3. Taylor E., Stampfer M., Curhan G. Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. JAMA. 2005;293:455–462.
4. Duffey B., Pedro R., Kriedberg C., Weiland D., Melquist J., Ikramuddin S., Kellogg T., Makhlof A.A., Monga M. Lithogenic risk factors in the morbidly obese population. J. Urol. 2008;179:1401–1406.



Рис. 5. Перекалывание тучной пациентки с операционного стола на медицинскую каталку с помощью роликовой перекладки — ролбора. Объяснения в тексте

5. Stevens J., Cai J., Pamuk E., Williamson D., Thun M., Wood J. The effect of age on the association between body-mass index and mortality. N. Engl. J. Med. 1998;338:1–7.
6. Дутов С.В., Мартов А.Г., Андронов А.С. Чрескожная нефролитотрипсия на спине. Урология. 2011;2:76–80.
7. Murota-Kawano A., Ohya K., Sekine H. Outpatient basis extracorporeal shock wave lithotripsy for ureter stones: efficacy of the third generation lithotripter as the first line treatment. Int. J. Urol. 2008;15:210–215.
8. Hammad F., Balakrishnan A. The effect of fat and nonfat components of the skin-to-stone distance on shockwave lithotripsy outcome. J. Endourol. 2010;24:1825–1829.
9. Delakas D., Karyotis I., Daskalopoulos G., Lianos E., Mavromanolakis E. Independent predictors of failure of shockwave lithotripsy for ureteral stones employing a second-generation lithotripter. J. Endourol. 2003;17:201–205.
10. Olivi B., Vedrine N., Costilles T., Boiteux J.P., Guy L. Extra corporeal shock wave lithotripsy in patients with body mass index over 35 kg/m². Prog. Urol. 2011;21:254–259.
11. Muñoz R., Tirolen P., Belhamou S., Desta M., Grimberg R., Dulys P., Chevallier H. Treatment of reno-ureteral lithiasis with ESWL in obese patients. Apropos of 150 patients. Arch. Esp. Urol. 2003;56:933–938.
12. Pump B., Talleruphuus U., Christensen N., Warberg J., Norsk P. Effects of supine, prone and lateral positions on cardiovascular and renal variables in humans. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2002;283:R174–180.
13. Doizi S., Letendre J., Bonneau C., Gil Diez de Medina S., Traxer O. Comparative study of the treatment of renal stones with flexible ureterorenoscopy in normal weight, obese, and morbidly obese patients. Urology. 2015;85(1):38–44.
14. Chew B., Zavaglia B., Paterson R., Teichman J., Lange D., Zappavigna C., Matlaga B., Nunez-Nateras R., Bruhn A., Altamar H., Humphreys M., Shah O., Miller N. A multicenter

comparison of the safety and effectiveness of ureteroscopic laser lithotripsy in obese and normal weight patients. *J. Endourol.* 2013; 27(6):710–714.

15. *Valdivia Uria J., Valle Gerhold J., Lopez Lopez J., Villarroya Rodriguez S., Ambroj Navarro C., Ramirez Fabián M., Rodriguez Bazalo J.M., Sánchez Elipe M.A.* Technique and complications of percutaneous nephroscopy: experience with 557 patients in the supine position. *J. Urol.* 1998;160:1975–1978.
16. *De Sio M., Autorino R., Quarto G., Calabrò F., Damiano R., Giugliano F., Mordente S., D'Armiento M.* Modified supine versus prone position in percutaneous nephrolithotomy for renal stones treatable with a single percutaneous access: a prospective randomized trial. *Eur. Urol.* 2008;54:196–202.
17. *Scoffone C., Cracco C., Cossu M., Grande S., Poggio M., Scarpa R.* Endoscopic combined intrarenal surgery in Galdakao-modified supine Valdivia position: a new standard for percutaneous nephrolithotomy? *Urol.* 2008;54/6:1393–1403.
18. *Grasso M., Nord R., Bagley D.* Prone split leg and flank roll positioning: simultaneous anterograde and retrograde access to the upper urinary tract. *J. Endourol.* 1993;7:307–310.
19. *Shoma A., Erakay I., El-Kenawy M., El-Kappany H.* Percutaneous nephrolithotomy in the supine position: technical aspects and functional outcome compared with the prone technique. *Urology.* 2002;60:388–392.
20. *Rana A., Bhojwani J., Junejo N., Das Bhagia S.* Tubeless PCNL with patient in supine position: procedure for all seasons? – with comprehensive technique. *Urology.* 2008;71:581–585.

Поступила 18.06.15

Отдохни, ургентность не торопит!



- Самый назначаемый препарат для лечения ГМП¹
- Устраняет все симптомы ГМП при оптимальной переносимости²
- Обеспечивает лучшую приверженность к терапии³

1. Настоящая информация основана на исследованиях, проводимых ООО «Синовейт Комкон», и действительна по состоянию на апрель 2016 года.

2. Chapple C. R. et al. Int J Clin Pract 2006; 60: 959–966; 3. Wagg A. et al. BJ Urol 2012; 110: 1767–4.

АО «Астеллас Фарма», 109147, Москва, ул. Марксистская, д. 16. Тел. +7(495) 737-07-56. Факс +7 (495) 737-07-50.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

 **astellas**
Свет, ведущий к жизни

ЛС-000687 от 05.07.2010
RUS/05.2016/1/VEZ/KASH/798

реклама

Информация для специалистов здравоохранения

МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК И НЕФРОПРОТЕКТИВНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ РАДИКАЛЬНОЙ ЦИСТЭКТОМИИ

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», кафедра урологии с курсом ИПО (зав. кафедрой — д.м.н., профессор В. Н. Павлов) Минздрава РФ, Уфа

Автор для связи: Я. В. Кондратенко — к.м.н., врач-уролог Республиканской клинической больницы им. Г. Г. Куватова; e-mail: yakov.kondratenko@gmail.com

Проведен сравнительный анализ изменений функциональных (осмолярный клиренс и экскретируемая фракция мочевины) и структурных (NGAL, β_2 -микроглобулин в плазме крови и NGAL, β_2 -микроглобулин, микроальбумин в моче) биомаркеров повреждения почек до и на различных этапах после радикальной цистэктомии. В исследование включены пациенты с раком мочевого пузыря стадии T2N0M0. Основную группу составили 37 пациентов, получавших нефропротективную терапию (N-ацетилцистеин), группу сравнения — 31 пациент с базовой терапией. Выявлено, что в основной группе уменьшились степень выраженности снижения функции почек и частота развития хронической болезни почек в отдаленные сроки после оперативного лечения.

К л ю ч е в ы е с л о в а: рак мочевого пузыря, маркеры повреждения почек, N-ацетилцистеин, радикальная цистэктомия

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Павлов В.Н., Пушкарёв А.М., Кондратенко Я.В., Сафиуллин Р.И., Алексеев А.В. Маркеры повреждения почек и нефропротективная терапия при радикальной цистэктомии. Урология. 2015;5:27–30.

Введение. Доля рака мочевого пузыря (РМП) среди всех злокачественных новообразований в России в 2012 г. составила 2,7%. Показатель заболеваемости мужчин при этом был значительно выше и составил 4,6%, а женщин — 1,1% [1].

Онкологические заболевания приводят к водно-электролитному дисбалансу, возникающему в процессе роста и распространения опухолей, синдрому лизиса опухоли и как следствие — к нарушению почечной функции [2]. Кроме того, указанные нарушения возникают при хирургическом лечении злокачественного новообразования после операции. Нарушение водно-электролитного обмена также может быть проявлением паранеопластического синдрома, при котором происходит эктопическая продукция опухолью биологически активных веществ, обладающих свойствами гормонов, регулирующих водно-электролитный обмен [3].

Радикальная цистэктомия — «золотой» стандарт лечения мышечно-инвазивного РМП, после которой качество и продолжительность жизни больных РМП зависят от способа деривации мочи [4–7]. К наиболее распространенным методам деривации мочи после цистэктомии относятся ортотопическая илеоцистопластика по методу Studer и формирование кондуита по Bricker [8, 9].

Включение части кишечника в мочевыделительный тракт вызывает обструкцию, рефлюкс и хроническую бактериурию, что создает условия для повреждения почек [10].

У 21–36% пациентов после радикальной цистэктомии независимо от метода деривации мочи в отдаленном послеоперационном периоде ухудшается функция почек [11, 12].

Диагностика повреждения почек, как правило, основывается на результатах определения функционального биомаркера — креатинина, концентрация которого в сыворотке крови и клиренс отражают скорость клубочковой фильтрации [13]. Однако последний пока-

затель ненадежен по ряду причин, одна из которых заключается в повышении уровня сывороточного креатинина и свидетельствует об уже развившемся повреждении почек [14].

Развитие хронической болезни почек (ХБП) в позднем послеоперационном периоде может приводить к снижению продолжительности и ухудшению качества жизни. Использование биомаркеров для раннего обнаружения структурного повреждения почек позволяет предсказывать риски прогрессирующего ухудшения их функции и определять прогноз течения заболевания [15].

Цель работы — улучшение результатов лечения больных РМП при радикальной цистэктомии путем применения маркеров повреждения почек и разработки специфической нефропротективной терапии.

Материалы и методы. С 2011 по 2013 г. в исследование были включены 37 прооперированных больных гистологически верифицированным переходно-клеточным РМП (основная группа). У пациентов данной группы был исходно высокий уровень биомаркеров повреждения почек, им проводилась нефропротективная терапия. Средний возраст больных составил $62,7 \pm 6,9$ года. Илеоцистопластика по Studer выполнена 20 пациентам. Больных с T2a-стадией РМП было 8 (40%), T2b — 12 (60%). Радикальная цистэктомия с формированием гетеротопического мочевого кондуита из подвздошной кишки по Bricker выполнена 17 пациентам, из них 7 (41%) страдали T2a-стадией заболевания, 10 (59%) — T2b.

Нефропротективная терапия проведена N-ацетилцистеином (N-АЦ), который назначали в стандартной дозе: 1200 мг внутривенно струйно во время операции, далее по 600 мг внутривенно 2 раза в сутки в течение 72 ч, затем внутрь по 600 мг 2 раза в сутки в течение 10 дней. После выписки из стационара пациентам назначали повторный курс лечения N-АЦ 1 раз в 3 мес в дозе 1200 мг в сутки в течение 14 дней. Через 6 мес проведено контрольное обследование,

включившее комплекс клинических и биохимических исследований крови и мочи.

Группу сравнения составил 31 больной с гистологически верифицированным переходно-клеточным РМП, прооперированный в 2008–2010 гг. с исходно высоким уровнем биомаркеров, которым нефропротективная терапия не проводилась. Группы были сопоставимыми по возрасту. Смертельных исходов среди прооперированных больных обеих групп не отмечено. Группу контроля составили 30 здоровых добровольцев.

В комплексное клиническое обследование больных до операции и через 7, 14 сут, 6 мес после нее было включено определение азотистых метаболитов (мочевины и креатинина), параметров водно-электролитного статуса (концентрации ионов натрия, калия, хлоридов и осмолярность) в сыворотке крови и моче; биомаркеров повреждения почек (нейтрофильного желатиназа-ассоциированного липокалина (NGAL), β_2 -микроглобулина) в плазме крови; NGAL, β_2 -микроглобулина и микроальбумина в моче.

Для получения плазмы кровь забирали у пациентов утром натощак в охлажденные пробирки с ЭДТА, затем центрифугировали образцы при 0°C в течение 30 мин, переносили плазму в пластиковые микропробирки и хранили при -70°C. Для заготовки сыворотки забор крови проводили утром натощак в сывороточные пробирки, после ее сворачивания центрифугировали с охлаждением в течение 30 мин. Суточную мочу собирали в сухую чистую емкость. Образцы сыворотки крови и мочи хранили в микропробирках при -70°C до момента исследования.

Осмолярность определяли на криоскопическом осмометре Osmomat 030 (Германия), концентрацию электролитов — на анализаторе EasyLyte (США), уровень креатинина и мочевины — на анализаторе Hitachi 902 (Япония) кинетическим методом с использованием тест-наборов фирмы «Roche Diagnostics» (Швейцария). Концентрацию биомаркеров определяли методом конкурентного иммуноферментного анализа на микропланшетном фотометре Stat Fax-2100 (США). Расчет

концентрации проведен по кусочно-линейной калибровке.

Обработка данных осуществлена с помощью программы SPSS 8.0. Данные исследования представлены в виде медианы (*Me*) и интерквартильного размаха (*Q1–Q3*). Для сравнения количественных признаков трех групп использован тест Краскела–Уоллеса. При достоверности межгрупповых различий проведены попарные сравнения с использованием критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони на множественные сравнения (уровень значимости $p < 0,017$). Корреляционный анализ проведен с помощью непараметрических критериев Спирмена и Кендалла [16].

Результаты и обсуждение. Проведенное ранее нами исследование в 2008–2010 гг. показало высокую статистическую значимость различий между до- и послеоперационными показателями функциональных маркеров — осмолярный клиренс и экскретируемая фракция мочевины, а также структурных биомаркеров раннего повреждения почек — NGAL, β_2 -микроглобулин в плазме крови и NGAL, β_2 -микроглобулин, микроальбумин в моче [17]. Вышеуказанные показатели наиболее информативные и клинически значимые при оценке состояния функции почек. Также была исследована взаимосвязь между содержанием в моче NGAL и развитием ХБП в отдаленном послеоперационном периоде. Определено, что исходный уровень данного биомаркера выше 7 нг/мл позволяет прогнозировать высокий риск развития прогрессирующего снижения почечной функции.

Традиционная тактика ведения больных РМП после радикального хирургического лечения в нашей клинике включает антибактериальную, инфузионную, анальгетическую терапию, профилактику тромбозов, стимуляцию моторики желудочно-кишечного тракта. Пациентам основной группы в комплекс лечения была дополнительно включена нефропротективная терапия N-АП.

Дооперационные значения осмолярного клиренса у больных обеих групп были сопоставимыми и статистически значимо ниже, чем в группе контроля (табл. 1). Через 7 суток после оперативного вмеша-

Т а б л и ц а 1

Расчетные показатели функции почек у больных РМП в динамике наблюдения

Показатель	Контроль (n=30)		До операции				Через 7 сут после операции				Через 14 сут после операции				Через 6 мес после операции			
			группа срав- нения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=20)		основная группа (n=25)	
	Me	Q1–Q3																
Осмолярный клиренс, мл/мин	3,06	2,16–4,02	1,79	1,29–1,92	1,82	1,23–2,01	2,31	1,71–2,41	2,65	1,99–2,82	1,19	0,97–1,35	1,32	1,07–1,43	1,65	1,37–1,96	2,07	1,71–2,37
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,91; p_4=0,01; p_5=0,25; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,01; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																	
Экскретируемая фракция мочевины, %	35,8	28,73–44,92	25,8	22,3–30,03	26,1	23,14–31,92	35,2	29,12–39,54	36,4	29,42–39,89	25,3	21,72–30,4	27,1	22,11–36,35	23,6	21,64–29,09	31,7	27,13–37,97
	$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,89; p_4=0,78; p_5=0,71; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,01; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,88; p_{12}=0,01$																	

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2, 3 достоверность различий: p_1 — контроль и группа сравнения до операции; p_2 — контроль и основная группа до операции; p_3 — основная группа и группа сравнения до операции; p_4 — основная группа и группа сравнения через 7 сут после операции; p_5 — основная группа и группа сравнения через 14 сут после операции; p_6 — основная группа и группа сравнения через 6 мес после операции; p_7 — группа сравнения до и через 7 сут после операции; p_8 — основная группа до и через 7 сут после операции; p_9 — группа сравнения через 7 и 14 сут после операции; p_{10} — основная группа через 7 и 14 сут после операции; p_{11} — группа сравнения через 14 сут и 6 мес после операции; p_{12} — основная группа через 14 сут и через 6 мес после операции.

Т а б л и ц а 2

**Показатели биомаркеров системной реакции организма и повреждения почек в крови больных РМП
в динамике наблюдения**

Показатель	Контроль (n=30)		До операции				Через 7 сут после операции				Через 14 сут после операции				Через 6 мес после операции			
			группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=20)		основная группа (n=25)	
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3
NGAL, нг/мл	15,2	12,3–36,5	57,0	40,5–75,0	55,3	35,2–71,7	61,2	48,6–84,2	50,1	33,2–58,3	41,5	34,4–46,5	29,5	24,8–36,2	30,6	25,1–36,3	20,4	12,8–28,1
$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,81; p_4=0,01; p_5=0,01; p_6=0,01; p_7=0,31; p_8=0,29; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																		
β_2 -микроглобулин, мкг/мл	2,3	1,7–3,2	6,1	4,3–9,3	6,2	3,3–9,1	6,6	3,4–9,3	6,3	2,8–9,2	6,7	3,3–9,5	5,0	2,9–6,3	4,5	2,5–5,0	2,8	2,2–3,7
$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,92; p_4=0,88; p_5=0,01; p_6=0,01; p_7=0,87; p_8=0,96; p_9=1,00; p_{10}=0,21; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																		

тельства отмечено статистически значимое повышение показателя в обеих группах, причем значение осмолярного клиренса в группе сравнения было достоверно выше. На 14-е сутки наблюдалось статистически значимое снижение, а через 6 мес – достоверное повышение осмолярного клиренса в обеих группах, причем разница между группами в отдаленном периоде достигла уровня статистической значимости.

Значения экскретируемой фракции мочевины до операции в обеих группах были также сопоставимыми и достоверно ниже уровня значений в группе контроля. На 7-е сутки отмечено статистически значимое повышение, а на 14-е сутки – снижение данного показателя в обеих группах. В отдаленном периоде наблюдалось понижение экскретируемой фракции мочевины в группе сравнения ($p=0,88$) и повышение – в основной ($p=0,01$), причем разница значений показателя между группами была статистически значимой (табл. 1).

Анализ вышеуказанных функциональных маркеров выявил нарушение концентрационной и азотовыделительной функций почек в обеих группах. Однако эти изменения в группе больных, получавших нефропротективную терапию, были значимо ниже, поэтому в отдаленные послеоперационные сроки функция почек была более сохранной.

Проведен анализ показателей биомаркеров системной реакции организма и повреждения почек в плазме крови (табл. 2). Уровень NGAL плазмы крови в обеих группах исходно был статистически значимо выше, чем в группе контроля, после операции на 7-е сутки отмечено его повышение в группе сравнения ($p=0,31$) и снижение – в основной ($p=0,29$). На 14-е сутки и через 6 мес наблюдалось достоверное уменьшение содержания данного белка в обеих группах, причем концентрация NGAL во все сроки после оперативного лечения была статистически значимо ниже в группе больных, получавших N-АЦ.

Содержание β_2 -микроглобулина до операции у больных РМП обеих групп было также достоверно выше, чем в группе контроля, на 7-е сутки наблюдалось незначительное повышение показателя в обеих группах. На 14-е сутки в группе сравнения имело место дальнейшее незначительное повышение ($p=1,00$), а в основной группе – понижение уровня данного белка ($p=0,21$). В отдаленном периоде в обеих группах было отмечено достоверное снижение содержания β_2 -микроглобулина, при этом на 14-е сутки и через

6 мес его концентрация в основной группе была статистически значимо ниже, чем в группе сравнения. По-видимому, более низкий уровень изучаемых белков в группе больных, получавших лечение, объясняется способностью N-АЦ уменьшать выраженность воспалительной реакции в организме и тем самым снижать секрецию плазменных NGAL и β_2 -микроглобулина клетками иммунной системы.

Изучение биомаркеров острого повреждения почек в моче выявило следующее (табл. 3). Исходный уровень мочевого NGAL в обеих группах был достоверно выше, чем в группе контроля, на 7-е сутки отмечено его незначительное повышение, на 14-е сутки – статистически значимое снижение показателя в обеих группах. Через 6 мес имело место достоверное повышение концентрации NGAL в моче больных группы сравнения и статистически значимое снижение – в основной. Необходимо отметить, что во все сроки наблюдения, кроме 14-х суток, после операции уровень мочевого NGAL в группе больных, получавших нефропротективную терапию, оставался достоверно ниже, чем у пациентов без лечения. Антиоксидант N-АЦ связывает свободные радикалы, вызывающие массу повреждений, в том числе повреждения канальцев почек. Также N-АЦ взаимодействует с эндотелием, действуя как расслабляющий фактор, тем самым повышая капиллярный кровоток. Кроме того, N-АЦ увеличивает уровень цГМФ, действует как вазодилататор и как ингибитор агрегации тромбоцитов. Все вышеуказанное обеспечивает нефропротективное действие N-АЦ в периоперационном периоде, которое подтверждается более низким уровнем мочевого и плазменного NGAL в группе больных, получавших лечение.

Уровень β_2 -микроглобулина до операции был сопоставимым в обеих группах и достоверно выше, чем в контрольной группе. На 7-е сутки наблюдалось незначительное повышение, а на 14-е – достоверное снижение уровня данного белка в обеих группах. В отдаленном периоде наблюдалось увеличение содержания мочевого β_2 -микроглобулина как в группе сравнения ($p=0,01$), так и в основной группе ($p=0,10$), причем в группе больных, получавших N-АЦ, через 6 мес концентрация данного белка в моче была статистически значимо ниже, чем в группе без лечения.

Дооперационная концентрация микроальбумина в моче пациентов обеих групп была достоверно выше, чем в группе контроля. После операции отмечалось

Т а б л и ц а 3

Показатели биомаркеров повреждения почек в моче больных РМП в динамике наблюдения

Показатель	Контроль (n=30)		До операции				Через 7 сут после операции				Через 14 сут после операции				Через 6 мес после операции			
			группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=31)		основная группа (n=37)		группа сравнения (n=20)		основная группа (n=25)	
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3
NGAL, нг/мл	1,4	0,5-1,6	18,3	11,1-20,2	17,9	11,8-18,7	24,4	18,1-27,8	18,4	14,2-19,4	16,6	9,5-19,9	13,7	8,7-15,4	23,7	16,8-26,9	7,8	5,8-11,1
$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,91; p_4=0,01; p_5=0,11; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,88; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,01$																		
β2-микроглобулин, мкг/мл	0	0	0,33	0,26-0,61	0,35	0,22-0,62	0,38	0,31-0,64	0,36	0,21-0,60	0,13	0,10-0,38	0,11	0,04-0,34	0,46	0,37-0,68	0,21	0,17-0,38
$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,98; p_4=1,00; p_5=0,99; p_6=0,01; p_7=0,94; p_8=0,99; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,01; p_{12}=0,10$																		
Микроальбумин, мкг/мл	4,2	2,9-12,9	501,4	454,7-589,4	488,4	441,2-577,5	382,2	266,5-431,8	341,7	212,6-349,8	255,3	201,3-305,6	191,6	104,2-268,9	236,9	142,3-281,9	126,7	78,3-172,8
$p_1=0,01; p_2=0,01; p_3=0,81; p_4=0,01; p_5=0,01; p_6=0,01; p_7=0,01; p_8=0,01; p_9=0,01; p_{10}=0,01; p_{11}=0,39; p_{12}=0,01$																		

снижение показателя, причем содержание микроальбумина на всех сроках наблюдения было статистически значимо ниже в группе пациентов, которым проведена нефропротективная терапия.

Важно отметить, что, несмотря на исходно высокий уровень NGAL в моче, отражающий выраженное почечное повреждение, в отдаленном послеоперационном периоде число больных со стойкими нарушениями азотовыделительной функции в группе, получавшей N-АЦ по предложенной схеме, уменьшилось на 41%, что свидетельствует об эффективности нефропротективной терапии.

Заключение. Применение N-ацетилцистеина в качестве нефропротектора позволило уменьшить степень повреждения структуры нефрона, снизить риск развития послеоперационных осложнений, связанных с ухудшением функции почек в отдаленном периоде, уменьшить сдвиги в водно-электролитном и азотистом балансе, повысить качество жизни больных после радикального хирургического лечения РМП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России. М. 2014. 250 с.
2. Mitiadous G., Christidis D., Kalogirou M., Elisaf M. Causes and mechanisms of acid-base and electrolyte abnormalities in cancer patients. Eur. J. Intern. Med. 2008;19(1):1-7.
3. Shibata H. Cancer and electrolytes imbalance. Gan To Kagaku Ryoho. 2010;37(6):1006-1010.
4. Матвеев Б.П. Рак мочевого пузыря. Клиническая онкоурология. М.: Вердана. 2003. 406 с.
5. Коган М.И., Васильев О.Н. Сравнительный анализ результатов радикальной цистэктомии и кишечной деривации мочи при выполнении межкишечных анастомозов аппаратным и ручным швом. Онкоурология. 2012;1:36-42.
6. Валиев Е.И., Лоран О.Б. Проблема отведения мочи после радикальной цистэктомии и современные подходы к ее решению. Практическая онкология. 2003;4(4):231-234.
7. Глыбочко П.В., Понукалин А.Н., Мутряев Ю.И., Галкина Н.Г. Качество жизни и отдаленные результаты радикальной цистэктомии у больных инвазивным раком мочевого пузыря. Саратовский научно-медицинский журнал. 2008;4(3):97-101.
8. Клинические рекомендации. Урология. Под ред. Лопаткина Н.А. 2-е изд., перераб. М. ГЭОТАР-Медиа. 2013. 416 с.
9. Thuraija R., Burkhard F.C., Studer U.E. The orthotopic neobladder. BJU Int. 2008;102(9):1307-1313.
10. Kristjansson A., Mansson W. Renal function in the setting of urinary diversion. World J. Urol. 2004;22(3):172-177.
11. Jin X.D., Roethlisberger S., Burkhard F.C., Birkhaeuser F., Thoeny H.C., Studer U.E. Long-term renal function after urinary diversion by ileal conduit or orthotopic ileal bladder substitution. Eur. Urol. 2012;61(3):491-497.
12. Eisenberg M.S., Thompson R.H., Frank I., Kim S.P., Cotter K.J., Tollefson M.K., Kaushik D., Thapa P., Tarrell R., Boorjian S.A. Long-term renal function outcomes after radical cystectomy. J. Urol. 2014;191(3):619-625.
13. Горда И.И., Безродный А.Б., Василенко О.В., Данькевич И.В. Маркеры острого повреждения почек. Серце і судини. 2012;3:108-113.
14. Murray P.T., Devarajan P., Levey A.S., Eckardt K.U., Bonventre J.V., Lombardi R., Herget-Rosenthal S., Levin A. A framework and key research questions in AKI diagnosis and staging in different environments. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2008;3:864-868.
15. Глыбочко П.В., Россоловский А.Н., Понукалин А.Н., Блюмберг Б.И., Березинцев О.Л. Моноцитарный хемотаксический протеин-1 и β2-микроглобулин в оценке повреждения почечной паренхимы при оперативном лечении нефролитиаза. Урология. 2012;1:4-10.
16. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. М. МедиаСфера. 2006. 305 с.
17. Павлов В.Н., Пушкарёв А.М., Кондратенко Я.В. и соавт. Методы оценки ренальной дисфункции при раке мочевого пузыря и его радикальном хирургическом лечении. Медицинский вестник Башкортостана. 2015;3:108-111.

Поступила 14.05.15

Д. С. Михайленко^{1,2}, Д. В. Перепечин¹, М. В. Григорьева¹, Т. А. Жинжило¹,
Н. Ю. Сафронова¹, Г. Д. Ефремов¹, А. В. Сивков¹

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *PCSA3* И *TMPRSS2:ERG* В БИОПТАТАХ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ, ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ И РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ НИИ урологии им. Н. А. Лопаткина — филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

Автор для связи: Д. С. Михайленко — в.н.с., к.м.н.; e-mail: dimserg@mail.ru

Морфологическое исследование биоптатов при подозрении на рак предстательной железы (РПЖ) зачастую представляет собой сложную задачу вследствие гетерогенности и мультифокальности опухолей. В то же время накоплены данные о потенциальных молекулярно-генетических маркерах РПЖ. Целью настоящей работы было определить экспрессию генов *PCSA3* и *TMPRSS2:ERG* в биоптатах при доброкачественной гиперплазии (ДГПЖ), интраэпителиальной неоплазии (ПИН) низкой и высокой степеней, РПЖ для выяснения диагностической значимости анализа экспрессии указанных генов при доброкачественных и предраковых изменениях в простате. Из 53 биоптатов выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию, затем анализировали экспрессию генов методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) и определяли показатель $\Delta\Delta Ct$, равный $Ct(PCSA3) - Ct(KLK3)$. При ДГПЖ среднее значение $\Delta\Delta Ct$ составило $8,28 \pm 3,13$, ПИН низкой степени — $8,56 \pm 2,64$, ПИН высокой степени — $8,98 \pm 1,69$, РПЖ — $1,08 \pm 2,36$. Показано, что $\Delta\Delta Ct$ не различается у пациентов с ДГПЖ, ПИН низкой и высокой степеней, тогда как достоверно увеличен при РПЖ относительно любой из трех вышеперечисленных групп ($p < 0,0001$). Экспрессия *TMPRSS2:ERG* отсутствовала в образцах ДГПЖ, ПИН низкой и высокой степеней, но была выявлена в 40% (4/10) случаев РПЖ. Проведение ROC-анализа показало, что AUC (площадь под ROC-кривой с 95% доверительными интервалами, $p < 0,0001$) составляет $0,98 \pm 0,02$ при анализе сочетания гиперэкспрессии *PCSA3* и *TMPRSS2:ERG*. Таким образом, анализ экспрессии *PCSA3* и химерного онкогена *TMPRSS2:ERG* в биоптатах не позволяет проводить дифференциальную диагностику ДГПЖ, ПИН низкой и высокой степеней. Вместе с тем гиперэкспрессия *PCSA3* и экспрессия *TMPRSS2:ERG* характерны для РПЖ. Анализ экспрессии этих генов с помощью предложенной модификации ПЦР-РВ при пороговом уровне $\Delta\Delta Ct$ 3,22 позволяет с диагностической точностью 90% выявлять в биоптатах РПЖ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, биопсия, ПЦР в реальном времени, экспрессия *PCSA3*, ген *TMPRSS2:ERG*

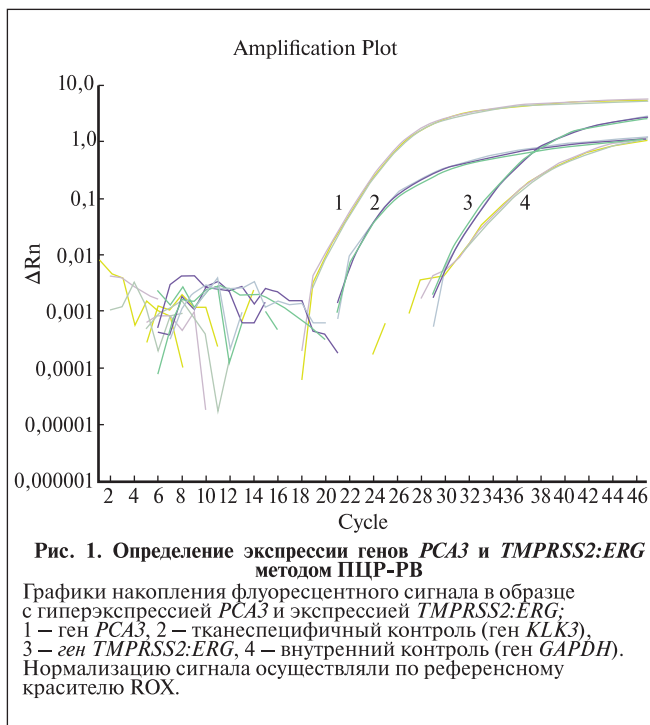
Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Михайленко Д.С., Перепечин Д.В., Григорьева М.В., Жинжило Т.А., Сафронова Н.Ю., Ефремов Г.Д., Сивков А.В. Экспрессия генов *PCSA3* и *TMPRSS2:ERG* в биоптатах при доброкачественной гиперплазии, интраэпителиальной неоплазии и раке предстательной железы. Урология. 2015;5:46–50.

Введение. Рак предстательной железы (РПЖ) входит в число наиболее часто встречающихся опухолей у мужского населения России как по заболеваемости, так и в структуре смертности от злокачественных новообразований [1]. Скрининговым тестом на РПЖ является измерение концентрации простатспецифического антигена (ПСА) в крови, положительный результат которого, подтвержденный при повторном исследовании, может служить показанием к биопсии. Морфологическое исследование вследствие гетерогенности и мультифокальности опухолей не всегда позволяет выявлять РПЖ в биоптатах предстательной железы и требует высокой квалификации патолога. Зачастую доброкачественные гиперпластические железистые структуры (ДГПЖ) соседствуют с фокусами интраэпителиальной неоплазии (ПИН) и аденокарциномы различной степени дифференцировки [2].

В настоящее время накоплены данные о молекулярно-генетических нарушениях при РПЖ, некоторые из которых рассматривают в качестве диагностических маркеров. В частности, методом дифференциального дисплея выявили кДНК гена *PCSA3* (prostate cancer gene 3), гиперэкспрессия которого характерна для РПЖ. Продукт гена *PCSA3* относится к некоди-

рующим РНК, представлен рядом изоформ из-за альтернативного сплайсинга, разных сайтов инициации и терминации транскрипции, локализован внутри интрона 6-го гена *PRUNE2*, задействованного в регуляции клеточной пролиферации [3, 4]. Показано, что в аденокарциноме предстательной железы экспрессия *PCSA3* в 60–70 раз превышает таковую в морфологически не измененной ткани [5]. Анализ экспрессии *PCSA3* относительно тканеспецифического контроля — экспрессии гена *KLK3* — с помощью набора ProgenSA («Gene-Probe Inc.», США) в моче применяют для решения вопроса о целесообразности повторной биопсии у пациентов с подозрением на РПЖ при повышенном уровне ПСА и отрицательном результате первой биопсии [6]. Кроме того, опубликованы результаты исследований, проведенных более чем у 3000 пациентов, которые показали, что анализ экспрессии *PCSA3* в моче можно использовать при первичной диагностике как независимый предиктор обнаружения РПЖ [7].

Ген *PCSA3* гиперэкспрессируется в опухоли относительно нормальной ткани. В то же время любой онкомаркер, концентрация которого при наличии опухоли превышает его концентрацию в норме на



некоторую величину, имеет, как правило, «серую зону» пограничных значений. С этим связана проблема выбора пограничного значения экспрессии *PCA3*. Например, при использовании ProgenSA пороговое значение для диагностики РПЖ составляет 35 баллов, для повышения чувствительности теста в скрининговых целях оно может быть снижено до 20–25 баллов [8, 9]. Показано, что анализ экспрессии *PCA3* в моче не может быть использован для диагностики предопухолевых изменений (РПЖ против ПИН или ДГПЖ), хотя различие экспрессии этого гена в биоптатах РПЖ, ПИН, ДГПЖ и в норме, а также влияние инвазивных диагностических процедур и других факторов на его экспрессию остаются предметом дискуссии [10–12].

Анализ экспрессии *PCA3* — информативный метод в диагностике РПЖ, однако для широкого применения *PCA3* как индивидуального маркера целесообразно увеличить его диагностическую точность. Это может быть достигнуто при мультиплексном анализе *PCA3* вместе с другими генами, экспрессия которых специфична для РПЖ, например *TMPRSS2:ERG*. При РПЖ образуются химерные гены, представляющие собой продукт слияния 5'-нетранслируемой области гена *TMPRSS2*, с генами семейства транскрипционных факторов ETS. В подавляющем большинстве случаев химерный ген представлен *TMPRSS2:ERG*, который выявляют в 30–50% случаев РПЖ. Образование этого химерного онкогена является ранним событием в канцерогенезе РПЖ. Существуют различные данные о его частоте в гиперплазированной ткани и предраковых изменениях предстательной железы: одни авторы свидетельствуют об отсутствии *TMPRSS2:ERG* при ДГПЖ и в нормальной ткани органа [13, 14], другие обнаружили его экспрессию в 8% ДГПЖ и 15% морфологически не измененной ткани, непосредственно прилегающей к РПЖ [15]. В очагах ПИН высокой и низкой степеней (ПИН ВС и ПИН НС соответственно) экспрессия *TMPRSS2:ERG* выявлена в 10–15% случаев

[16, 17]. Иными словами, при высокой специфичности этого изменения для РПЖ относительно нормы значение *TMPRSS2:ERG* как маркера дифференциальной диагностики РПЖ и предраковых изменений, прежде всего ПИН ВС, требует дополнительной валидации.

Цель настоящей работы: определить экспрессию генов *PCA3* и *TMPRSS2:ERG* в биоптатах ДГПЖ, ПИН НС и ПИН ВС, РПЖ для выяснения диагностической значимости экспрессии указанных генов при доброкачественных и предраковых изменениях в предстательной железе.

Материалы и методы. Исследовали материал 53 биопсий, включивший 10 образцов РПЖ (аденокарцинома), 9 — ПИН ВС, 21 — ПИН НС, 13 — ДГПЖ без ПИН. Все образцы были охарактеризованы патоморфологом и аннотированы необходимыми клиническими данными.

Выделение тотальной РНК осуществлено с помощью набора RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit («Ambion», США) методом сорбции нуклеиновых кислот на колонке с обработкой ДНКазой, последующей отмывкой спиртовыми растворами и элюцией РНК в ТЕ-буфер.

Обратная транскрипция выполнена методом отжига случайных олигонуклеотидов с помощью набора High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit («Applied Biosystems», США) в объеме реакционной смеси 20 мкл в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) проведена для определения экспрессии генов *PCA3*, *TMPRSS2:ERG* относительно внутреннего и тканеспецифического контроля (генов *GAPDH* и *KLK3* соответственно). Реакционная смесь содержала 1 мкл раствора кДНК, полученного на предыдущем этапе, 10 мкл буферной смеси с полимеразой согласно протоколу производителя, 8 мкл деионизированной воды и 1 мкл смеси праймеров и TaqMan-зонда: *PCA3* — Hs01371939_g1 (FAM), *TMPRSS2:ERG* — Hs03063375_ft (FAM), *KLK3* — Hs02576345_m1 (FAM), *GAPDH* — huGAPDH-4326317E (VIC) («Applied Biosystems», США). Температурные параметры: 95°C 10 мин, затем 47 циклов 95°C 15 с, 60°C 1 мин. Каждый ген в отдельном образце анализирован в трех повторениях, определено среднее значение порогового цикла (Ct — threshold cycle), максимальное значение которого принято равным 45 циклам (рис. 1). ПЦР-РВ проведена в детектирующем термоциклере StepOnePlus («Applied Biosystems», США).

Статистический анализ результатов включил определение показателя deltaCt исследуемого гена относительно эндогенного контроля, сравнение групп по этому показателю с помощью двустороннего критерия Стьюдента с поправкой Welch, определение 95% доверительных интервалов (ДИ). Определена диагностическая точность при учете *PCA3* как отдельного маркера, а также комбинации гиперэкспрессии *PCA3* и экспрессии *TMPRSS2:ERG*. При сравнительном анализе по показателю deltaCt и построении диаграмм применены программы GraphPad Prism 6, Microsoft Excel.

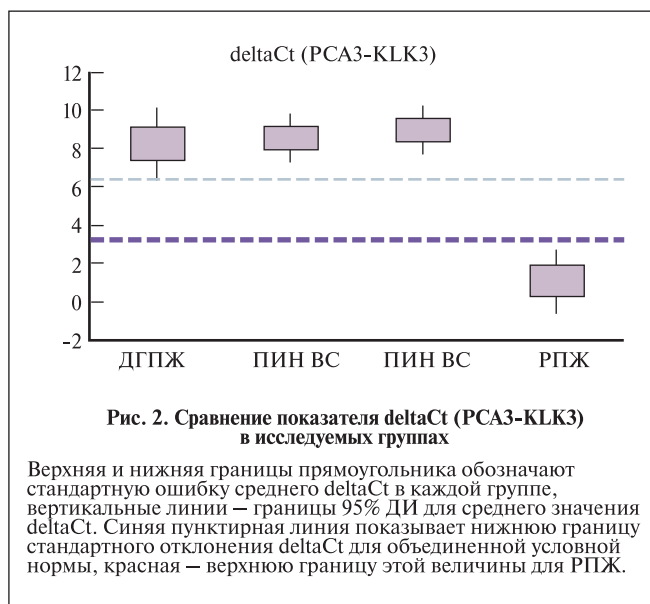
Результаты. Качество выделения мРНК и обратной транскрипции проверено по внутреннему контролю — экспрессии гена *GAPDH*, выявленной во всех анали-

зируемых образцах. В качестве эндогенного контроля был использован *KLK3*, кодирующий ПСА, характеризующийся тканеспецифичной экспрессией и часто применяемый в качестве такого контроля при сравнительном анализе экспрессии генов в предстательной железе [18, 19]. Одновременно с контролями определили Ct для исследуемых генов *PCA3* и *TMPRSS2:ERG*. Для каждого образца вычислен показатель ΔCt , равный $\text{Ct}(\text{PCA3}) - \text{Ct}(\text{KLK3})$. Затем определили среднее значение ΔCt и стандартные отклонения в каждой из четырех исследуемых групп. Чем интенсивнее экспрессировался *PCA3*, тем ближе была точка Ct этого гена к Ct гена *KLK3* и, соответственно, меньше был показатель ΔCt . При ДГПЖ значение ΔCt в среднем составило $8,28 \pm 3,13$, при ПИН НС — $8,56 \pm 2,64$, при ПИН ВС — $8,98 \pm 1,69$, при РПЖ — $1,08 \pm 2,36$. Показано, что ΔCt не различается у пациентов с ДГПЖ, ПИН ВС, ПИН НС ($p > 0,05$), тогда как достоверно увеличен при РПЖ относительно любой из трех вышеперечисленных групп ($p < 0,0001$, рис. 2). В дальнейшем ДГПЖ и ПИН разной степени объединили в одну контрольную группу (43 образца условной нормы). При сравнении ΔCt между РПЖ и объединенной условной нормой различия также были статистически значимыми ($p < 0,0001$).

Далее вычислены диагностическая чувствительность и специфичность, а также диагностическая точность гиперэкспрессии *PCA3*. Проведение ROC-анализа показало, что AUC (площадь под ROC-кривой с 95% ДИ, $p < 0,0001$) составляет $0,98 \pm 0,02$, что является высоким показателем для лабораторных тестов. Среднее значение ΔCt условной нормы составило $8,56 \pm 2,59$, при этом 90% значений ΔCt РПЖ лежали за пределами двух стандартных отклонений от объединенного контроля. При пороговом уровне ΔCt , равном 3,22, достигается оптимальное соотношение диагностических чувствительности и специфичности: 90% (95% ДИ — 55,5–99,8) и 97,7% (95% ДИ — 87,7–99,9) соответственно.

Экспрессия химерного онкогена *TMPRSS2:ERG* отсутствовала в ДГПЖ, ПИН низкой и высокой степеней, но была выявлена в 40% (4 из 10) случаев РПЖ. Как и в случае *PCA3*, первые три группы были объединены в одну контрольную группу. Если рассматривать гиперэкспрессию *PCA3* с пороговым уровнем ΔCt , равным 3,22, и наличие экспрессии *TMPRSS2:ERG* как комбинацию двух независимых классифицирующих признаков при отнесении образца к контролю или РПЖ, то в нашем исследовании диагностическая точность не менялась (90%). Однако с учетом частоты встречаемости *TMPRSS2:ERG* она может возрасти до 94% при увеличении выборки РПЖ.

Обсуждение. Гиперэкспрессию *PCA3* в РПЖ относительно контрольной группы (ДГПЖ, ПИН) наблюдали в 90% случаев, что соответствует данным других авторов, описывающих увеличение экспрессии этого гена при РПЖ в 90–95% случаев [10]. Полученные результаты согласуются с теми работами, в которых гиперэкспрессия *PCA3* при РПЖ достоверно отличается от экспрессии при других патологических изменениях предстательной железы. Однако представленные результаты не подтверждают различия экспрессии *PCA3* при ПИН ВС относительно ДГПЖ [20]. Полученные в настоящей работе результаты характеризуют экспрессию *PCA3* в тканях. Оценка экспрессии этого гена в



осадке мочи рекомендована для определения РПЖ при решении вопроса о повторной биопсии при возрастающем уровне ПСА и отрицательном результате первой биопсии, но также не позволяет дифференцировать ПИН и ДГПЖ от РПЖ [21]. Причем это показано не только в первых работах по использованию теста на *PCA3* в осадках мочи с пороговым уровнем *PCA3*-Score 35, но и в мета-анализе с выделением подгрупп ПИН ВС и атипичной мелкоацинарной пролиферации при пороговом уровне *PCA3*-Score 20 [22].

Различия результатов могут объясняться, в частности, разными вариантами дизайна олигонуклеотидов. Ген *PCA3* состоит из четырех экзонов, его РНК подвергается альтернативному сплайсингу, чаще всего за счет экзона 2, возможны различные варианты сайтов инициации и терминации транскрипции, сайтов полиаденилирования в экзоне 4 в разных клетках. В итоге экзон 2 присутствует в 5% кДНК, все остальные экзоны содержат 65% транскриптов, а простатспецифичной экспрессией характеризуются только экзоны 3 и 4. Так, описаны варианты праймеров для ПЦР, которые позволяли амплифицировать участок кДНК *PCA3* только, например, в клеточной линии LNCaP, метастазах РПЖ, но не в норме или при ДГПЖ [23]. В исследованиях экспрессии *PCA3* при РПЖ с помощью ПЦР-РВ предпочитают использовать только простатспецифичные праймеры и зонды на область соединения экзонов 3 и 4 [24], что делает их в значительной мере комплементарными не только кДНК, но и геномной ДНК и требует обработки образца избытком ДНКазы перед обратной транскрипцией. Рекомендованный компанией «Applied Biosystems» вариант дизайна праймеров/зонда Hs01371939_g1 был успешно применен к ПЦР-РВ кДНК *PCA3* в настоящей работе и другими авторами [25]. Способ выражения экспрессии *PCA3* относительно контроля *KLK3* также различается: при диагностике с помощью набора Progensa — это *PCA3*-Score, равный умноженному на 10^3 отношению количества копий мРНК *PCA3* к количеству копий мРНК *KLK3* [7]; при ПЦР-РВ — другие варианты, например, $1/(\text{Ct}(\text{PCA3})/\text{Ct}(\text{KLK3}))$ [25] или $\text{Ct}(\text{PCA3}) - \text{Ct}(\text{KLK3})$ в настоящей работе. Не является принципиальным характер представле-

ния относительной экспрессии *PCA3*. Существенно, чтобы независимо от способа расчета этот показатель позволял установить пороговый уровень с высокой диагностической точностью.

Частота выявления экспрессии *TMPRSS2:ERG* при РПЖ в настоящей работе составила 40%, в нормальной ткани *TMPRSS2:ERG* отсутствовал, что в целом соответствует данным других авторов [26, 27]. Широкий диапазон частоты (30–50%) обнаружения *TMPRSS2:ERG* обусловлен как различиями методов детекции, так и объективными причинами. Среди последних можно отметить репрессию андрогенчувствительных генов, в том числе *TMPRSS2:ERG*, в гормоночувствительных опухолях при терапии антиандрогенами; преобладание ERG-негативных клеток в опухолях, несущих точковые мутации *SPOP* и делеции *CDH1* [28].

Для определения *TMPRSS2:ERG* разные авторы используют иммуногистохимическое окрашивание на ERG, FISH с зондами на области делеции (транслокации) или ПЦР-ПВ на мРНК *TMPRSS2:ERG* [29]. В нашей работе не было обнаружено образцов ПИН ВС с *TMPRSS2:ERG*. Вместе с тем, по данным других авторов, частота выявления этого гена в ПИН ВС составляет 10–20%, причем чувствительность FISH выше, чем у ПЦР-ПВ [26–30]. С одной стороны, иммуногистохимическое определение экспрессии ERG представляется наиболее обоснованным как выявление конечного белкового продукта независимо от метода образования химерного онкогена (делеция или транслокация), от степени деградации мРНК в парафиновом блоке. Кроме того, описано около 20 вариантов мРНК *TMPRSS2:ERG*, из которых наиболее частый — это продукт слияния экзона 1 *TMPRSS2* с экзоном 4 *ERG* (именно он был исследован в настоящей работе и большинством других авторов). При этом анализ не учитывал вторую по частоте изоформу — слияние экзона 2 *TMPRSS2* с экзоном 4 *ERG* [31]. С другой стороны, экспрессия ERG и, соответственно, чувствительность иммуногистохимического метода могут быть снижены при гормонорезистентном РПЖ, когда в 20% случаев наблюдают *TMPRSS2:ERG* по данным FISH с отсутствием экспрессии ERG, а также в РПЖ с нейроэндокринной дифференцировкой при репрессии сигнального пути андрогенового рецептора [32].

По данным FISH-анализа некоторых зарубежных авторов, частота *TMPRSS2:ERG* в ДГПЖ составляет 8% [30], тогда как в работах других исследователей и в нашей работе химерный ген отсутствовал [33]. Следует отметить, что в упомянутой работе с положительным результатом FISH в группе ДГПЖ не выделяли пациентов с ПИН НС, нельзя было исключить больных с невыявленными на тот момент опухолями [30]. В некоторых случаях гиперэкспрессия ERG обусловлена не *TMPRSS2:ERG*, а слиянием ERG с другими андрогензависимыми генами (*SLC45A3* или *NDRG1*); кроме того, нельзя исключать несоответствия результатов вследствие генетической гетерогенности мультифокального РПЖ по наличию *TMPRSS2:ERG* в разных опухолевых клонах [33].

Экспрессию *TMPRSS2:ERG* в ПИН ВС рассматривают как неблагоприятный критерий: ПИН с ERG-положительным статусом чаще и быстрее переходит в РПЖ, чем с ERG-негативным статусом [34]. По данным мета-анализа, FISH и ПЦР-ПВ обладают схожей

чувствительностью, превышающей таковую при иммуногистохимическом анализе, при этом FISH охарактеризован как более специфичный метод выявления *TMPRSS2:ERG* в ткани [27]. Повышение чувствительности панели экспрессионных маркеров, изученных в настоящей работе, может быть достигнуто при мультиплексном анализе с другими генами, экспрессия которых специфична для РПЖ, например *KLK2*, *DLX1* и др. [35]. Также высказывают точку зрения, согласно которой для повышения точности диагностики экспрессию *PCA3* целесообразно включать в калькуляторы рисков, куда входят и другие данные обследования пациента, например возраст, уровень ПСА, объем предстательной железы, результат пальцевого ректального исследования, индекс phi (prostate health index, учитывающий концентрации свободного и общего ПСА, а также (-2)проПСА) [36, 37]. Разработка тест-систем молекулярных маркеров для диагностики РПЖ идет возрастающими темпами; за последние два года помимо зарегистрированных FDA-тестов для оценки показателя phi и набора Progenesa разработаны наборы OncotypeDX и ProlarisScore (детекция экспрессии 12-го и 46-го генов соответственно, которые вовлечены в канцерогенез при РПЖ) [38].

Заключение. Таким образом, наше исследование подтверждает гиперэкспрессию *PCA3* в биоптатах РПЖ по сравнению с ПИН и ДГПЖ. В то же время анализ экспрессии *PCA3* и химерного онкогена *TMPRSS2:ERG* не позволяет проводить дифференциальную диагностику ДГПЖ, ПИН НС и ПИН ВС. Анализ экспрессии этих генов с помощью предложенной модификации ПЦР-ПВ при пороговом уровне deltaCt 3,22 позволяет с диагностической точностью в 90% выявлять в биоптатах РПЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. 250 с.
2. Пальцев М.А., Залетаев Д.В. Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний. М.: Медицина, 2009. 153–187.
3. Clarke R.A., Zhao Z., Guo A.Y., Roper K., Teng L., Fang Z.M., Samarutunga H., Lavin M.F., Gardiner R.A. New genomic structure for prostate cancer specific gene 3 (PCA3) within BMM1: implication for prostate cancer detection and progression. PLoS ONE. 2009;4(3):e4995.
4. Ефремов Г.Д., Сивков А.В., Михайленко Д.С., Григорьева М.В. Комбинация маркеров PCA3 и TMPRSS2-ERG в ранней диагностике рака предстательной железы (обзор литературы). Экспериментальная и клиническая урология. 2014;3:20–26.
5. Killick E., Bancroft E., Kote-Jarai Z., Eeles R. Beyond prostate-specific antigen future biomarkers for the early detection and management of prostate cancer. Clin. Oncol. 2012;24:545–555.
6. Kirby R., Fitzpatrick J.M. Optimising repeat prostate biopsy decisions and procedures. BJU Int. 2012;109(12):1750–1754.
7. Chevli K.K., Duff M., Walter P., Yu C., Capuder B., Elshafei A., Malczewski S., Kattan M.W., Jones J.S. Urinary PCA3 as a Predictor of Prostate Cancer in a Cohort of 3,073 Men Undergoing Initial Prostate Biopsy. J. Urol. 2014;191(6):1743–1748.
8. Capoluongo E., Zamboni C.F., Basso D., Boccia S., Rocchetti S., Leoncini E., Palumbo S., Padoan A., Albino G., Todaro A., Prayer-Galetti T., Zattoni F., Zuppi C., Plebani M. PCA3 score of 20 could improve prostate cancer detection: results obtained on 734 Italian individuals. Clin. Chim. Acta. 2014;429:46–50.
9. Pepe P., Frassetto F., Galia A., Skonieczny G., Aragona F. PCA3 score and prostate cancer diagnosis at repeated saturation biopsy. Which cutoff: 20 or 35? Int. Braz. J. Urol. 2012;38(4):489–495.

10. De Luca S., Passera R., Milillo A., Coda R., Randone D.F. Histological chronic prostatitis and high-grade prostate intra-epithelial neoplasia do not influence urinary prostate cancer gene 3 score. *BJU Int.* 2012;110(11 Pt B):E778–E782.
11. De Luca S., Passera R., Cappia S., Bollito E., Randone D.F., Milillo A., Papotti M., Porpiglia F. Fluctuation in prostate cancer gene 3 (PCA3) score in men undergoing first or repeat prostate biopsies. *BJU Int.* 2014;114:E56–E61.
12. Klatte T., Waldert M., de Martino M., Schatzl G., Mannhalter C., Remzi M. Age-specific PCA3 score reference values for diagnosis of prostate cancer. *World J. Urol.* 2012;30:405–410.
13. Chan S.W., Nguyen P.N., Violette P., Brimo F., Taguchi Y., Aprikian A., Chen J.Z. Early detection of clinically significant prostate cancer at diagnosis: a prospective study using a novel panel of TMPRSS2:ETS fusion gene markers. *Cancer Med.* 2013;2(1):63–75.
14. Young A., Palanisamy N., Siddiqui J., Wood D.P., Wei J.T., Chinnaiyan A.M., Kunju L.P., Tomlins S.A. Correlation of urine TMPRSS2:ERG and PCA3 to ERG+ and total prostate cancer burden. *Am. J. Clin. Pathol.* 2012;138(5):685–696.
15. Robert G., Jannink S., Smit F., Aalders T., Hessels D., Cremers R., Mulders P.F., Schalken J.A. Rational basis for the combination of PCA3 and the TMPRSS2:ERG gene fusion for prostate cancer diagnosis. *Prostate.* 2013;73(2):113–120.
16. Park K., Dalton J.T., Narayanan R., Barbieri C.E., Hancock M.L., Bostwick D.G., Steiner M.S., Rubin M.A. TMPRSS2:ERG gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *J. Clin. Oncol.* 2014;32(3):206–211.
17. Leyten G.H., Hessels D., Jannink S.A., Smit F.P., de Jong H., Cornel E.B., de Reijke T.M., Vergunst H., Kil P., Knipscheer B.C., van Oort I.M., Mulders P.F., Hulsbergen-van de Kaa C.A., Schalken J.A. Prospective multicentre evaluation of PCA3 and TMPRSS2:ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers of prostate cancer. *Eur. Urol.* 2014;65(3):534–542.
18. Goode R.R., Marshall S.J., Duff M., Chevli E., Chevli K.K. Use of PCA3 in detecting prostate cancer in initial and repeat prostate biopsy patients. *Prostate.* 2013;73(1):48–53.
19. Hansen J., Auprich M., Ahyai S.A. Initial prostate biopsy: development and internal validation of a biopsy-specific nomogram based on the prostate cancer antigen 3 assay. *Eur. Urol.* 2013;63(2):201–209.
20. De Luca S., Passera R., Bollito E., Manfredi M., Scarpa R.M., Sottile A., Randone D.F., Porpiglia F. Comparison of prostate cancer gene 3 score, prostate health index and percentage free prostate-specific antigen for differentiating histological inflammation from prostate cancer and other non-neoplastic alterations of the prostate at initial biopsy. *Anticancer Res.* 2014;34:7159–7166.
21. Merola R., Tomao L., Antenucci A., Sperduti I., Sentinelli S., Masi S., Mandoj C., Orlandi G., Papalia R., Guaglianone S., Costantini M., Cusumano G., Cigliana G., Ascenzi P., Gallucci M., Conti L. PCA3 in prostate cancer and tumor aggressiveness detection on 407 high-risk patients: a National Cancer Institute experience. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2015;34:15.
22. Luo Y., Gou X., Huang P., Mou C. The PCA3 test for guiding repeat biopsy of prostate cancer and its cut-off score: a systematic review and meta-analysis. *Asian J. Androl.* 2014;16:487–492.
23. Wang Y., Liu X.J., Yao X.D. Function of PCA3 in prostate tissue and clinical research progress on developing a PCA3 score. *Chin. J. Cancer Res.* 2014;26(4):493–500.
24. Ng C.F., Yeung R., Chiu P., Lam N.Y., Chow J., Chan B. The role of urine prostate cancer antigen 3 mRNA levels in the diagnosis of prostate cancer among Hong Kong Chinese patients. *Hong Kong Med. J.* 2012;18:459–465.
25. Fojt L., Mila M., Mengual L., Luque P., Alcaraz A., Jiménez W., Filella X. Real-time PCR PCA3 assay is a useful test measured in urine to improve prostate cancer detection. *Clinica Chimica Acta.* 2014;435:53–58.
26. Chan S.W., Nguyen P.N., Violette P., Brimo F., Taguchi Y., Aprikian A., Chen J.Z. Early detection of clinically significant prostate cancer at diagnosis: a prospective study using a novel panel of TMPRSS2:ETS fusion gene markers. *Cancer Medicine.* 2013;2(1):63–75.
27. Yao Y.H., Wang H., Li B.G., Tang Y. Evaluation of the TMPRSS2:ERG fusion for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol.* 2014;35(3):2157–2166.
28. Taris M., Irani J., Blanchet P., Multigner L., Cathelineau X., Fromont G. ERG expression in prostate cancer: the prognostic paradox. *Prostate.* 2014;74:1481–1487.
29. Eguchi F.C., Faria E.F., Neto C.S., Longatto-Filho A., Zanardo-Oliveira C., Taboga S.R., Campos S.G. The role of TMPRSS2:ERG in molecular stratification of Pca and its association with tumor aggressiveness: a study in Brazilian patients. *Sci Rep.* 2014;35:9597–9602.
30. Velarti S., Dimitriadis E., Kontogianni-Katsarou K., Savvani A., Sdrolia E., Pantazis G., Stefanakis S., Trangas T., Pandis N., Petraki K. Detection of TMPRSS2:ERG fusion gene in benign prostatic hyperplasia. *Tumor Biol.* 2014;35:9597–9602.
31. Burdova A., Bouchal J., Tavandzis S., Kolar Z. TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech. Repub.* 2014;158(4):502–510.
32. Udager A.M., Shi Y., Tomlins S.A., Alva A., Siddiqui J., Cao X., Pienta K.J., Jiang H., Chinnaiyan A.M., Mehra R. Frequent discordance between ERG gene rearrangement and ERG protein expression in a rapid autopsy cohort of patients with lethal, metastatic, castration-resistant prostate cancer. *Prostate.* 2014;74(12):1199–1208.
33. Tandefelt D.G., Boormans J., Hermans K., Trapman J. ETS fusion genes in prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer.* 2014;21:R143–R152.
34. Park K., Dalton J.T., Narayanan R., Barbieri C.E., Hancock M.L., Bostwick D.G., Steiner M.S., Rubin M.A. TMPRSS2:ERG gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *J. Clin. Oncol.* 2013;32:206–211.
35. Altintas D.M., Allioli N., Decaussin M., de Bernard S., Ruffion A., Samarut J., Vlaeminck-Guillem V. Differentially expressed androgen-regulated genes in androgen-sensitive tissues reveal potential biomarkers of early prostate cancer. *PLoS ONE.* 2013;8(6):e66278.
36. Hansen J., Auprich M., Ahyai S.A. Initial prostate biopsy: development and internal validation of a biopsy-specific nomogram based on the prostate cancer antigen 3 assay. *Eur. Urol.* 2013;63(2):201–209.
37. Perdoni S., Bruzzese D., Ferro M., Autorino R., Marino A., Mazzarella C., Perruolo G., Longo M., Spinelli R., Di Lorenzo G., Oliva A., De Sio M., Damiano R., Altieri V., Terracciano D. Prostate health index (phi) and prostate cancer antigen 3 (PCA3) significantly improve diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy. *Prostate.* 2013;73(3):227–235.
38. Sartori D.A., Chan D.W. Biomarkers in prostate cancer: what's new? *Curr. Opin. Oncol.* 2014;26(3):259–264.

Поступила 20.06.15

УЗКОСПЕКТРОВАЯ ДИАГНОСТИКА И КОМПЬЮТЕРНАЯ ХРОМОЭНДОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ НИЖНИХ И ВЕРХНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

¹ Отделение ММДил ГКБ № 57; ² кафедра урологии ИПК ФМБА; ³ кафедра эндоскопической урологии РМАПО, ⁴ Отделение урологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина, Москва

Автор для связи: И. А. Соломатников — аспирант кафедры эндоскопической урологии РМАПО;
e-mail: solomatnikov_van@mail.ru

В структуре онкологической заболеваемости первое место занимают опухоли эпителиального происхождения. Целью работы стало изучение возможностей узкоспектральной эндоскопии и компьютерной хромоэндоскопии в диагностике эпителиальных образований мочевого пузыря и верхних мочевыводящих путей (ВМП).

Материалы и методы. Дополнительная диагностика при эндоскопическом осмотре нижних мочевыводящих путей была выполнена 76 пациентам (132 уретроцистоскопии).

Для оценки эффективности применения дополнительных технологий при эндоскопическом осмотре верхних мочевыводящих путей были обследованы 47 пациентов (57 эндоскопических исследований ВМП).

Результаты. При эндоскопическом осмотре мочевого пузыря только в «белом свете» выявлено и удалено 80 подозрительных новообразований. Дополнительное применение NBI-диагностики позволило выявить и удалить еще 9 (9,5%) патологических новообразований, 6 (66,7%) из которых оказались переходноклеточным раком. Дополнительное применение компьютерной хромоэндоскопии позволило выявить еще 6 (6,3%) новообразований, пропущенных при осмотре в «белом свете»: 4 (66,7%) образца переходноклеточного рака, 1 (16,7%) — плоскоклеточной папилломы.

При эндоскопическом осмотре ВМП только в «белом свете» выявлено и удалено 47 подозрительных новообразований. Дополнительное применение узкоспектрального режима позволило выявить и удалить еще 8 (12,9%) патологических новообразований, 3 (37,5%) из которых морфологически являлись переходноклеточной карциномой. Дополнительное применение компьютерной хромоэндоскопии выявило еще 7 (11,3%) новообразований, пропущенных при осмотре ВМП в «белом свете», 4 (57,1%) из которых являлись переходноклеточной карциномой. Во всех остальных биоптатах получено или хроническое воспаление, или материал был не пригоден для морфологического исследования.

Выводы. Наш опыт использования узкоспектральной диагностики и компьютерной хромоэндоскопии позволил на 14,3% улучшить диагностику рака мочевого пузыря и на 14,9% — выявляемость переходноклеточной карциномы ВМП на этапе освоения метода.

Ключевые слова: узкоспектральная диагностика, компьютерная хромоэндоскопия, папиллярные образования, эпителиальные опухоли, нижние и верхние мочевые пути

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Мартов А.Г., Соломатников И.А., Байков Н.А., Андронов А.С., Халмурзаев О.А. Узкоспектральная диагностика и компьютерная хромоэндоскопия в диагностике эпителиальных новообразований нижних и верхних мочевыводящих путей. Урология. 2015;5:55–59.

Введение. В настоящее время эпителиальные образования мочевыводящих путей занимают одну из ведущих позиций в структуре всех онкоурологических заболеваний. Это обусловлено не только распространенностью онкологических поражений данной области, но и быстрым прогрессированием и высокой частотой рецидивирования [1].

Согласно статистическим данным, в 2013 г. в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России доля впервые выявленного рака мочевого пузыря составила 2,7%, обеспечив заболеванию 13-е ранговое место. В абсолютных значениях этот показатель составил 14 327 случаев для обоих полов [2]. Несмотря на то что опухоли мочевого пузыря по своему гистогенезу достаточно разнообразны, основную долю (95%) составляют опухоли эпителиального происхождения:

переходноклеточная и плоскоклеточная папиллома, переходноклеточный и плоскоклеточный рак, аденокарцинома, недифференцированный рак. На все остальные формы приходится 5–10%. Впервые выявленный рак почки составил 3,9% (20 892 случая для обоих полов), заняв при этом 10-е ранговое место [2]. Эпителиальные опухоли почечной лоханки и чашечек в структуре рака почки составляют от 10 до 25%; опухоли мочеточника встречаются значительно реже — в 1–2% наблюдений [2]. Среди всех онкологических поражений верхних мочевыводящих путей (ВМП) первое место занимают опухоли эпителиального происхождения: переходноклеточный рак, на долю которого приходится 92–99% всех опухолей ВМП; плоскоклеточный рак, составляющий 1–8%; переходноклеточная папиллома, инвертированная папиллома, адено-

карцинома. В то же время на долю мезенхимальных опухолей приходится только 1% [1].

«Золотым» стандартом диагностики эпителиальных опухолей мочевыводящих путей являются цистоскопия и уретеронефроскопия, позволяющие урологу осмотреть весь пораженный уротелий и при необходимости выполнить биопсию, удаление опухоли или аблацию подозрительных участков.

Сочетание эндоскопии с узкоспектровой диагностикой (Narrow Band Imaging – NBI) – оптический метод повышения качества визуализации, разработанный компанией «Olympus» (Япония). Технология позволяет с помощью фильтров выделять оптические волны определенной длины и получать более качественное и контрастное изображение сосудистого рисунка подслизистого слоя уротелия, применяя эффект выборочного поглощения гемоглобином некоторых длин волн видимого спектра светового излучения, и тем самым лучше выявлять участки с измененным кровотоком. Применение режима NBI при исследованиях помогает идентифицировать специфичный сосудистый рисунок опухолей и определять зоны, пораженные дисплазией высокой степени. При освещении поверхности слизистой мочевой системы лучом узкой полосы спектрального излучения свет, активно поглощаясь кровеносными сосудами, легко проникает сквозь ткани слизистой оболочки. В результате появляется возможность контрастного выделения капилляров и других структур слизистых. Раньше узкоспектровое исследование можно было выполнять только с помощью видеофиброцистоскопа. В настоящее время создана новая видеоплатформа, позволяющая работать практически с любым ригидным и гибким эндоскопическим инструментом. Мы имеем опыт применения узкоспектральной диагностики с 2008 г. более чем 600 больными с опухолями верхних и нижних мочевыводящих путей. Метод достаточно хорошо изучен при диагностике опухолей мочевого пузыря и в связи с созданием новой эндоскопической платформы начинает активно внедряться в стандартную клиническую практику диагностики опухолей ВМП [3–7].

В то же время получить более контрастное изображение сосудистого рисунка подслизистого слоя уротелия возможно путем компьютерной обработки изображения в режиме реального времени. Метод получил название компьютерной хромоэндоскопии, при этом за счет изменения спектра света и контрастирования изображения может быть получена более информативная эндоскопическая картина [8]. На этапе освоения технологии применяли компьютерную коррекцию получаемого с видеокамеры цифрового сигнала путем частичной замены каналов RGB (как одно из, на наш взгляд, наиболее эффективных преобразований видеосигнала): красный канал заменялся на зеленый, а зеленый – на синий. Перед этим увеличивали насыщенность оранжевого и голубого спектра цвета для максимальной контрастности. Для решения подобных задач использовали оборудование компании «Karl Storz» (Германия).

Цель работы: изучить возможности узкоспектральной эндоскопии и компьютерной хромоэндоскопии в диагностике эпителиальных образований мочевого пузыря и ВМП.

Материалы и методы. Эффективность применения дополнительных эндоскопических методов диагно-

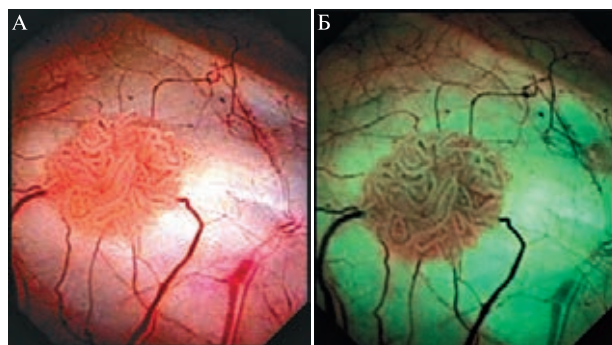


Рис. 1. Эндоскопическая картина папиллярной опухоли мочевого пузыря в «белом свете» (А) и в режиме узкоспектрального изображения NBI (Б)

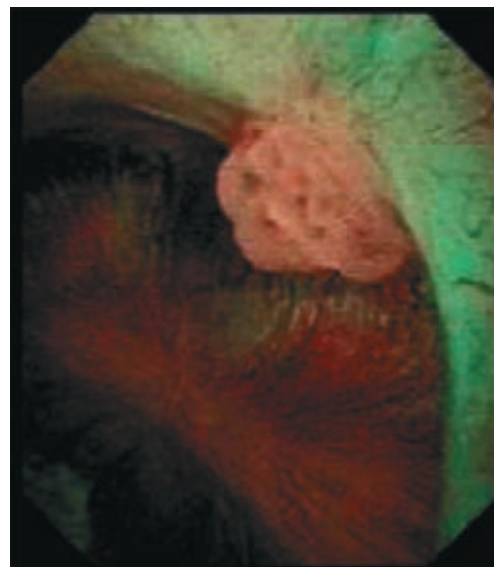


Рис. 2. Узкоспектральное изображение папиллярной опухоли чашечки почки при видеофиброуретеронефроскопии

стики оценивали проспективно у пациентов с эпителиальными образованиями мочевого пузыря и ВМП, проходивших лечение на базе отделения урологии ГКБ № 57 Москвы (ранее ГКУБ № 47) с сентября 2010 по сентябрь 2014 г.

Дополнительная диагностика при эндоскопическом осмотре нижних мочевыводящих путей была выполнена 76 пациентам в возрасте от 36 до 82 лет с ранее установленным диагнозом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (РМП) или подозрением на него по данным клинического обследования (ультрасонография, МРТ, КТ). Использовали ригидные уретроцистоскопы и резектоскопы диаметром 16–28 Fr с применением оптик 12° и 30°, а также фиброцистоскопы диаметром 16 Fr. В целом было выполнено 132 уретроцистоскопии. Ригидная уретроцистоскопия проведена 49 (64,5%) пациентам (80 [60,6%] исследований), фиброуретроцистоскопия – 27 (35,5%) (52 [39,4%] исследования). После тщательного первоначального осмотра мочевого пузыря в «белом свете» в ходе 58 (43,9%) исследований

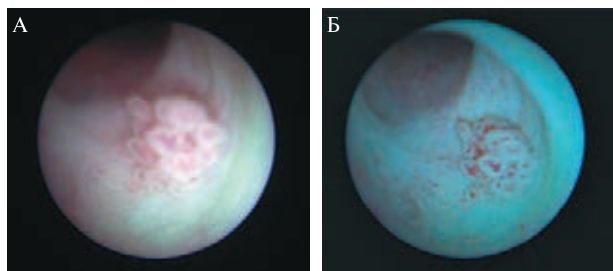


Рис. 3. Эндоскопическая картина опухоли мочеточника в «белом свете» (а) и при компьютерной хромоэндоскопии (б)

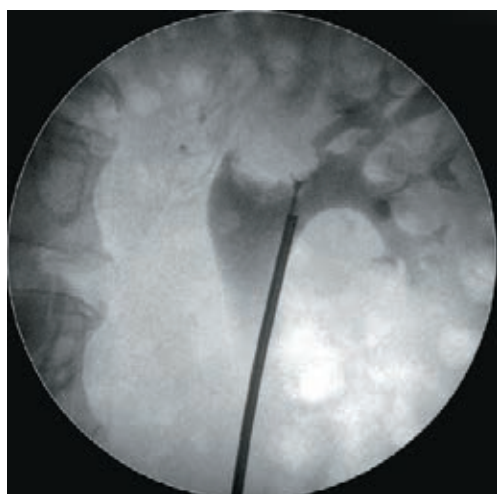


Рис. 4. Рентгенограмма при выполнении «холодной биопсии» эндоскопическими биопсийными щипцами через ригидный уретеропиелоскоп у пациента с крупной папиллярной опухолью лоханки единственной почки

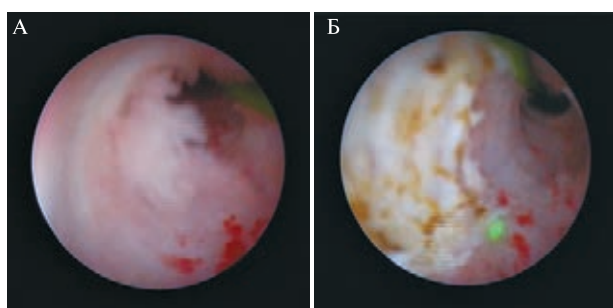


Рис. 5. Эндоскопическая картина опухоли мочеточника (а) и стенки мочеточника после лазерной абляции опухоли (б)

дополнительно использовали узкоспектровую диагностику (рис. 1) и 74 (56,1%) — компьютерную хромоэндоскопию. Патологические новообразования удаляли с помощью монополярной, биполярной или лазерной резекции (в т.ч. с применением методики *en bloc*), в местах с измененной слизистой выполняли «холодную» биопсию.

Для оценки эффективности применения дополнительных технологий при эндоскопическом осмотре ВМП были обследованы 47 пациентов (19 — с единственной или единственно функционирующей почкой) в возрасте от 51 года до 82 лет с установленным диагнозом или подозрением (по данным экскреторной урографии или КТ) на папиллярные образования мочеточника (27 больных), лоханки (14) или чашечек почки (6), которым выполнено 57 эндоскопических исследований ВМП с помощью ригидных и гибких уретеропиелоскопов диаметром 6–9Fr, а также ригидного нефроскопа диаметром 26 Fr. Трансуретральная уретеронефроскопия выполнена 45 (95,7%) пациентам (54 [94,7%] исследования), перкутанная пиелокаликоскопия — 2 (4,3%) (3 [5,3%] исследования). В 30 (52,6%) исследованиях помимо уретеронефроскопии в «белом свете» дополнительно применялась узкоспектральная диагностика (рис. 2), в 27 (47,4%) — компьютерная хромоэндоскопия (рис. 3). Папиллярные образования после их биопсии «холодными» щипцами (рис. 4) или корзинками удаляли с помощью электро- или лазерной абляции (рис. 5). Места слизистой с измененным сосудистым рисунком подвергали биопсии.

Результаты и обсуждение. Всего при уретероцистоскопии было заподозрено 95 патологических новообразований мочевого пузыря, среди которых 72 (75,8%) имели экзофитный рост, а 23 (24,2%) — вид плоских опухолей, из них в 5 (5,3%) случаях опухоль проросла устье мочеточника. Пятьдесят семь (60%) образований были размером от 0,5 до 1,0 см, 22 (23,2%) — 1–2 см и 16 (16,8%) — более 2 см. Все образования были полностью удалены с помощью различных электрохирургических и лазерных методов и исследованы морфологически.

При эндоскопическом осмотре мочевого пузыря только в «белом свете» выявлено и удалено 80 подозрительных новообразований, при морфологическом исследовании которых в 60 (75%) случаях был установлен диагноз эпителиального РМП (уротелиальная карцинома), в 7 (8,7%) наблюдениях найдена уротелиальная папиллома и в 2 (2,5%) — плоскоклеточная папиллома (см. таблицу). Дополнительное применение новой видеоплатформы NBI позволило выявить и удалить еще 9 (9,5%) патологических новообразований, 6 (66,7%) из которых морфологически оказались переходноклеточным раком. Дополнительное применение компьютерной хромоэндоскопии позволило диагностировать еще 6 (6,3%) новообразований, пропущенных при осмотре в «белом свете». По результатам морфологического исследования 4 (66,7%) образца являлись переходноклеточным раком, 1 (16,7%) — плоскоклеточной папилломой, в 1 (16,7%) образце получено хроническое воспаление.

Таким образом, при морфологическом исследовании всех 95 биоптатов, полученных из новообразований, подозрительных на эпителиальные опухоли мочевого пузыря, в 25 (26,3%) образцах диагноз рака не подтвержден: уротелиальная папиллома установлена в 7 (7,4%) биоптатах, плоскоклеточная — в 3 (3,1%) и хроническое воспаление — в 15 (15,8%). В 70 (73,7%) биоптатах установлен диагноз переходноклеточного рака, при этом при осмотре только

Т а б л и ц а

Распределение биоптатов эпителиальных новообразований нижних и верхних мочевыводящих путей в соответствии с морфологическим диагнозом в зависимости от метода эндоскопической диагностики

Метод эндоскопической диагностики/ Морфологический диагноз	«Белый свет»	Узкоспектрковая диагностика	Компьютерная хромоскопия	Итого
Нижние мочевые пути				
Уротелиальная карцинома (РМП)	60	6	4	70
Уротелиальная папиллома	7	—	—	7
Плоскоклеточная папиллома	2	—	1	3
Хроническое воспаление	11	3	1	15
Всего	80	9	6	95
Верхние мочевые пути				
Уротелиальная карцинома	40	3	4	47
Воспаление (непригодный материал)	7	5	3	15
Всего	47	8	7	62

в «белом свете» диагноз установлен в 60 (85,7%) случаях, дополнительное применение узкоспектрковой диагностики и компьютерной хромоэндоскопии позволило верифицировать еще 6 (8,6%) и 4 (5,7%) уротелиальных карцином соответственно, повысив выявляемость рака мочевого пузыря суммарно на 14,3 %.

При эндоскопическом осмотре ВМП в 52 (91,2%) исследованиях с помощью ригидной и гибкой эндоскопии удалось полностью осмотреть весь уротелий, в 5 (8,8%) случаях всю чашечно-лоханочную систему полностью осмотреть не удалось из-за чрезмерно узких и длинных шеек чашечек или очень острого угла между мочеточником и нижней чашечкой.

Всего было заподозрено 62 патологических новообразования ВМП, среди которых 20 (32,3%) составили мелкие образования (менее 0,5 см в диаметре), 34 (54,8%) — средних размеров (от 0,5 см до 1 см) и 8 (12,9%) — крупных (более 1 см в диаметре). Все образования были полностью удалены с помощью различных электрохирургических и лазерных методик или эндоскопических биопсийных щипцов и исследованы морфологически.

При эндоскопическом осмотре ВМП только в «белом свете» выявлено и удалено 47 подозрительных новообразований, при морфологическом исследовании которых в 40 (85,1%) случаях был установлен диагноз уротелиальной карциномы — переходноклеточного рака ВМП (см. таблицу). Дополнительное применение узкоспектркового режима диагностики позволило выявить и удалить еще 8 (12,9%) патологических новообразований, 3 (37,5%) из которых морфологически являлись переходно-клеточной карциномой. С помощью компьютерной хромоэндоскопии удалось выявить еще 7 (11,3%) новообразований, пропущенных при осмотре ВМП в «белом свете», 4 (57,1%) из которых оказались переходноклеточной карциномой. Во всех остальных случаях или диагностировано хроническое воспаление, или материал был не пригоден для морфологического исследования.

Таким образом, при морфологическом исследовании 62 биоптатов, полученных из новообразований, подозрительных на папиллярные опухоли

ВМП, в 15 (24,2%) образцах диагноз рака не подтвержден. Переходноклеточная карцинома установлена в 47 (75,8%) исследованиях, при этом в ходе осмотра ВМП только в «белом свете» диагноз установлен в 40 (85,1%) случаях, дополнительное применение узкоспектрковой диагностики и компьютерной хромоэндоскопии позволило верифицировать еще 7 (14,9%) злокачественных опухолей.

Заключение. Использование узкоспектрковой диагностики и компьютерной хромоэндоскопии позволило на 14,3% улучшить диагностику РМП и на 14,9% повысить выявляемость переходноклеточной карциномы ВМП на этапе освоения метода. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят более точно определить диагностическую ценность (чувствительность и специфичность) данных методик.

ЛИТЕРАТУРА

1. Матвеев Б.П. Клиническая онкоурология. М.: «АБВ-пресс». 2011.
2. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2015.
3. Мартюв А.Г., Максимов В.А., Ергаков Д.В., Андронов А.С. Возможности узкоспектрвой фиброцистоскопии в диагностике рака мочевого пузыря. Урология. 2009;5:54—59.
4. Kuznetsov K., Lambert R., Rey J.F. Narrow-band imaging: potential and limitations. Endoscopy. 2006;38:76—81.
5. Мартюв А.Г., Андронов А.С., Ергаков Д.В. Эндоскопический атлас. Фиброуретроцистоскопия с узкоспектрвой диагностикой. М.: «Мераполис». 2012. 140 с.
6. Dalbagni G. Prognostication of Upper Tract Urothelial Carcinoma. What Do We Really Need? Eur Urol. 2010;57(4):582—583.
7. Мартюв А.Г., Андронов А.С., Ергаков Д.В., Дутов С.В. Узкоспектрковая уретероцистоскопия в диагностике заболеваний верхних мочевых путей. Третий Российский конгресс по эндоурологии и новым технологиям. М.: Логос. 2012. С. 131—132.
8. Мартюв А.Г., Соломатников И.А., Андронов А.С., Ергаков Д.В., Дутов С.В. Узкоспектрковая эндоскопия и компьютерная хромоэндоскопия в диагностике папиллярных опухолей верхних мочевых путей. Медицинский вестник Башкортостана. Уфа. Изд. «ГБОУ ВПО БГМУ» 2015. С. 223—226.

Поступила 01.08.15

ВАЛИДАЦИЯ РУССКОЯЗЫЧНОЙ ВЕРСИИ ОПРОСНИКА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ СО СТРИКТУРАМИ ПЕРЕДНЕЙ УРЕТРЫ PATIENT-REPORTED OUTCOME MEASURE FOR URETHRAL STRICTURE SURGERY (PROM-USS): РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Урологическая клиника ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва

Автор для связи: А. Н. Шибает — к.м.н.; e-mail: anshibaev@rambler.ru

В настоящее время при анализе результатов лечения активно используются оценки, данные пациентами. В 2011 г. был предложен опросник для оценки эффективности лечения мужчин со стриктурой передней уретры (PROM-USS). Цель исследования: в ходе валидации провести пилотное тестирование русскоязычной версии опросника PROM-USS для определения его психометрических свойств (надежности, валидности и чувствительности). В исследовании приняли участие 35 мужчин со стриктурой передней уретры, которые заполняли опросник PROM-USS до и через 6 мес после операции. Опросник состоит из 14 вопросов и 2 визуально-аналоговых шкал (ВАШ), объединенных в 2 домена: 1 — оценка симптомов нижних мочевых путей (СНМП); 2 — оценка качества жизни, а также содержит вопросы об удовлетворенности лечением. Оценивали надежность, валидность и чувствительность опросника PROM-USS. О надежности опросника свидетельствовали высокие коэффициенты внутриклассовой корреляции ICC (0,7–0,96) и коэффициент Кронбаха- α , равный 0,76. Коэффициент корреляции балльной оценки СНМП с показателем максимальной объемной скорости мочеиспускания (Q_{max}) — $R = -0,81$ ($p < 0,05$) подтверждал критериальную валидность. После операции суммарная оценка СНМП снизилась с $14,0 \pm 0,72$ до $5,66 \pm 0,58$ балла ($p < 0,05$), показатель ВАШ EQ-5D увеличился с $51,43 \pm 5,3$ до $71,42 \pm 7,64$ ($p = 0,01$) при увеличении Q_{max} с $3,4 \pm 0,3$ до $17,9 \pm 0,9$ мл/с ($p < 0,001$), что указывает на чувствительность опросника к изменениям. Девяносто четыре процента мужчин оказались довольны и очень довольны результатом операции; у 88% из них остаточные СНМП не влияли на КЖ или влияли незначительно. Для окончательных выводов о пригодности данного инструмента требуются дальнейшие исследования с участием большего числа пациентов.

Ключевые слова: стриктура передней уретры; оценки, данные пациентом; качество жизни, PROM-USS

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Базаев В.В., Шибает А.Н., Павлова Ю.В. Валидация русскоязычной версии опросника для оценки эффективности хирургического лечения пациентов со стриктурами передней уретры Patient-Reported Outcome Measure for Urethral Stricture Surgery (PROM-USS): результаты пилотного исследования. Урология. 2015;5:15–21.

Введение. Стриктуры уретры являются основной причиной затрудненного мочеиспускания у мужчин молодого и среднего возраста [1, 2]. Негативное влияние этого состояния на качество жизни (КЖ) мужчин опосредовано прогрессирующей симптоматикой обструкции нижних мочевых путей, высокой частотой рецидивов и необходимостью повторных оперативных вмешательств [2, 3]. Критериями при оценке результатов хирургического лечения пациентов со стриктурами уретры в основном являются индикаторы технического успеха (данные урофлоуметрии, уретрографии, цистоскопии, отсутствие необходимости в повторных вмешательствах) [4, 5]. Однако на вопрос, достигнуты ли основные цели лечения, которое, восстанавливая нормальную функцию мочеиспускания, должно свести к минимуму выраженность симптомов, а также улучшить КЖ, могут ответить только сами пациенты. В настоящее время оценки здоровья, данные пациентом (ОДП), играют существенную роль при выборе тактики лечения и оценке его эффективности [6]. Для оценки результатов уретропластики часто применяют опросники (напри-

мер, I-PSS), предназначенные для других заболеваний, без их валидации для пациентов со стриктурами уретры [7, 8], что противоречит основным принципам методологии изучения КЖ в медицине [6]. Качественное исследование ОДП предполагает использование специфических валидированных инструментов.

В 2011 г. группой экспертов в уретральной хирургии разработан специфический опросник для определения эффективности хирургического лечения пациентов со стриктурой передней уретры на основе ОДП — Patient-Reported Outcome Measure for Urethral Stricture Surgery — PROM-USS [9]. К настоящему времени проведена его валидация на английском, итальянском и немецком языках [9–11].

Цель работы: в ходе валидации провести пилотное тестирование русскоязычной версии опросника PROM-USS для определения его психометрических свойств.

Материалы и методы. Структура опросника. Оригинальный англоязычный опросник создан на основании общеизвестных анкет с доказанными психометрическими свойствами [9].

Опросник PROM-USS содержит:

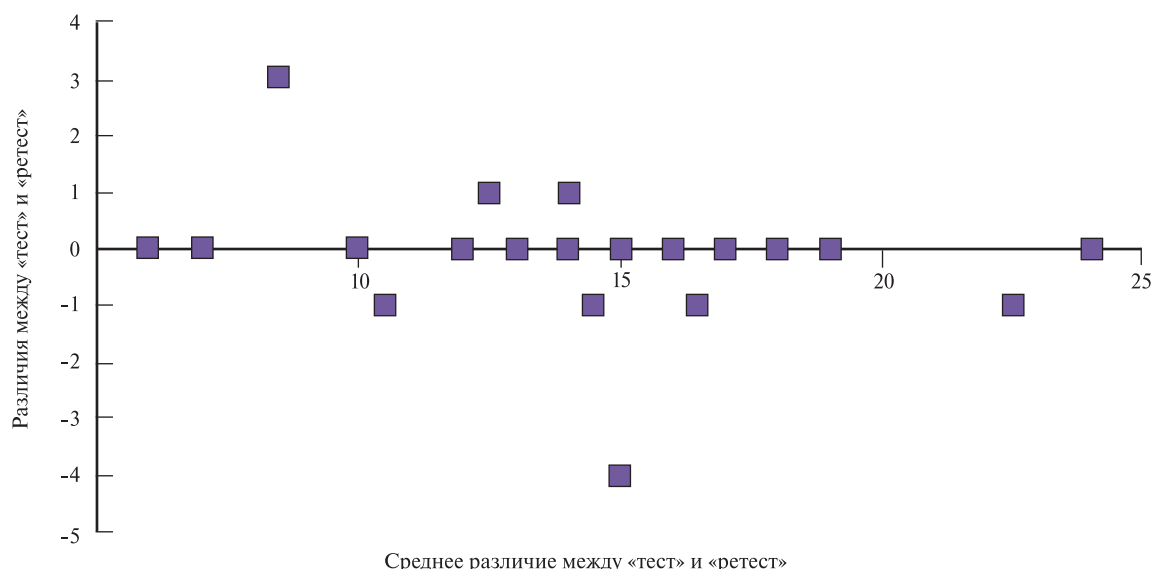


Рис. Диаграмма Блэнда—Альтмана для блока вопросов, суммарно оценивающих СНМП. Объяснения в тексте

- блок симптомов нижних мочевых путей (СНМП), состоящий из 6 вопросов (В 1–6), за основу которых взяты вопросы из опросника ICIQ MLUTS [12, 13], где 0 баллов — нет симптомов, 24 балла — максимально выраженная симптоматика;
- отдельный вопрос для оценки влияния СНМП на КЖ (В-7) [12, 13] — оценивается по шкале Ликерта: не влияют совсем; влияют незначительно, немного, сильно;
- визуально-аналоговую шкалу (ВАШ) для оценки струи при мочеиспускании (В 8) — позволяет оценить струю при мочеиспускании от 1 (лучшая) до 4 (худшая) [14].
- опросник EQ-5D-3L для оценки общего КЖ [15]. ВАШ-«термометр» (EQVAS) предлагает отметить «общий уровень здоровья» на вертикальной шкале от 100 для «наилучшее состояние здоровья» до 0 для «наихудшее состояние здоровья». Описательная часть EQ-5D выражается в виде профиля здоровья, включившего подвижность, самообслуживание, повседневную деятельность, боль/дискомфорт и тревогу/депрессию. Профили могут быть сведены к одной оценке в виде индекса EQ-5D [15].

Опросник имеет две версии (пред- и послеоперационную). Послеоперационная версия дополнена двумя вопросами об удовлетворенности пациента результатами лечения (В-9 и В-10).

Опросник предусматривает оценку состояния мужчины за последние 4 нед, заполняется пациентом самостоятельно. Мужчины с отсутствием самостоятельного мочеиспускания, имеющие цистостомический дренаж или уретральный катетер, могут не отвечать на вопросы первой части анкеты, что дополнительно оговаривается в опроснике (см. приложение).

Культурная и языковая адаптация. Процесс валидации согласован с авторами опросника, получено их официальное разрешение на разработку и внедрение русскоязычной версии. Перевод опросника выполнен в соответствии с общепринятыми требованиями языковой и культурной адаптации [6], в ходе чего создана тест-версия опросника для проведения пилотного исследования.

Пациенты. Пилотное тестирование проведено с участием 35 мужчин, поступивших для оперативного лечения в урологическую клинику МОНИКИ с июня 2013 по октябрь 2014 г. Критерии включения:

Клиническая характеристика больных

Т а б л и ц а 1

Параметр	Значение
Количество больных	35
Возраст, годы ($M \pm m$)	49,8 $\pm$ 2,7
Протяженность стриктуры, см ($M \pm m$)	4,85 $\pm$ 0,7
Локализация стриктуры:	
- пенильный отдел, %	18 (51)
- бульбозный отдел, %	15 (43)
- оба отдела, %	2 (6)
Q_{max} , мл/с ($M \pm m$)	3,4 $\pm$ 0,3
U_{res} , мл ($M \pm m$)	34,5 $\pm$ 5,4

П р и м е ч а н и е. U_{res} — объем остаточной мочи.

- диагноз: стриктура передней уретры, подтвержденный данными урофлоуметрии, рентгенологическими методами обследования;
- согласие больного на участие в исследовании;
- возраст старше 18 лет;
- отсутствие сопутствующих заболеваний в стадии обострения, симптоматика которых доминирует над симптомами нарушения мочеиспускания и требует активного лечения (см. табл. 1).

Мужчины самостоятельно заполняли опросник дважды до операции с интервалом в 3–5 дней и через 6 мес после оперативного лечения, а также отвечали на вопросы и высказывали пожелания, касающиеся опросника, в ходе устного интервью. Данное исследование не требовало одобрения Комитета по этике.

Оценка психометрических свойств опросника. Определены валидность, надежность и чувствительность опросника PROM-USS.

Содержательная валидность определена ранее работниками оригинального опросника по результатам изучения данных литературы и проведения экспертной оценки в несколько этапов. В нашем исследовании содержательная валидность подтверждена группой экспертов-урологов и в процессе интервьюирования пациентов. Критериальная валидность оценена методом «внешних критериев»: определены корреляционные связи между суммой баллов СНМП, ВАШ мочеиспускания с максимальной объемной скоростью мочеиспускания (Q_{max}) и общей удовлетворенностью пациентов. При оценке надежности исследованы воспроизводимость и внутреннее постоянство опросника. Воспроизводимость оценена методом тест–ретест-анализа: пациенты заполняли PROM-USS дважды перед операцией. Результаты анализировали методом Блэнда–Альтмана и путем определения коэффициентов внутриклассовой корреляции (ICC); уровень надежности считали удовлетворительным при $ICC > 0,7$ [16]. О внутреннем постоянстве судили на основании результатов вычисления коэффициента Кронбаха- α [17] и коэффициентов корреляции «пункт–шкала»; в качестве пороговых определены значения $> 0,70$ и $0,20$ соответственно [16, 17]. Чувствительность PROM-USS оценена путем выявления статистически значимых различий при сравнении результатов анкетирования до и после оперативного лечения.

Статистическая обработка данных осуществлена с использованием программы IBM SPSS Statistics 21. Методы проверки статистических гипотез: дисперсионный анализ (ANOVA), критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проведен методом ранго-

вой корреляции Спирмена. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Больные самостоятельно заполняли печатный вариант опросника PROM-USS в течение 3–5 мин. Все вопросы охарактеризованы пациентами как уместные и корректные. Семи из 35 мужчин потребовалось разъяснение смысла вопросов 2 и 6. Послеоперационную версию опросника через 6 мес после операции заполнили 33 из 35 пациентов.

Оценка надежности. Необходимым условием оценки воспроизводимости методом тест–ретест-анализа стало отсутствие изменений в состоянии здоровья пациентов. Результаты суммарной оценки СНМП представлены на рисунке. Для каждого пациента определено среднее значение и разница для баллов «тест» и «ретест». Различия в пределах от -4 до 3 при малой средней разности ($bias = -0,09$) свидетельствуют о хорошей согласованности первичной и повторной оценок. Коэффициенты внутриклассовой корреляции были довольно высокими и составили $0,7–0,96$ (см. табл. 2). Следовательно, оценка симптоматики и КЖ, выполненная с интервалом в 3–5 дней, проведена точно. Коэффициент α -Кронбаха при оценке внутреннего постоянства блока вопросов, суммарно оценивающих СНМП, был весьма высок ($0,76$) и варьировал от $0,76$ до $0,70$ при исключении любого из вопросов (табл. 2), что позволяет говорить о достаточной надежности опросника по этому критерию. Значение EQ-5D-индекса при первичном обследовании составило в среднем $0,58 \pm 0,29$, при повторном обследовании – $0,76 \pm 0,21$ ($p = 0,32$); средние значения ВАШ-«термометра» оказались равными $62,5 \pm 18,93$ и $60,5 \pm 12,15$ соответственно ($p = 0,78$). Таким образом, высокое значение коэффициента внутреннего постоянства и результаты исследований воспроизводимости опросника PROM-USS подтверждают надежность его русскоязычной версии.

Оценка валидности. Для оценки критериальной валидности в качестве «внешних критериев» был выбран основной объективный параметр мочеиспускания – Q_{max} . Установлена выраженная отрицательная корреляция между Q_{max} и общим баллом СНМП как до, так и после операции ($R = -0,81$, $p < 0,0001$). Также установлена четкая корреляционная связь между ВАШ мочеиспускания и Q_{max} ($R = -0,88$, $p < 0,0001$). После операции у 5 (15%) из 33 мужчин симптомы отсутствовали (0 баллов); 31 (94%) из 33 пациентов остался довольным и очень довольным результатом операции; у 29 (88%) из них остаточные СНМП на КЖ влияли незначительно или не влияли совсем. Таким образом, конструкция опросника позволяет адекватно оценивать специ-

Показатели надежности для блока вопросов, суммарно оценивающих СНМП

Т а б л и ц а 2

Вопрос	ICC	Корреляция пункта с суммарным баллом СНМП	Кронбаха- α при исключении вопроса
В 1	0,96	0,49	0,73
В 2	0,7	0,4	0,75
В 3	0,95	0,62	0,7
В 4	0,85	0,73	0,7
В 5	0,8	0,46	0,74
В 6	0,93	0,35	0,76

Показатели чувствительности PROM-USS ($n=33$) ($M \pm m$)

Конструкция	Вопрос	Оценка, баллы		<i>p</i>
		до операции	после операции	
Сумма баллов СНМП	В 1	2,0 $\pm$ 0,22	0,82 $\pm$ 0,17	<0,0001
	В 2	2,94 $\pm$ 0,17	0,27 $\pm$ 0,11	<0,0001
	В 3	2,67 $\pm$ 0,17	1,33 $\pm$ 0,21	<0,0001
	В 4	2,18 $\pm$ 0,19	1,06 $\pm$ 0,18	<0,0001
	В 5	2,45 $\pm$ 0,19	0,91 $\pm$ 0,18	<0,0001
	В 6	1,73 $\pm$ 0,20	1,27 $\pm$ 0,20	0,1
	В 1–В 6	14,0 $\pm$ 0,72	5,66 $\pm$ 0,58	<0,0001
ВАШ мочеиспускания	В 8	3,70 $\pm$ 0,08	1,70 $\pm$ 0,10	<0,0001
EQ-5D	ВАШ-«термометр»	51,43 $\pm$ 5,3	71,42 $\pm$ 7,64	0,01
	Индекс EQ-5D	0,75 $\pm$ 0,15	0,91 $\pm$ 0,11	<0,05

фические симптомы у пациентов рассматриваемой группы, имеет довольно сильные корреляционные связи с основными объективными показателями, т.е. дает возможность правильно оценивать состояние здоровья мужчин со стриктурой передней уретры.

Оценка чувствительности. Через 6 мес после оперативного лечения оценка симптоматики и КЖ была проведена 33 мужчинам. Оперативное лечение всех пациентов по объективным критериям было признано успешным: послеоперационный показатель Q_{max} составил в среднем 17,9 $\pm$ 0,9 мл/с, при контрольной уретрографии рентгенологических признаков рецидива стриктуры не выявлено. При анкетировании отмечено достоверное улучшение всех показателей (табл. 3). Эти цифры подтверждаются улучшением КЖ, связанного с данным заболеванием: у 10 (30%) мужчин отмечено улучшение по шкале Ликерта на 1 балл, у 21 (64%) – на 2 и у 2 (6%) – на 3 балла. Таким образом, опросник служит достаточно чувствительным инструментом для оценки симптоматики и КЖ мужчин со стриктурой передней уретры и может выявлять изменения в состоянии здоровья пациентов в динамике.

Обсуждение. Среди критериев эффективности оперативного лечения при стриктурах уретры наиболее часто применяют Q_{max} , данные уретрографии и частоту рецидивов, но для адекватной оценки важно учитывать и точку зрения больных. Для этого необходимы специфические инструменты: опросники, оценивающие симптомы и КЖ пациентов. При выборе опросника для ОДП важно убедиться, что он имеет доказанную приемлемость, достоверность, надежность и чувствительность для применения данной группой пациентов [18]. На сегодняшний день наиболее широко используется инструмент Американской урологической ассоциации (AUA-7) [7], более известный как опросник I-PSS, разработанный для мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ), но не валидированный для мужчин со стриктурами уретры. Очевидно, что СНМП, обусловленные ДГПЖ, и СНМП, обусловленные стриктурой уретры, очень схожи, но в то же время G. Nuss и соавт. [19] обнаружили, что при анкетировании с помощью AUA-7 у 21% мужчин со стриктурой уретры симптомы нарушения мочеиспускания не были выявлены. Ранее

T. Kessler и соавт. [20] также представили свидетельства необходимости разработки опросника для оценки результатов хирургического лечения стриктур мочеиспускательного канала, показав наличие разногласий в определении успеха между мнением клиницистов и пациентов в 20% случаев.

PROM-USS — первый инструмент, разработанный специально для пациентов, перенесших хирургическую коррекцию стриктур передней уретры [2]. Его валидированные версии на английском, итальянском и немецком языках зарегистрированы Международной организацией по изучению КЖ MAPI Research Trust (Lyon, France) [21] и включены в базу данных Quality of Life Instruments Database. Мы осуществляем валидацию опросника на русском языке, проводим языковую и культурную адаптацию. Данное исследование представляет собой пилотное тестирование его русскоязычной версии. Величина выборки пациентов определена данными пилотных исследований оригинальной, итальянской и немецкой версий [9–11] и статистическим порогом, аналогичным авторскому исследованию. Для рутинного клинического применения опросник PROM должен быть кратким, сфокусированным, подходящим для четкого анализа, содержать только вопросы, ориентированные на параметры, важные для пациента [9]. Именно такими принципами руководствовались авторы при составлении оригинальной версии опросника PROM-USS. Первоначальная версия анкеты включала вопросы, которые охватывали: СНМП (симптомы накопления и опорожнения, постмикционные нарушения); сексуальную функцию и эякуляцию; оценку КЖ, связанного с данным заболеванием и общего. На этапе разработки на основании экспертной оценки, а также мнения пациентов были исключены вопросы, касающиеся симптомов накопления, как нехарактерные для пациентов со стриктурами уретры, а также вопросы, оценивающие сексуальную функцию и эякуляцию, поскольку они оказались нечувствительными к изменениям из-за исходно малого количества нарушений. В ходе нашего исследования группой экспертов-урологов все вопросы анкеты признаны актуальными для мужчин со стриктурой передней уретры, что подтверждено в интервью с пациен-

тами. Пилотное тестирование показало надежность, достоверность и чувствительность опросника PROM-USS, что говорит о хорошей языковой и культурной адаптации данного инструмента для русскоязычной популяции. В ходе интервью некоторыми пациентами было отмечено, что в вопросах 2 и 6 присутствуют специфические термины, требовавшие разъяснения. В связи с этим принято решение об изменении формулировки вопросов на более понятную для пациентов.

Опросник разработан ведущими мировыми специалистами в области уретральной хирургии, по мнению которых необходима разработка единых стандартов преоперационного консультирования пациентов со стриктурами мочеиспускательного канала, а также единая система оценки результатов лечения, составляющей частью которой может стать универсальный международный инструмент PROM-USS [2]. Единый валидированный опросник для оценки эффективности хирургического лечения мужчин со стриктурами передней уретры может стать еще одним важным критерием эффективности лечения, позволит качественно проводить сравнительные исследования различных оперативных методик, адекватно сравнивать результаты, полученные разными специалистами, а также использоваться в международных исследованиях.

Заключение. В ходе валидации выполнена языковая и культурная адаптация русской версии опросника PROM-USS. Проведено пилотное тестирование, в ходе которого доказаны надежность, валидность и чувствительность данного инструмента. Настоящее исследование — начальный этап процесса внедрения опросника PROM-USS в РФ. Окончательные выводы о пригодности данного инструмента можно будет сделать по итогам многоцентрового исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Latini J.M., McAninch J.W., Brandes S.B., Chung J.Y., Rosenstein D. SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: Epidemiology, Etiology, Anatomy, and Nomenclature of Urethral Stenoses, Strictures, and Pelvic Fracture Urethral Disruption Injuries. *Urol.* 2014;83(3):1–7.
2. Jackson M.J., Chaudhury I., Mangera A., Brett A., Watkin N., Chapple C.R., Andrich D.E., Pickard R.S., Mundy A.R. A prospective patient-centred evaluation of urethroplasty for anterior urethral stricture using a validated patient-reported outcome measure. *Eur. Urol.* 2013;64:777–782.
3. Трапезникова М.Ф., Базаев В.В., Лукьянчиков А.Г. Пластика протяженных рецидивных стриктур передней уретры свободным трансплантатом буккальной слизистой. *Урология.* 2006;1:3–7.
4. Mangera A., Patterson J.M., Chapple C.R. A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur. Urol.* 2011;59:797–814.
5. Chapple C., Andrich D., Atala A., Barbagli G., Cavalcanti A., Kulkarni S., Mangera A., Nakajima Y. SIU/ICUD consultation on urethral strictures: the management of anterior urethral stricture disease using substitution urethroplasty. *Urol.* 2014;83(3):31–47.
6. Новик А.А., Ионов Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. СПб. Олма-Пресс. 2002.
7. Voelzke B.B. Critical review of existing patient reported outcome measures after male anterior urethroplasty. *J Urol.* 2013;189:182–188.
8. Пушкарь Д.Ю., Живов А.В., Багаутдинов М.Р., Исмаилов М.-Р.М. Качество жизни после различных операций по поводу стриктуры уретры. Экспериментальная и клиническая урология. 2012;4:48–52.
9. Jackson M.J., Sciberras J., Mangera A., Brett A., Watkin N., N'dow J.M., Chapple C.R., Andrich D.E., Pickard R.S., Mundy A.R. Defining a patient-reported outcome measure for urethral stricture surgery. *Eur Urol.* 2011;60: 60–68.
10. Barbagli G., Romano G., Sansalone S., Lazzeri M. Italian validation of the English PROM-USS-Q questionnaire in patients undergoing anterior urethroplasty. *Urol.* 2011;78(2):98–107.
11. Kluth L.A., Dahlem R., Reiss P. Gegman validation of a patient-reported outcome measure (PROM) for urethral stricture surgery: a prospective study at a tertiary care center. *J Urol.* 2014;191(4):39.
12. Donovan J.L., Abrams P., Peters T.J., Kay H.E., Reynard J., Chapple C., de la Rosette J.M.C.H., Kondo A. The ICS-‘BPH’ Study: the psychometric validity and reliability of the ICSmale questionnaire. *Br J Urol.* 1996;77:554–562.
13. Donovan J.L., Peters T.J., Abrams P., Brookes S.T., Rosette J.J., Schäfer W. Scoring the short form ICSmale SF questionnaire. International Continence Society. *J Urol.* 2000;164:1948–1955.
14. Peeling W.B. Diagnostic assessment of benign prostatic hyperplasia. *Prostate.* 1989;2(1):51–68.
15. EuroQol — a new facility for the measurement of health-related quality of life. The EuroQol Group. *Health Policy.* 1990;16:199–208.
16. Assessing health status and quality-of-life instruments: attributes and review criteria. *Qual Life Res.* 2002;11:193–205.
17. Cronbach L.J. Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika.* 1951;16(3):297–334.
18. Dawson J., Doll H., Fitzpatrick R., Jenkinson C., Carr A. The routine use of patient reported outcome measures in healthcare settings. *BMJ.* 2010;340:186.
19. Nuss G.R., Granieri M.A., Zhao L.C., Thum D.J., Gonzalez C.M. Presenting symptoms of anterior urethral stricture disease: a disease specific, patient reported questionnaire to measure outcomes. *J Urol.* 2012;187:559–562.
20. Kessler T.M., Fisch M., Heitz M., Olanas R., Schreiter F. Patient satisfaction with the outcome of surgery for urethral stricture. *J Urol.* 2002;167:2507–2511.
21. Mapi Research Trust. ProQolid. Patient-Reported Outcome and Quality of Life Instruments Database. www.proqolid.org.

Поступила 19.06.15

Приложение. Опросник PROM-USS

Благодарим Вас за то, что согласились ответить на вопросы анкеты. Вопросы разработаны для оценки влияния стриктур мочеиспускательного канала на качество жизни пациентов. Некоторые вопросы могут показаться повторными. Тем не менее они различаются. Пожалуйста, выделите время, чтобы внимательно прочитать вопрос. Отметьте ответ, **НАИБОЛЕЕ** точно описывающий Ваши симптомы за последние **4 недели**. Если у Вас установлен уретральный катетер или надлобковый катетер (катетер в нижнем отделе живота), пожалуйста, начинайте отвечать с 11 вопроса.

1. Испытываете ли Вы затруднения перед началом мочеиспускания?

- Никогда ☐
- Периодически ☐
- Иногда ☐
- В большинстве случаев ☐
- Всегда ☐

2. Как бы Вы описали напор струи при мочеиспускании?

- Нормальный ☐
- Периодически снижен ☐
- Иногда снижен ☐
- Снижен в большинстве случаев ☐
- Снижен всегда ☐

3. Вынуждены ли Вы натуживаться для продолжения мочеиспускания?

- Никогда ☐
- Периодически ☐
- Иногда ☐
- В большинстве случаев ☐
- Всегда ☐

4. Бывает ли у Вас прерывание струи более одного раза за мочеиспускание?

- Никогда ☐
- Периодически ☐
- Иногда ☐
- В большинстве случаев ☐
- Всегда ☐

5. Как часто Вы испытываете чувство неполного опорожнения мочевого пузыря после мочеиспускания?

- Никогда ☐
- Периодически ☐
- Иногда ☐
- В большинстве случаев ☐
- Всегда ☐

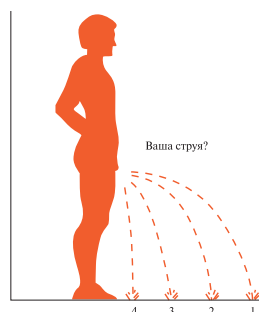
6. Как часто после того, как Вы уже закончили мочеиспускание и оделись, Вы ощущаете непроизвольное подтекание мочи/намокание белья?

- Никогда ☐
- Периодически ☐
- Иногда ☐
- В большинстве случаев ☐
- Всегда ☐

7. Оцените, насколько сильно симптомы, связанные с мочеиспусканием, влияют на Вашу жизнь:

- Не влияют совсем ☐
- Незначительно ☐
- Немного ☐
- Сильно ☐

8. Отметьте цифру, соответствующую напору Вашей струи мочи за последний месяц:



9. Удовлетворены ли Вы результатом операции?

- Да, очень доволен ☐
Да, удовлетворен ☐
Нет, не удовлетворен ☐
Нет, совсем не удовлетворен ☐

10. Если Вы не удовлетворены, то это потому, что...

- Качество мочеиспускания не улучшилось ☐
Качество мочеиспускания улучшилось, но появились новые проблемы ☐
Качество мочеиспускания не улучшилось и появились новые проблемы ☐

Отметьте галочкой один квадратик в каждом из разделов, приведенных ниже. Укажите такие ответы, которые наилучшим образом отражают состояние Вашего здоровья на сегодняшний день.

11. Подвижность:

- Я не испытываю никаких трудностей при ходьбе ☐
Я испытываю некоторые трудности при ходьбе ☐
Я прикован к постели ☐

12. Уход за собой:

- Я не испытываю трудностей при уходе за собой ☐
Я испытываю некоторые трудности с мытьем или одеванием ☐
Я не в состоянии сам мыться или одеваться ☐

13. Привычная повседневная деятельность

(например, работа, учеба, работа по дому, участие в делах семьи, досуг):

- Моя привычная повседневная деятельность дается мне без труда ☐
Моя повседневная деятельность для меня несколько затруднительна ☐
Я не в состоянии заниматься своей повседневной деятельностью ☐

14. Боль/дискомфорт:

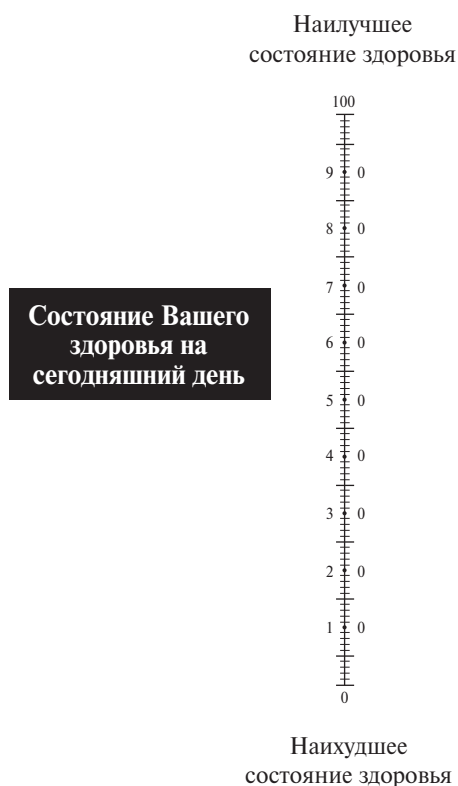
- Я не испытываю боли или дискомфорта ☐
Я испытываю умеренную боль или дискомфорт ☐
Я испытываю сильную боль или дискомфорт ☐

15. Тревога/депрессия:

- Я не испытываю тревоги или депрессии ☐
Я испытываю умеренную тревогу или депрессию ☐
Я испытываю сильную тревогу или депрессию ☐

Для того чтобы помочь опрашиваемым высказать свое мнение о том, насколько плохо или хорошо их состояние здоровья, мы изобразили шкалу, похожую на термометр, на которой наилучшее состояние здоровья, которое Вы можете себе представить, обозначено цифрой 100, а наихудшее состояние, которое Вы можете себе представить, обозначено цифрой 0.

Мы бы хотели, чтобы на этой шкале Вы указали, насколько хорошим или плохим, по Вашему мнению, является состояние Вашего здоровья на сегодняшний день. Для этого Вы должны провести линию от квадрата внизу до той точки на шкале, которая соответствует состоянию Вашего здоровья на сегодняшний день.



П. В. Глыбочко¹, Ю. Г. Аляев², А. Б. Шехтер³, А. З. Винаров⁴, Л. П. Истратов³, Е. В. Истратова³, Р. К. Абоянц³, А. В. Люндун³, М. Е. Крашенинников³, А. Е. Гуллер³, Д. В. Бутнару⁴, Л. В. Марисов⁴, Д. Ф. Кантимеров¹, А. В. Курков⁴, Е. И. Сафронова¹, Е. А. Воробьева¹, М. М. Ирицян¹

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОЗДАНИЯ ГИБРИДНОЙ МАТРИЦЫ И ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ СЕТКИ ИЗ ПОЛИЛАКТОГЛИКОЛИДА И РЕКОНСТРУИРОВАННОГО КОЛЛАГЕНА С ЦЕЛЬЮ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ УРЕТРОПЛАСТИКИ

¹ Первый МГМУ им. И. М. Сеченова; ² кафедра урологии лечебного факультета; ³ НИИ молекулярной медицины; ⁴ НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека

Автор для связи: Д. В. Бутнару — зам. директора НИИ уронефрологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова;
e-mail: butnaru_dv@mail.ru

Стриктуры мочеиспускательного канала — актуальная медицинская проблема. Одним из наиболее эффективных способов их лечения остается заместительная уретропластика. Несмотря на хорошие результаты, которые демонстрирует данный вид оперативного пособия, по-прежнему не решен ряд вопросов: дефицит материала для субституции при протяженных и рецидивных стриктурах, а также при двух- и многоэтапных операциях, в том числе в случае гипоспадии; а также морбидность в донорской зоне. Кроме того, процедура забора лоскута или трансплантата увеличивает длительность оперативного пособия, что сопряжено с повышением риска интра- и послеоперационных осложнений. Помочь в преодолении указанных выше проблем может тканевая инженерия, которая подразумевает использование тканеинженерных конструкций, состоящих из матрицы и клеток. В рамках настоящей работы проведена оценка свойств созданной нами гибридной матрицы на основе реконструированного коллагена и сетки из полилактогликолида. Показано, что использование сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена позволяет создавать стабильную и функциональную композитную конструкцию; полученная гибридная матрица не проявляет цитотоксических свойств, клетки активно прикрепляются к ее поверхности, а затем пролиферируют; в процессе биодеградации матрица замещается структурно и функционально полноценными новообразованными тканями уротелия, а также слизистой оболочки мочеиспускательного канала. Лишь у одного из 12 кроликов отмечено формирование стриктуры уретры в месте имплантации матрицы. Все вышесказанное позволяет рассматривать созданную нами гибридную матрицу как потенциальный материал для тканеинженерной конструкции с последующим применением при заместительной уретропластике у человека.

Ключевые слова: стриктуры уретры, тканевая инженерия, тканеинженерные конструкции, матрицы, заместительная уретропластика, регенеративная медицина

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истратов Л.П., Истратова Е.В., Абоянц Р.К., Люндун А.В., Крашенинников М.Е., Гуллер А.Е., Бутнару Д.В., Марисов Л.В., Кантимеров Д.Ф., Курков А.В., Сафронова Е.И., Воробьева Е.А., Ирицян М.М. Экспериментальное обоснование создания гибридной матрицы и тканеинженерной конструкции на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена с целью последующей заместительной уретропластики. Урология. 2015;6:5–13.

Введение. Патологические сужения просвета мочеиспускательного канала, или стриктуры, вызванные фиброзными изменениями субэпителиальных структур спонгиозного тела или окружающих тканей [1, 2], приводят к нарушению оттока мочи, вызывая развитие ряда вторичных изменений уrogenитального тракта [3]. Распространенность стриктур уретры зависит от возраста и, по разным оценкам, варьируется от 0,01 до 0,9% мужского населения [1, 4]. Заболеваемость стриктурами уретры в развитых странах может достигать 9 случаев на 1000 лиц мужского пола [4], что обуславливает более 5000 госпитализаций в год [5]. По данным мета-анализа [6], ведущей причиной (33%) развития стриктур передней уретры является ятрогенное повреждение во время медицинских процедур (катетеризация, эндо-

скопические пособия и т.д.). Второй по распространенности (19%) причиной служит повреждение уретры вследствие травмы (ДТП, падение на промежность и т.д.); третьей (15%) — инфекции (например, гонорейный уретрит).

Оптическая уретротомия и бужирование являются малоинвазивными методами лечения. Вместе с тем выполнение данных процедур оправданно только при коротких первичных стриктурах, преимущественно луковичного отдела уретры. Эффективность оптической уретротомии в таких случаях может достигать 66–90% в краткосрочной перспективе, однако в отдаленном периоде отмечается существенное ухудшение результатов вмешательства, что свидетельствует о нерадикальности метода [7–9].

С учетом вышесказанного предпочтение отдается различным видам уретропластик, как анастомотическим, так и заместительным (с использованием трансплантатов или лоскутов). В последнее время наиболее широко используемым материалом для заместительной уретропластики является слизистая оболочка щеки [10, 11], которая обладает рядом преимуществ по сравнению с другими трансплантатами и лоскутами. Буккальная уретропластика применяется при стриктурах любой протяженности, множественных стриктурах, в том числе при рецидивных стриктурах. При относительной простоте хирургической техники данный метод позволяет добиваться надежных и хороших результатов подавляющему большинству пациентов [12–15]. Послеоперационные осложнения могут проявляться в двух областях: в донорской зоне и в месте реконструкции уретры [16]. Гнойные воспаления в области послеоперационной раны промежности, гематомы, нарушение кожной чувствительности регистрируются крайне редко [17–19]. Потенциальными осложнениями в месте забора трансплантата могут быть кровотечение, боль, отек тканей лица, повреждение протока околоушной слюной железы (Stensen), парестезии, а также ограничение подвижности в височно-нижнечелюстном суставе. Отеки лица и ограничения подвижности в височно-нижнечелюстном суставе самостоятельно проходят в течение первых 3 мес и встречаются довольно редко [10, 20–22].

Несмотря на указанные достоинства слизистой оболочки щеки, остается нерешенным ряд вопросов. Во-первых, необходимость получения любого трансплантата в той или иной степени сопряжена с морбидностью в донорской зоне. Даже если эта морбидность низкая или крайне низкая, она всё же присутствует и оказывает отрицательное влияние на состояние пациента. Выраженность данного влияния напрямую зависит от размеров донорской зоны. Во-вторых, протяженные стриктуры уретры требуют забора графтов (трансплантатов) из нескольких донорских участков. Это существенно увеличивает время хирургического вмешательства, а следовательно, и риск интра- и послеоперационных осложнений [23]. В-третьих, при повторных заместительных уретропластиках (в случаях рецидивов стриктуры) забор слизистой оболочки ротовой полости может быть затруднен, что диктует необходимость поиска дополнительного материала для субституции. Аналогичная ситуация возникает во время первого этапа двухэтапных уретропластик, когда требуется эпителизация уретрального ложа. Указанные выше проблемы свидетельствуют об отсутствии в настоящее время идеального материала для заместительной уретропластики, что обосновывает целесообразность его (материала) поиска.

Тканевая инженерия открыла новые перспективы для реконструктивной хирургии, одной из областей применения которой является уретропластика. В регенеративной урологии используются как матрицы без клеток [24–34], так и матрицы (матрикс, скаффолды) с различными видами аутологических клеток [35–38], или тканеинженерные конструкции. Разработка оптимальной тканеинженерной конструкции (матрица+клетки, получаемые неинвазив-

ным путем [39, 40]) позволит свести к нулю морбидность в донорской зоне, решит проблему нехватки материала для заместительной уретропластики (даже при протяженных и/или рецидивных стриктурах уретры), а также сократит длительность операции, что обеспечит снижение риска интра- и послеоперационных осложнений.

Одним из критериев успешной реализации тканеинженерной уретропластики считается наличие матрицы, обладающей оптимальными биомеханическими свойствами. В нашей предыдущей работе мы исследовали свойства тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной артериальной стенки и эпителиоцитов слизистой оболочки щеки. Децеллюляризованная артериальная стенка обладает рядом положительных свойств [41, 42], а именно низкой иммуногенностью, цитотоксичностью и хорошими механическими свойствами. В то же время в ходе исследования был выявлен и ряд недостатков: существенная вариация сроков биодеградации, изменение толщины матрицы в зависимости от возраста и соматического статуса донора, ограниченная способность к клеточной адгезии, затрудненный ангиогенез ввиду высокой плотности матрицы, отсутствие роста нативного уротелия со стороны окружающих тканей, а также способность индуцировать выраженный рубцово-склеротический процесс в зоне имплантации.

Все это послужило стимулом для создания матрицы, лишенной указанных выше недостатков. Усилия были сфокусированы на получении гибридной (компонитной) матрицы, которая позволила бы объединить положительные свойства как натуральных, так и синтетических материалов.

Несущую основу новой гибридной матрицы составляет сетка из полилактогликолида, которая характеризуется постоянством сроков биодеградации, стабильностью и воспроизводимостью механических свойств, низкой иммуногенностью и высокой биосовместимостью [43–45]. При этом относительно большое расстояние между волокнами сетки создает трудности для засеивания сетки клетками. С целью оптимизации условий для роста сосудов и адгезии клеток предложено покрывать матрицу с двух сторон реконструированным коллагеном, который является хорошей матрицей для роста на нем клеток, а также способен усиливать пролиферацию собственных фибробластов и биосинтез ими коллагена [46].

В предыдущем исследовании [47] мы в экспериментах на крысах выявили биосовместимость новой матрицы и особенности ее биорезорбции.

Цель настоящего исследования — получить гибридную матрицу на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена, пригодную для заместительной уретропластики в эксперименте, а также создать тканеинженерную конструкцию на основе данной матрицы.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- разработать технологию получения гибридной матрицы;
- оценить цитотоксичность матрицы, а также адгезию и пролиферацию линейных фибробластов 3T3 и СЗН на матрице;

- оценить биосовместимость и биodeградацию данной матрицы в эксперименте на крысах;
- оценить эффективность реконструкции дефекта уретры с использованием гибридной матрицы в эксперименте на кроликах.

Материалы и методы. *Создание гибридной матрицы на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена*

Мы разработали авторскую методику получения гибридной матрицы, предусматривающую получение коллагена с сохраненной трехспиральной структурой и совмещение его с сеткой из полилактогликолида. Коллаген извлекали из дермы крупного рогатого скота. Кусочки дермы обрабатывали раствором пепсина, тщательно отмывали, измельчали и растворяли в растворе уксусной кислоты. Полученный таким образом раствор коллагена разливали в кюветы. Между двумя слоями коллагена помещали сетку из полилактогликолида (VICRYL® (polyglactin 910) Woven Mesh, Ethicon, «Johnson & Johnson»). Полученный гибридный материал замораживали, высушивали сублимационно до остаточной влажности 30% и прессовали до получения необходимой толщины. Для увеличения механической прочности путем поперечного сшивания молекул коллагена гибридный материал помещали в пары формалина, после чего проветривали и отмывали от остатков формалина до отрицательной реакции на присутствие альдегидов и проводили повторную сублимацию, а затем разрезали на фрагменты размером 1×1 см (для эксперимента на крысах) и 1×2 см (для эксперимента на кроликах), упаковывали в индивидуальные полиэтиленовые пакеты и стерилизовали γ -излучением (доза 2,5 Мрад).

Таким образом, гибридная матрица представляла собой стерильные фрагменты материала на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена дермы крупного рогатого скота.

Оценка цитотоксичности матрицы, адгезии и пролиферации клеток

Оценку цитотоксичности проводили по оптимизированному методу Мосмана и Монкса (МТТ-тест) на 6-е сутки культивирования с применением линий клеток 3Т3 и СЗН и с использованием методов световой микроскопии.

После разморозки культур линейных клеток культивирование проводили в полной питательной (ростовой) среде DMEM/F12 («Invitrogen», США), содержащей 10% телячьей фетальной сыворотки (HyClone Defined, «HyClone», США), инсулин 0,4 мкМ и 0,25 мг/л гентамицина в количестве 2,0–2,5 млн кл/мл в культуральных флаконах 175 см² («Corning», США). Культивирование осуществляли в стандартных условиях в CO₂-инкубаторе с концентрацией CO₂ 5%, атмосферного воздуха 95% и с повышенной влажностью. Замену культуральной среды на свежую осуществляли каждые 72 ч. Образцы матриц нарезали на фрагменты площадью 2 см² и помещали в 12-луночный планшет. Плотность посева составляла для 3Т3 $3 \cdot 10^4$ клеток на 1 см² и для СЗН $7 \cdot 10^4$ клеток на 1 см² (25% от монослоя). Время культивирования клеток на

матрицах составляло 6 сут, после чего проводили реакцию с 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромидом (МТТ) и инкубировали 4 ч. Интенсивно окрашенные кристаллы формазана, образующиеся в результате метаболической активности жизнеспособных клеток, растворяли в диметилсульфоксиде и определяли оптическую плотность одинаковых объемов растворов в 96-луночном планшете с помощью спектрофотометра (Multiscan FC, «Thermo Scientific») при длине волны 540 нм.

Световую микроскопию проводили на микроскопе Nikon TE-2000 при увеличении $\times 40$, $\times 60$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$ с фазовым контрастом для оценки контрольных лунок и визуализации клеток, находившихся по краю матрицы.

Оценку адгезии и пролиферации клеток на гибридной матрице проводили с использованием тех же линейных фибробластов 3Т3 и СЗН и с той же плотностью посева, как при оценке цитотоксичности. Для визуализации клеток применяли двойную окраску акридиновым оранжевым и этидиумом бромидом.

Стоковый раствор красителей готовили следующим образом: 1,5 мг акридинового оранжевого и 5 мг этидиума бромида растворяли в 0,1 мл 95%-ного этанола, затем добавляли 5 мл дистиллированной воды. Рабочий раствор красителей готовили из стокового путем растворения в 100-кратном объеме PBS. Для окрашивания образцы, предварительно отмытые от среды для культивирования, заливали рабочим раствором красителей на 5 мин. В результате происходило окрашивание живых клеток акридиновым оранжевым, а мертвых — этидиумом бромидом.

Локализацию флуоресценции образцов матрикса фиксировали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM-710 («Carl Zeiss Microscopy», Германия). Окрашенные образцы из чашек для культивирования *in vitro* переносили на стерильные чашки Петри с тонким стеклянным дном толщиной 0,16 мм в растворе PBS. Для получения изображений использовали объектив EC Plan-Neofluar 10 $\times$ /0.3/M27. Возбуждение флуоресцентного акридинового оранжевого производили лазером с длиной волны 488 нм, регистрировали флуоресценцию в диапазоне 495–545 нм. Возбуждение флуоресцентного этидиума бромида производили лазером с длиной волны 561 нм, регистрировали флуоресценцию в диапазоне 580–690 нм. В результате получали наложение флуоресцентных изображений локализаций акридинового оранжевого (зеленый цвет), этидиума бромида (красный цвет) и изображения, полученного в режиме проходящего света.

Протезирование уретры

Эксперимент проводили на 12 самцах кроликов 2-летнего возраста, средняя масса которых составила 3,5 кг. Перед операцией выполняли ретроградную уретрографию. Оперативное вмешательство осуществляли под общим наркозом по методике, описанной ранее [41]. Проводили полную мобилизацию луковичной и проксимальной части пенильной уретры кролика на протяжении 2,2–2,5 см (рис. 1,

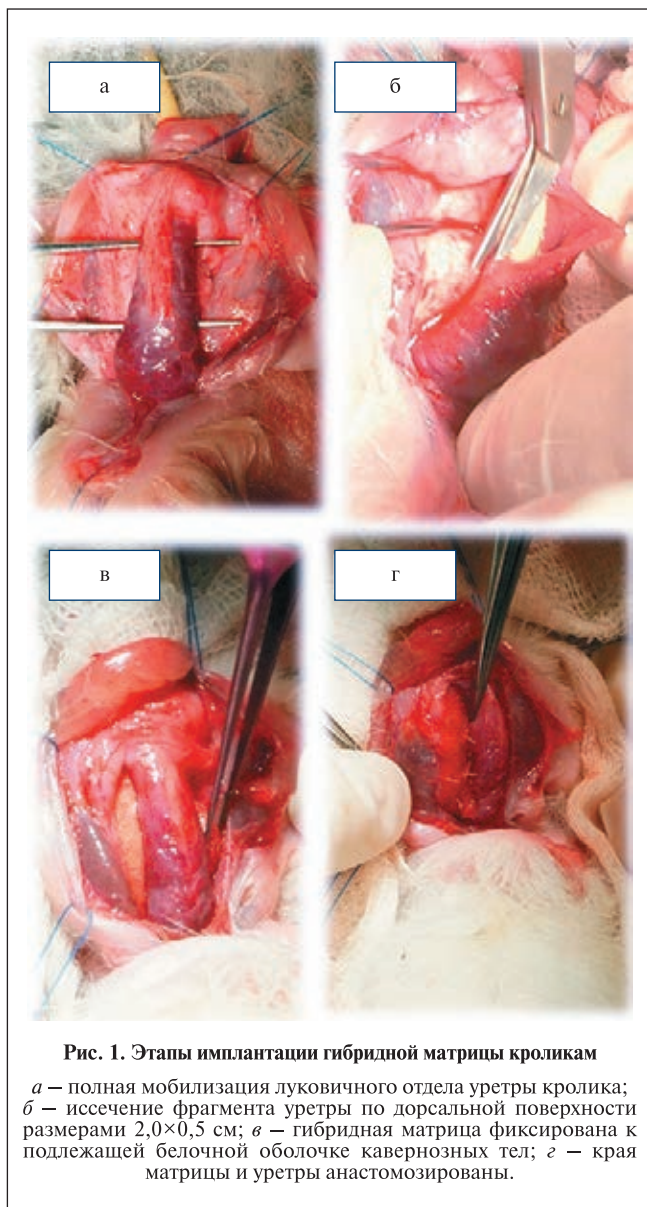


Рис. 1. Этапы имплантации гибридной матрицы кроликам

a — полная мобилизация луковичного отдела уретры кролика; *б* — иссечение фрагмента уретры по дорсальной поверхности размерами 2,0×0,5 см; *в* — гибридная матрица фиксирована к подлежащей белочной оболочке кавернозных тел; *г* — края матрицы и уретры анастомозированы.

a). Полностью иссекали фрагмент уретры по ее дорсальной поверхности размером 2,0×0,5 см (рис. 1, б). Матрицу фиксировали к вентральной поверхности белочной оболочки пещеристых тел одиночными узловыми швами викрил 5–0 по краям и в центре (рис. 1, в). Сформированный дефект уретры замещали образцом гибридной матрицы, размеры которой после адаптации под уретральное ложе составляли 2,0×0,5 см. Края матрицы сшивали с краями уретры в зоне дефекта непрерывным швом, используя викрил 5–0 (рис. 1, г).

Дренирование мочевого пузыря осуществляли силиконовым уретральным катетером Фолея № 6Ch в течение 5–7 дней после операции. Во избежание самостоятельного удаления катетера в послеоперационном периоде кроликам надевали специальный ветеринарный воротник и послеоперационную попону. За 30 мин до операции, а также на весь период дренирования мочевого пузыря уретральным катетером назначали энрофлоксацин по 5 мг/кг 1 раз в день. Животных выводили из эксперимента на 7-е, 30, 60, 90-е сутки после операции (по 3 кролика на каждую временную точку) путем передозировки средств для наркоза. В

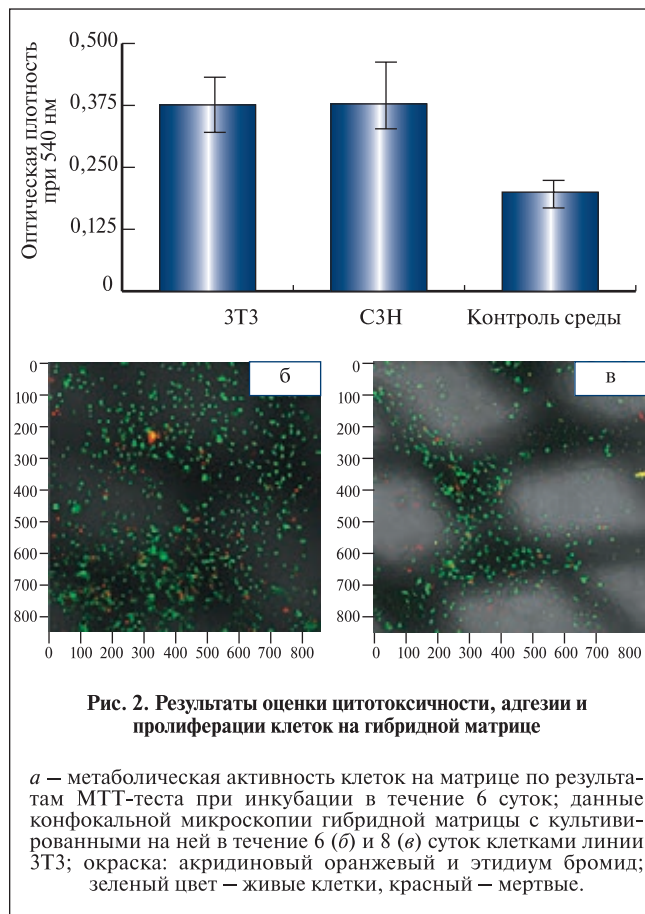


Рис. 2. Результаты оценки цитотоксичности, адгезии и пролиферации клеток на гибридной матрице

a — метаболическая активность клеток на матрице по результатам МТТ-теста при инкубации в течение 6 суток; данные конфокальной микроскопии гибридной матрицы с культивируемыми на ней в течение 6 (*б*) и 8 (*в*) суток клетками линии 3ТЗ; окраска: акридиновый оранжевый и этидий бромид; зеленый цвет — живые клетки, красный — мертвые.

день выведения животных из эксперимента выполняли ретроградную уретрографию.

Морфологическое исследование

Для морфологического исследования образцы тканей фиксировали не менее 48 ч в 10%-ном растворе нейтрального забуференного формалина («Biovitrum», Россия), проводили через серию спиртов восходящей концентрации, заливали в парафин. Микротомные срезы толщиной 5–6 мкм тщательно депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону (для выявления коллагена), фукселином по Унна (для выявления эластических волокон), толуидиновым синим (для выявления кислых гликозаминогликанов). Кроме того, для одновременного выявления различных тканевых компонентов использовали многоцветное окрашивание по Маллори.

Изучение гистологических препаратов выполняли с помощью прямого светового микроскопа исследовательского класса Olympus BX51 («Olympus», Япония), оснащенного цветной цифровой камерой SDU-252 («Спецтелетехника», Россия) при оптическом увеличении от ×40 до ×1000.

Результаты.

Оценка цитотоксичности, адгезии и пролиферации клеток

МТТ-тестирование показало отсутствие токсичности исследуемых образцов матрицы при использовании культур линейных фибробластов 3ТЗ и СЗН (рис. 2, а).

Адгезия и пролиферация клеток отмечены на всех исследуемых образцах матрицы, при этом значительно преобладали клетки с высокой жизнеспособностью (рис. 2, б, в).

Таким образом, клетки линий 3ТЗ и СЗН адгезируются и пролиферируют на исследуемой гибридной матрице, что позволяет рассматривать такие материалы в качестве эффективных носителей клеток и предполагает их возможное использование в качестве каркаса для тканеинженерной конструкции.

Оценка эффективности реконструкции дефекта уретры

Ретроградную уретроцистографию по описанной выше методике выполняли после удаления уретрального катетера на 10-е, 30, 60 и 90-е сутки после операции. Полученные уретрограммы сравнивали с предоперационными. На уретрограммах через 7, 30 и 60 сут после операции зона имплантации матрицы не определялась, затеков контрастного вещества не обнаружено (что свидетельствует о хорошем функциональном результате), просвет уретры полностью сохранен. Лишь у одного кролика из 12 на 90-е сутки выявлена стриктура уретры, по данным как уретроцистографии, так и аутопсии (рис. 3, 4).

Самостоятельное мочеиспускание восстановилось у всех животных после удаления катетера и сохранялось до конца наблюдения. Облитерации уретры, образования мочевого свища не наблюдалось.

Морфологическое исследование

Макроскопически матрица выглядит довольно плотной, хорошо держит форму, оставаясь при этом достаточно гибкой, не теряет форму при длительном нахождении в воде.

При гистологическом изучении на 7-е сутки стенка интактной уретры (вне протеза) имела обычную структуру, состояла из переходного эпителия (уретелия), собственной пластинки слизистой оболочки, подслизистой основы, относительно толстого слоя плотной соединительной ткани, мышечного слоя и кавернозного тела (рис. 5).

В области протезирования на стороне, обращенной к просвету уретры, обнаруживались нити сетки из полилактогликолида, причем каждая нить состояла из тонких филаментов (см. рис. 5, а). Внутри сетки из полилактогликолида видны отложения фибрина, скопления нейтрофилов, большей частью разрушен-

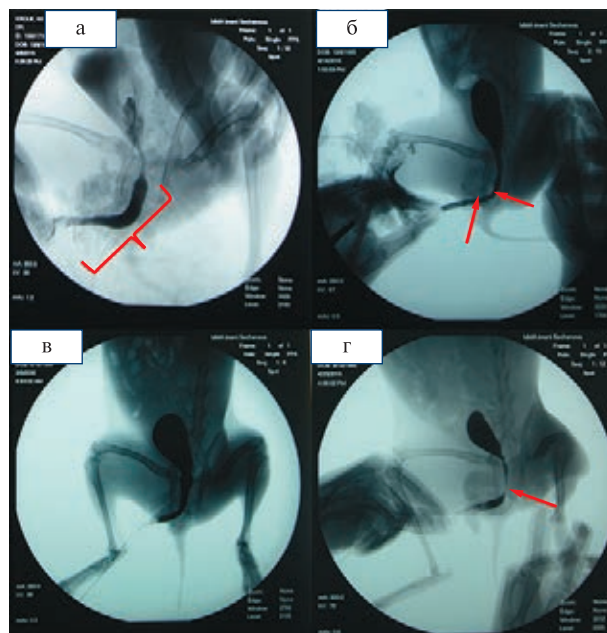


Рис. 3. Ретроградные уретрограммы кроликов

а — до операции (уретра выделена фигурной стрелкой); б — через 7 дней после операции (зона имплантации указана стрелками); в — через 30 дней после операции; г — через 90 дней после операции (зона стриктуры указана стрелкой).

ных, и макрофагов. Среди фибрина местами видны остатки коллагеновой губки в виде фуксинофильных (при окраске пикрофуксином по Ван-Гизону) волокнистых структур. К тому сроку губка (реконструированный коллаген) была почти полностью резорбирована, кроме отдельных элементов на внутренней стороне протеза.

Следует отметить, что нити полилактогликолида также были инфильтрированы фибрином и нейтрофилами с проникновением их между филаментами. Среди этого инфильтрата в нитях обнаруживались макрофаги и единичные гигантские клетки инородных тел (см. рис. 5, б). Резорбции филаментов на этом сроке не определялось. Местами отмечено образование грануляционной ткани снаружи от слоя фибрина. Эта грануляционная ткань состояла из многочисленных кровеносных сосудов капиллярно-

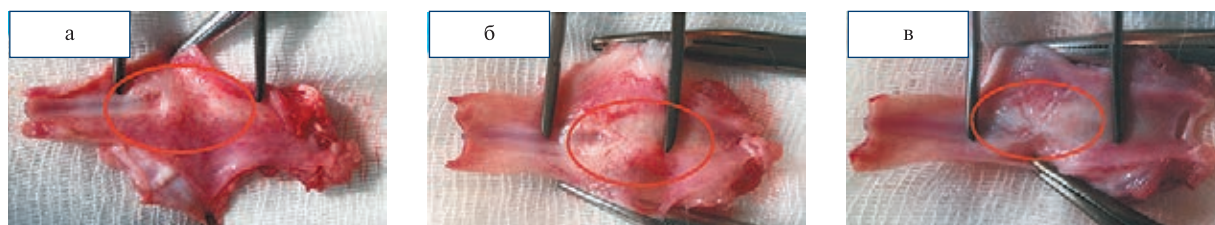


Рис. 4. Макропрепараты уретры кроликов после имплантации гибридной матрицы

а — 60-е сутки после имплантации (зона имплантации отмечена красным овалом): признаков стриктуры нет; б — 90-е сутки после имплантации (зона имплантации отмечена красным овалом): признаков стриктуры нет; в — 90-е сутки после имплантации: в зоне имплантации визуализируется стриктура уретры (отмечена красным овалом).

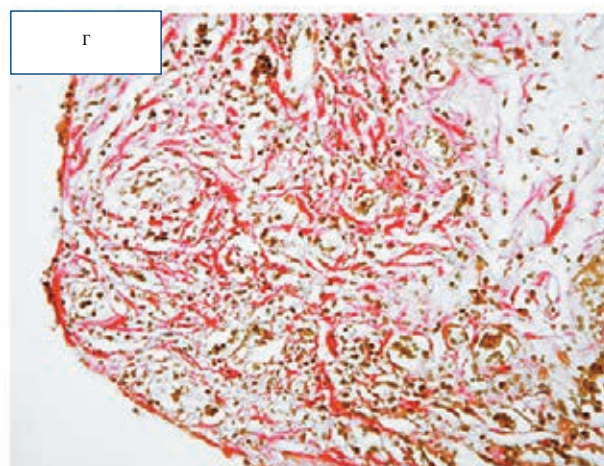
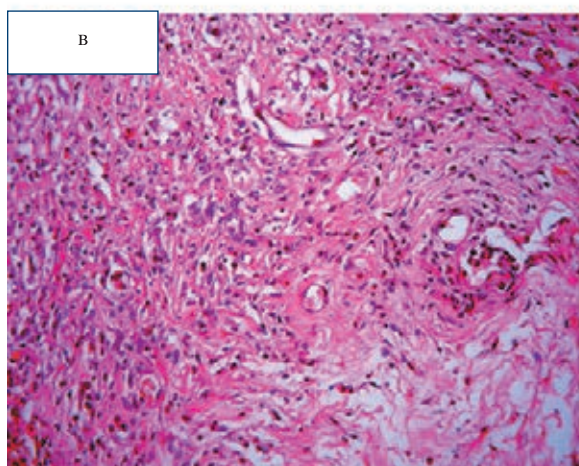
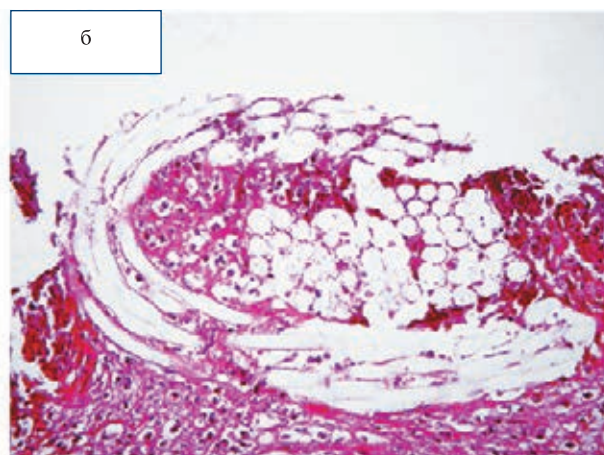
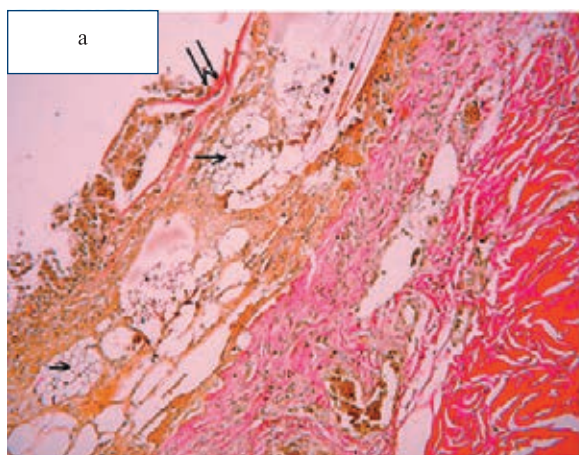


Рис. 5. 7-е сутки после имплантации гибридной матрицы кроликам

а — стенка имплантата, состоящая из сетки из полилактидогликолида (стрелки), кнутри от которой видны отложения фибрина и остатки коллагеновой губки (двойная стрелка); окраска пикрофуксином по Ван-Гизону, $\times 200$; *б* — между филаментами викриловой нити проникают фибрин и нейтрофильные лейкоциты, а также немногочисленные макрофаги; видны также гигантские клетки инородных тел; окраска пикрофуксином по Ван-Гизону, $\times 400$; *в* — грануляционная ткань кнаружи от имплантата; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; *г* — новообразованные коллагеновые волокна; окраска пикрофуксином по Ван-Гизону, $\times 400$.

го типа, тяжей фибробластов (см. рис. 5, в) и фуксинофильных по Ван-Гизону коллагеновых волокон (см. рис. 5, г).

На **30-е сутки** имплантированный материал не обнаружен. Большая часть внутренней поверхности (за исключением середины) бывшего протеза к этому сроку была выстлана переходным недифференцированным уротелием. Этот эпителий располагался на рыхлой соединительной ткани, богатой сосудами, с очагами инфильтрации лимфоцитами и макрофагами. Новообразованная соединительная ткань была близкой к структуре собственной пластинки слизистой оболочки в интактной уретре (рис. 6, а). У одного животного эпителий был более зрелым, а подлежащая соединительная ткань также имела зрелый характер: больше коллагеновых волокон, окрашивающихся в красный цвет по Ван-Гизону и в синий цвет по Маллори (рис. 6, б).

На **60-е сутки** степень дифференцировки эпителия, выстилающего новообразованную внутреннюю поверхность стенки уретры, сформировавшейся на месте имплантированной матрицы, была более

выраженной по сравнению с 30-ми сутки: он имел типичную для уротелия многорядную структуру, но базальная мембрана местами была еще недостаточно дифференцирована. Подлежащая соединительная ткань близка по структуре к интактной собственной пластинке слизистой оболочки уретры (рис. 6, в).

На **90-е сутки** уротелий приобретал структуру, не отличимую от нативной: с полностью восстановленной базальной мембраной; регенерировавшая слизистая оболочка формировала четко видимые сосочки (рис. 6, г). Новообразованная слизистая практически не отличалась от слизистой оболочки интактной уретры, причем она была прочно соединена с мышечной оболочкой и кавернозным телом.

Закключение. Основной целью данного исследования было создание гибридной матрицы, которую можно было бы эффективно использовать при заместительной уретропластике в эксперименте. Результаты исследования показывают, что цель достигнута. Использование сетки из полилактидогликолида и реконструированного коллагена позволяет

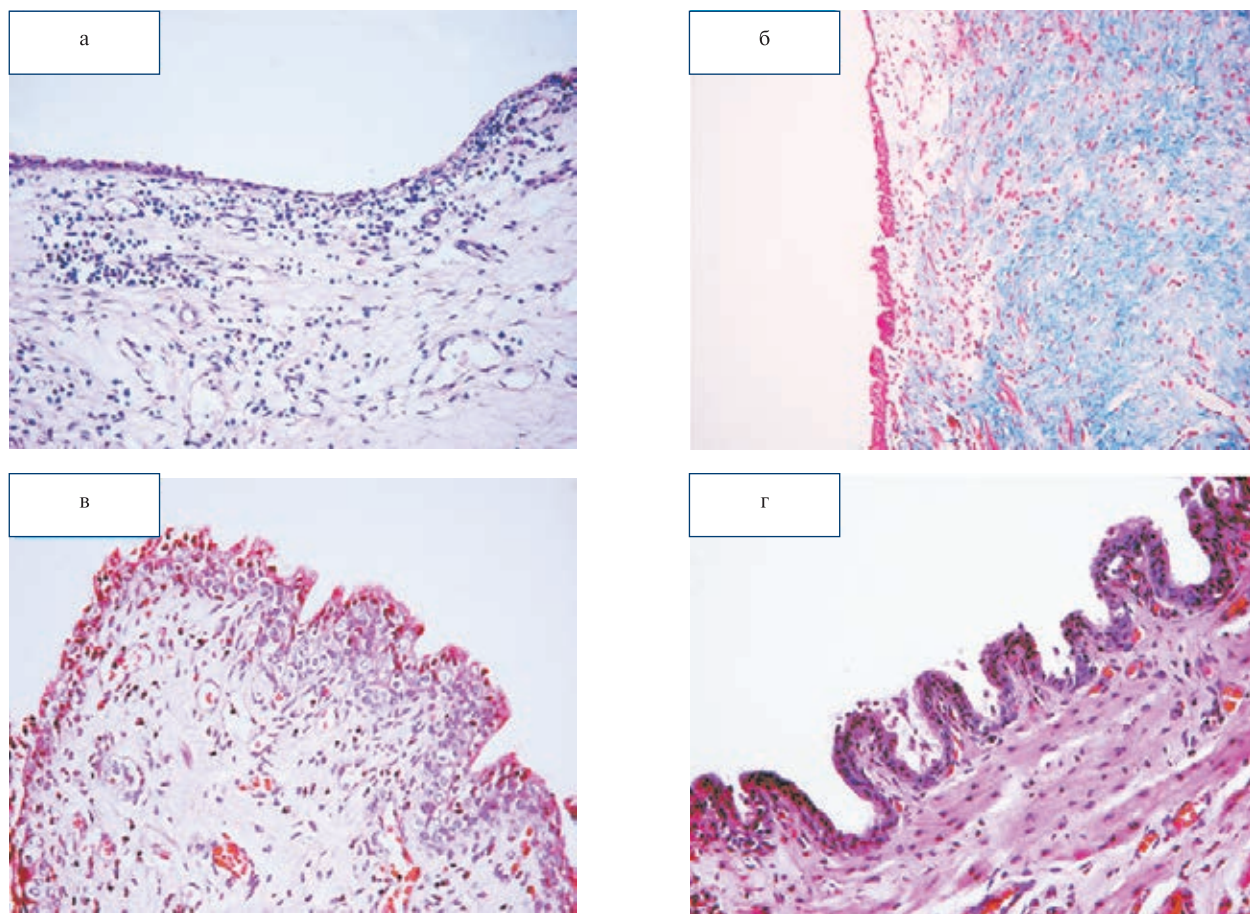


Рис. 6. Динамика гистологической картины области имплантации гибридной матрицы кроликам

а — 30-е сутки после операции: рыхлая соединительная ткань, выстланная недифференцированным уротелием; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; *б* — 30-е сутки после операции: уротелий регенерирует на зрелой соединительной ткани; окраска по Маллори, $\times 200$; *в* — 60-е сутки после операции: дифференцированный уротелий, расположенный на зрелой соединительной ткани; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; *г* — 90-е сутки после операции: полная регенерация уротелия, образование сосочков регенировавшей слизистой оболочки; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

создавать стабильную и функциональную композитную конструкцию. Полученная гибридная матрица не проявляет цитотоксических свойств, клетки на ее поверхности активно прикрепляются, а затем пролиферируют. В процессе биодеградации матрица замещается структурно и функционально полноценными новообразованными тканями уротелия и слизистой оболочки мочеиспускательного канала. В эксперименте было использовано 12 кроликов, и лишь у одного из них отмечено формирование стриктуры уретры в месте имплантации матрицы.

Все вышесказанное позволяет рассматривать созданную гибридную матрицу как потенциальный материал для тканеинженерной конструкции с последующим применением при заместительной уретропластике у человека.

Таким образом:

1. Разработан метод получения гибридной тканеинженерной матрицы на основе сетки из полилактогликолида и реконструированного коллагена, обладающей достаточной механической прочностью, стабильностью в биологических жидкостях, не вызывающей цитотоксических реакций и поддерживающей адгезию и пролиферацию клеток;

2. Указанные выше свойства позволяют рассматривать гибридную матрицу в качестве эффективного носителя клеток с последующим возможным применением в качестве каркаса для создания тканеинженерных конструкций;

3. Заместительная уретропластика с использованием гибридной матрицы обеспечивает структурную и функциональную регенерацию уротелия и слизистой оболочки уретры, а также интеграцию регенировавшей ткани с окружающими анатомическими элементами, кавернозным телом и мышечной оболочкой. В процессе заместительной регенерации гибридная матрица активно прорастает кровеносными сосудами и обеспечивает поддержку формирования компонентов стенки уретры;

4. Биодеградация гибридной матрицы наступает в срок до 30 дней;

5. Развитие стриктуры уретры в области проведенного вмешательства отмечено только у 1 (8%) из 12 кроликов через 90 дней после операции.

Благодарность

Исследования выполнены при поддержке грантов РФФИ № 13-02-01363 (оценка цитотоксичности

матрицы), РФФИ № 13-04-12075 (оценка адгезии и пролиферации линейных фибробластов 3Т3 и СЗН на матрице) и РНФ № 15-15-00132 (способ формирования гибридной матрицы, оценка ее биосовместимости in vivo в экспериментах с малыми лабораторными животными).

ЛИТЕРАТУРА

- Mundy A.R., Andrich D.E. Urethral strictures. *BJU Int.* 2011;107(1):6–26.
- Козан М.И. Стриктуры уретры у мужчин. Реконструктивно-восстановительная хирургия. М.: Практическая медицина. 2010. 144 с.
- Iyaz S.L., Bugeja S., Andrich D.E. Urethral stricture disease in men. *Trends in Urology & Men's Health.* 2015;6(4):21–24.
- Anger J.T. Trends in stricture management among male Medicare beneficiaries: underuse of urethroplasty? *Urology.* 2011;77(2):481–485.
- Santucci R.A., Joyce G.F., Wise M. Male urethral stricture disease. *J Urol.* 2007;177(5):1667–1674.
- Pansadoro V., Emiliozzi P. Iatrogenic prostatic urethral strictures: classification and endoscopic treatment. *Urology.* 1999;53(4):784–789.
- Brandes S.B. Urethral Reconstructive Surgery. *Current Clinical Urology*, ed. E.A. Klein. 2008: Humana Press. 379.
- Stormont T.J., Suman V.J., Oesterling J.E. Newly diagnosed bulbar urethral strictures: etiology and outcome of various treatments. *J Urol.* 1993;150(5 Pt 2):1725–1728.
- Gurdal M., Tekin A., Yücebas E., Kirecci S., Sengör F. Contact neodymium: YAG laser ablation of recurrent urethral strictures using a side-firing fiber. *J Endourol.* 2003;17(9):791–794.
- Bhargava S., Chapple C.R. Buccal mucosal urethroplasty: is it the new gold standard? *BJU Int.* 2004;93(9):1191–1193.
- Chapple C., Andrich D., Atala A., Barbagli G., Cavalcanti A., Kulkarni S., Manger A., Nakajima Y. SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: The management of anterior urethral stricture disease using substitution urethroplasty. *Urology.* 2014;83(3 Suppl.):S31–47.
- Peterson A.C., Webster G.D. Management of urethral stricture disease: developing options for surgical intervention. *BJU Int.* 2004;94(7):971–976.
- Barbagli G., Lazzeri M. Surgical treatment of anterior urethral stricture diseases: brief overview. *Int Braz J Urol.* 2007;33(4):461–469.
- Wessells H., McAninch J.W. Current controversies in anterior urethral stricture repair: free-graft versus pedicled skin-flap reconstruction. *World J Urol.* 1998;16(3):175–180.
- Osman N.I., Hillary C., Bullock A.J., MacNeil S., Chapple C.R. Tissue engineered buccal mucosa for urethroplasty: progress and future directions. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;82–83:69–76.
- Andrich D.E., Mundy A.R. Substitution urethroplasty with buccal mucosal-free grafts. *J Urol.* 2001;165(4):1131–1133.
- Zimmerman W.B., Santucci R.A. Buccal mucosa urethroplasty for adult urethral strictures. *Indian J Urol.* 2011;27(3):364–370.
- Manger A., Patterson J.M., Chapple C.R. A systematic review of graft augmentation urethroplasty techniques for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2011;59(5):797–814.
- Barbagli G., Vallasciani S., Romano G., Fabbri F., Guazzoni G., Lazzeri M. Morbidity of oral mucosa graft harvesting from a single cheek. *Eur Urol.* 2010;58(1):33–41.
- Kane C.J., Tarman G.J., Summerton D.J., Buchmann C.E., Ward J.F., O'Reilly K.J., Ruiz H., Thrasher J.B., Zorn B., Smith C., Morey A.F. Multi-institutional experience with buccal mucosa onlay urethroplasty for bulbar urethral reconstruction. *J Urol.* 2002;167(3):1314–1317.
- 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;84(5):480–482.
- Eppley B.L., Keating M., Rink R. A buccal mucosal harvesting technique for urethral reconstruction. *J Urol.* 1997;157(4):1268–70.
- Kim B.D., Ver Halen J.P., Grant D.W., Kim J.Y. Anesthesia duration as an independent risk factor for postoperative complications in free flap surgery: a review of 1,305 surgical cases. *J Reconstr Microsurg.* 2014;30(4):217–226.
- el-Kassaby A., AbouShwareb T., Atala A. Randomized comparative study between buccal mucosal and acellular bladder matrix grafts in complex anterior urethral strictures. *J Urol.* 2008;179(4):1432–1436.
- Fiala R., Vidlar A., Vrtal R., Belej K., Student V. Porcine small intestinal submucosa graft for repair of anterior urethral strictures. *Eur Urol.* 2007;51(6):1702–08.
- Fiala R., Vidlar A., Vrtal R., Belej K., Student V. Long-term results of small intestinal submucosa graft in bulbar urethral reconstruction. *Urology.* 2012;79(3):695–701.
- Atala A., Guzman L., Retik A.B. A novel inert collagen matrix for hypospadias repair. *J Urol.* 1999;162(3 Pt 2):1148–1151.
- Mantovani F., Trinchieri A., Castelnovo C., Romanò A.L., Pisani E. Reconstructive urethroplasty using porcine acellular matrix. *Eur Urol.* 2003;44(5):600–602.
- 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;169(1):170–173.
- le Roux P.J. Endoscopic urethroplasty with unseeded small intestinal submucosa collagen matrix grafts: a pilot study. *J Urol.* 2005;173(1):140–143.
- Palminieri E., Berdondini E., Colombo F., Austoni E. Small intestinal submucosa (SIS) graft urethroplasty: short-term results. *Eur Urol.* 2007;51(6):1695–1701.
- Farahat Y.A., Elbahnasy A.M., El-Gamal O.M., Ramadan A.R., El-Abd S.A., Taha M.R. Endoscopic urethroplasty using small intestinal submucosal patch in cases of recurrent urethral stricture: a preliminary study. *J Endourol.* 2009;23(12):2001–2005.
- Mantovani F., Tondelli E., Cozzi G., Abed E., Rahman D., Spinelli M.G., Oliva I., Finkelberg E., Talso M., Varisco D., Maggioni A., Rocco F. Reconstructive urethroplasty using porcine acellular matrix (SIS): evolution of the grafting technique and results of 10-year experience. *Urologia.* 2011;78(2):92–97.
- Лоран О.Б., Серегин А.В., Синякова Л.А., Деметьева А.В., Твердохлебов Н.Е. Хирургическая коррекция мочевого свища у женщин с использованием биоматериала «Коллоид». Материалы 2-го регионального научного форума «Мать и дитя». Сочи, 28–30 апреля 2008. С. 171.
- Fossum M., Skikuniene J., Orrego A., Nordenskjöld A. Prepubertal follow-up after hypospadias repair with autologous in vitro cultured urothelial cells. *Acta Paediatr.* 2012;101(7):755–760.
- Engel O. et al. 15 Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty. outcome of our first 10 patients. *Urology.* 2012;187(4):e6.
- Bhargava S., Patterson J.M., Inman R.D., MacNeil S., Chapple C.R. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes. *Eur Urol.* 2008;53(6):1263–1269.
- Роговая О.С., Васильев А.В., Файзулин А.К., Демин Н.В. Применение клеточных технологий для реконструкции уретры в детской урологии. Андрология и генитальная хирургия. 2009;4:36–39.
- Zhang Y., McNeill E., Tian H., Soker S., Andersson K.E., Yoo J.J., Atala A. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction. *J Urol.* 2008;180(5):2226–2233.
- Bharadwaj S., Liu G., Shi Y., Markert C., Andersson K.E., Atala A., Zhang Y. Characterization of urine-derived mesenchymal cells obtained from upper urinary tract for use in cell-based urological tissue engineering. *Tissue Eng Part A.* 2011;17(15–16):2123–2132.
- Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Николенко В.Н., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истратов Л.П., Истратова Е.В., Абоянц Р.К., Лондун А.В., Данилевский М.И., Гуллер А.Е., Елистратов П.А., Бутнару Д.В., Кантимиров Д.Ф., Машин Г.А., Титов А.С., Проскура А.В., Кудричевская К.В. Экспериментальное обоснование создания матрицы на основе децеллюляризированной сосудистой стенки с целью последующей заместительной уретропластики. *Урология.* 2014;6:41–46.
- Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Николенко В.Н., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истратов Л.П., Истратова Е.В., Абоянц Р.К., Лондун А.В., Данилевский М.И., Гуллер А.Е., Елистратов П.А., Бутнару Д.В., Кантимиров Д.Ф., Машин Г.А., Титов А.С., Проскура А.В., Кудричевская К.В. Заместительная уретропластика с использованием тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной сосудистой матрицы и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки: первый опыт. *Урология.* 2015;3:4–10.
- Conn J. Jr, Oyasu R., Welsh M., Beal J.M. Vicryl (polyglactin 910) synthetic absorbable sutures. *Am J Surg.* 1974;128(1):19–23.
- Craig P.H., Williams J.A., Davis K.W., Magoun A.D., Levy A.J., Bogdansky S., Jones J.P. Jr. A biologic comparison of polyglactin 910 and polyglycolic acid synthetic absorbable sutures. *Surg. Gynecol Obstet.* 1975;141(1):1–10.
- Salthouse T., Matlaga B. Polyglactin 910 suture absorption and the role of cellular enzymes. *Surg Gynecol Obstet.* 1976;142(4):544–550.
- Хилькин А.М., Шехтер А.Б., Истратов Л.П. Коллаген и его применение в медицине. М.: Медицина. 1976. 227 с.
- Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Истратов Л.П., Истратова Е.В., Бутнару Д.В., Винаров А.З., Захаркина О.Л., Курков А.В., Кантимиров Д.Ф., Антонов Е.Н., Глыбочко П.В. Морфология коллагеновых матриц для тканевой инженерии в урологии (биосовместимость, биодеградация, тканевая реакция). *Архив патологии.* 2015. В печати.

Поступила 12.10.15

ВОССТАНОВЛЕНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ПУТЕМ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК СЕРТОЛИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ДВУСТОРОННЕГО АБДОМИНАЛЬНОГО КРИПТОРХИЗМА

¹ ФГБУН «Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова» РАН; ² ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России; ³ отделение репродуктивного здоровья «Научный центр здоровья детей»; ⁴ медицинский факультет Российского университета дружбы народов

Автор для связи: Э. К. Жамынчиев; e-mail: Zhamynchiev@gmail.com

Изучено влияние аллогенной трансплантации недифференцированных клеток Сертоли на тестикулярную ткань экспериментальных животных на модели двустороннего абдоминального крипторхизма. Эффективность трансплантации недифференцированных клеток Сертоли оценивали через 1 и 3 мес. после инъекции. Установлено, что после трансплантации происходит частичное восстановление семенных канальцев, в трети из них встречаются половые клетки на всех стадиях дифференциации, что не определялось в группах контроля.

Ключевые слова: крипторхизм, трансплантация, недифференцированные клетки Сертоли, детская уроандрология

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Кулибин А.Ю., Малолина Е.А., Яцык С.П., Жамынчиев Э.К., Кузин Г.В. Восстановление сперматогенеза путем аллогенной трансплантации недифференцированных клеток Сертоли в экспериментальной модели двустороннего абдоминального крипторхизма. Урология. 2015;6:74–80

Введение. За последнее время, по данным ВОЗ, частота бесплодия в браке не только не уменьшается, но продолжает расти. Установлено, что доля мужской infertility за последние 20 лет увеличилась с 8–10 до 30–40% всех случаев бесплодия [1]. Одна из причин мужского бесплодия — крипторхизм — аномалия, связанная с неопущением одного или двух яичек в мошонку. Это распространенное нарушение развития репродуктивной системы, встречающееся у 30% недоношенных и 4% доношенных новорожденных [2]. В связи с этим в течение многих лет крипторхизм и его осложнения находятся в центре внимания исследователей и врачей [3].

Традиционные методы лечения крипторхизма недостаточно эффективны. Так, гормональная терапия (с использованием хорионического гонадотропина) — метод лечения, который широко применяется уже более 30 лет, но эффективность его оценивается неоднозначно [4] и по сравнению с группой плацебо не превышает 10% [5]. Другой метод — операция орхипексии (опущение яичка в мошонку) — часто не обеспечивает ожидаемого восстановления сперматогенеза, особенно при двусторонних формах крипторхизма, и проводится больше в профилактических целях.

В настоящее время появляются новые подходы к восстановлению сперматогенеза, пока находящиеся на стадии разработки на лабораторных животных. Один из таких подходов — искусственный гаметогенез — дифференцировка мужских половых клеток из эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток *in vitro*. В ряде работ ЭСК в культуре под действием специфических индукторов удавалось дифференцировать в гаплоидные мужские половые клетки, которые затем использовали для искусственного

оплодотворения [6, 7]. Однако существующие методы искусственного гаметогенеза характеризуются низкой эффективностью: только 0,01% всех клеток достигает гаплоидного состояния. К существенным недостаткам описанного подхода относятся нарушения дифференцировки половых клеток [8, 9], которые происходят из-за отсутствия *in vitro* естественного микроокружения.

Другой подход к восстановлению мужской фертильности предполагает использование сперматогонимальных стволовых клеток (ССК). Разработаны методики выделения, культивирования ССК [10–12] и их трансплантации в семенники животных с нарушенным сперматогенезом [13, 14]. В случае повреждения только половых клеток трансплантации ССК способны восстановить сперматогенез [15]. Однако в случае с крипторхизмом нарушение в значительной степени затрагивает не ССК, а их микроокружение — клетки Сертоли (КС) [16–18]. Клетки Сертоли — соматические клетки семенника, поддерживающие развитие половых клеток; являются основой структуры семенных канальцев, источником многих факторов роста и дифференцировки для половых клеток, выполняют трофическую функцию и многие другие. Без этих клеток развитие половых клеток невозможно.

В литературе отсутствуют данные о восстановлении сперматогенеза после крипторхизма у животных путем аллогенной клеточной трансплантации. Тем не менее на другой модели — локального облучения семенников крыс (так же как и крипторхизм, необратимо нарушающий функцию КС [19]) путем аллогенной трансплантации в интерстициальную ткань семенника недифференцированных КС [НКК]) 12–13-суточных крысам удалось достичь частичного восстановления

сперматогенеза в семенных канальцах реципиента [20].

Цель настоящей работы: исследовать влияние аллогенной трансплантации НКС на восстановление сперматогенеза после моделирования двустороннего абдоминального крипторхизма.

Материалы и методы. В работе были использованы 50 крысят линии Вистар: 30 животным в возрасте 15 дней (возраст выбирали, основываясь на результатах наших предыдущих исследований [3]) проводили операцию по фиксации семенников в брюшной полости (реципиенты), 20 крысят в возрасте 10 дней использовали как доноров НКС для трансплантации. Крыс содержали в стандартных условиях вивария с режимом день/ночь 12 ч/12 ч, воду и корм животные получали *ad libitum*.

Животные были разделены на 6 групп по 4–5 крыс в каждой.

Контрольная группа (К) – контроль состояния сперматогенной ткани после крипторхизма, крыс выводили из эксперимента на момент низведения семенников из брюшной полости в мошонку через 90 сут. после моделирования крипторхизма.

Контрольная группа (КО-1) – животным после смоделированного 90-суточного двустороннего абдоминального крипторхизма проводили орхипексию и выводили из эксперимента через 1 мес. после операции.

Контрольные группы (КВ-1 и КВ-3) – животным после смоделированного 90-суточного двустороннего абдоминального крипторхизма проводили орхипексию и вводили в интерстициальную ткань семенника среду без клеток, крыс выводили из эксперимента через 1 и 3 мес. после операции соответственно.

Опытные группы (О-1 и О-3) – животным после смоделированного 90-суточного двустороннего абдоминального крипторхизма во время орхипексии вводили суспензию клеток, содержащую НКС. Крыс выводили из эксперимента через 1 и 3 мес. после операции соответственно.

Моделирование двустороннего абдоминального крипторхизма. Ввиду отсутствия на сегодняшний день животных моделей врожденного крипторхизма в настоящей работе крипторхизм моделировали путем искусственного помещения семенника из мошонки внутрь тела с последующей фиксацией его там. Методика подробно описана нами ранее [3]. После наркотизации животного выполняли нижнесрединную лапаротомию. Семенник выводили в операционную рану, фиксировали его к париетальной брюшине передней брюшной стенки за край капсулы нитями Prolene 5/0 («Johnson & Johnson», США) с помощью атравматической иглы. После выполнения аналогичной фиксации семенника с другой стороны операционную рану передней брюшной стенки послойно зашивали наглухо.

Получение суспензии клеток для трансплантаций. Суспензию НКС получали из семенников 10-суточных крысят (линия Вистар). Животных декапировали, выделяли семенники, помещали в раствор Хэнкса (без Ca^{2+} и Mg^{2+}), снимали белочную оболочку и разрыхляли ткань семенника. Затем семенники переносили в 14-миллилитровые центрифужные пробирки со стерильным раствором Хэнкса и

добавляли 20 мкл/мл (1:50) пенициллин/стрептомицина (Пан-Эко), инкубировали с антибиотиками 5 мин. За это время семенники опускались на дно. Надосадочную жидкость отбирали и заменяли на раствор коллагеназы IV 1 мг/1,5 мл с ДНКазой I 0,04%. Инкубировали в растворе 15 мин при 34°C. После инкубации с коллагеназой освобожденные от интерстициальной ткани семенные канальцы промывали 3 раза раствором Хэнкса. Затем добавляли к канальцам 5 мл раствора трипсина (0,25%)+1 мМ ЭДТА («Invitrogen», США), инкубировали 15 мин при 34°C. После инкубации для остановки действия трипсина в раствор добавляли 5% ФСК (фетальная сыворотка плодов коровы, HyClone), затем промывали канальцы 3 раза раствором Хэнкса, разбивали канальцы на отдельные клетки пипетированием. Суспензию клеток пропускали через фильтры размером пор ~200–300 мкм, а затем 40 мкм, промывая раствором Хэнкса. Клетки осаждали центрифугированием при 300 g 10 мин. Отбирали надосадочную жидкость, наливали 2,9 мл Хэнкса, ресуспендировали осадок и добавляли гипотонический раствор (0,7 мл Хэнкса и 6,4 мл деионизированной стерильной воды), центрифугировали при 300 g 5 мин. В результате гипотонической обработки суспензии клеток разрушались почти все половые клетки и эритроциты. Надосадочную жидкость убирали и ресуспендировали осадок в среде (DMEM:F12 1:1), подсчитывали число клеток в камере Горяева. Затем для обогащения суспензии клеток для трансплантации НКС клетки высаживали на чашки Петри, покрытые желатиной в среде (α -MEM:F12, 5% FBS, 2% Пен./Стреп., L-глутамин [1:50], пируват натрия [1:100, раствор 1,1 мг/мл]) в концентрации $0,3 \cdot 10^6$ клеток на 1 см^2 . Культивировали клетки в течение 1 сут. За это время к желатину прикреплялись все жизнеспособные НКС. Через 1 сут. готовили суспензию клеток в среде (DMEM, 10% ДНКазы I [2 мг/мл], 5% витального красителя трипанового синего [0,4%-ный раствор]).

Трансплантация клеточных суспензий. Семенники выводили в операционную рану. Клеточную суспензию вводили с помощью поршневого микроинъектора через капилляр (диаметр кончика – 60 мкм). Перед введением капилляра иглой размером 20G в белочной оболочке семенника делали перфоративное отверстие. Клетки вводили в интерстициальную ткань семенника небольшими порциями, добиваясь ее равномерного распределения. Контроль введения осуществлен по окраске ткани семенника трипановым синим. В каждый семенник опытной группы крыс вводили по 150 мкл суспензии клеток, в которой содержалось $2 \cdot 10^6$ клеток. Контрольным животным (группы КВ-1 и КВ-3) вводили среду того же состава и объема, но без НКС. Введение осуществляли под микроскопом при общем увеличении в 16 раз.

После завершения трансплантации яичко низводили в мошонку с соблюдением мер предосторожности, выполняли аналогичную трансплантацию с другой стороны, послеоперационную рану ушивали наглухо.

Качественный и количественный гистологический анализ состояния сперматогенной ткани. Животных выводили из эксперимента путем передозировки диэтилового эфира в эксикаторе, извлекали семен-

ники и взвешивали, фиксировали в 4%-ном параформальдегиде (рН 7,4), проводили через восходящий градиент спиртов и ксилол и заключали в парафин. Готовили срезы толщиной 7 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином. Для качественной оценки состояния сперматогенной ткани срезы просматривали и фотографировали на микроскопе Leica DM5000B (США). Для количественной оценки на трех срезах семенника (расстояние между срезами ~200 мкм) подсчитывали общее количество канальцев, количество канальцев, содержащих все типы дифференцирующихся половых клеток (канальцы с нормальной структурой сперматогенного эпителия), количество канальцев без сперматид, количество канальцев без сперматид и сперматоцитов и количество канальцев без половых клеток (результаты подсчетов выражали в процентах).

Статистический анализ результатов. Количественные данные анализировали в статистическом пакете STATISTICA 8.0 («StatSoft», США). Сравнение средних значений контрольных и экспериментальных выборок проводили с использованием непараметрического критерия Mann–Whitney t при стандартном уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты измерения массы семенников. Средняя масса семенника у животных через 1 и 3 мес. после их низведения и трансплантации клеток составила соответственно 522 и 528 мг, что достоверно выше, чем у животных контрольных групп (рис. 1). У крыс контрольной группы К после 90-суточной экспозиции семенников в брюшной полости средняя масса семенника был значительно и достоверно меньше, чем у крыс других контрольных групп, и составляла 280 мг. В контрольной группе КО-1 через 1 мес. после низведения семенников в мошонку его масса увеличилась и составила 428 мг. Такая же картина наблюдалась и в контрольной группе КВ-1 (через 1 мес. после низведения семенников и введения среды), в которой данный показатель составил 421 мг, через 3 мес. (группа КВ-3) он незначительно снижался в среднем до 392 мг.

Качественная гистологическая оценка состояния сперматогенной ткани. Для оценки эффекта аллогенной трансплантации НКС было выполнено гистологическое исследование сперматогенной ткани во всех группах животных.

В контрольной группе К во всех семенных канальцах отсутствовали удлиняющиеся и округлые сперматиды (рис. 2, а), а в части канальцев также мейотические клетки (рис. 2, б, в), что свидетельствует о глубоком нарушении развития мужских половых клеток. Цитоплазма КС, в норме заметная только в области ядра, сильно разрасталась и была заполнена вакуолями. Ядра КС часто смещались к просвету канальца, что редко можно заметить в норме только на стадии спермиации (рис. 2, б). Во многих канальцах наблюдалась остановка (блок) сперматогенеза на стадии прелептотены-лептотены или зиготоны (рис. 2, в, г соответственно). Об этом свидетельствовало накопление ядер сперматоцитов I порядка на соответствующих стадиях дифференцировки, расположенных в 2–3 ряда, чего никогда не бывает в норме. Гибнущие половые клетки нередко слущивались в просвет канальца (см. рис. 2, г).

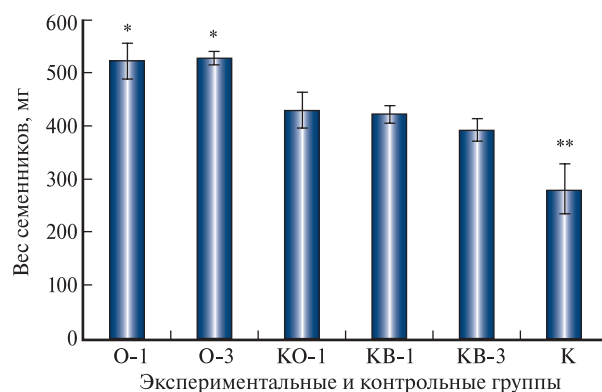


Рис. 1. Масса семенников в опытных и контрольных группах крыс. Данные представлены в виде Сред. $\pm$ Стандартная ошибка среднего ($M \pm m$)

* — средняя масса семенников в опытных группах статистически значимо выше, чем в контрольных при $p < 0,05$;

** — средняя масса семенников в контрольной группе К статистически значимо ниже, чем в остальных контрольных группах, при $p < 0,05$.

В семенниках контрольной группы КО-1 через 1 мес. после низведения семенников из брюшной полости в мошонку восстановления развития мужских половых клеток не происходило, напротив, нарушения структуры сперматогенной ткани становились более значительными. Во всех без исклю-

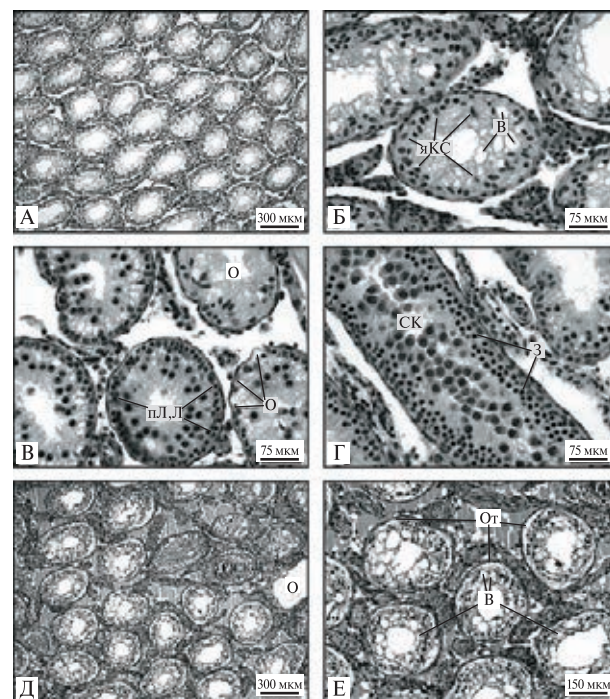


Рис. 2. Гистологические срезы семенников крыс после 90 сут крипторхизма — группа К (а–г) и через 1 мес после орхипексии — группа КО-1 (д, е). Окраска гематоксилином и эозином

В — вакуоли в цитоплазме КС, З — ядра сперматоцитов I порядка на стадии зиготены, пЛ, Л — ядра сперматоцитов I порядка на стадии прелептотены-лептотены, О — опустошенные канальцы, почти не содержащие половых клеток, ОТ — отслоение сперматогенного эпителия от стенки канальца, СК — слущенные в просвет канальца половые клетки.

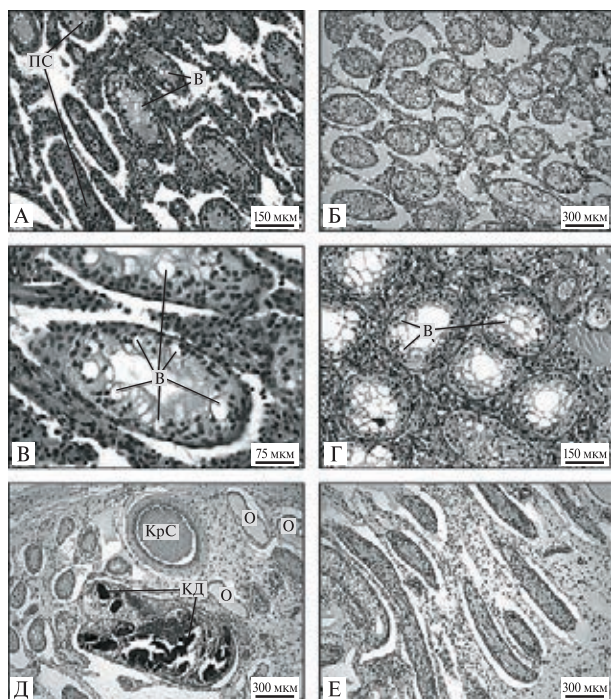


Рис. 3. Гистологические срезы семенников крыс через 1 мес (а–в) и 3 мес (г–е) после орхипексии и введения среды (группы КВ-1 и КВ-3). Окраска гематоксилином и эозином

В — вакуоли в цитоплазме КС, КД — клеточный дебрис, КрС — кровеносные сосуды в интерстициальной ткани семенника, ПС — ядра сперматоцитов I порядка на стадии пахитены, О — опустошенные каналы, почти не содержащие половых клеток, СК — слущенные в просвет канала половые клетки.

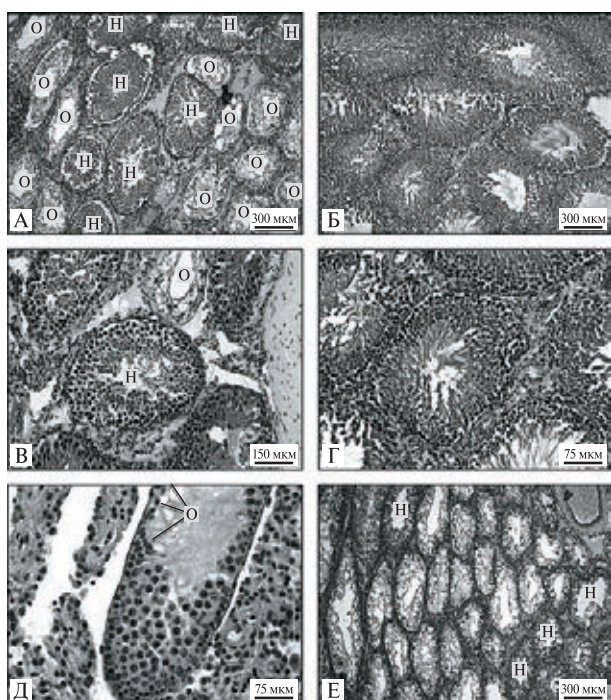


Рис. 4. Гистологические срезы семенников крыс через 1 мес (а–в) и 3 мес (г–е) после орхипексии и введения среды с НКС — группы О-1 и О-3. Окраска гематоксилином и эозином

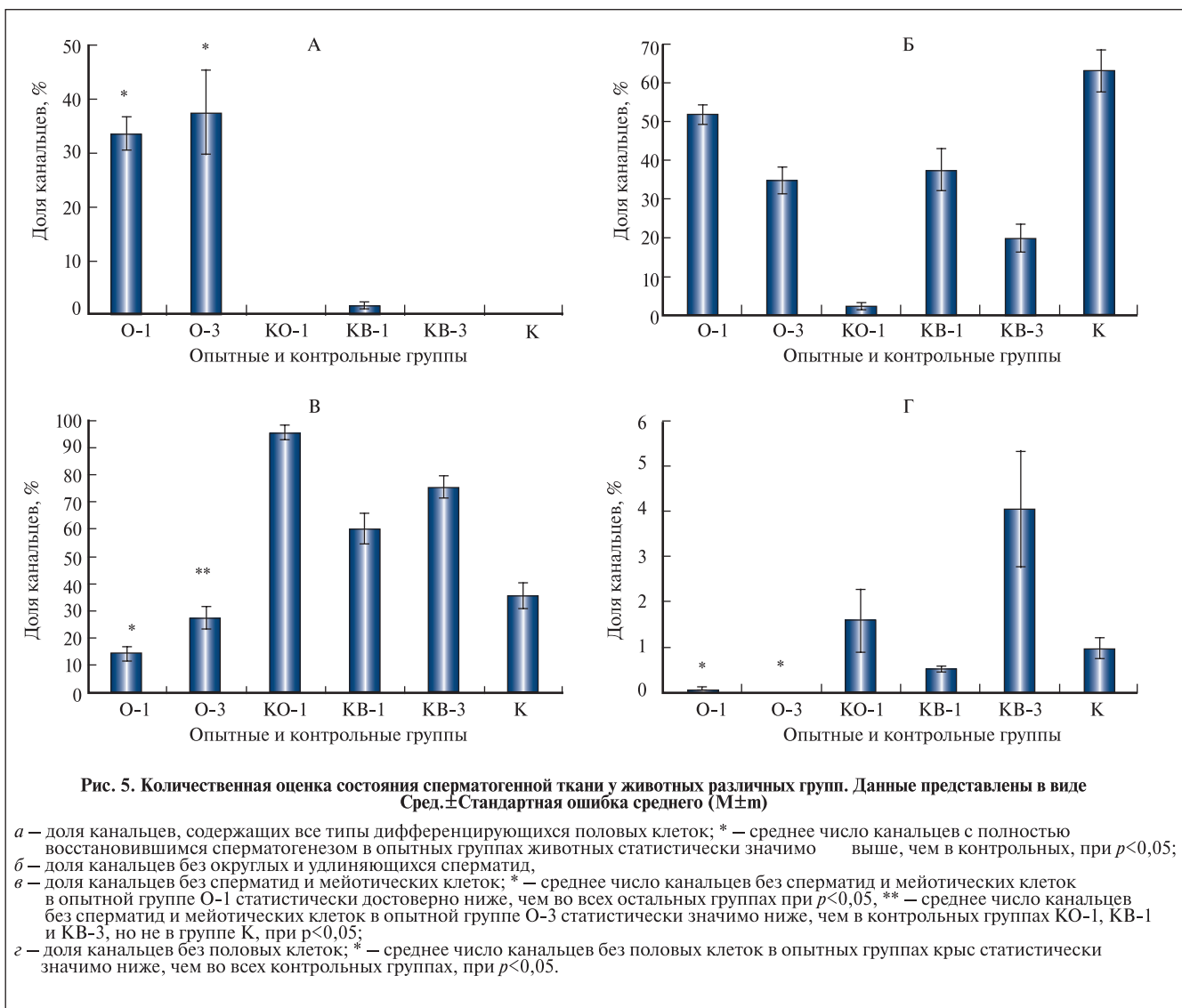
Н — каналы с полностью восстановившимся сперматогенезом, присутствуют все типы сперматогенных клеток, их расположение и количество соответствует норме, О — опустошенные каналы почти не содержащие половых клеток.

чения семенных канальцах полностью нарушался сперматогенез (рис. 2, д); из половых клеток в канальцах в большинстве случаев оставались лишь сперматогонии (рис. 2, е). В цитоплазме КС увеличивалось число вакуолей (рис. 3, в). Ядра КС и сперматогоний клеток во многих канальцах покидали базальную мембрану. В некоторых канальцах полностью отсутствовал просвет (см. рис. 2, д). Происходящие изменения в сперматогенной ткани после опущения семенников назад в мошонку свидетельствуют о необратимости процессов нарушения сперматогенеза у крыс с искусственным крипторхизмом.

В семенниках контрольной группы КВ-1 через 1 мес. после орхипексии и введения среды без клеток картина сперматогенеза немного отличалась от таковой в группе КО-1, но в целом была схожей. Нарушение развития мужских половых клеток имело место во всех семенных канальцах (рис. 3, а). В цитоплазме КС в некоторых канальцах присутствовали вакуоли (рис. 3, б). Число вакуолей в КС и число канальцев, содержащих такие клетки, было меньше, чем в контрольной группе КО-1. Во многих канальцах в герминативном эпителии можно было заметить ядра лишь сперматогоний клеток и КС; ядра часто смешались в сторону просвета (см. рис. 3, б). Важным отличием от группы КО-1 было появление заметного числа канальцев с мейотическими клетками (см. рис. 3, а). В единичных семенниках происходило замещение интерстициальной ткани соединительной, увеличивались число и размер кровеносных сосудов, канальцы расходились друг от друга. В некоторых канальцах (1–2 на поперечный срез семенника) происходила гибель всех клеток, и канальцы содержали лишь клеточный дебрис. Встречались также остовы канальцев, не содержащих ни половых, ни соматических клеток (рис. 3, в).

В семенниках контрольной группы КВ-3 через 3 мес. после орхипексии и введения среды без клеток гистологическая картина изменений сперматогенеза была хуже, чем через 1 мес. после введения среды. Сперматогенез был нарушен во всех семенных канальцах (рис. 3, г). В сперматогенном эпителии присутствовали только КС и немногочисленные сперматогонии. Цитоплазма КС сильно вакуолизирована. В некоторых канальцах ядра половых и соматических клеток были беспорядочно разбросаны по всей толще сперматогенного эпителия, а не находились у базальной мембраны (рис. 3, д). Канальцы со сперматоцитами встречались редко. Интерстициальная ткань частично замещалась соединительной, канальцы расходились, увеличивалось число кровеносных сосудов (рис. 3, е).

В опытной группе крыс О-1 через 1 мес. после низведения семенников из брюшной полости и трансплантации НКС наблюдалось полное восстановление сперматогенеза в части семенных канальцев (рис. 4, а, б). В канальцах с восстановившимся сперматогенезом можно было наблюдать все типы дифференцирующихся половых клеток: от сперматогоний клеток до удлинённых сперматид (на рис. 4, б представлен поперечный срез канальца на стадии спермиации). Половые клетки разных генераций в таких канальцах располагались кон-



центрическими слоями, их число и положение в слоях соответствовало норме. Наряду с канальцами с полностью восстановленной структурой сперматогенного эпителия мы наблюдали также канальцы с частичным восстановлением эпителия (рис. 4, в), в канальце отсутствовали постмейотические половые клетки, число сперматозоитов было выше нормы, что может свидетельствовать о блоке сперматогенеза на этой стадии развития клеток. Встречались также канальцы без половых клеток и канальцы только со сперматогониальными клеткам, но их было немного.

В опытной группе О-3 через 3 мес. после проведения трансплантации нами также были обнаружены канальцы с полностью восстановившимся сперматогенезом (рис. 4, г, д). В отличие от опытной группы О-1 в этой группе в единичных семенниках мы наблюдали восстановление сперматогенеза в большинстве семенных канальцев. В то же время необходимо отметить наличие обширных зон опустошенных канальцев в некоторых семенниках (рис. 4, е), чего мы не наблюдали в группе О-1. Так же как и в опытной группе О-1, в канальцах с восстановившимся сперматогенезом определялись все типы дифференцирующихся половых клеток — от сперматогониальных клеток до удлиняющихся сперматид

(см. рис. 4, д). Половые клетки разных генераций в таких канальцах располагались слоями, их число и положение соответствовали норме.

Количественный гистологический анализ состояния сперматогенной ткани. Для более полной оценки восстановления сперматогенной ткани после трансплантации НКС мы определили долю канальцев с разной степенью нарушения сперматогенного эпителия у животных из опытных и контрольных групп. Доля канальцев с нормальной структурой сперматогенного эпителия, содержащих все типы развивающихся половых клеток, у животных опытных групп О-1 и О-3 в среднем составила соответственно 33,7 и 37,5% (рис. 5, а). У крыс из контрольных групп К, КО-1 и КВ-3 нормальные сперматогенные канальцы в семенниках практически отсутствовали (0, 0,1 и 0,3% соответственно) и только в контрольной группе КВ-1 их доля составляла 2% от всех канальцев. Доля канальцев без сперматид у животных групп О-1 составила 51,9%, группы О-3 — 34,9% (рис. 5, б). У животных контрольных групп наименьшую долю канальцев без сперматид регистрировали через 1 мес. после опущения семенников в мошонку (2,6%, группа КО-1), а наибольшую — у животных через 3 мес. крипторхизма (63,4%, группа К), у животных

через 1 и 3 мес. после опущения семенников и введения среды доля таких канальцев составляла 37,5 и 20% соответственно. Доля канальцев без сперматид и сперматоцитов у животных из опытных групп О-1 и О-3 составила соответственно 14,4 и 27,6 % (рис. 5, в). У животных из контрольных групп наименьшая доля таких канальцев была в группе К (35,6 %), а наибольшая — в группа КО-1 (95,7 %), у животных групп KB-1 и KB-3 доля канальцев без мейотических и постмейотических половых клеток составила 60,4 и 75,6% соответственно. Реже всего во всех группах животных в семенниках встречались канальцы без половых клеток, у которых на базальной мембране присутствовали только КС. У животных из опытных групп О-1 и О-2 такие канальцы были обнаружены в единичных семенниках (0,1%) только в первой группе (рис. 5, г). Такое же количество опустошенных канальцев было и в контрольной группе KB-1, а через 3 мес. после опущения семенников в мошонку и введения среды, напротив, достигало максимального значения в 4%. У животных групп К и КО-1 доля таких канальцев составила 1 и 1,6% соответственно.

Как видно из результатов измерения массы семенников, качественной и количественной гистологической оценки сперматогенеза, трансплантации НКС в интерстициальную ткань семенников после 3-месячного моделирования крипторхизма способствует восстановлению развития мужских половых клеток в семенных канальцах реципиента. Восстановление сперматогенеза нельзя назвать полным, о чем в первую очередь говорят показатели массы семенников. Так, хотя у животных через 3 мес. после трансплантации масса семенника по сравнению с контрольной группой (К) увеличивалась почти в два раза, достигнув примерно 500 мг, она была значительно ниже нормальной (2–3 г для крыс в возрасте 6–7 мес.). Мы предполагаем, что масса семенника не достигала нормальных значений из-за недостаточного числа трансплантированных клеток, а также их неравномерного распределения по интерстициальной ткани семенника. Так, по данным [19], у крыс, подвергнутых локальному облучению семенников (γ -облучение, доза 6 Гр) с последующей трансплантацией НКС в интерстициальную ткань, сперматогенез в семенных канальцах реципиента восстанавливался только в тех участках канальца, где в интерстициальной ткани располагались клетки донора.

У животных контрольных групп КО-1, KB-1 и KB-3 также констатировали увеличение массы семенника, но не столь значительное, как после трансплантации клеток. Несмотря на это, наше гистологическое исследование не обнаружило восстановительного процесса в сперматогенной системе этих животных. Напротив, по данным количественного анализа, доля канальцев без сперматид снижалась по сравнению с контрольной группой К, тогда как доля канальцев без сперматид и мейотических клеток, а также канальцев без половых клеток увеличивалась. Эти данные свидетельствуют о продолжающейся деградации сперматогенеза у крыс даже после прекращения крипторхизма путем опущения семенников в мошонку. Увеличение же массы семенника, вероятно, связано с утолщением его белочной оболочки, а также разрастанием соединительной ткани в интерстиции. Восстановительный процесс

в семенниках после трансплантации клеток хорошо иллюстрируется результатами количественной гистологической оценки сперматогенеза. Так, доля канальцев, содержащих все типы дифференцирующихся половых клеток, в обеих экспериментальных группах превышала 30%, тогда как у большинства контрольных животных такие канальцы отсутствовали. Также обращает на себя внимание значительное (в большинстве случаев статистически достоверное) снижение доли канальцев без сперматид и сперматоцитов, а также канальцев без половых клеток по сравнению с контрольными группами животных.

Обнаруженный нами восстановительный процесс после трансплантации НКС значительно превосходит результаты, полученные у крыс после облучения: по данным Z. Zhang и соавт. (2009) через 13 нед. после аналогичной трансплантации НКС в семенных канальцах реципиента сперматогенез восстанавливался только до стадии мейоза (7% канальцев), канальцы же со сперматидами отсутствовали [20]. Вероятно, это связано с тем, что облучение семенника наносило сперматогенной системе в целом и КС в частности больший, чем при крипторхизме, урон. Это позволяет предположить, что можно добиться и более значительных результатов в восстановлении сперматогенеза после крипторхизма (таких как восстановление фертильности) путем оптимизации условий трансплантации и подбора сроков крипторхизма.

Выводы

1. На модели двустороннего абдоминального крипторхизма показано, что нахождение семенников в брюшной полости в течение 90 сут. ведет к необратимым дегенеративным процессам в семенниках крыс.
2. Орхипексия, так же как и введение среды без клеток, не приводит к восстановлению сперматогенеза, наоборот, процессы деградации сперматогенной ткани нарастают.
3. Трансплантация НКС способствует полному восстановлению сперматогенеза более чем в 30% семенных канальцев реципиента уже через 1 мес. поле операции.

Работы выполнены при поддержке гранта Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» (2015 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bayasgalan G., Naranbat D., Radnaabazar J., Lhagvasuren T., Rowe P.J. Male infertility: risk factors in Mongolian men. *Asian J Androl.* 2004;4:305–311.
2. Юсуфов А.А., Румянцев Г.Н., Пыков М.И. Роль ультразвукового исследования в диагностике крипторхизма у детей. *Урология.* 2011;4:60–64.
3. Кирпатовский И.Д., Титаров Д.Л., Жамынчиев Э.К. Сравнение репаративных особенностей тестикулярной ткани у молодых и половозрелых животных на модели двустороннего абдоминального крипторхизма (экспериментальная работа). *Вестник РУДН.* 2012;4:11–15.
4. Ерохин А.П., Воложин С.И. *Крипторхизм.* М., 1995. С. 227–229.
5. Penson D., Krishnaswami S., Jules A., Pheeters M.L. Effectiveness

- of hormonal and surgical therapies for cryptorchidism: a systematic review. *Pediatrics*. 2013;131(6):e1897–907. doi: 10.1542/peds.2013-0072. Epub 2013 May
6. Geijsen N., Horoschak M., Kim K., Gribnau J., Eggan K., Daley G.Q. Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. *Nature*. 2004;8:148–154.
 7. Aflatoonian B., Ruban L., Jones M., Aflatoonian R., Fazeli A., Moore H.D. *In vitro* post-meiotic germ cell development from human embryonic stem cells. *Hum Reprod*. 2009;12:3150–3159.
 8. Nayernia K., Nolte J., Michelmann H.W., Lee J.H., Rathsack K. *In vitro*-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Dev Cell*. 2006;1:125–132.
 9. Lokman M., Moore H. An artificial sperm-next year or never? *Hum Fertil. (Camb)*. 2010;4:272–276.
 10. Nagano M., Avarbock M.R., Leonida E.B., Brinster C.J., Brinster R.L. of mouse spermatogonial stem cells. *Tissue Cell*. 1998;4:389–397.
 11. Kubota H., Avarbock M.R., Brinster R.L. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004 ;101(47): 16489–16494.
 12. Kanatsu-Shinohara M., Ogonuki N., Iwano T., Lee J., Kazuki Y. Genetic and epigenetic properties of mouse male germline stem cells during long-term culture. *Development*. 2005;132(18):4155–4163.
 13. Brinster R.L., Avarbock M.R. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(24):11303–11307.
 14. Khaira H., McLean D., Ohl D.A., Smith G.D. Spermatogonial stem cell isolation, storage, and transplantation. *J Androl*. 2005;26(4):442–450.
 15. Zhang Z., Shao S., Meistrich M.L. Irradiated mouse testes efficiently support spermatogenesis derived from donor germ cells of mice and rats. *J Androl*. 2006;27(3):365–375.
 16. Chen M., Cai H., Yang J.-L., Lu C.-L., Liu L., Yang W., Guo J., Hu H.-Q., Fan C.-H., Hu Z.-Y. Effect of heat stress on expression of junction-associated molecules and upstream factors androgen receptor and wilms' tumor 1 in monkey Sertoli cells. *Endocrinology*. 2008;149(10):4871–4882.
 17. Liu Y.-X., Li X.-X. Molecular basis of cryptorchidism-induced infertility. *Sci. China Life Sci*. 2010;53(11):1274–1283.
 18. Mendis-Handagama S.M.L.C., Kerr J.B., de Kretser D.M. Experimental cryptorchidism in the adult mouse: I. Qualitative and quantitative light microscopic morphology. *J. Androl*. 1990;11(6):539–547.
 19. Zhang Z., Shao S., Meistrich M.L. The radiation-induced block in spermatogonial differentiation is due to damage to the somatic environment, not the germ cells. *J Cell Physiol*. 2007;211(1): 149–158.
 20. Zhang Z., Shao S., Shetty G., Meistrich M.L. Donor Sertoli cells transplanted into irradiated rat testes stimulate partial recovery of endogenous spermatogenesis. *Reproduction*. 2009;137(3):497–508.

Поступила 27.07.15

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ УДАРНО-ВОЛНОВОЙ ТЕРАПИИ У МУЖЧИН С СИНДРОМОМ ХРОНИЧЕСКОЙ ТАЗОВОЙ БОЛИ

НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова», Москва

Автор для связи: Ю. Л. Демидко — д.м.н., в.н.с НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека;
e-mail: demidko1@mail.ru

В статье представлен опыт применения низкоэнергетической ударно-волновой терапии в отношении мужчин с синдромом хронической тазовой боли.

Ключевые слова: синдром хронической тазовой боли, мужчины, ударно-волновая терапия

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Руденко В.И., Рапопорт Л.М., Газимиев М.А., Демидко Ю.Л., Байдувалиев А.М. Первый опыт применения ударно-волновой терапии у мужчин с синдромом хронической тазовой боли. Урология. 2015;6:26–29.

Актуальность. Частота синдрома хронической тазовой боли (СХТБ) у мужчин, по приблизительным оценкам, достигает 4,5% [1]. Имеются данные о возрастании числа мужчин, которые предъявляют жалобы на данное состояние [2, 3]. Клинические проявления СХТБ значительно нарушают качество жизни пациента. Это связано с основным проявлением синдрома — болью различной интенсивности и периодичности в области простаты, яичек, паха, крестцовой, надлонной областей [4, 5].

Также немалую роль в снижении качества жизни отводят симптомам нижних мочевых путей (СНМП) и снижению эректильной функции. Эти нарушения по влиянию на качество жизни сопоставимы с болью, которую испытывают пациенты [6].

Невоспалительный СХТБ характеризуется длительным течением. Патофизиология СХТБ окончательно не установлена. Предметом дискуссии являются влияние инфекционных агентов, патологическое напряжение мышц таза, химическое повреждение простаты вследствие интрапростатического рефлюкса, локальное нарушение кровообращения [7]. Длительное напряжение гладкой мускулатуры шейки мочевого пузыря и предстательной железы вследствие активации α_1 -адренорецепторов также может усиливать имеющиеся симптомы хронической тазовой боли [8].

Роль патологических изменений в предстательной железе как причины возникновения СХТБ представляется сомнительной, поскольку симптомы, похожие на СХТБ у мужчин, описаны и у женщин [9–11].

Согласно существующей классификации, симптомы хронической тазовой боли в отсутствие подтвержденного инфекционного агента определяют как СХТБ, тип IIB [12]. Данный диагноз может быть установлен после рутинного обследования, которое позволяет уточнить симптомы и их выраженность, исключить наличие инфекции, а также провести дифференциальную диагностику с другими возможными причинами данного симптомо-комплекса.

Наличие нескольких предположительных механизмов возникновения СХТБ стало причиной применения различных средств и методов лечения данного патологического состояния. Это антибактериальная, противовоспалительная терапия, α -адреноблокаторы, ингибиторы 5α -редуктазы, а также средства, улучшающие кровообращение, и миорелаксанты [13].

Отмечено, что низкоэнергетическая ударно-волновая терапия способствует усилению кровообращения в зоне воздействия, снижает ригидность мышц, уменьшает болевую импульсацию [14–16]. Также показано, что низкоэнергетическое ударно-волновое воздействие позволяет увеличивать кровоток в зоне ишемии миокарда [15]. Применение локальной низкоэнергетической ударно-волновой терапии в отношении пациентов с СХТБ позволило уменьшить патологическую симптоматику в отсутствие побочных эффектов [16].

Цель работы: оценить эффективность применения низкоэнергетической ударно-волновой терапии в отношении мужчин с СХТБ.

Материалы и методы. В клинике урологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова в 2015 г. низкоэнергетическая ударно-волновая терапия использовалась в лечении 7 мужчин с СХТБ в возрасте 28–53 лет (средний возраст — 43 года). Продолжительность жалоб со стороны пациентов варьировалась от года до 5 лет, составив в среднем 3 года.

Все пациенты были обследованы с целью исключения других причин имеющихся симптомов. Пациентам старше 45 лет выполнено исследование уровня простатспецифического антигена, пальцевое ректальное исследование. Наличие воспалительного процесса в предстательной железе исключали на основании результатов изучения трехстаканной пробы с исследованием секрета простаты или мочи, полученной после массажа простаты. При сборе анамнеза выявлены возможные неврологические причины тазовой боли. Также были исключены заболевания кишечника. Противопоказанием к проведению локальной низкоэнергетической ударно-

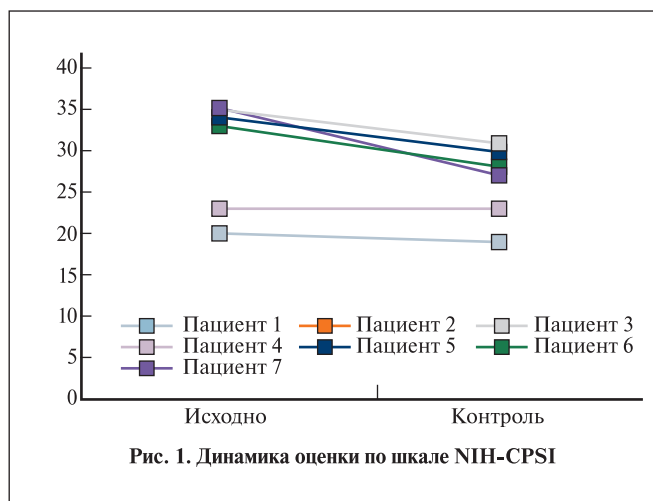


Рис. 1. Динамика оценки по шкале NIH-CPSI

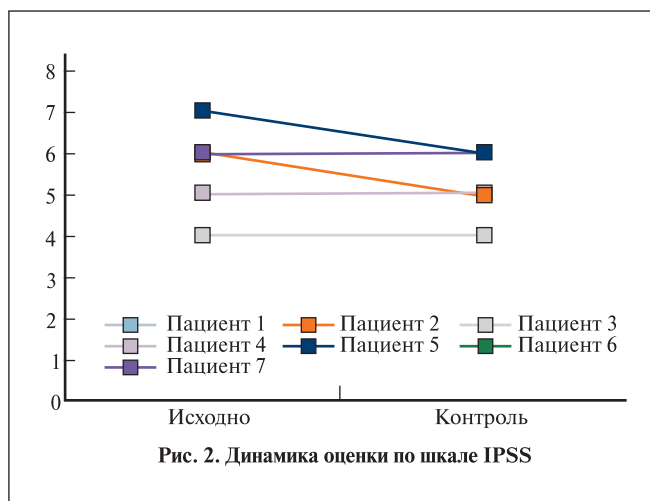


Рис. 2. Динамика оценки по шкале IPSS

волновой терапии служит нарушение свертывания крови, поэтому в комплекс методов обследования было включено исследование свертывающей системы крови.

Выраженность клинических симптомов оценивали путем анкетирования по шкале симптомов хронической тазовой боли NIH-CPSI. Поскольку боль в тазу часто связана с функциональными нарушениями, СНМП были уточнены с применением шкалы симптомов нижних мочевых путей IPSS. Эректильную функцию оценивали с помощью опросника МИЭФ-5.

Пациенты самостоятельно заполняли шкалы и анкеты до лечения и по окончании его.

Лечение проведено на аппарате Dornier Aries (Dornier Med Tech, Германия). Низкоэнергетическое воздействие на область промежности осуществлено при помощи аппликатора. Количество ударных импульсов за одну процедуру варьировалось от 1500 до 3000, интенсивность (уровень энергетического воздействия) составила 2–7, частота ударного импульса — 2–5 Гц. Пациентам проведено до 4 сеансов.

Перерыв между процедурами составил 7–10 дней, количество процедур на курс определяли в зависимости от динамики клинической картины в процессе лечения.

Глубина проникновения ударной волны достигает 12,5 см. В ходе процедуры направление воздействия корректировали согласно ощущениям пациента для исключения дискомфорта.

Эффективность применяемой методики оценивали путем повторного анкетирования по шкалам СХТБ, IPSS и МИЭФ-5 через 1 мес. после окончания лечения.

Данные обработаны с применением методов описательной статистики и представлены в виде медианы 5-го и 95-го перцентиля. Данные анкетирования анализировали путем попарного сравнения с применением критерия Уилкоксона. Различия считали значимыми при значении критерия $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Исходно сумма баллов по шкале симптомов хронической тазовой боли NIH-CPSI составила 34 (20–35), по шкале IPSS — 6 (4–7), по опроснику МИЭФ-5 — 19 (14–23).

Число сеансов низкоэнергетической ударно-волновой терапии, которое определялось субъективным

состоянием и эффективностью лечения, составило от 1 до 4. В процессе лечения и после него субъективных и объективных побочных эффектов нами не отмечено.

Сумма баллов по шкале NIH-CPSI через 1 мес. по окончании лечения составила 28 (19–31) ($p = 0,026$; рис. 1).

Полученный положительный эффект можно объяснить особенностями применяемого метода. Ударные волны, проникающие в мягкие ткани, по-видимому, изменяют порог чувствительности болевых рецепторов.

Среди возможных механизмов, объясняющих снижение выраженности боли, рассматривают стимуляцию болевых рецепторов с последующей их инактивацией, прерывание патологической импульсации по проводящим путям [16].

При оценке эффективности лечения пациенты заполняли опросник симптомов хронической тазовой боли через месяц по окончании лечения с применением низкоинтенсивной ударно-волновой терапии.

Поскольку СХТБ сопровождается функциональными нарушениями, для понимания механизма, обеспечивающего эффективность ударно-волновой терапии, были проанализированы СНМП.

Оценка по шкале IPSS составила 5 (4–6) баллов ($p = 0,157$; рис. 2). Несмотря на положительную динамику, значимых различий показателей не выявлено. Таким образом, можно предположить, что влияние ударно-волновой терапии на патогенетические пути инфравезикальной обструкции у мужчин косвенное. В большей степени улучшение мочеиспускания связано с уменьшением боли.

Также к числу функциональных расстройств при СХТБ относится снижение эректильной функции, поскольку боль в различных отделах таза является причиной снижения полового влечения и эректильного ответа на сексуальную стимуляцию. Сумма баллов по шкале МИЭФ-5 через 1 мес. по окончании лечения составила 19 (15–23) ($p = 0,18$; рис. 3).

В целом изменение симптоматики эректильной дисфункции не было значимым. Это также указывает на косвенное влияние хронической тазовой боли на регуляцию кровотока в кавернозных артериях. Следует отметить, что активно на эректильную дисфункцию пациенты не жаловались.

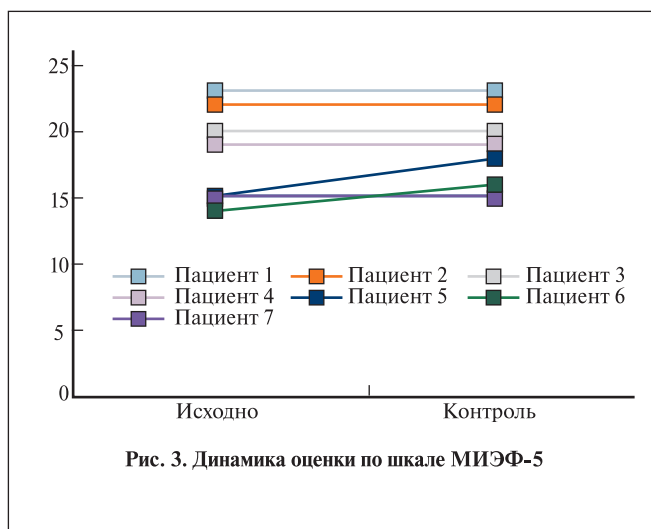


Рис. 3. Динамика оценки по шкале МИЭФ-5

Ни во время процедур низкоэнергетической ударно-волновой терапии, ни по окончании курса лечения никто из пациентов не предъявлял жалоб на какие-либо неблагоприятные эффекты.

Таким образом, применение местной низкоэнергетической ударно-волновой терапии позволило значительно уменьшить патологическую симптоматику СХТБ у мужчин. Симптомы нижних мочевых путей и эректильной дисфункции выявили тенденцию к улучшению, однако они не были ведущими.

Заключение. Применение местной низкоэнергетической ударно-волновой терапии показало эффективность в отношении симптомов СХТБ у мужчин. Динамика СНМП может говорить о том, что они могут быть связанными с основным заболеванием и обусловлены им. Динамика эректильной функции также связана с СХТБ, однако в данном случае имеют место и общие факторы риска эректильной дисфункции, характерные для популяции, в первую очередь связанные с возрастом.

Изменение показателей может быть вызвано воздействием на болевые рецепторы в проекции воздействия, а также, возможно, улучшением микроциркуляции. Таким образом, местная ударно-волновая терапия создает условия для возможного повышения интенсивности микроциркуляции. Данный факт служит дополнительным подтверждением того, что местное нарушение кровообращения может быть одной из причин возникновения и сохранения СХТБ и сопутствующих ей симптомов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bartoletti R., Cai T., Mondaini N. et al. Italian Prostatitis Study Group. Prevalence, incidence estimation, risk factors and characterization of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in urological hospital outpatients in Italy: results of a multicenter case-control observational study. *J Urol.* 2007;179:2411–2415.
2. Collins M.M., Stafford R.S., O'Leary M.P., Barry M.J. How common is prostatitis? A national survey of physician visits. *J Urol.* 1998;159(4):1224–1228.
3. Duloy A.M., Calhoun E.A., Clemens J.Q. Economic impact of chronic prostatitis. *Curr. Urol. Rep.* 2007;8(4):336–339.
4. Shoskes D.A., Berger R., Elmi A., Landis J.R., Probert K.J., Zeitlin S. Muscle tenderness in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: the chronic prostatitis cohort study. *J Urol.* 2008;179(2):556–560.
5. Samplaski M.K., Li J., Shoskes D.A. Clustering of UPOINT domains and subdomains in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and contribution to symptom severity. *J Urol.* 2012;188(5):1788–1793.
6. Schaeffer A.J. Epidemiology and evaluation of chronic pelvic pain syndrome in men. *Int J Antimicrob. Agents.* 2008;31(Suppl. 1):S108–111.
7. Pontari M.A. Etiology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: psychoimmunoneuroendocrine dysfunction (PINE syndrome) or just a really bad infection? *World J Urol.* 2013;31(4):725–732.
8. Nickel J.C. Role of alpha1-blockers in chronic prostatitis syndromes. *BJU Int.* 2008;101(Suppl. 3):11–16.
9. Hedelin H., Fall M. Controversies in chronic abacterial prostatitis/pelvic pain syndrome. *Scand J Urol Nephrol.* 2008;42(3):198–204.
10. Berger R.E., Ciol M.A., Rothman I., Turner J.A. Pelvic tenderness is not limited to the prostate in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CPPS) type IIIA and IIIB: comparison of men with and without CP/CPPS. *BMC Urol.* 2007;7:17.
11. Marszalek M., Wehrberger C., Temml C., Ponholzer A., Berger I., Madersbacher S. Chronic pelvic pain and lower urinary tract symptoms in both sexes: analysis of 2749 participants of an urban health screening project. *Eur Urol.* 2009;55(2):499–507.
12. Krieger J.N., Nyberg L. Jr., Nickel J.C. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA.* 1999;282(3):236–237.
13. Weidner W., Wagenlehner F.M., Marconi M., Pilatz A., Pantke K.H., Diemer T. Acute bacterial prostatitis and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: andrological implications. *Andrologia.* 2008;40(2):105–12.
14. Manganotti P., Amelio E. Long term effect of shock wave therapy on upper limb hypertonia in patients affected by stroke. *Stroke.* 2005;36:1967–1971.
15. Fukumoto Y., Ito A., Uwatoku T., Matoba T., Kishi T., Tanaka H., Takeshita A., Sunagawa K., Shimokawa H. Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates myocardial ischemia in patients with severe coronary artery disease. *Coron Artery Dis.* 2006;17:63–70.
16. Zimmermann R., Cumanas A., Hoeltl L., Janetschek G., Stenzl A., Miclea F. Extracorporeal shock-wave therapy for treating chronic pelvic pain syndrome: a feasibility study and the first clinical results. *BJU Int.* 2008;102:976–980.

Поступила 27.10.15

М. Е. Чалый², П. В. Глыбочко¹, М. В. Епифанова¹, А. О. Краснов²

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ЛЕЧЕНИИ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

¹ НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека Первого МГМУ им. И. М. Сеченова;

² кафедры урологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова

Автор для связи: М. В. Епифанова — научный сотрудник НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья человека Первого МГМУ им. И. М. Сеченова; e-mail: Epifanova_maya@mail.ru

Несмотря на то что ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа являются препаратами первой линии терапии ЭД, остаются пациенты, для которых любая фармакотерапия оказывается неэффективной. На сегодняшний день применение стволовых клеток рассматривается как новый способ лечения эректильной дисфункции. Правомочность этого предположения была экспериментально доказана в доклинических и клинических исследованиях. Основное внимание приковано к стволовым клеткам, получаемым из жировой ткани, в связи с преимуществами в сравнении с другими источниками получения.

К л ю ч е в ы е с л о в а: эректильная дисфункция, стволовые клетки, стромально-васкулярная фракция, клеточная терапия, регенеративная медицина

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Чалый М.Е., Глыбочко П.В., Епифанова М.В., Краснов А.О. Перспективы применения стволовых клеток из жировой ткани в лечении эректильной дисфункции. Урология. 2015;6:26–29.

Эректильная дисфункция (ЭД) — важная проблема мужского здоровья, обуславливающая значительное снижение качества жизни и расстройство отношений с партнершей [1]. Определено, что 20% мужчин старше 40 лет страдают ЭД, при этом с возрастом распространенность данной патологии увеличивается. Так, мужчины в возрасте 61–70 лет в 2 раза чаще страдают ЭД по сравнению с мужчинами в возрасте 51–60 лет [2]. В РФ, по данным эпидемиологического исследования, проведенного профессором Д. Ю. Пушкарем путем анкетирования 1225 мужчин, признаки ЭД отсутствовали только у 10,1% опрошенных, симптомы ЭД присутствовали у 1101 респондента [3].

В лечении ЭД используют три линии терапии: ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа (ФДЭ-5), вакуумную терапию, интракавернозные инъекции ПГЕ1 и протезирование полового члена [4]. Среди данных методов лечения самым распространенным и успешно применяемым остается прием ингибиторов ФДЭ-5. Это объясняется удобным способом введения (пероральный путь) и высокой эффективностью. Однако существуют ограничения для данного метода. Во-первых, ингибиторы ФДЭ-5 нельзя назначать пациентам, принимающим нитраты. Во-вторых, некоторые пациенты отказываются принимать ингибиторы в связи с непереносимостью побочных эффектов, связанных с их приемом. И в-третьих, есть категория мужчин, на которых данные препараты не действуют [5]. Кроме того, терапия ингибиторами ФДЭ-5 симптоматическая и не предполагает устранения причины. В связи с вышеизложенным представляется оправданным рост интереса к разработке патогенетических способов лечения ЭД. Одним из таких многообещающих и перспективных способов лечения является клеточная терапия стволовыми клетками (СК).

Стволовые клетки

Стволовые клетки — это недифференцированные клетки, способные к делению, самоподдержанию и продукции боль-

шого числа дифференцированных и функциональных клеток для обновления и восстановления тканей [6].

Дифференцировка (специализация) клетки начинается с первой стадии эмбрионального развития. В течение первых делений зиготы (2–3 деления у млекопитающих) ее клетки-потомки (бластомеры) одинаковы по своим свойствам. Однако в ходе последующих делений зиготы клетки начинают отличаться друг от друга. Под действием комбинации внешних и внутренних сигналов в клетке происходят изменения, которые приводят к формированию групп, различающихся по возможностям дифференцировки. Так, клетка, становящаяся плацентой, уже не способна участвовать в формировании тканей эмбриона, и, наоборот, ткани эмбриона не образуют плаценту. В течение эмбрионального развития дифференцировка функциональной специализации происходит многократно. Процесс дифференцировки необратим и знаменует прекращением клеточных делений. Например, образование скелетных мышц сопровождается слиянием отдельных клеток — миобластов в миофибриллы и формированием единого сократительного аппарата. При этом деление миобластов прекращается. Такой процесс называется терминальной дифференцировкой. Он необходим для приобретения клеткой специфических функций и характерен для специализированных тканей (кость, хрящ, кожа, периферическая кровь, мышечная и нервная ткань и др.).

Типы стволовых клеток

В зависимости от возможностей дифференцировки СК разделяют на тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные и унипотентные [7]. Зигота дает начало всему организму, отчего получила название **тотипотентной** (от лат. totus — весь, целый и potentia — сила, возможность) [8]. В процессе дальнейшего формирования организма происходит сужение выбора возможных направлений специализации СК. Бластоциста представляет собой полый шар, состоящий из 150–200 клеток. Внутри бластоцисты находится небольшая группа клеток — клетки внутренней массы, из которых

впоследствии формируются все ткани и органы. Эти клетки называются **плюрипотентными** (от лат. *pluralis* — множественный), или эмбриональными, СК [9]. В развивающемся эмбрионе на клетки внутренней массы действует множество факторов, стимулирующих их специализацию в том или ином направлении, поэтому их плюрипотентность быстро утрачивается. Считается, что плюрипотентные СК сохраняются в эмбрионе только на стадии гастролы (следующей стадии развития после бластоцисты). В уже сформированном организме спектр возможностей дифференцировки СК ограничен, как правило, типами клеток, присущими данной ткани. Данное направление специализации тканеспецифичных СК уже предопределено, поэтому их называют **мультипотентными** [8].

Мультипотентные СК обнаружены в тканях, нуждающихся в постоянном восполнении клеточного состава (кровь, кожа, выстилка кишечника и др.). В тканях они располагаются в так называемых нишах — специальном микроокружении, которое состоит из клеток и внеклеточного матрикса [10]. Как правило, ниши со СК анатомически локализуются в глубоких участках ткани. Например, в эпителии кишечника они находятся в глубине крипт. При этом СК находятся в тесной связи с клетками ниши и внеклеточным матриксом. В отсутствие сигнала активации клетки, формирующие нишу, оказывают паракринные эффекты, поддерживая СК в состоянии покоя. Компоненты внеклеточного матрикса образуют трехмерную структуру, создающую градиент факторов, регулирующих запуск миграции, пролиферации и дифференцировки. Стволовые клетки имеют систему рецепторов, которые в норме удерживают их в состоянии покоя, а под действием внешнего сигнала способны быстро активизировать их миграцию в зону повреждения и последующее деление [11].

Процесс активации представляет собой цепь последовательных событий, в которых участвуют факторы роста, клетки ниши и компоненты внеклеточного матрикса. Деление СК в нише находится под контролем факторов роста и цитокинов. В результате асимметрического деления дифференцирующейся клетки образуется две клетки. Одна из них — стволовая, которая остается связанной со своим микроокружением в нише, а в другой запускается программа дифференцировки в функциональную специализированную клетку. Это еще одно главное свойство СК — способность к самообновлению.

Таким образом, у взрослого организма возможен забор и получение мультипотентных СК для трансплантации в другой участок организма с целью регенерации. Одним из доступных типов источников для получения мультипотентных СК являются мезенхимальные СК [12]. Мезенхимальные СК — ключевой участник ответа на повреждение. Это особый тип СК, которые были обнаружены во многих тканях. Они располагаются в стенке кровеносных сосудов и являются источником факторов роста, стимулирующих обновление ткани [13]. Комбинация провоспалительных факторов и цитокинов, появляющихся на первых этапах заживления, активирует миграцию мезенхимальных СК в зону повреждения. Здесь они экспрессируют факторы, обуславливающие тропизм и дифференцировку мультипотентных СК. В свою очередь мезенхимальные СК формируют внеклеточный матрикс, образуют контакты с дифференцированными клетками, реализуют трофическую и антиапоптотическую функцию, а также стимулируют образование новых сосудов и нервов. Именно эти эффекты используются при разработке технологий клеточной терапии.

Клеточная терапия ЭД

Клеточная терапия предполагает трансплантацию живых клеток в организм человека с целью регенерации. В отличие от трансплантации органов при клеточной терапии переносят

отдельные клетки, которые в некоторых случаях для повышения жизнеспособности помещают на подложку, гранулы или в гель из биологически совместимых полимеров [14]. Одновременно с трансплантацией клеток при клеточной терапии в поврежденную ткань попадает комплекс факторов, которые синтезируют СК. При этом продуцируемые в зоне повреждения факторы роста стимулируют собственные репаративные процессы и формируется сложная система взаимодействия между клетками донора и реципиента. В настоящее время изучаются возможности применения как мультипотентных, так и эмбриональных СК в качестве источника различных типов клеток.

Самыми перспективными и широко используемыми являются СК из жировой ткани. Это связано с доступностью и простотой забора жировой ткани. Выделяют два типа популяции СК, происходящих из жировой ткани: стромально-васкулярную фракцию (СВФ), получаемую после центрифугирования гомогенизированной фракции жировой ткани, и СК, получаемые из СВФ при культивировании и размножении на питательных средах [15]. Установлено, что 1 г жировой ткани содержит около 250 тыс. клеток СВФ и только около 2% составляют СК [16]. Для получения СВФ разработаны автоматизированные технологии, позволяющие без культивирования клеток применять СВФ в клинической практике, что делает данный способ безопасным и доступным.

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было доказано, что применение СВФ способствует улучшению ангиогенеза. Данный эффект был обусловлен механизмом дифференцировки в эндотелиальные клетки и паракринным действием факторов роста [17, 18]. Результаты этих работ послужили поводом для изучения эффективности и безопасности СВФ в лечении ЭД.

Первый опыт лечения ЭД был представлен в 2004 г. С тех пор до 2015 г. было проведено 40 доклинических исследований, 1 клиническое исследование и зарегистрировано 6 клинических исследований в национальной базе здравоохранения США (clinicaltrials.gov; см. *таблицу*). В период с 2004 по 2011 г. было опубликовано 15 статей, в то время как в последующие 4 года выполнено 25 доклинических и 6 клинических исследований. В данных работах были смоделированы все причины ЭД — сахарный диабет, повреждение кавернозного нерва, гиперлипидемия, болезнь Пейрони. Использовали несколько типов СК: культивированные СК из костного мозга, жировой ткани, скелетно-мышечные клетки, пуповины, эндотелиальные прогениторные клетки и СВФ, полученную из жировой ткани (см. *таблицу*). При этом наиболее удобными и эффективными оказались СК из жировой ткани ввиду доступности и простоты забора жировой ткани [19].

М. Garcia и соавт. изучали способность СК из жировой ткани восстанавливать эректильную функцию при нарушениях, вызванных сахарным диабетом [20]. Моделями служили 22 крысы (ZDF), которых разделили на две группы: контрольную и экспериментальную, в которой крысам интракавернозно вводили 1 млн СК. Эффективность оценивали по результатам электростимуляции кавернозного нерва и данным иммуногистохимического исследования срезов кавернозных тел через 3 нед. после инъекции. Для подтверждения присутствия вводимых СК их помечали 5-бром-2-дезоксифлуоридином. Спустя 3 нед. в экспериментальной группе было отмечено значительное увеличение интракавернозного давления в ответ на электростимуляцию кавернозного нерва, по данным иммуногистохимического исследования срезов кавернозных тел возросло количество нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) в дорсальном нерве и эндотелиальных клеток в кавернозных телах.

После подтверждения эффективности культивируемых СК из жировой ткани X. Qiu и соавт. решили оценить способность некультивируемых СК влиять на эректильную функцию, а также сравнивать результаты немедленного и отсроченного введения [17]. Для работы было отобрано 89 крыс (Sprague Dawley), которых разделили на 4 группы. Моделью ЭД стало повреждение кавернозного нерва — аналог радикальной простатэктомии у мужчин. В 1-й группе ($n=23$) сразу после повреждения кавернозного нерва интракавернозно вводили физиологический раствор, во 2-й ($n=17$) группе СВФ вводили немедленно после повреждения кавернозного нерва, в 3-й ($n=23$) — через 4 нед. после повреждения, а 4-я группа ($n=26$) была контрольной. Оценка эффективности

проводилась на основании результатов электрической стимуляции кавернозного нерва и изучения иммуногистохимических срезов кавернозных тел. В группах с немедленным и отсроченным введением СВФ (2-я и 3-я) констатировали существенное улучшение показателей эректильной функции. Подтверждением являлось повышение интракавернозного давления в ответ на электрическую стимуляцию кавернозного нерва, увеличение экспрессии nNOS, количества нейрофиламентов в дорсальном половом нерве и восстановление соотношения гладкой мускулатуры и коллагена. Таким образом, улучшение эректильной функции было обусловлено стимуляцией нервной регенерации и предотвращением фиброза кавернозных тел.

Т а б л и ц а

Перечень доклинических исследований лечения эректильной дисфункции стволовыми клетками

Год исследования	Автор	Модель	Тип клеток	Способ введения	Ссылка
2004	Bochinski	Повреждение кавернозного нерва крысы	Аллогенные ESC	ИК+MPG	23
2006	Kim	То же	Аллогенные SKMSC	ИК	24
2009	Fall	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	25
2010	Albersen	«-«	Аутологичные ADSC	ИК	26
2010	Kendirci	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	27
2011	Lin	«-«	Аутологичные ADSC	ИК+перипростатически	28
2011	Woo	«-«	Аллогенные SKMSC	ИК	29
2012	Qiu	«-«	Аутологичная СВФ	ИК	17
2012	Kovanecz	«-«	SKMSC мыши	ИК	30
2012	Kim	«-«	Аллогенные BMSC	Кавернозный нерв	31
2012	Fandel	«-«	Аутологичные ADSC	ИК	32
2012	Piao	«-«	ADSC человека	Кавернозный нерв	33
2013	Jeong	«-«	ADSC человека	Кавернозный нерв	34
2013	Kim	«-«	ADSC человека	Кавернозный нерв	35
2013	You	«-«	BMSC человека	ИК+перипростатически	36
2013	You	«-«	ADSC человека	ИК+перипростатически	37
2013	Choi	«-«	СК из яичек человека	Перипростатически	38
2013	Ying	«-«	Аутологичные ADSC	ИК	39
2014	Ying	«-«	Аутологичные ADSC	ИК+перипростатически	40
2014	Lee	«-«	ADSC человека	ИК	41
2014	Ryu	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	42
2012	Qiu	Лучевое воздействие на крыс	Аллогенные ADSC	MPG	43
2007	Bivalacqua	Возрастные крысы	Аллогенные BMSC	ИК	44
2008	Nolazco	То же	SKMSC мышей	ИК	45
2010	Abdel Aziz	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	46
2010	Garcia	Сахарный диабет у крыс	Аутологичные ADSC	ИК	20
2011	Gou	То же	Аллогенные EPC	ИК	47
2011	Qiu	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	48
2012	Qiu	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	49
2012	Sun	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	50
2012	Nishimatsu	«-«	Аллогенные ADSC	ИК	51
2013	He	«-«	Аллогенные BMSC	ИК	52
2013	Liu	«-«	ADSC человека	ИК	53
2014	Ouyang	«-«	USC человека	ИК	54
2012	Ryu	Сахарный диабет у мышей	Изогенная СВФ	ИК	55
2014	Das	Сахарный диабет у мышей	СВФ человека	ИК	56
2010	Huang	Гиперлипидемия у крыс	Аутологичные ADSC	ИК	57
2012	Ma	Повреждение белочной оболочки у крыс	Аутологичные ADSC	Белочная оболочка	58
2013	Castiglione	То же	ADSC человека	Белочная оболочка	59
2014	Gokce	«-«	Аутологичные ADSC	Белочная оболочка	60

П р и м е ч а н и е. ADSC — СК из жировой ткани; BMSC — СК из костного мозга; EPC — эндотелиальные прогениторные СК; USC — СК из пуповины; SKMSC — СК из скелетно-мышечной мускулатуры; ИК — интракавернозная инъекция; MPG — тазовый ганглий.

В 2015 г. D. You и соавт. [21] опубликовали работу, в которой сравнили эффективность культивируемых СК и СВФ в лечении ЭД после повреждения кавернозного нерва. Сорок крыс были разделены на 4 группы. Первая группа служила контролем, второй группе интракавернозно вводили 0,9%-ный физиологический раствор, третьей – СВФ, четвертой – культивируемые СК. Эффективность оценивали через 4 нед. так же, как и в работе [17]. Результаты показали, что СВФ и культивируемые клетки равно эффективны в восстановлении эректильной функции. На поперечных срезах кавернозных тел определялось восстановление соотношения гладкой мускулатуры и коллагена, увеличение количества нейрональных синтез азота позитивных нейрофиламентов и экспрессии фактора фон Виллебранда.

К настоящему времени опубликована только 1 клиническая работа, в которой для лечения ЭД использовали СК. J. Bahk и соавт. [22] интракавернозно вводили СК, полученные из пуповинной крови, пациентам с ЭД, основной причиной которой стал сахарный диабет 2 типа. В исследовании участвовали 7 мужчин, средний возраст которых составил 69,5 (57–87) года. Ни один из пациентов не ответил ни на один из видов фармакотерапии. Результатом лечения стало появление утренних эрекций у 3 пациентов в течение 1 мес. и еще у 3 пациентов к концу 3-го месяца. Утренние эрекции сохранялись на протяжении более 6 мес. При монотерапии СК не удалось достичь достаточной для пентрации ригидности полового члена, однако прием ингибитора ФДЭ-5 позволил достичь пентрации 2 пациентам и поддерживать такое состояние на протяжении более 6 мес. Все мужчины, за исключением 1 пациента, отметили увеличение полового влечения в течение 11-месячного наблюдения. Двум пациентам выполнено протезирование полового члена, 4 пациента вернулись к исходному состоянию, у 1 пациента наблюдалась достаточно адекватная эректильная функция.

В мире продолжается поиск новых подходов с применением клеточной терапии. Так, во Франции проводится исследование, в котором интракавернозно вводят мезенхимальные СК, полученные из костного мозга, пациентам с ЭД после простатэктомии (Identifier: NCT01089387, clinicaltrials.gov); в США для лечения пациентов с ЭД васкулогенной и нейрогенной природой используют СВФ из жировой ткани (Identifier: NCT01601353, clinicaltrials.gov).

В России также начато клиническое исследование (Identifier: NCT02472431, clinicaltrials.gov) в НИИ урологии и репродуктивного здоровья человека Первого МГМУ им. И. М. Сеченова по оценке эффективности и безопасности интракавернозного введения аутологических регенеративных клеток жировой ткани для лечения ЭД органического генеза.

Таким образом, результаты как доклинических (преимущественно), так и клинических исследований по применению СК из жировой ткани дают основание надеяться, что изучаемый метод может стать эффективным способом лечения ЭД.

Разработка и внедрение новых методов лечения ЭД с применением СК из жировой ткани и СВФ являются перспективными направлениями регенеративной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sánchez-Cruz J.J., Cabrera-León A., Martín-Morales A., Fernández A., Burgos R., Rojas J. Male erectile dysfunction and health-related quality of life. *Eur. Urol.* 2003;44:245–253.
2. Laumann E.O., West S., Glasser D., Carson C., Rosen R., Kang J.-h. Prevalence and correlates of erectile dysfunction by race and ethnicity among men aged 40 or older in the United States: from the male attitudes regarding sexual health survey. *J. Sex. Med.* 2007;4:57–65.
3. Пушкарь Д.Ю. Эпидемиологическое исследование распространенности эректильной дисфункции в РФ XII съезд Российского общества урологов. М., 2012.
4. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Чалый М.Е., Ахвледиани Н.Д. Половые расстройства у мужчин. М. ГЭОТАР-Медиа. 2012.
5. Carvalho A.A., Pereira N.M., Maroco J., Forjaz V. Dropout in the treatment of erectile dysfunction with PDE5: a study on predictors and a qualitative analysis of reasons for discontinuation. *J. Sex. Med.* 2012;9:2361–2369.
6. Zhang H., Albersen M., Jin X., Lin G. Stem cells. Novel players in the treatment of erectile dysfunction. *Asian J. Androl.* 2011;14:145–155.
7. Keller G. Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes Dev.* 2005;19:1129–1155.
8. Becker C., Jakse G. Stem cells for regeneration of urological structures. *Eur. Urol.* 2007;51:1217–1228.
9. Evans M.J., Kaufman M.H. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature.* 1981;292:154–156.
10. Kiefer J.C. Primer and interviews: the dynamic stem cell niche. *Dev. Dyn.* 2011;240:737–743.
11. Voog J., Jones D.L. Stem cells and the niche: a dynamic duo. *Cell Stem Cell.* 2010;6:103–115.
12. Albersen M., Kendirci M. Multipotent stromal cell therapy for cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction. *J. Sex. Med.* 2012;9:385–403.
13. Baraniak P.R., McDevitt T.C. Stem cell paracrine actions and tissue regeneration. *Regener. Med.* 2010;5:121–143.
14. Piao S., Kim I.G., Lee J.Y., Hong S.H., Kim S.W., Hwang T.K., Oh S.H., Lee J.H., Ra J.C., Lee J.Y. Therapeutic effect of adipose-derived stem cells and BDNF-immobilized PLGA membrane in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2012;9:1968–1979.
15. Lin C.-S., Xin Z.C., Deng C.H., Ning H., Lin G., Lue T.F. Defining adipose tissue-derived stem cells in tissue and in culture. *Histol. Histopathol.* 2010;25:807–815.
16. Strem B.M., Hicok K.C., Zhu M., Wulur I., Alfonso Z., Schreiber R.E., Fraser J.K., Hedrick M.H. Multipotent differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J. Med.* 2005;54:132–141.
17. Qiu X., Fandel T.M., Ferretti L., Albersen M. Both immediate and delayed intracavernous injection of autologous adipose-derived stromal vascular fraction enhances recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Eur. Urol.* 2012;62:720–727.
18. Ryu J.-K., Tumurbaatar M., Jin H.-R., Kim W.J., Kwon M.-H., Piao S., Choi M.J. Intracavernous delivery of freshly isolated stromal vascular fraction rescues erectile function by enhancing endothelial regeneration in the streptozotocin-induced diabetic mouse. *J. Sex. Med.* 2012;9:3051–3065.
19. Varma M.J., Breuls R.G.M., Schouten T.E., Jurgens W.J.F.M., Van Ham S.M., Van Milligen F.J. Phenotypical and functional characterization of freshly isolated adipose tissue-derived stem cells. *Stem Cells Dev.* 2007;16:91–104.
20. Garcia M.M., Fandel T.M., Lin G., Shindel A.W., Banie L., Lin C.-S., Lue T.F. Treatment of erectile dysfunction in the obese Type 2 diabetic ZDF rat with adipose tissue-derived stem cells. *J. Sex. Med.* 2010;7:89–98.
21. You D., Jang M. J. Comparative Study of Autologous Stromal Vascular Fraction and Adipose-Derived Stem Cells for Erectile Function Recovery in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. *Stem Cells Trans Med.* 2015;351–358.
22. Bahk J.Y., Jung J.H., Han H., Min S.K., Lee Y.S. Treatment of diabetic impotence with umbilical cord blood stem cell intracavernosal transplant: preliminary report of 7 cases. *Exp. Clin. Transplant.* 2010;8:150–160.
23. Bochinski D., Lin G.T., Nunes L., Carrion R., Rahman N., Lin C.S., Lue T.F. The effect of neural embryonic stem cell therapy in a rat model of cavernous nerve injury. *BJU Int.* 2004;94:904–909.
24. Kim Y., deMiguel F., Usiene I., Kwon D., Yoshimura N., Huard J., Chancellor M.B. Injection of skeletal muscle-derived cells into the penis improves erectile function. *Int. J. Impot. Res.* 2006;18:329–334.
25. Fall P.A., Izikki M., Tu L., Swieb S., Giuliano F., Bernabe J., Souktani R., Abbou C., Adnot S., Eddahibi S., Yiou R. Apoptosis and effects of intracavernous bone marrow cell injection in a rat model of postprostatectomy erectile dysfunction. *Eur. Urol.* 2009;56:716–726.
26. Albersen M., Fandel T.M., Lin G., Wang G., Banie L., Lin C.-S., Lue T.F. Injections of adipose tissue-derived stem cells and stem cell lysate improve recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2010;7:3331–3340.
27. Kendirci M., Trost L., Bakondi B., Whitney M.J., Hellstrom W.J.G., Spees J.L. Transplantation of nonhematopoietic adult bone marrow stem progenitor cells isolated by p75 nerve growth factor receptor into the penis rescues erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Urol.* 2010;184:1560–1566.
28. Lin G., Albersen M., Harraz A.M., Fandel T.M., Garcia M., McGrath M.H., Konety B.R., Lue T.F., Lin C.-S. Cavernous nerve repair with allogenic adipose matrix and autologous adipose-derived stem cells. *Urology.* 2011;77:1501–1509.
29. Woo J.C., Bae W.J., Kim S.J., Kim S.D., Sohn D.W., Hong S.H., Lee J.Y., Hwang T.-K., Sung Y.C., Kim S.W. Transplantation of muscle-derived stem cells into the corpus cavernosum restores erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Korean J. Urol.* 2011;52:359–363.
30. Kovanecz I., Rivera S., Nolasco G., Vernet D., Segura D. Separate or

- combined treatments with daily sildenafil, molsidomine, or muscle-derived stem cells prevent erectile dysfunction in a rat model of cavernosal nerve damage. *J. Sex. Med.* 2012;9:2814–2826.
31. Kim S.J., Choi S.W., Lee J.Y., Hwang T.-K., Kim S.W. Synergistic effect of mesenchymal stem cells infected with recombinant adenovirus expressing human BDNF on erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Korean J. Urol.* 2012;53:726–732.
 32. Fandel T.M., Albersen M., Lin G., Qiu X., Ning H., Banie L., Lue T.F., Lin C.-S. Recruitment of intracavernously injected adipose-derived stem cells to the major pelvic ganglion improves erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Eur. Urol.* 2012;61:201–210.
 33. Piao S., Kim I.G., Lee J.Y. Therapeutic effect of adipose-derived stem cells and BDNF-immobilized PLGA membrane in a rat model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2012;9:1968–1979.
 34. Jeong H.H., Piao S., Ha J.N., Lee J.Y. Combined therapeutic effect of udenafil and adipose-derived stem cell (ADSC) brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-membrane system in a rat model of cavernous nerve injury. *Urology.* 2013;81:1108.e1107–1108.e1114.
 35. Kim I.G., Piao S. Effect of an adipose-derived stemcell and nerve growth factor-incorporated hydrogel on recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Tissue Eng. A.* 2013;19:14–23.
 36. You D., Jang M.J., Lee J., Jeong I.G. Periprosthetic implantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells potentiates recovery of erectile function by intracavernosal injection in a rat model of cavernous nerve injury. *Urology.* 2013;81:104–110.
 37. You D., Jang M.J., Lee J., Suh N. Comparative analysis of periprosthetic implantation and intracavernosal injection of human adipose tissue-derived stem cells for erectile function recovery in a rat model of cavernous nerve injury. *Prostate.* 2013;73:278–286.
 38. Choi W.Y., Jeon H.G., Chung Y. Isolation and characterization of novel highly proliferative human CD34/CD73-double-positive testis-derived stem cells for cell therapy. *Stem Cells Dev.* 2013;22:2158–2173.
 39. Ying C., Yang M., Zheng X., Hu W., Wang X. Effects of intracavernous injection of adipose-derived stem cells on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2013;33:233–240.
 40. Ying C., Hu W., Cheng B., Yang M., Zheng X., Wang X. Erectile function restoration after repair of resected cavernous nerves by adipose-derived stem cells combined with autologous vein graft in rats. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2014;34:393–402.
 41. Hwan L.S., Gul K.I. Combined effects of brain-derived neurotrophic factor immobilized poly-lactic-co-glycolic acid membrane with human adipose-derived stem cells and basic fibroblast growth factor hydrogel on recovery of erectile dysfunction. *Tissue Eng. A.* 2014;20:2446–2454.
 42. Ryu J.-K., Kim D.-H. Intracavernous delivery of clonal mesenchymal stem cells restores erectile function in a mouse model of cavernous nerve injury. *J. Sex. Med.* 2014;11:411–423.
 43. Qiu X., Villalta J., Ferretti L. Effects of intravenous injection of adiposederived stem cells in a rat model of radiation therapy-induced erectile dysfunction. *J. Sex. Med.* 2012;9:1834–1841.
 44. Bivalacqua T.J., Deng W., Kendrick M. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age-associated erectile dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007;292:1278–1290.
 45. Nolasco G., Kovanecz I., Vernet D., Gelfand R.A., Tsao J., Ferrini M.G., Magee T., Rajfer J., Gonzalez-Cadavid N.F. Effect of muscle-derived stem cells on the restoration of corpora cavernosa smooth muscle and erectile function in the aged rat. *BJU Int.* 2008;101:1156–1164.
 46. Abdel Aziz M.T., El-Haggag S., Mostafa T., Atta H., Fouad H., Mahfouz S., Rashed L., Sabry D., Senbel A., Ali G.A. Effect of mesenchymal stem cell penile transplantation on erectile signaling of aged rats. *Andrologia.* 2010;42:187–192.
 47. Gou X., He W.Y., Xiao M.Z., Qiu M., Wang M., Deng Y.Z., Liu C.D., Tang Z.B., Li J., Chen Y. Transplantation of endothelial progenitor cells transfected with VEGF165 to restore erectile function in diabetic rats. *Asian J. Androl.* 2011;13:332–338.
 48. Qiu X., Lin H., Wang Y., Yu W., Chen Y., Wang R., Dai Y. Intracavernous transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells restores erectile function of streptozocin-induced diabetic rats. *J. Sex. Med.* 2011;8:427–436.
 49. Qiu X., Sun C., Yu W., Lin H. Combined strategy of mesenchymal stem cell injection with vascular endothelial growth factor gene therapy for the treatment of diabetes-associated erectile dysfunction. *J. Androl.* 2012;33:37–44.
 50. Sun C., Lin H., Yu W. Neurotrophic effect of bone marrow mesenchymal stem cells for erectile dysfunction in diabetic rats. *Int. J. Androl.* 2012;35:601–607.
 51. Nishimatsu H., Suzuki E., Kumano S. Adrenomedullin mediates adipose tissue-derived stem cell-induced restoration of erectile function in diabetic rats. *J. Sex. Med.* 2012;9:482–493.
 52. He Y., He W., Qin G., Luo J., Xiao M. Transplantation KCNMA1 modified bone marrow-mesenchymal stem cell therapy for diabetes mellitus-induced erectile dysfunction. *Andrologia.* 2013:479–486.
 53. Liu G., Sun X., Bian J. Correction of diabetic erectile dysfunction with adipose derived stem cells modified with the vascular endothelial growth factor gene in a rodent diabetic model. *PLoS ONE.* 2013;8 c.
 54. Ouyang B., Sun X., Han D. Human urine-derived stem cells alone or genetically-modified with FGF2 improve type 2 diabetic erectile dysfunction in a rat model. *PLoS ONE.* 2014;3:92825 e.
 55. Ryu J.-K., Tumurbaatar M., Jin H.-R. Intracavernous delivery of freshly isolated stromal vascular fraction rescues erectile function by enhancing endothelial regeneration in the streptozotocin-induced diabetic mouse. *J. Sex. Med.* 2012;9:3051–3065.
 56. Das N.D., Song K.-M. Xenogenic transplantation of human breast adiposederived stromal vascular fraction enhances recovery of erectile function in diabetic mice. *Biol. Reprod.* 2014:90.
 57. Huang Y.-C., Ning H. The effect of intracavernous injection of adipose tissue-derived stem cells on hyperlipidemia-associated erectile dysfunction in a rat model. *J. Sex. Med.* 2010:7.
 58. Ma L., Yang Y., Sikka S.C. Adipose tissue-derived stem cell-seeded small intestinal submucosa for tunica albuginea grafting and reconstruction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012;109:2090–2095.
 59. Castiglione F., Hedlund P., Van der Aa F. Intratunical injection of human adipose tissue-derived stem cells prevents fibrosis and is associated with improved erectile function in a rat model of Peyronie's disease. *Eur. Urol.* 2013;63:551–560.
 60. Gokce A., Abd Elmageed Z.Y., Lasker G.F. Adipose tissue-derived stem cell therapy for prevention and treatment of erectile dysfunction in a rat model of Peyronie's disease. *Andrology.* 2014;2:244–251.

Поступила 27.09.15

М. Б. Чибилян^{1, 2}, М. И. Коган^{1, 2}, Т. О. Лаптева³, И. И. Белоусов², А. Г. Иванов², Е. А. Черногубова¹

ПЕРИПРОСТАТИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ СТЕНОЗА ВЕЗИКО-УРЕТРАЛЬНОГО АНАСТОМОЗА ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ ПРОСТАТЭКТОМИИ

¹ ФГБУН «Институт аридных зон Южного научного центра Российской академии наук», отдел молекулярной биологии; ² ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, НИИ урологии и нефрологии, кафедра урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии; ³ ГАУ РО «Областной консультативно-диагностический центр»; Ростов-на-Дону

Автор для связи: М. Б. Чибилян — д.м.н., доцент кафедры урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии ФПК и ППС РостГМУ; e-mail: michel_dept@mail.ru

Представлены результаты исследования, проведенного с целью выявления причин возникновения стенозирующего процесса в зоне везико-уретрального анастомоза (ВУА) после радикальной простатэктомии (РПЭ). Были изучены препараты удаленной предстательной железы у 115 пациентов с благополучным течением послеоперационного периода (1-я группа) и 5 больных, у которых в сроки от 6 мес. до 1 года имело развитие стеноза ВУА после РПЭ.

Установлено, что в 1-й группе воспалительный инфильтрат преимущественно не затрагивал зон роста опухоли, был слабо выражен и не выходил за пределы органа. Во 2-й группе пациентов воспаление имело максимальную степень выраженности, при этом воспалительная инфильтрация локализовалась как в зоне опухолевого процесса, так и в ткани железы на остальном протяжении, а также перипростатически.

Более выраженная воспалительная реакция в простате с экстракапсуляризацией процесса и вовлечением мышечнотканых перипростатических структур у пациентов, у которых после РПЭ развился стеноз ВУА, по сравнению с теми, у кого стеноз ВУА не отмечен, позволяет рассматривать данный феномен как фактор риска развития стенотических осложнений в зоне пузырно-уретрального сегмента после РПЭ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, радикальная простатэктомия, стеноз, везико-уретральный анастомоз, воспаление, фиброз простаты

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Для цитирования: Чибилян М.Б., Коган М.И., Лаптева Т.О., Белоусов И.И., Иванов А.Г., Черногубова Е.А. Перипростатическое воспаление как фактор риска развития стеноза везико-уретрального анастомоза после радикальной простатэктомии. Урология. 2015;6:52–56.

Введение. По данным Американского онкологического общества, в 2013 г. диагностировано 238 810 новых случаев рака предстательной железы (РПЖ), что делает его самой распространенной злокачественной опухолью у мужчин [1]. У среднего мужчины в США риск развития РПЖ в течение жизни превышает 16% [2]. Несмотря на то что радикальная простатэктомия (РПЭ) является довольно сложной в техническом отношении процедурой, только в 2010 г. было выполнено более 138 тыс. подобных вмешательств [1].

По мере совершенствования хирургической техники РПЭ снижается частота осложнений, однако неблагоприятные результаты остаются стандартным явлением. Одним из последствий РПЭ являются стриктуры везико-уретрального анастомоза (ВУА). Рубцовая ткань в зоне ВУА приводит к стенозированию шейки мочевого пузыря, а следовательно, к повышению риска развития obstructивных симптомов нижних мочевыводящих путей (СНМП). Наиболее широко используемые урологами эндоскопические методы лечения этого осложнения позволяют восстанавливать мочеиспускание, но в то же время могут обуславливать появление проблем инконтиненции.

По мере совершенствования техники выполнения оперативного вмешательства, в частности, с использованием марсупиализации слизистой оболочки шейки мочевого пузыря регистрируют стенозы ВУА все реже. Действительно, частота этого осложнения после РПЭ снизилась с 10–20% [3, 4] в 1990 г. до приблизительно 1–3% в настоящее время [5, 6]. В то же время стеноз ВУА остается одним из самых распространенных осложнений после РПЭ [7], который, как показывает опыт, появляется в течение первых 5 мес. в после операции [5, 8–10].

В качестве факторов, которые могут выступать в роли причин возникновения стриктуры ВУА, рассматривают образование гематомы, методику восстановления шейки мочевого пузыря, послеоперационный мочево́й затек и продолжительность катетеризации после РПЭ [3, 11]. Кроме того, было установлено, что на риск развития стриктуры ВУА влияют такие связанные с больным факторы, как ожирение, возраст, курение и хронические заболевания (гипертензия, сахарный диабет) [11, 12]. В конечном итоге стриктура ВУА, вероятно, имеет многофакторный характер.

Вместе с тем механизмы возникновения стенозирующего процесса в зоне ВУА полностью не изучены [13]. Так, результаты статистического анализа не выявили достоверной корреляционной связи между развитием стеноза ВУА и возрастом больного, объемом кровопотери, длительностью операции, назначением неоадьювантной терапии, предшествовавшей трансуретальной резекции предстательной железы, сохранением сосудисто-нервных пучков и стадией РПЖ [14].

Целью нашей работы стало изучение воспалительных изменений в препарате удаленного при РПЭ органокомплекса.

Материалы и методы. За 2013–2014 гг. одним хирургом были прооперированы 120 пациентов, которым была выполнена РПЭ, у 5 больных имело место развитие стеноза ВУА в сроки от 6 мес. до года после РПЭ. Больные с благополучным течением послеоперационного периода составили 1-ю группу, а пациенты, у которых имело развитие стеноза ВУА (в сроки от 6 мес. до 1 года) после РПЭ, – 2-ю (рис. 1).

В 1-й группе основная доля пациентов имела клиническую стадию T1c: cT0 – 1,5% наблюдений; cT1a – 1,5%; cT1c – 59,9%; cT2a – 12,2%; cT2b – 7,6%; cT2c – 17,3%. При определении патологической стадии после РПЭ отмечен феномен «миграции» стадии болезни почти в 50% случаев: pT2a – 9,2%; pT2b – 10,7%; pT2c – 32,2%; pT3a – 28,1%; pT3b – 15,3%; pT4 – 4,5%.

Во 2-й группе у 3 пациентов исходно диагностирована стадия cT1c, у 2 – cT2a и cT2c. Гистологическая стадия после РПЭ у двоих пациентов с ранее диагностированной стадией cT1c была определена как pT3a, у других троих имел место локальный рак.

По остальным параметрам: возрасту, уровню простатспецифического антигена, объему простаты, процентному содержанию опухолевой ткани в столбике биоптата при биопсии простаты, индексу Глисона после РПЭ, процентному содержанию опухоли в макропрепарате, достоверных различий между группами больных не выявлено (см. таблицу).

Морфологический материал фиксировали в растворе нейтрального 10%-ного забуференного формалина (PBS буфер) с экспозицией не более 24 ч. Вырезка хирургического материала осуществлена

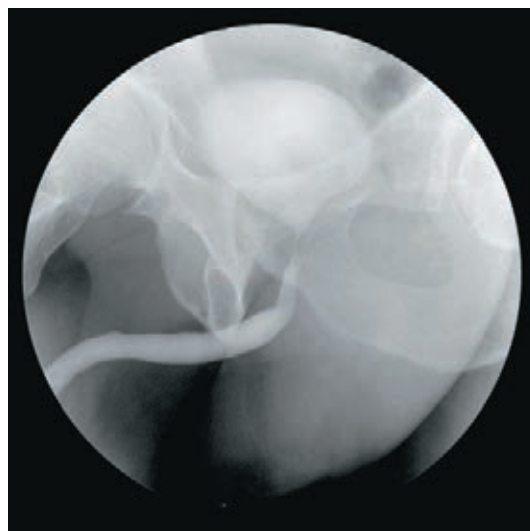


Рис. 1. Стеноз везико-уретрального анастомоза после радикальной простатэктомии

согласно алгоритму приема предстательной железы при РПЭ с маркировкой зон вырезки и присвоению каждому фрагменту отдельного номера. После этого проводку материала осуществляли в автоматическом гистопроцессоре Sacuga, далее материал заливали в парафиновые блоки, готовили срезы толщиной 4–5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Гистологический материал оценивали согласно алгоритму описания при опухолях предстательной железы с определением формы РПЖ с указанием распространенности опухоли по зонам и долям, суммы Глисона, на наличие сосудистой и периневральной инвазии, врастания/прорастания псевдокапсулы железы, оценки хирургических краев резекции. Кроме этого проведена оценка изменений ткани предстательной железы вне опухоли, выявлены доброкачественные гиперпластические процессы, зоны некрозов, фиброза, а также признаки воспаления. При наличии воспалительного инфильтрата оценивали зональность распространения (область

Характеристика больных (Me [LQ; UQ])

Т а б л и ц а

Показатель	1-я группа (n=115)	2-я группа (n=5)
Возраст, годы	58,00 [54,00; 60,00]	58,00 [56,00; 66,11]
ПСА, нг/мл	8,20 [5,00; 14,50]	10,00 [8,17; 10,60]
Объем простаты, см ³	49,95 [42,00; 60,11]	60,00 [52,40; 64,60]
Процент опухоли в биоптате	50,00 [41,08; 60,00]	60,00 [60,00; 60,00]
ИГ при биопсии	5,00 [4,00; 5,00]	5,00 [5,00; 6,00]
ИГ после РПЭ	6,50 [5,00; 8,00]	6,00 [5,00; 6,00]
Процент опухоли в препарате	50,00 [10,00; 80,00]	60,00 [60,00; 70,00]

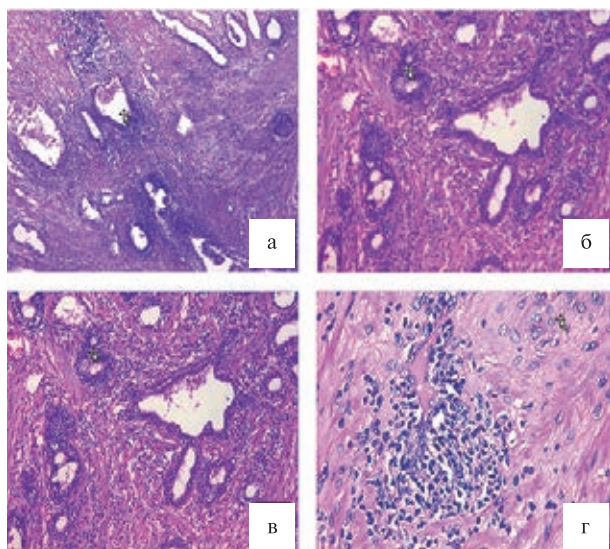


**Рис. 2. Препарат предстательной железы (2-я группа).
Окрашивание гематоксилином-эозином**

а — периацинарная и интерстициальная лимфоидная инфильтрация со сдавлением и дилатацией просвета железистых ацинусов, фиброз стромы, $\times 100$; *б* — лимфоидная инфильтрация вокруг ацинусов с частичной десквамацией эпителия в просвет, $\times 200$; *в* — периацинарная и периваскулярная лимфоидная инфильтрация, $\times 400$; *г* — опухолевый ацинус, инфильтрированный лимфоидными клетками с разрушением, $\times 400$.

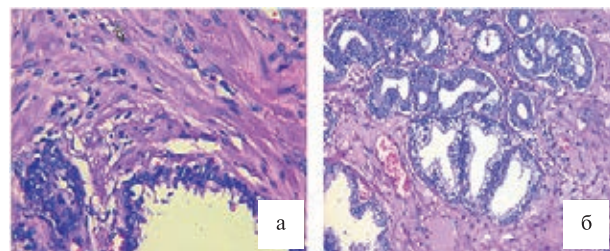


**Рис. 3. Препарат предстательной железы (1-я группа).
Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$**

а — дискретно расположенные в строме лимфоидные клетки; *б* — в ткани опухоли дискретно расположенные лимфоидные клетки.

основания, апикальная область, доли), объем распространения (очаговое или диффузное поражение) и характер воспалительного инфильтрата.

Для верификации воспалительного процесса использовали следующие морфологические признаки: 1) наличие в ткани простаты воспалительных инфильтратов, состоящих преимущественно из лимфоидных элементов с включением макрофагов, гистиоцитов и эозинофилов и расположенных чаще вокруг ацинусов и кровеносных сосудов, реже диффузно; 2) наличие в инфильтратах плазматических клеток; 3) фиброзирование стромы железы; 4) склеротические изменения стенок кровеносных сосудов железы.

Степень плотности воспалительного инфильтрата оценивали при увеличении объектива 40, окуляра 10 в трех полях зрения. В случае незначительного раз-

броса количественных показателей в разных полях зрения определяли среднее арифметическое значение. При наличии 0–5 лимфоидных клеток в поле зрения говорили об отсутствии воспаления (-); от 5 до 10 — о слабо выраженном воспалении (+), от 10 до 30 — об умеренно выраженном (++) и свыше 30 лимфоидных клеток — о резко выраженном воспалительном процессе (+++).

Результаты. При исследовании гистологических препаратов пациентов 2-й группы были выявлены воспалительные изменения в ткани простаты, характерные для хронического интерстициального неспецифического простатита формы. Эти изменения выражались в диффузно-очаговой воспалительной инфильтрации стромы предстательной железы, локализуемой во всех зонах железы (апикальной области, основании, в периферических и центральных отделах), преимущественно вокруг ацинарных железистых структур и протоков периваскулярно. Воспалительный инфильтрат локализовался как интерстициально, так и в железистых ацинарных структурах в виде внутриэпителиальных микроабсцессов с частичным разрушением ацинусов. Воспалительный инфильтрат по зонам распределялся неравномерно, его интенсивность варьировалась от выраженной степени (+++) до слабой (+). Воспаление в ткани предстательной железы было представлено лимфоидными клетками с морфологией малого лимфоцита, а также гистиоцитами, немногочисленными плазматическими клетками и единичными эозинофильными и нейтрофильными лейкоцитами. Периацинарная инфильтрация сопровождалась дилатацией ацинусов с выраженной десквамацией простатического эпителия (рис. 2, *а, б*), и в большей части ацинусов просвет был выполнен перерожденными амилоидными тельцами. При этом воспалительная инфильтрация локализовалась как в зоне опухолевого процесса (рис. 2, *г*), так и в ткани железы на остальном протяжении (рис. 2, *а, б*). В сосудах стромы определялись явления васкулита (рис. 2, *в*), стенки были утолщены, отечны, эндотелиальные и адвентициальные клетки гиперплазированы. Отмечено парапростатическое распространение воспалительного инфильтрата в периферических зонах предстательной железы, апикальной области и в основании.

У всех пациентов данной группы имела место фибротизация стромы железы, которая выражалась в утолщении и уплотнении коллагеновых волокон межлужочной ткани, межмышечном фиброзе и гиалинозе, дистрофии и атрофии гладкомышечных волокон, периваскулярном фиброзе. Особенно ярко этот процесс был выражен в области основания железы и парапростатических тканях области шейки мочевого пузыря, где анатомически строма более плотная за счет гипертрофии мышечных клеток, поэтому фиброз и ангиоматоз стромы можно было четко верифицировать.

У 4 пациентов в препарате простаты отмечено резко выраженное воспаление с примесью единичных эозинофильных лейкоцитов, локализующееся преимущественно в периферических отделах, апикальной зоне, в области основания с инфильтрацией псевдокапсулы железы и выходом воспалительной инфильтрации в парапростатические ткани.

У 1 пациента преобладало хроническое воспаление умеренно выраженной степени; с той же зональностью распределения, что у остальных в группе, распространение воспалительного инфильтрата в парапростатические ткани носило очаговый характер. Острого воспаления не отмечено ни у одного пациента 2-й группы.

У всех пациентов 2-й группы был отмечен фиброз стромы железы, более выраженный в области основания: межмышечный фиброз, периваскулярный фиброз с признаками распространения на перипростатические ткани, которые оценивались по хирургическим краям резекции.

При исследовании гистологических препаратов пациентов 1-й группы была выявлена умеренная и слабовыраженная степень воспалительной инфильтрации в ткани простаты. При этом распределение воспалительного инфильтрата в ткани железы носило преимущественно очаговый характер и при подсчете воспалительных клеток исследовалось 5 полей зрения с увеличением $\times 400$ с последующим определением среднего арифметического значения степени инфильтрации. Клетки воспалительного инфильтрата лежали дискретно в строме (рис. 3, а) и в виде очаговых неравномерно расположенных лимфоидных инфильтратов, локализующихся преимущественно в зонах гиперплазии и в периуретральной части простаты. Фиброзирование стромы не было выражено.

По сравнению со 2-й группой пациентов в 1-й группе воспалительный инфильтрат преимущественно не затрагивал зон роста опухоли или был слабо выражен (рис. 3, б). Распространения очагов воспаления за пределы псевдокапсулы простаты, в перипростатической зоне отмечено не было у большинства пациентов, за исключением единичных больных со слабовыраженной ограниченной воспалительной инфильтрацией в указанных зонах. Фиброзирование стромы железы было неравномерным с очаговостью распределения, преимущественно в периферической зоне и в области основания (периваскулярно и межмышечно), при этом отмечена гипертрофия мышечных клеток в основании железы и парапростатических тканях шейки мочевого пузыря.

Обсуждение. Серьезную озабоченность хирургов после радикальной простатэктомии вызывают такие осложнения операции, как эректильная дисфункция и недержание мочи. Однако не менее значимой проблемой является стриктура ВУА, которая может развиваться даже в опытных руках, в том числе при применении видеоэндоскопической техники [15].

Воспаление простаты сильно коррелирует с развитием СНМП, и ряд исследователей показали, что простатический фиброз играет важную роль в патогенезе инфравезикальной обструкции. L. Wong и соавт. [16] высказали предположение, будто воспаление предстательной железы вызывает фиброзные изменения, но эти причинно-следственные взаимоотношения не имеют в литературе объективной оценки. В исследовании авторов изучена фиброзная реакция как ответ на воспаление в простате мышей при индуцированном хроническом бактериальном простатите. Показано значительное увеличение содержания коллагена и гидроксипролина в ткани простаты. Корреляционный анализ

продемонстрировал прямую зависимость тяжести воспаления с накоплением коллагена в простате. Иммуногистохимически при гиперпродукции коллагена в большом количестве в воспаленной ткани предстательной железы определялись фиброциты. Эти данные указывают на то, что хроническое воспаление предстательной железы индуцирует образование коллагена и как следствие — подразумевает развитие фиброзного процесса в простате [16].

Не менее интересно исследование J. Ma и соавт. [17], в котором установлена зависимость фибротических изменений в простате и периуретральных тканях и СНМП. Были изучены простата и периуретральные ткани 28 мужчин, подвергнутых РПЭ. Проводили механическую оценку жесткости простаты. Фиксированные слои тканей были оценены на содержание коллагена и эластина в группах с наличием и отсутствием СНМП. Ткань простаты у мужчин с СНМП была значительно жестче ($p=0,0016$) и содержала больше коллагена ($p=0,0038$), чем у мужчин без СНМП. Авторы показали, что формирование внеклеточной соединительнотканной матрицы и фиброз ткани простаты в парауретральной зоне у мужчин с СНМП могут указывать на то, что фиброз может выступать как фактор, способствующий развитию СНМП.

В работе А. М. Пшихачева [18] показано, что при длительном течении воспалительного процесса в простате обнаруживается плоскоклеточная метаплазия эпителия ацинусов и протоков. Среди клеточных элементов воспалительных инфильтратов отмечают лимфоидные и плазматические клетки с примесью макрофагов. Обращает на себя внимание, что показатели всех факторов роста в секрете простаты имеют повышенные величины при внеклеточном инфицировании. Это служит объективным показателем того, что именно при внеклеточном инфицировании доминируют так называемые противовоспалительные цитокины. В то же время указанные цитокины (факторы роста) одновременно являются факторами, стимулирующими процесс пролиферации. С позиций фазности течения воспалительного процесса становится понятно, что они стимулируют процесс регенерации, т.е. заживления, поэтому недостаточность факторов роста, обусловленная любой причиной, является основой хронизации воспалительного процесса, поскольку прерывает процесс репаративной регенерации. Наблюдается также плоскоклеточная метаплазия эпителия ацинусов и протоков; длительное течение воспалительного процесса сопровождается фибротизацией паренхимы и капсулы [18].

Таким образом, принимая во внимание данные, полученные другими авторами, можно утверждать, что перипростатическое воспаление простаты с вовлечением в процесс шейки мочевого пузыря и мышечных структур верхушки предстательной железы может коррелировать со стенотическими осложнениями в зоне ВУА после РПЭ.

Заключение. В ходе настоящего исследования нами верифицированы особенности воспалительно-фибротических изменений в препарате предстательной железы после РПЭ, сопутствующие простатической онкопролиферации. Представляется справедливым утверждение, будто воспалительные

изменения в предстательной железе коррелируют с распространенностью фиброза в простате и в перипростатической зоне. Более выраженная воспалительная реакция в простате с экстракапсуляризацией процесса и вовлечением мышечнотканых перипростатических структур у пациентов, у которых после РПЭ развился стеноз ВУА, по сравнению с теми, у кого стеноз ВУА не отмечен, позволяет рассматривать данный феномен как фактор риска развития стеногических осложнений в зоне пузырно-уретрального сегмента после РПЭ.

В статье представлены результаты работ, выполненных при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Соглашения о предоставлении субсидии № 14.607.21.0099, уникальный идентификатор прикладных научных исследований и экспериментальных разработок (проекта) RFMEFI60714X0099, ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы».

ЛИТЕРАТУРА

1. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2013. Atlanta, GA: American Cancer Society. 2013.
2. SEER Cancer Statistics Review 1975–2010. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 2013:1992–2010.
3. Surya B.V., Provet J., Johanson K.E., Brown J. Anastomotic strictures following radical prostatectomy: risk factors and management. J Urol. 1990;143(4):755–758.
4. Fowler F.J., Barry M.J., Lu-Yao G., Roman A., Wasson J., Wennberg J.E. Patient-reported complications and follow-up treatment after radical prostatectomy. The National Medicare Experience. 1988–1990 (updated June 1993). Urology. 1993;42:622–629.
5. Breyer B.N., Davis C.B., Cowan J.E., Kane C.J., Carroll P.R. Incidence of bladder neck contracture after robot-assisted laparoscopic and open radical prostatectomy. BJU Int. 2010;106(11):1734–1738.
6. Msezane L.P., Reynolds W.S., Gofrit O.N., Shalhav A.L., Zagaja G.P., Zorn K.C. Bladder neck contracture after robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy: evaluation of incidence and risk factors and impact on urinary function. J Endourol. 2008;22(2):377–383.
7. Ghazi A., Scosyrev E., Patel H., Messing E.M., Joseph J.V. Complications associated with extraperitoneal robot-assisted radical prostatectomy using the standardized Martin classification. Urology. 2013;81(2):324–331.
8. Vanni A.J., Zinman L.N., Buckley J.C. Radial urethrotomy and intravesical mitomycin C for the management of recurrent bladder neck contractures. J. Urol. 2011;186:156–160.
9. Webb D.R., Sethi K., Gee K. An analysis of the causes of bladder neck contracture after open and robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy. BJU Int. 2009;103:957–963.
10. Giannarini G., Manassero F., Mogorovich A., Valent F., De Maria M., Pistolesi D., De Antoni P., Selli C. Cold-knife incision of anastomotic strictures after radical retropubic prostatectomy with bladder neck preservation: efficacy and impact on urinary continence status. Eur Urol. 2008;54:647–656.
11. Borboroglu P.G., Sands J.P., Roberts J.L., Amling C.L. Risk factors for vesicourethral anastomotic stricture after radical prostatectomy. Urology. 2000;56:96–100.
12. Sandhu J.S., Gotto G.T., Herran L.A., Scardino P.T., Eastham J.A., Rabbani F. Age, obesity, medical comorbidities and surgical technique are predictive of symptomatic anastomotic strictures after contemporary radical prostatectomy. J Urol. 2011;185:2148–2152.
13. Dillioglulugil O., Leibman B.D., Leibman N. S. Kattan M.W., Rosas A.L., Scardino P. T Risk factors for complication and morbidity after radical retropubic prostatectomy. J. Urol. 1997;157:1760–1767.
14. Аль-Шукри С.Х., Невирович Е.С., Кузьмин И.В., Борискин А.Г. Ранние и поздние осложнения радикальной простатэктомии. Урологические ведомости. 2012;II(2):10–14.
15. Rassweiler J., Seemann O., Schulze M., Teber D., Hatzinger M., Frede T. Laparoscopic versus open radical prostatectomy: A comparative study at a single institution. J. Urol. 2003;169:1689–1693.
16. Wong L., Hutson P.R., Bushman W. Prostatic inflammation induces fibrosis in a mouse model of chronic bacterial infection. PLoSOne. 2014;9(6):100770.
17. Ma J., Gharaee-Kermani M., Kunju L., Hollingsworth J. M., Adler J., Arruda E.M., Macoska J.A. Prostatic Fibrosis is Associated with Lower Urinary Tract Symptoms. J. Urol. 2012;188(4):1375–1381.
18. Пишихачев А.М. Клинико-морфологические аспекты хронического простатита. Автореф. кандидата мед. наук. М., 2011. 23 с.

Поступила 30.09.15