



## 实验中用组织工程结构置换尿道成形术

## SUBSTITUTIONAL URETHROPLASTY WITH TISSUE-ENGINEERED STRUCTURES IN AN EXPERIMENT

© A.A. Gorelova<sup>1,2</sup>, A.N. Murav'ev<sup>1,3</sup>, T.I. Vinogradova<sup>1</sup>, A.I. Gorelov<sup>2,4</sup>, N.M. Yudintseva<sup>5</sup>, Yu.A. Nashchekina<sup>5</sup>, I.A. Samusenko<sup>6</sup>, P.K. Yablonsky<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;

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

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

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

<sup>6</sup>Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine of the Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, Saint Petersburg, Russia

For citation: Gorelova AA, Murav'ev AN, Vinogradova TI, et al. Substitutional urethroplasty with tissue-engineered structures in an experiment. *Urology reports (St. Petersburg)*. 2020;10(3):201-208. <https://doi.org/10.17816/uroved46031>

Received: 03.07.2020

Revised: 21.08.2020

Accepted: 23.09.2020

🔗 **研究现实性。** 为了消除在传统的外科手术中在尿道置换术范围内出现的困难，近年来已经使用组织工程技术开发了替代材料。这项研究致力于使用各种组织来源的细胞和生物聚合物开发新型的尿素塑料组织工程结构，这是现代医学迫切需要解决的问题。

**目的：** 实验证明了使用组织工程结构替代尿道缺损的可能性。

**材料与方**法。两阶段的研究，实验，控制。致力于基于植入间充质干细胞或颊上皮细胞的生物聚合物的组织工程构建体 (TEC) 的开发。将准备好的TECs植入兔子的急性创伤模型中，插入尿道中。TEC申请结果与金标准的比较—口腔塑料。

**结果。** 通过尿道造影，在所有动物组中都获得了相似的结果，无论植入材料的类型如何。没有发现尿道不正常现象，共聚焦显微镜检查尿道冰冻切片发现粘液层中存在有纳米颗粒标记的间充质干细胞/口缘上皮细胞具有在尿路上皮方向上分化的迹象。

**结论。** 替代尿素塑料的试验条件下，展示了使用生物聚合物组织日内瓦结构的可能性，就含自体工程学中层干细胞或口缘上皮细胞。实验中发达的TEC可以作为颊道尿道成形术的替代方法。

🔗 **关键词：** 尿道；组织工程结构；颊上皮细胞；组织工程；尿道成形术。

🔗 **Introduction.** In order to exclude the difficulties arising in the course of traditional surgical interventions in the scope of substitutional urethroplasty, in recent years, alternative materials have been developed using tissue engineering. This study is devoted to the development of new tissue-engineered constructions for urethroplasty using cells of different tissue origins and biopolymers, which is an urgent problem of modern medicine.

**Aim.** Experimental provision of a rationale for the possibility of using tissue-engineered constructions to replace urethral defects.

**Methods and materials.** Two-staged, experimental, controlled study. Dedicated to the development of tissue-engineered constructions (TEC) based on biopolymers seeded with mesenchymal stem cells or buccal epithelial cells. The prepared TECs were implanted into the rabbit's urethra wall in a acute trauma model. Comparison of the results of the TECs usage with the "gold standard" – buccal urethraplasty was carried out.

**Results.** Urethrography showed similar results in all groups of animals, regardless the type of implanted material. No urethral patency was found, and confocal microscopy of urethral cryosections revealed the presence of nanoparticle-labeled mesenchymal stem cells / buccal epithelium cells with signs of their differentiation in the urothelial direction in the mucous layer.

**Conclusion.** The possibility of using tissue-engineered constructions based on biopolymers containing autologous mesenchymal stem cells or buccal epithelium cells for experimental substitutional urethroplasty was shown. The developed TECs can be used as an alternative to buccal urethroplasty in an experiment.

⊗ **Keywords:** urethra; tissue engineered construct; buccal epithelial cells; tissue engineering; urethroplasty.

## 绪论

治疗尿道病理的主要方法是外科手术。有些情况下需要计划和执行操作的技术中的非标准方法[1, 2]。有许多替代性和增强尿道塑料,选择取决于病理过程的定位、病因和损伤范围。被植入的材料是用自己的组织:包皮上的皮碎片,阴茎的皮肤,阴囊,会阴,阴道包片,睾丸,颞粘膜移植术,膀胱粘液[3]。

除了传统的碎屑和移植之外,替代性尿素塑料目前正在使用组织工程开发替代材料。目的是避免传统的业务干预过程中出现的图形长度不足的复杂性,以及在捐助区的并发症和持续时间的增加[4]。

我们自己的使用包含间充质干细胞(MSC)的组织工程构造物替代膀胱缺损的经验表明, MSC具有形成类似于尿路上皮的结构的能力[5, 6],从而有可能扩大其应用范围。

我们项研究致力于使用各种组织来源的细胞和生物聚合物开发新型的尿素塑料组织工程结构,这是现代医学迫切需要解决的问题。

**研究目的**—实验证明了使用组织工程结构替代尿道缺损的可能性。

## 材料与方法

两阶段的研究,实验,控制。第一阶段 *in vivo* 研究中包括了10种成熟的雌雄性非线性大鼠,体重  $393.7 \pm 29.97$  克(350-444克),作为细胞基质生物降解研究的一部分。

第二阶段,创建了组织工程结构(TEC)对实验动物(兔子)植入急性尿道损伤模型。本阶段研究包括31种成年雄性毛兔,体重为  $3919.1 \pm 378.01$  克(3366-5145克)。

根据当前的法规文件,将动物饲养在标准条件下,并在两周的隔离检疫后进入研究,在没有外部病理迹象的情况下,一般行为反应均发生了变化。

制备两种类型的支架材料。对于间充质干细胞的播种,我们使用了由聚(D, L)一丙交酯(PL)和聚己内酯(PC)组成的多孔基质(图1, a)。

由聚(D, L)一丙交酯组成的两层基质的多孔层为间充质干细胞的后续培养创造了有利条件。

对于使用颊上皮细胞(CBE)进行的尿道成形术,制作了基于聚羟基醚的两层支架(图1, b)。与尿液接触的内层由聚L一丙交酯—

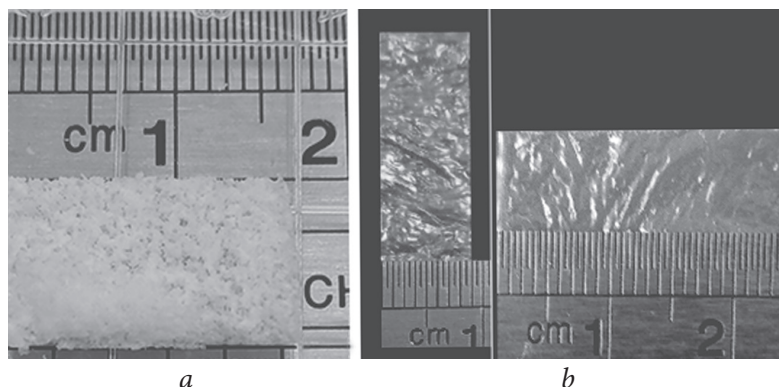


图. 1. 制备的支架材料样品: a—由PL + PC制成的多孔两层; b—两层PLG + PLC

Fig. 1. Samples of prepared scaffolds: a - porous two-layer scaffold based on PL + PC; b - flat two-layer scaffold based on PLG + PLC

己内酯 (PLC) (70/30) ( $h = 3.8 \text{ dl/g}$ , Purac) 形成。固体和液体不可渗透的结构提供了屏障功能 (对尿液) 和整个结构的机械强度。根据聚L-丙交酯-乙交酯 (PLG) (85/15) ( $h = 3.13 \text{ dl/g}$ , Purac) 制备第二层接种了颊上皮细胞的第二层, 这对CBE的培养最有利。支架材料通过臭氧法灭菌。

在10只非线性的白色雄性大鼠上, 进行了支架材料生物降解的研究。大鼠皮下植入支架材料PL + PC和PLC-PLG。

### 手术方案

全身麻醉下使用肌肉注射剂量为  $25 \text{ mg/kg}$  体重的盐酸瓦他敏 / 盐酸左拉西 am (Zoletil, Virbac SA, 法国) 和浓度为 1.0-1.5 的 2% 盐酸甲苯噻嗪 (Bioveta, 捷克) 制成的制剂 在背部肌肉内每毫升1毫升, 在椎骨线的两侧制作10个横向切口 (每侧5个), 每个切口长1.0厘米 (图2)。第一对切口用于控制, 第二对和第三对切口中, 将PL + PC细胞基质皮下植入, 第四和第五个一支架材料 PLC-PLG中。然后缝合伤口, 用消毒液治疗术后伤口, 并进行无菌敷料。

1和4周后大鼠从实验中删除 (每次分别5只大鼠) 使用盐酸瓦他敏制剂/zolazepam hydrochloride (盐酸盐) (Zoletil, Virbac SA, 法国) 以及肌肉松弛药盐酸赛拉嗪 (Rometar, Bioveta, 捷克共和国) 的剂量是治疗药物的5倍。进行了宏观影响评估。



图. 2. 大鼠背部皮下植入支架  
Fig. 2. Subcutaneous implantation of scaffolds in the rat back

研究的第二阶段是在实验动物的急性尿道损伤模型上创建并植入TEC。根据所用的移植物, 将兔子分为三组:

- 第1组包括9只兔子, 将它们以基于PL + PC的MSCs支架材料植入背外侧的尿道中。
- 第2组由15只兔子组成, 这些动物植入了基于PLG + PLC和CBE的支架材料。
- 第3组包括4只经颊尿道移植的兔子。

为了随后在体内实验中鉴定细胞, *in vivo* MSC和CBE用氧化铁的超顺磁性纳米粒子 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , SPION) 标记。

外科手术的进展情况见在图3。

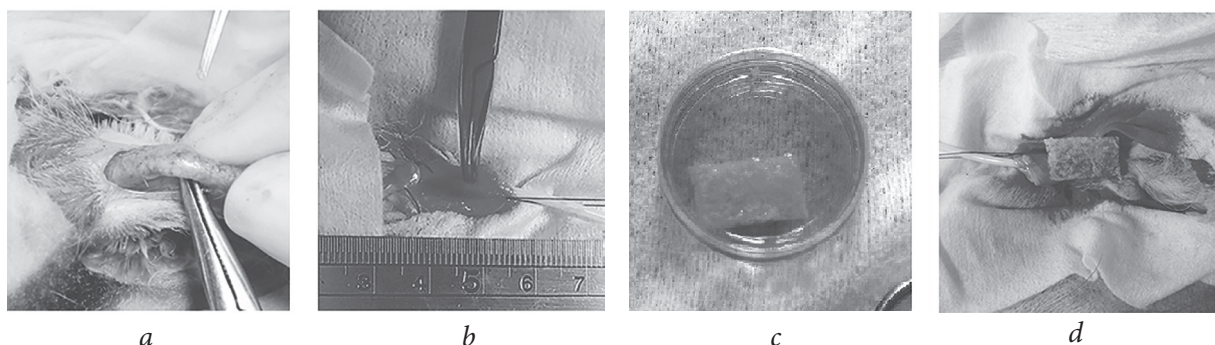


图. 3. 尿道成形术植入由PL + PC和间充质干细胞组成的组织工程结构: a—尿道背外侧暴露; b—打开尿道腔; c—具有间充质干细胞的组织工程构建体; d—组织工程结构和尿道缺损边缘的比较  
Fig. 3. Urethroplasty with implantation of the TEC, based on PL + PC with MSCs: a – the urethra is exposed dorso-laterally; b – the lumen of the urethra is opened; c – TEC with MSC; d – comparison of the TEC and the edges of the urethral defect

全身麻醉下(Zoletil, Virbac SA, 法国, 肌肉注射剂量为25毫克/公斤体重和Bioveta的Rometar, 捷克共, 以2%的溶液注射, 肌肉注射剂量为1.0-1.5毫升)Foley6号沿尿道通过尿道被带入膀胱腔。沿阴茎表面纵向切开阴茎皮肤3厘米, 左侧以钝性和尖锐的方式突出显示带有海绵状体的尿道, 在背侧表面形成7 × 2毫米的粘膜缺损。第3组的兔子接受口腔黏膜的水准备, 取一个尺寸为1.5 × 0.5厘米的粘液移植物, 将其清除下面的组织并固定在海绵体的中膜白膜和缝合线中断的尿道缺损边缘(Vicryl 6/0)。对于第1组和第2组的动物, 将支架固定在缺损和海绵体的白膜边缘上, 并使用单独的间断缝合线(Vicryl 6/0)。将伤口分层缝合。用间断的缝合线将尿道导管固定在龟头上, 并在鼻孔处切断。手术前1小时, 用10毫克/千克的铍来进行Cefazolinum抗生素预防。手术后时期也使用了Cefazolinum抗生素预防10毫克/千克/日, 每天3次, 在5天内肌肉注射。

## 结果

我们的研究目标包括对支架材料的机械特性的研究, 如表所示第1图。

从表中的数据可以看出, 基于PLH + PLC的支架材料更具弹性和耐用性。进行手术干预时, 无论如何都没有缝合线。这项研究获得的支架材料的机械强度特性与C描述的天然兔尿道的相应特性相当。C.Feng和合著者[7]。

评估用于细胞基质的材料的毒性-聚L-丙交酯-己内酯(PLC, 70/30)和聚L-丙交酯-乙交酯(PLG, 85/15)—*in vitro*确定了间充质干细胞在合成聚合物膜上培养的条件下的活力(图4)。

1天后拍摄MSC培养的照片在如图所示4, 表明细胞可以保持其完整性, 并与测试材料一样良好地扩散和粘附, 而控制材料(玻璃)。这些标准显示了细胞的活力和材料的毒性。

表1 / Table 1

### 机械性能支架材料

#### Mechanical properties of scaffolds

支架材料	宽度, 毫米	厚度, 毫米	强度, MPa	断裂伸长率, %	弹性模量, MPa
PL + PC	3	1.2	0.19 ± 0.09	15.9 ± 3.4	1.68 ± 0.09
PLG + PLC	3	0.2	0.22 ± 0.07	19.1 ± 4.1	2.16 ± 0.18

注:  $p > 0.05$ .

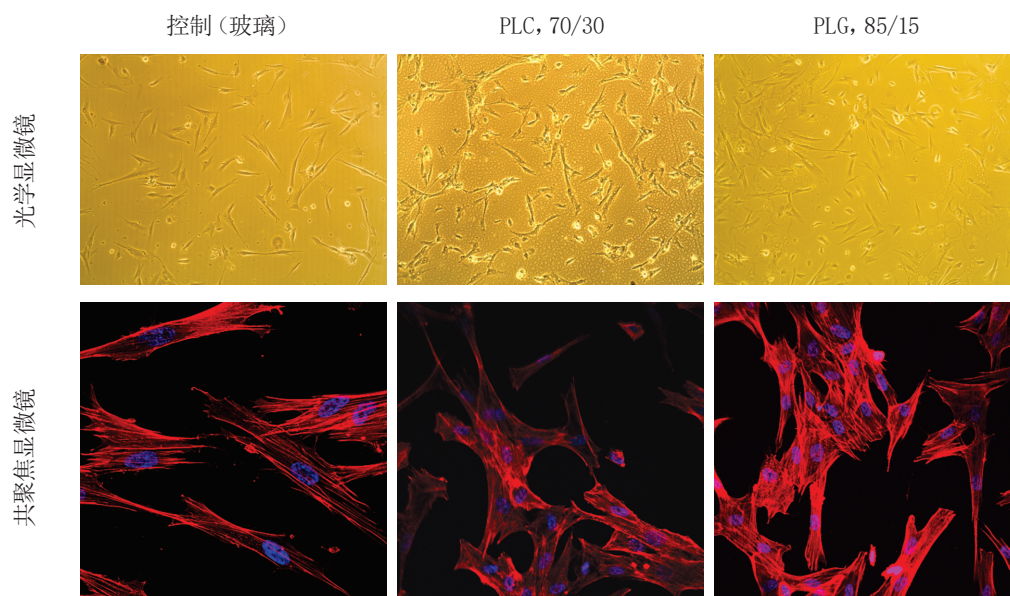


图. 4. 聚合物膜上培养1天后的人骨髓间充质基质细胞(光学显微镜, ×4; 共聚焦显微镜, ×40)

Fig. 4. Human bone marrow mesenchymal stem cells after 1 day of cultivation on polymer films (light microscopy ×4; confocal microscopy ×40)

研究1周后大鼠皮下植入支架材料的生物降解情况确定了植入物的部分生物降解,4周后是植入物完全生物降解(图5)。通过1周后基于PLH + PLC的支架材料在宏观上经历了更大的退化。

因此,对基于聚-L-丙交酯-己内酯和聚-L-丙交酯-乙交酯的新型支架材料的研究表明,这些基质具有良好的机械特性。但是当比较它们时,基于PLG + PLC的支架材料有更大的强度和弹性。生物降解的研究表明,所有支架材料在第4周就被完全吸收。比较它们时基于PLG + PLC支架材料的生物降解过程发生得更快。

为了评估术后尿道的状态,对所有兔子进行尸检后进行了逆行尿道造影(图6)。所有三个组的动物中尿道的通畅得以保留。

在第6图上显示尿道完全通畅,未发现狭窄和憩室。两只先前被诊断患有尿道皮肤瘘的兔子中(第2组),可见造影剂超出尿道腔的渗出(图6, *b*)。

因此,无论植入何种尿道置换材料。最重要的指标之一是尿道透光率。

准备好尿道宏观制剂后评估植入区。第2表中提交结果。

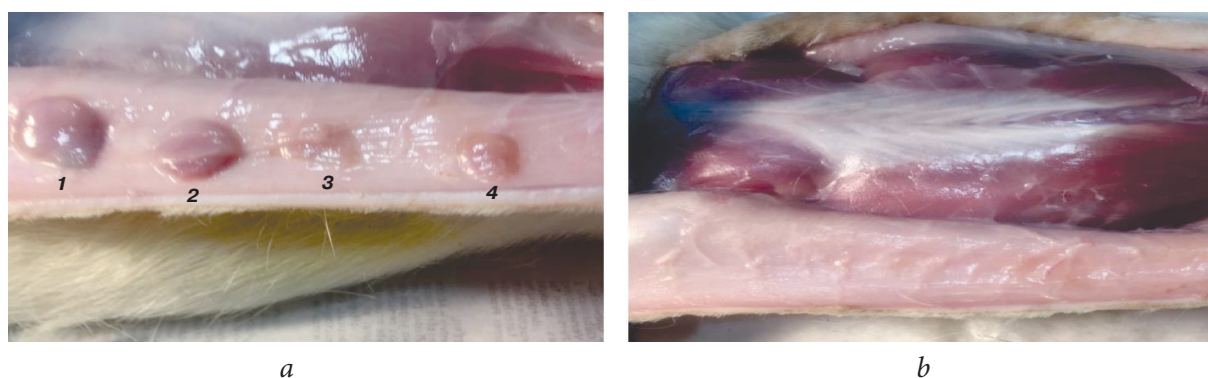


图. 5. 支架的生物降解过程—将研究的支架皮下植入大鼠(1, 2—PL + PC; 3, 4—PLC + PLG)中: *a*—1周后。植入后, 确定介入面积; *b*—4周后。从宏观上看, 干预区域不可见

Fig. 5. The process of scaffold biodegradation – the studied scaffolds (1, 2 – PL + PC; 3, 4 – PLC + PLG) were implanted subcutaneously in rats: *a* – 1 week after implantation, the intervention zone is determined; *b* – after 4 weeks, the intervention zone is not visualized macroscopically

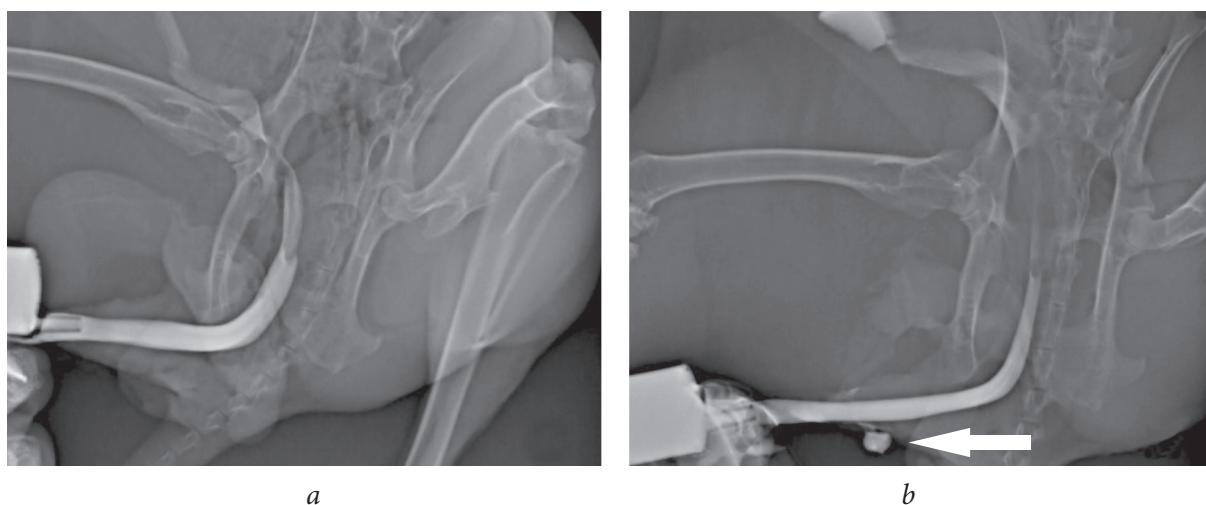


图. 6. 逆行尿道造影: *a*—保留尿道腔; *b*—造影剂渗入尿道腔外

Fig. 6. Retrograde urethrograms: *a* – the lumen of the urethra is preserved; *b* – the extravasation of the contrast agent outside the lumen of the urethra

表2 / Table 2

## 植入区的宏观特征

## Macroscopic characteristics of the implantation zone

组 (n)	尸检时间, 月	植入区域的可视化吸收绝对。(%)	种植体排斥反应, 绝对。(%)	植入物可视化, 绝对。(%)	憩室, 绝对。(%)	收窄, 绝对。(%)	针状气孔, 绝对。(%)
№ 1 (9)	1	3 (100)	0	0	0	0	0
	2	3 (100)	0	0	0	0	0
	3	2 (66.7)	0	0	0	0	0
№ 2 (15)	1	3 (100)	0	0	0	0	0
	2	3 (100)	0	0	0	0	0
	3	8 (88.9)	0	0	0	0	2 (22.2)
№ 3 (4)	3	4 (100)	0	4 (100)	0	0	0

第2表中提交结果表明在观察的第三个月, 部分动物被植入组织日内瓦结构是完全恢复尿道组织。因此, 1组和2组实验动物中只有66.7和88.9%的动物能显示出植入区。

植入区的宏观评估显示, 任何组均未出现植入物排斥, 尿道狭窄和憩室(图7)。

1和2个月手术后第一和第二组中在所有兔子中都可以看到植入区(图7, a)。但是3个月后, 在第1组和第2组中, 分别以66.7%和88.9%

看到植入区(图7, b)。所有动物的颊侧移植均清晰可见(图7, c)。在兔子组中发现了两个先前描述的尿道皮肤瘘, 它们被植入了基于PLG + PLC的TEC, 并带有颊上皮细胞(图7, d)。统计分析未显示植入材料与瘘管形成可能性之间的显著相关性(组间比较中Fisher精确检验的显著性水平 $p > 0.05$ )。

为了揭示活检标本中存在被纳米颗粒标记的细胞, 准备了冷冻切片。术后不同时间对尿道壁中SPION标记的MSC进行评

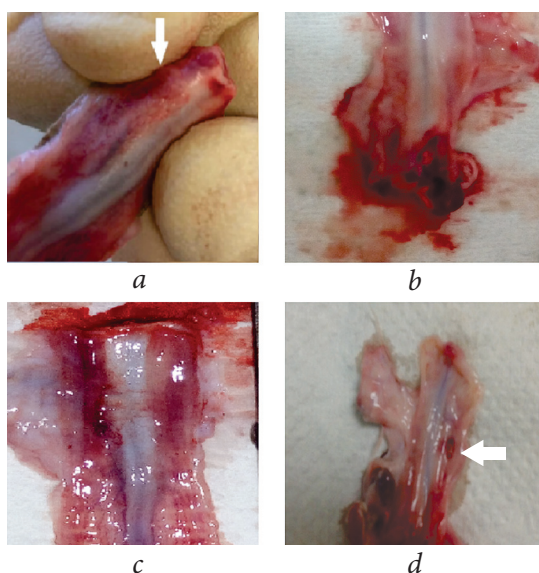


图7. 兔尿道的大量准备工作: a—组织工程化结构的植入区的可视化(第1组); b—植入区域不可见(第2组); c—颊侧移植物的可视化; d—尿道真皮瘘(箭头)

Fig. 7. Macro preparations of the rabbit urethra: a – visualization of the TEC implantation zone (group 1); b – the TEC implantation zone is not visualized (group 2); c – visualization of the buccal graft; d – urethrocutaneous fistula (arrow)

估(第1组的兔子)。使用完整的尿道作为对照(图8)。细胞核用DAPI(蓝色)染色,并使用二极管激光器(405 nm)检测。SPIONs在反射激光扫描(504 nm)上显示为红光。另外,用特异性抗体(细胞角蛋白AE1/AE3)和用FITC(绿色)标记的二抗(图8,尿道上皮)和抗 $\alpha$ SMA抗体(图8,肌肉层)对制剂进行染色。

图7中显示了纳米颗粒标记的MSC与细胞角蛋白染色的AE1/AE3尿路上皮的共定位。这证明了MSC分化为新尿路上皮细胞的可能性。肌肉层中发现存在纳米颗粒标记的MSC,但是与抗 $\alpha$ SMA染色的平滑肌细胞共定位没有被观察到。标记细胞的这种排列表明植入尿道中的TEC中包含的MSC参与肌肉层的形成,但不要在平滑肌方向上进行分化。

评估第二组和第一组动物活检标本中纳米颗粒标记的CBE的存在使用相同的技术进行(图9)。

组2在第12周时细胞角蛋白染色的AE1/AE3的局部定位并包含CBE纳米颗粒,还表明它们可能分化为新尿路上皮细胞。肌肉床上没有发现类似的碱化。第3组的活检组织和完整组织中,未发现标记有纳米颗粒的细胞。

因此,通过共聚焦显微镜获得的数据令人信服地表明,不仅将TEC组合物中使用的细胞的活力保存了3个月,而且还获得了尿路上皮的特性。

### 结论

这项研究的结果令人信服地表明,在实验条件下,使用含有自体间充质干细胞或颊上皮细胞的生物聚合物的组织工程化构建体进行尿道成形术的可能性已得到令人信服的证明。这些组织工程化的构建体可用作颊部尿道成形术的实验替代方法。

在俄罗斯基础研究基金会(项目号19-58-55001 China\_a)的支持下进行了超顺磁

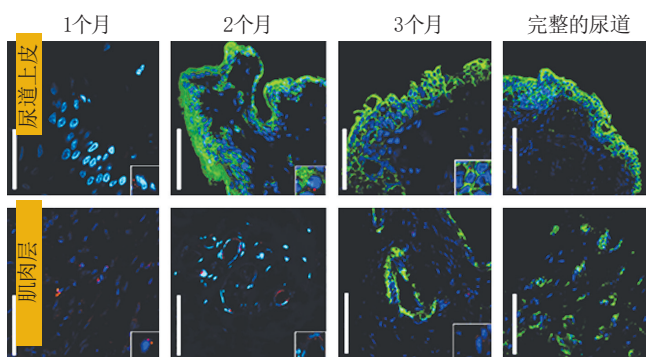


图. 8. 共聚焦显微镜, 在植入带有间充质干细胞的组织工程构建体后的不同时间, 观察粘液层中纳米颗粒的状态。比例尺对应于100微米

Fig. 8. Confocal microscopy, visualization of nanoparticles in the mucous layer at different time after implantation of TECs with MSCs. The scale bars correspond to 100  $\mu$ m

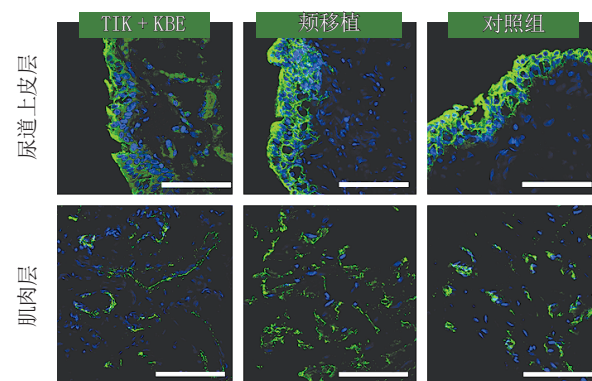


图. 9. 共聚焦显微镜。口腔颊黏膜上皮细胞(CBE)植入组织工程构建体(TEC)后12周, 观察粘膜层中的纳米颗粒。比例尺对应于100微米

Fig. 9. Confocal microscopy, visualization of nanoparticles in the mucous layer 12 weeks after implantation of TECs with buccal epithelial cells. The scale bars correspond to 100  $\mu$ m

性氧化铁纳米粒子的制备。实验*in vitro*(细胞培养, 组织工程构建体的开发和制备)在状态分配0103-2019-0012的框架内进行。

### REFERENCES

1. Аль-Шукри С.Х., Невирович Е.С., Перекалин П.В., и др. Заместительная уретропластика свободными лоскутами слизистой оболочки щеки при протяженных стриктурах передней уретры // Урологические ведомости. – 2012. – Т. 2. – № 2. – С. 48–51. [Al-Shukri SKh, Nevirovich ES, Perekalin PV, et al. Substitute urethroplasty using free oral mucosa grafts in treatment of long strictures of anterior urethra. *Urologicheskie vedomosti*. 2012;2(2): 48-51. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17816/uroved2248-51>.
2. Barbagli G, Kulkarni SB, Fossati N, et al. Long-term followup and deterioration rate of anterior substitution urethroplasty. *J Urol*. 2014;192(3):808-13. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2014.02.038>.
3. Cheng L, Li S, Wang Z, et al. A brief review on anterior urethral strictures. *Asian J Urol*. 2018;5(2):88-93. <https://doi.org/10.1016/j.ajur.2017.12.005>.

4. Versteegden LRM, de Jonge PKJD, IntHout J, et al. Tissue Engineering of the Urethra: A Systematic Review and Meta-analysis of Preclinical and Clinical Studies. *Eur Urol.* 2017;72(4):594-606. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.03.026>.
5. Муравьев А.Н., Орлова Н.В., Блинова М.И., Юдинцева Н.М. Тканевая инженерия в урологии, новые возможности для реконструкции мочевого пузыря // Цитология. – 2015. – Т. 57. – № 1. – С. 14–18. [Murav'ev AN, Orlova NV, Blinova MI, Yudintseva NM. Tissue engineering in urology, new approaches for urinary bladder reconstruction. *Cell and tissue biology.* 2015;57(1):14-18. (In Russ.)]
6. Yudintseva NM, Nashchekina YA, Blinova MI, et al. Experimental bladder regeneration using a poly-l-lactide/silk fibroin scaffold seeded with nanoparticle-labeled allogenic bone marrow stromal cells. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:4521-4533. <https://doi.org/10.2147/IJN.S111656>.
7. Feng C, Xu YM, Fu Q, et al. Evaluation of the biocompatibility and mechanical properties of naturally derived and synthetic scaffolds for urethral reconstruction. *J Biomed Mater Res A.* 2010;94(1):317-325. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32729>.

*Information about the authors:*

**Anna A. Gorelova** — Postgraduate Student, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; Assistant-Professor, Department of Hospital Surgery, St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [gorelovauro@gmail.com](mailto:gorelovauro@gmail.com).

**Aleksandr N. Murav'ev** — Candidate of Medical Science, Head of Urology, Gynecology and Abdominal Surgery Direction, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor, Department of Surgical Diseases, St. Petersburg Medico-Social Institute, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [urolog5@gmail.com](mailto:urolog5@gmail.com).

**Tatiana I. Vinogradova** — Doctor of Medical Science, Professor, Chief Researcher, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [vinogradova@spbniif.ru](mailto:vinogradova@spbniif.ru).

**Andrei I. Gorelov** — Doctor of Medical Science, Professor, Department of Hospital Surgery. St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia; Head, Urology Department, Pokrovskaya Municipal Hospital, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [gorelov\\_a\\_i@mail.ru](mailto:gorelov_a_i@mail.ru).

**Natalia M. Yudintseva** — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher. Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [yudintseva@mail.ru](mailto:yudintseva@mail.ru).

**Yulia A. Nashchekina** — Candidate of Biological Sciences, Research Fellow. Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [ulychka@mail.ru](mailto:ulychka@mail.ru).

**Igor A. Samusenko** — Candidate of Medical Science, Pathologist, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [egors\\_2000@mail.ru](mailto:egors_2000@mail.ru).

**Petr K. Yablonsky** — Doctor of Medical Science, Professor, Director, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; Head, Department of Hospital Surgery, St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [ghirurgb2@mail.ru](mailto:ghirurgb2@mail.ru).