

# Положительный опыт трансплантации многокомпонентного композита, содержащего аллогенные мезенхимальные стволовые клетки после резекции стенки мочевого пузыря кролика (описание эксперимента)

Н.В. Орлова<sup>1</sup>, А.Н. Муравьев<sup>1,4</sup>, Т.И. Виноградова<sup>1</sup>, Н.М. Юдинцева<sup>2</sup>, Ю.А. Нащеккина<sup>2</sup>, Н.В. Заболотных<sup>1</sup>, А.А. Лебедев<sup>1</sup>, М.Г. Шейхов<sup>1</sup>, П.К. Яблонский<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>4</sup> Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт»

Ответственный за контакт с редакцией: Орлова Надежда Валерьевна, [nadinbat@gmail.com](mailto:nadinbat@gmail.com)

**Цель:** изучение возможности применения многокомпонентного трансплантата с использованием аллогенных клеток для замещения дефекта стенки мочевого пузыря в экспериментальных условиях.

**Материалы и методы:** По стандартной методике выделены и культивированы мезенхимальные стромальные клетки костного мозга кролика. Многокомпонентный композит на основе полилактидной матрицы заселен аллогенными клетками и трансплантирован *in vivo* на модель парциальной резекции мочевого пузыря кролика.

**Результаты:** Через 2,5 месяца на серии магнитно-резонансных томограмм виден заполненный мочевой пузырь нормальной емкости. В месте имплантации визуализируется наводящий артефакт от введенных в клетки железосодержащих меток. При конфокальной микроскопии криосрезом в месте имплантации определяются меченые клетки, принимающие участие в формировании структуры, сходной с уротелием.

**Заключение:** Проведенный эксперимент в очередной раз показывает необходимость дальнейших исследований в области реконструкции стенки мочевого пузыря. Разработка методик создания многокомпонентного трансплантата с использованием аллогенных клеток может способствовать улучшению результатов лечения патологий, при которых получение аутологичного материала не представляется возможным. Полученные на сегодняшний день результаты хоть и являются обнадеживающими, но требуют более детального изучения.

**Ключевые слова:** аллогенная трансплантация, мезенхимальные стромальные клетки костного мозга, мочевой пузырь, тканевая инженерия.

**Для цитирования:** Орлова Н.В., Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Юдинцева Н.М., Нащеккина Ю.А., Заболотных Н.В., Лебедев А.А., Шейхов М.Г., Яблонский П.К. Положительный опыт трансплантации многокомпонентного композита, содержащего аллогенные мезенхимальные стволовые клетки после резекции стенки мочевого пузыря кролика (описание эксперимента). Экспериментальная и клиническая урология 2019;(4):26-30

DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-26-30

## Positive experience of transplantation of a multicomponent composite containing allogeneic mesenchymal stem cells after resection of the rabbit bladder wall (description of experiment)

N. V. Orlova<sup>1</sup>, A. N. Muravyov<sup>1,4</sup>, T. I. Vinogradova<sup>1</sup>, N. M. Yuditseva<sup>2</sup>, Yu. A. Nashedkina<sup>2</sup>, N. V. Zabolotnykh<sup>1</sup>, A. A. Lebedev<sup>1</sup>, M. G. Sheikho<sup>1</sup>, P. K. Yablonsky<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup> Private educational institution of higher education «St. Petersburg Medical and Social Institute»

Contacts: Orlova Nadezhda Valerievna, [nadinbat@gmail.com](mailto:nadinbat@gmail.com)

**Introduction:** The evaluation of the possible use of a multicomponent graft with allogeneic cells to replace a defect in the bladder wall under experimental conditions.

**Materials and methods:** The rabbit bone marrow mesenchymal stromal cells were isolated and cultured according to the standard method. A multicomponent composite based on a polylactide matrix was colonized by allogeneic cells and transplanted *in vivo* to a model of a partial resection of a rabbit bladder.

**Results:** Full bladder with normal capacity is visible on a series of MRI images after 2.5 months. The guiding artifact from the iron-containing labels introduced into the cells is visualized at the implantation site. Labeled cells taking part in the formation of a structure similar to urothelium are identified at the site of implantation using confocal microscopy of cryosections.

**Conclusions:** The experiment shows again the need for further research in the field of bladder wall reconstruction. The development of methods for creating a multicomponent graft using allogeneic cells can help improve the treatment results for pathologies where impossible to obtain autologous material. The recent results, although encouraging, require more detailed study.

**Key words:** allogeneic transplantation, bone marrow mesenchymal stromal cells, bladder, tissue engineering.

**For citation:** Orlova N.V., Muravyov A.N., Vinogradova T.I., Yuditseva N.M., Nashedkina Yu.A., Zabolotnykh N.V., Lebedev A.A., Sheikho M.G., Yablonsky P.K. Positive experience of transplantation of a multicomponent composite containing allogeneic mesenchymal stem cells after resection of the rabbit bladder wall (description of experiment). Experimental and clinical urology 2019;(4):26-30

Пациенты с так называемым малым мочевым пузырем (МП) составляют наиболее тяжелый контингент среди больных, страдающих заболеваниями мочеполовой системы, в том числе и туберкулезом [1,2]. Практически всем этим больным требуется реконструктивно-восстановительная хирургическая помощь. В то же время на сегодняшний день множество проблем, связанных с реконструктивной хирургией МП, остаются нерешенными [3]. По всему миру для замещения нефункционирующего МП, при неэффективности консервативных методов лечения, используют фрагменты желудочно-кишечного тракта, что нередко приводит к ряду осложнений [4,5]. Однако использование кишечной ткани уже более ста лет остается золотым стандартом в реконструкции мочевых путей. Очевидно, что найти подходящую замену ткани МП с ее уникальными свойствами совсем не просто.

Тканевая инженерия занимает важное место среди современных научных тенденций и подразумевает разработку подходов для реконструкции или замещения поврежденных тканей с использованием клеток и скаффолдов. Однако в структуре общего объема публикаций по данной теме урологические аспекты освещены весьма скудно.

В последние годы для лечения поврежденных органов и тканей человека широкое практическое применение находят синтетические биорезорбируемые полимерные материалы, которые используют в качестве скаффолдов для культивирования клеток. Скаффолды должны обладать следующими свойствами: механическая прочность, нетоксичность (в том числе и продуктов их деградации), способствовать росту клеток, при этом скорость деградации материала и восстановления поврежденной ткани должны быть сопоставимы [6,7].

Зарубежными учеными опубликованы успешные попытки создания тканевых аналогов стенки МП, применение «биоинженерных тканей» для трансплантации опробовано в экспериментальных условиях [8]. *In vivo* предпринят удачный опыт замещения МП у 14 собак выращенным *in vitro* неоцистисом [9]. После удачного эксперимента на лабораторных животных сгенерированный *in vitro* резервуар успешно трансплантирован человеку [10].

Однако исследователи в качестве источника клеток использовали собственные ткани МП, что невозможно в случаях замещения всех тканей мочевого пузыря рубцовыми, когда практически отсутствуют здоровый уротелий и мышечная стенка. Наши исследования направлены на поиск возможности применения клеточных технологий для помощи именно таким пациентам, имеющим малый МП, в том числе и туберкулезной этиологии [11].

Известно, что некоторые клетки организма не обладают выраженной иммуногенностью, и подходят для аллогенной трансплантации. Из всего многообразия клеточных источников хочется выделить группу мезенхимальных стволовых клеток (МСК). *In vitro* доказана способность МСК дифференцироваться в клетки, обладающие свойствами гладких миоцитов, уротелиальных и эндотелиальных клеток. Поэтому

они являются весьма заманчивым кандидатом для реконструкции мочевого пузыря [12]. Мезенхимальные стволовые клетки обладают способностью воздействовать на иммунный ответ, снижая выраженность реакции на имплант [13].

За последний год опубликованы результаты системной терапии МСК при различных заболеваниях [14,15] и экспериментальных работ по реконструкции различных урологических структур. Мировой опыт применения аллогенных МСК для реконструкции МП на сегодняшний день представлен всего несколькими экспериментальными исследованиями [16-20].

*Цель.* Изучение возможности применения многокомпонентного трансплантата с использованием аллогенных мезенхимальных стволовых клеток красного костного мозга для замещения дефекта стенки МП в экспериментальных условиях.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на взрослом кролике-самце породы «шиншилла» (питомник «Рапполово» РАМН, Санкт-Петербург). МСК кролика выделены по стандартной методике после забора красного костного мозга из гребня подвздошной кости кролика (рис. 1) [21]. Клетки мечены железосодержащими наночастицами.

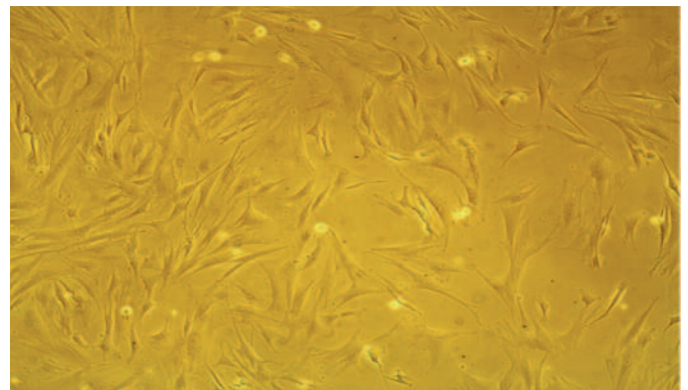


Рис. 1. Морфология мезенхимальных стволовых клеток (x100)  
Fig. 1. Morphology of mesenchymal stem cells (x100)

В качестве материала для приготовления скаффолда использован полимер на основе молочной кислоты – поли-L,L-лактид. Внешний вид матрицы представлен на рисунке 2а. Гидрофобный характер полилактида и отсутствие специфических сайтов связывания с рецепторами клеток существенно ограничивает использование его для культивирования и трансплантации клеток. Оказалось, что с этой проблемой можно справиться, заполнив матрицу гелем на основе коллагена I типа (рис. 2б).

После культивирования необходимого количества МСК приготовлен трансплантат на основе полилактидной матрицы, заселенной мечеными клетками в составе коллагенового геля, который трансплантирован *in vivo* после парциальной резекции МП кролика.

Анестезиологическое пособие включало: комбинированный препарат для анестезии тилетамина гидрохлорид/золазепам гидрохлорид (золетил) в дозе 25 мг/кг массы ■

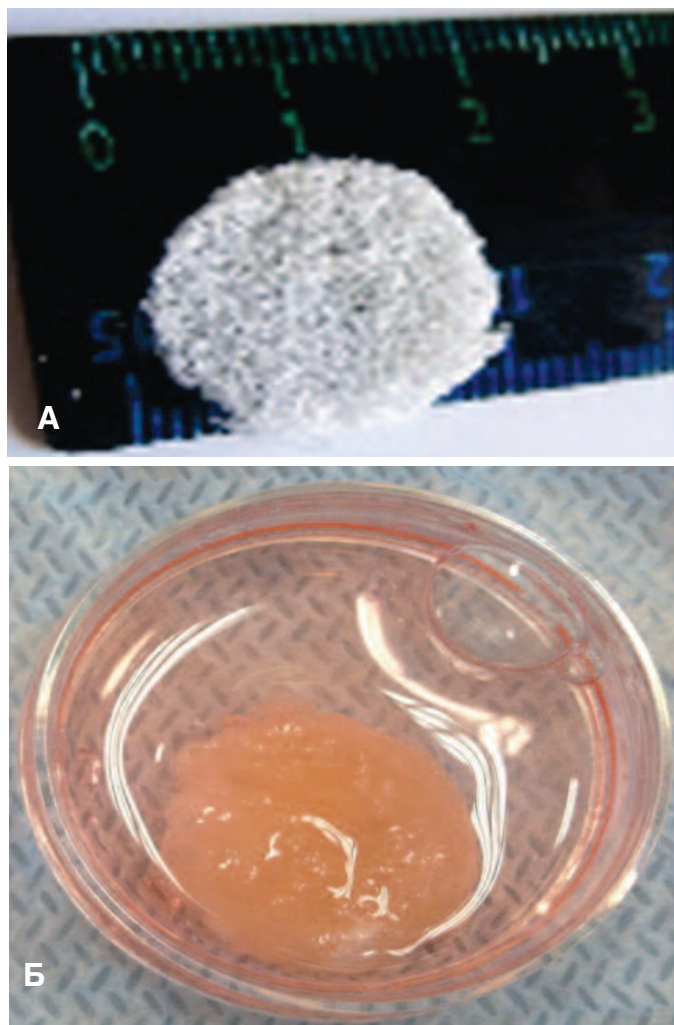


Рис. 2. Матрица на основе поли-L,L-лактида  
 А – Внешний вид матрицы; Б – Матрица, заселенная клетками  
 Fig. 2. A matrix based on poly-L, L-lactide  
 А – The view of the matrix; Б – Cell populated matrix

тела внутривенно в краевую ушную вену; миорелаксант ксилазина гидрохлорид (рометар) в виде 2% раствора внутримышечно в объеме 1,0-1,5 мл. Под общей анестезией МП кролика выведен в рану через срединный лапаротомический разрез длиной 4 см. По передней стенке МП частично отсепарована паравезикальная клетчатка, выполнена резекция фрагмента стенки пузыря 2,0x2,0см (рис. 3а). Приготовленный многокомпонентный трансплантат фиксирован к стенке МП узловыми швами викрил 4-0 (рис. 3б), снаружи анастомоз укреплен отсепарованной околопузырной клетчаткой (рис. 3в). Деривация мочи осуществлена цистостомическим дренажом (подключичный венозный катетер), проведенным под кожей на спину. Рана ушита послойно.

Период наблюдения составил 2,5 месяца, в течение которого еженедельно проводился мониторинг массы тела животного, также выполнялись клинический и биохимический анализы крови и общий анализ мочи, изучалось кислотно-основное состояние крови. В конце периода наблюдения выполнена магнитно-резонансная томография.

Животное выведено из эксперимента с использованием препаратов тилетамина гидрохлорид/золазепам гид-

рохлорид (золетил) и ксилазина гидрохлорид (рометар) в дозах втрое превышающих терапевтическую.

Исследования проводили в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными «European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123» и Правилами лабораторной практики (Приказ Мини-

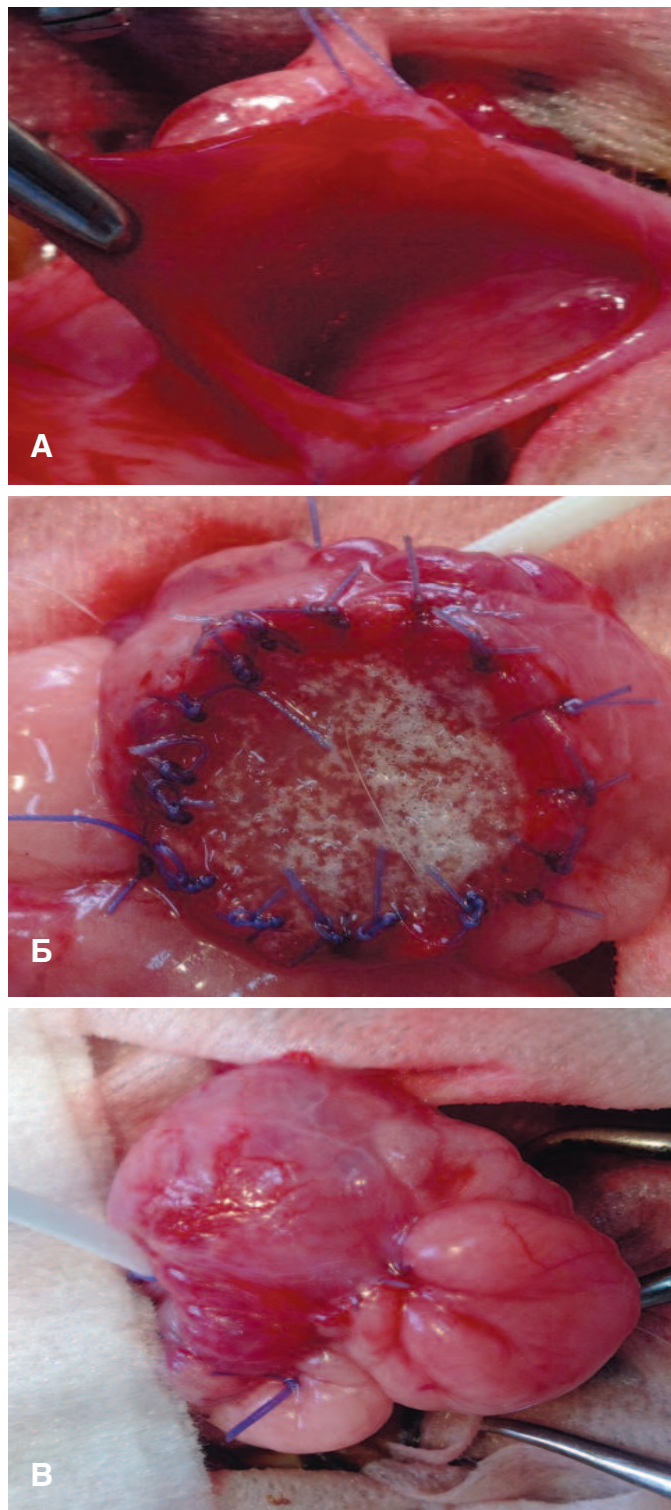


Рис. 3. Замещение дефекта мочевого пузыря  
 А – Мочевой пузырь кролика после резекции фрагмента; Б – Закрытие дефекта заселенным клетками скаффолдом; В – Внешний вид мочевого пузыря  
 Fig.3. Bladder defect replacement  
 А – Rabbit bladder after fragment resection; Б – Closure of the defect with a cell-infused scaffold; В – The view of the bladder

стерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Животное перенесло операцию хорошо. Рана зажила первичным натяжением. Катетер удален на 14-е сутки. За период наблюдения в анализах крови и мочи не зафиксировано патологических сдвигов, также отмечался адекватный прирост массы тела кролика.

На серии магнитно-резонансных томограмм виден заполненный мочевой пузырь нормальной емкости (рис. 4).

В месте имплантации визуализируется наводящий артефакт от введенных в клетки железосодержащих меток.

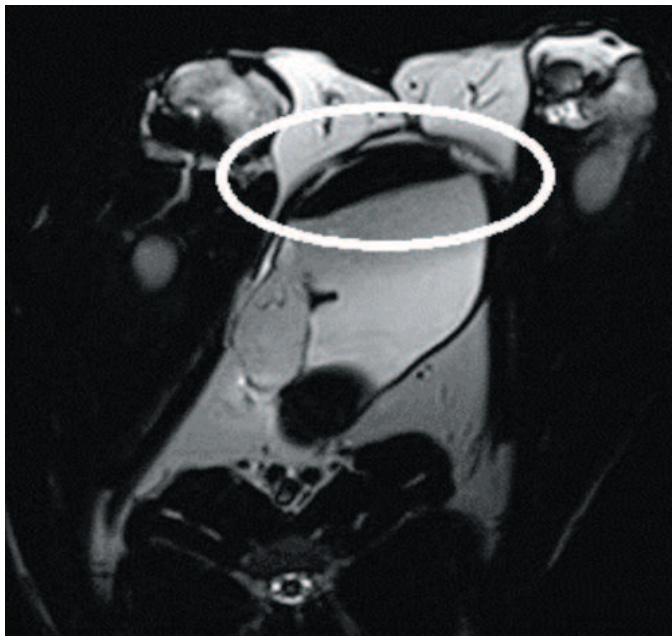


Рис. 4. Мочевой пузырь кролика при магнитно-резонансной томографии  
Fig. 4. Magnetic resonance imaging of rabbit's bladder

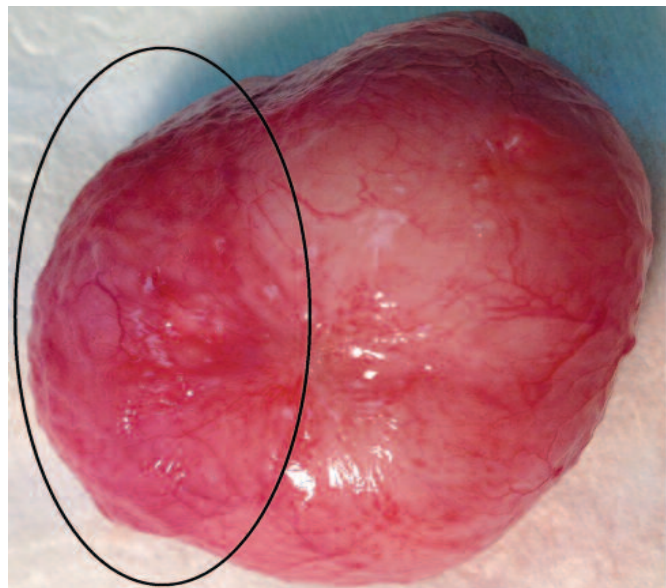


Рис. 5. Макроскопическое исследование. Внутренняя поверхность мочевого пузыря кролика  
Fig. 5. Macroscopic examination. The inner surface of the rabbit bladder

При макроскопическом осмотре патологических изменений со стороны внутренних органов не выявлено: паренхиматозные органы визуально не изменены, спаечный процесс и патологический выпот в брюшной полости отсутствовали, внутрибрюшные лимфатические узлы визуально не увеличены.

Следует отметить также отсутствие явлений отторжения трансплантата и признаки васкуляризации пересаженного лоскута (рис. 5).

При конфокальной микроскопии криосрезов в месте имплантации определяются меченые клетки, принимающие участие в формировании структуры, сходной с уротелием (рис. 6).

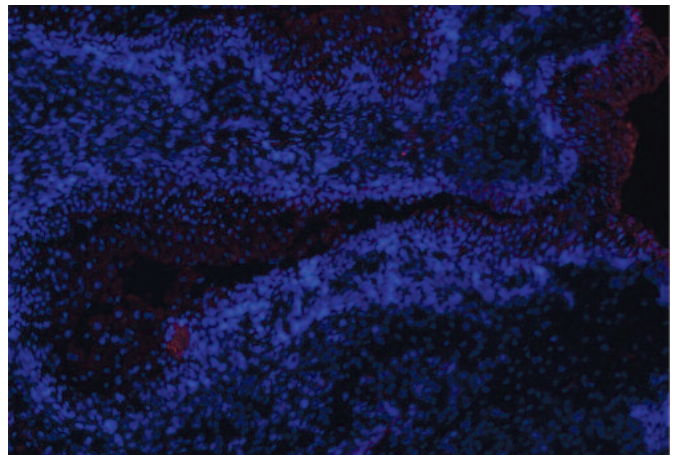


Рис. 6. Место имплантации при конфокальной микроскопии криосреза, x40  
Fig. 6. Place of implantation under confocal microscopy of cryosection, x40

## ОБСУЖДЕНИЕ

Идея использования мезенхимальных стволовых клеток для формирования тканеинженерных конструкций рассматривается многими ведущими российскими и зарубежными исследователями. В результате проведенного нами экспериментального исследования разработан аллогенный тканеинженерный продукт, который может применяться для хирургического восстановления дефекта мочевого пузыря. Показана принципиальная возможность трансплантации искусственных тканеподобных субстанций аллогенной природы.

Полученные положительные результаты создают предпосылки для дальнейшей разработки и создания многокомпонентного трансплантата с использованием аллогенных клеток, что, возможно, будет способствовать улучшению результатов лечения патологических состояний, при которых получение аутологичного материала не представляется возможным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный эксперимент в очередной раз показывает необходимость дальнейших исследований в области реконструкции стенки МП. Однако вопрос возможности применения МСК в клинической практике пока остается

открытым, уникальные свойства этих клеток до сих пор полностью не изучены и представляют собой огромный научный интерес. Полного понимания механизмов, отвечающих за их

защитные и регенеративные эффекты, пока не достигнуто. Полученные на сегодняшний день результаты хотя и являются обнадеживающими, но требуют более детального изучения. ■

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Зубань О.Н., Комяков Б.К. Хирургическая коррекция малого мочевого пузыря. СПб.: Стикс, 2011. 227 с. [Zuban O.N., Komaykov B.K. Surgical correction of the small bladder. St. Petersburg: Styx, 2011. 227 p. (In Russian)].
2. Муравьев А.Н., Зубань О.Н. Роль суправезикального отведения мочи в комплексном лечении больных туберкулезом почек и мочеточников. *Урология* 2012;(6):16-20. [Muravyev A.N., Zuban O.N. Role of supraventricular urine diversion in the treatment of patients with renal and urethral tuberculosis. *Urologiya = Urology* 2012;(6):16-20. (In Russian)].
3. Муравьев А.Н., Орлова Н.В., Блинова М.И., Юдинцева Н.М. Тканевая инженерия в урологии, новые возможности для реконструкции мочевого пузыря. *Цитология* 2015;57(1):14-18. [Muravyev A.N., Orlova N.V., Blinova M.I., Yudinseva N.M. Tissue engineering in urology, new approaches for urinary bladder reconstruction. *Cytologiya Cytology* 2015;57(1):14-18. (In Russian)].
4. Семенов С.А., Муравьев А.Н. Влияние хронической задержки мочеиспускания на качество жизни больных туберкулезом мочевого пузыря, перенесших augmentационную илеоцистопластику. *Туберкулез и социально значимые заболевания* 2014;(3):13-18. [Semenov S.A., Muravyev A.N. The influence of chronic urinary retention on the quality of life of patients with tuberculosis of the bladder undergoing augmentation ileal cystoplasty. *Tuberkulez i sotsial'no znachimyye zabolevaniya = Tuberculosis and socially significant diseases* 2014;(3):13-18].
5. Gupta NP, Kumar A, Sharma S. Reconstructive bladder surgery in genitourinary tuberculosis. *Indian J Urol* 2008;24(3):382-387. doi: 10.4103/0970-1591.42622.
6. Ho MH, Hou LT, Tu CY, Hsieh HJ, Lai JY, Chen WJ, et al. Promotion of cell affinity of porous PLLA scaffolds by immobilization of RGD peptides via plasma treatment. *Macromol Biosci* 2006;6(1):90-98. doi: 10.1002/mabi.200500130.
7. Shao J, Chen C, Wang Y, Chen X, Du C. Early stage structural evolution of PLLA porous scaffolds in thermally induced phase separation process and the corresponding biodegradability and biological property. *Polym Degrad Stab* 2012;97(6):955-963. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2012.03.014.
8. Pariente JL, Kim BS, Atala A. In vitro biocompatibility evaluation of naturally derived and synthetic biomaterials using normal human bladder smooth muscle cells. *J Urol* 2002. 167(4): 1867-1871.
9. Oberpenning F, Meng J, Yoo JJ, Atala A. De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nat. Biotechnol* 1999;17(2):149-155. doi: 10.1038/6146.
10. Yoo JJ, Olson J, Atala A, Kim B. Regenerative medicine strategies for treating neurogenic bladder. *Int Neurourol J* 2011;15(3):109-119. doi: 10.5213/inj.2011.15.3.109.
11. Орлова Н.В., Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Блюм Н.М., Семенова Н.Ю., Юдинцева Н.М. и др. Экспериментальная реконструкция мочевого пузыря кролика с использованием аллогенных клеток различного тканевого происхождения. *Медицинский Альянс* 2016;(1): 50-52. [Orlova N.V., Muravyev A.N., Vinogradova T.I., Blyum N.M., Semenova N.Yu., Yudinseva N.M., et al. Experimental reconstruction of rabbit bladder using allogeneic cells of different tissue origin. *Meditinskij Alyans = Medical Alliance* 2016;(1): 50-52. (In Russian)].
12. Da Silva ML, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all postnatal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006;119(Pt 11):2204-2213. doi: 10.1242/jcs.02932.
13. Yan SX, Deng XM, Wei W. A big step forward in the treatment of refractory systemic lupus erythematosus: allogeneic mesenchymal stem cell transplantation. *Acta Pharmacol Sin* 2013;34(4): 453-454. doi: 10.1038/aps.2013.33.
14. Du T, Zhu YJ. The Regulation of Inflammatory Mediators in Acute Kidney Injury via Exogenous Mesenchymal Stem Cells. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:261697. doi: 10.1155/2014/2616972014.
15. Liang J, Zhang H, Wang D, Feng X, Wang H, Hua B, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in seven patients with refractory inflammatory bowel disease. *Gut* 2012;61(3):468-469. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300083.
16. Coutu DL, Mahfouz W, Loutochin O, Galipeau J, Corcos J. Tissue engineering of rat bladder using marrow-derived mesenchymal stem cells and bladder acellular matrix. *PLoS One* 2014; 9(12): e111966. doi: 10.1371/journal.pone.0111966.
17. Snow-Lisy DC, Diaz EC, Bury MI, Fuller NJ, Hannick JH, Ahmad N, et al. The role of genetically modified mesenchymal stem cells in urinary bladder regeneration. *PLoS One* 2015;10(9): e0138643. doi: 10.1371/journal.pone.0138643.
18. Yuan H, Zhuang Y, Xiong J, Zhi W, Liu L, Wei Q, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells-seeded bladder acellular matrix grafts for reconstruction of bladder defects in a canine model. *PLoS One* 2013;8(11):e80959. doi: 10.1371/journal.pone.0080959.
19. Yudinseva NM, Nashchekina YA, Blinova MI, Orlova NV, Muravyov AN, Vinogradova TI, et al. Experimental bladder regeneration using a poly-L-lactide/silk fibroin scaffold seeded with nanoparticle-labeled allogeneic bone marrow stromal cells. *Int J Nanomedicine* 2016;(11):4521-4533. doi: 10.2147/IJN.S111656.
20. Hou X, Shi C, Chen W, Chen B, Jia W, Guo Y, et al. Transplantation of human adipose-derived mesenchymal stem cells on a bladder acellular matrix for bladder regeneration in a canine model. *Biomed Mater* 2016;11(3):031001. doi: 10.1088/1748-6041/11/3/031001.
21. Pittenger MF, Mbalaviele G, Black M, Mosca JD, Marshak DR. Mesenchymal Stem Cells. in Koller MR, Palsson BO, Masters JRW [eds.]. *Human Cell Culture*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2001. P. 189-20.

### Сведения об авторах:

Орлова Н.В. – научный сотрудник, направление урологии, гинекологии и абдоминальной хирургии, ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, nadinbat@gmail.com, AuthorID 767330;  
Orlova N.V. – Researcher, Department of Urology, Gynecology and Abdominal Surgery of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health, nadinbat@gmail.com; ORCID 0000-0002-6572-5956  
Муравьев А.Н. – к.м.н., руководитель направления урологии, гинекологии и абдоминальной хирургии, ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава, urolog5@gmail.com, AuthorID 641131  
Muravyev A.N. – PhD, Head of the Department of Urology, Gynecology and Abdominal Surgery of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health, urolog5@gmail.com, ORCID 0000-0002-6974-5305  
Виноградова Т.И. – д.м.н., проф., руководитель лаборатории экспериментального туберкулеза и новых медицинских технологий ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, vinogradova@spbniif.ru, AuthorID 639477  
Vinogradova T.I. – Dr. Sc., professor, head of the laboratory of experimental tuberculosis and new medical technologies of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health, vinogradova@spbniif.ru, ORCID 0000-0002-5234-349X  
Юдинцева Н.М. – к.б.н., старший научный сотрудник, ФГБУН Институт цитологии РАН (ИИЦ РАН), yudinseva@mail.ru, AuthorID 95652  
Yudinseva N.M. – PhD, Senior Researcher of FSBI of Cytology of RAS, yudinseva@mail.ru, ORCID 0000-0002-7357-1571  
Нашчехина Ю.А. – к.б.н., научный сотрудник, ФГБУН Институт цитологии РАН (ИИЦ РАН), ulychka@mail.ru, AuthorID 173826  
Nashchekina Yu.A. – PhD, Researcher of FSBI of Cytology of RAS, ulychka@mail.ru  
Заболотных Н.В. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментального туберкулеза и новых медицинских технологий ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, AuthorID 323236  
Zabolotnykh N.V. – Dr. Sc., Leading Researcher of the laboratory of experimental tuberculosis and new medical technologies of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health  
Лебедев А.А. – к.м.н., старший научный сотрудник ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, направление урологии, гинекологии и абдоминальной хирургии, dialog10.65@mail.ru, AuthorID 221508  
Lebedev A.A. – PhD, senior researcher of Department of Urology, Gynecology and Abdominal Surgery of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health, dialog10.65@mail.ru  
Шейхов М.Г. – аспирант ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, sheykhov@mail.ru  
Sheikhov M.G. – graduate student of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health, sheykhov@mail.ru  
Яблонский П.К. – д.м.н., профессор, директор ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, декан медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, ghltrngb2@mail.ru, AuthorID 196793  
Yablonsky P.K. – Dr. Sc., professor, director of FSBI SPb Research Institute of phthisiopulmonology of the Russian Ministry of Health, Dean of the Faculty of Medicine, St. Petersburg State University, ghltrngb2@mail.ru

### Вклад авторов:

Орлова Н.В. – работа с лабораторными животными, выполнение всех оперативных вмешательств, написание статьи.  
Муравьев А.Н. – работа с лабораторными животными, выполнение всех оперативных вмешательств, редактирование статьи.  
Виноградова Т.И. – работа с лабораторными животными, введение лекарственных препаратов, выполнение анестезиологического пособия и эвтаназии.  
Юдинцева Н.М. – работа с клеточными культурами, выделение, культивация клеток, заселение клетками скелета.  
Нашчехина Ю.А. – Вклад: разработка матрицы.  
Заболотных Н.В. – работа с лабораторными животными, введение лекарственных препаратов, выполнение анестезиологического пособия и эвтаназии.  
Лебедев А.А. – редактирование статьи, разработка дизайн исследования.  
Шейхов М.Г. – работа с лабораторными животными, выполнение оперативных вмешательств.  
Яблонский П.К. – дизайн исследования, контроль.

### Authors' contributions:

Orlova N.V. – work with laboratory animals, performing all surgical interventions, writing an article.  
Muravyov A.N. – work with laboratory animals, performing all surgical interventions, editing the article.  
Vinogradova T.I. – work with laboratory animals, the introduction of drugs, the implementation of anesthesia and euthanasia.  
Yudinseva N.M. – work with cell cultures, isolation, cultivation of cells, colonization of scaffold cells.  
Nashchekina Yu.A. – Contribution: matrix development.  
Zabolotnykh N.V. – work with laboratory animals, the introduction of drugs, the implementation of anesthesia and euthanasia.  
Lebedev A.A. – article editing, research design development.  
Sheikhov M.G. – work with laboratory animals, performing surgical interventions.  
Yablonsky P.K. – research design, control.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
*Conflict of interest.* The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование:** Исследование проведено без спонсорской поддержки.  
*Financing.* The study was performed without external funding.

**Статья поступила:** 27.08.19  
*Received:* 27.08.19

**Принята к публикации:** 10.09.19  
*Accepted for publication:* 10.09.19

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.  
The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for research and other scientific purposes.