

И.В. Майбородин, В.В. Морозов, Я.В. Новикова, В.А. Матвеева,
Л.В. Артемьева, А.Л. Матвеев, С.В. Хоменюк, С.В. Марчуков

Стимуляция ангиогенеза в тканях крыс после введения мезенхимальных стволовых клеток рядом с тромбированной веной

Центр новых медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. акад Лаврентьева, 8, imai@mail.ru

УДК 6616-005.6: 57.089.6
ВАК 14.01.05

Поступила в редакцию
6 апреля 2012 г.

© И.В. Майбородин,
В.В. Морозов,
Я.В. Новикова,
В.А. Матвеева,
Л.В. Артемьева,
А.Л. Матвеев,
С.В. Хоменюк,
С.В. Марчуков, 2012

Методами люминесцентной микроскопии изучали результаты введения аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения (АМСККП) с геном GFP и дополнительно меченных красителем клеточных ядер DAPI рядом с тромбированной веной задней конечности крыс. Было обнаружено, что АМСККП принимают участие в развитии грануляций в месте хирургического вмешательства, выполненного при моделировании тромбоза. Восстановление кровотока в тромбированной магистральной вене всегда идет за счет тромболитика. Признаки встраивания АМСККП в стенку тромбированного сосуда не найдены. Реканализация тромба и формирование коллатералей также не обнаружены. При моделировании тромбоза в эксперименте введением тромбина и лигированием магистральной вены также происходит тромбирование ее мелких ветвей. В них восстанавливается кровоток с привлечением введенных АМСККП или через реканализацию тромба, или через облитерацию тромбированных сосудов и прорастание новых. Постепенно введенные АМСККП и структуры, сформированные с их участием, вытесняются собственными клетками организма-реципиента. Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки; венозный тромбоз; реканализация тромба; ангиогенез; восстановление кровотока.

В настоящее время происходит постоянное увеличение числа больных с сосудистыми тромбозами [3]. Успех репаративных процессов во многом определяется развитием коллатерального кровотока и реканализацией самого тромба. Анализ причин неудачного лечения таких больных свидетельствует о том, что пути их преодоления состоят как в усовершенствовании технологии медикаментозного и хирургического лечения, так и в создании оптимальных условий для восстановления кровотока.

Красный костный мозг содержит прогениторные клетки (мезенхимальные стволовые клетки), способные к дифференцировке в эндотелиоциты и перициты. Это позволяет широко применять такие клетки для ускорения реваскуляризации тканей с нарушенной микроциркуляцией [6–10, 14]. Реваскуляризация тромба, быстрая реканализация вены и восстановление кровообращения в ишемизированных в результате тромбоза тканях были достигнуты в экспериментальных моделях с проангиогенными агентами [5, 7, 11, 12, 14].

В литературе имеется множество данных об эффективности использования клеточных технологий для стимуляции ангиогенеза. Однако применение МСК как самостоятельно, так и в комбинации с другими препаратами и веществами имеет свои недостатки и преимущества и должно осуществляться только с учетом всех возможных показаний и противопоказаний. В связи с вышеизложенным была поставлена следующая цель исследования: изучить возможность паравазального применения аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения для восстановления кровотока в тромбированной вене в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве модели были использованы самцы крыс линии Wag весом 180–200 г возрастом 6 мес. Все исследования проводили с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», все манипуляции осуществляли под общим ингаляционным эфирным наркозом.

АМСККП 2 пассажа, полученные от крысы указанной линии, трансфицировали ДНК плазмиды pEGFP-N1 (Clontech Laboratories Inc., USA), содержащей ген зеленого флуоресцентного белка GFP под контролем промотора цитомегаловируса и ген устойчивости к неомицину под контролем промотора вируса SV40, необходимого для последующей селекции с использованием дженетицина G418 (pEGFP-N1; Clontech Laboratories Inc., USA). Трансфекцию проводили в присутствии реагента для трансфекции TurboFect (Fermentas life sciences, Inc, Canada) согласно рекомендациям производителя, применяли протокол для трансфекции суспензионных клеток. Трансфекцию проводили, используя 1×10^6 клеток в 1 мл суспензии, 4 мкг ДНК плазмиды и 10 мкл реагента для трансфекции (TurboFect).

Через 4 ч после трансфекции клетки разводили нетрансфицированными клетками в соотношении 1:2,5, соответственно, и использовали для введения экспериментальным животным. Оставшиеся после трансплантации клетки поддерживали в культуре в течение 1 мес. для оценки эффективности трансфекции и стабильности экспрессии введенного гена.

Экспрессию введенного гена GFP АМСККП крысы оценивали визуально под флуоресцентным микроскопом, непосредственно просматривая культуру или используя камеру Горяева для подсчета трансфицированных клеток через 48 ч после трансфекции. Эффективность трансфекции оценивали как процент светящихся клеток относительно всех клеток в камере Горяева. Трансфицированные клетки в разбавленной культуре составляли около 3%.

Как и в большинстве случаев, при использовании технологии, основанной на введении плазмидной ДНК, наблюдали только временную экспрессию введенного гена зеленого флуоресцентного белка в АМСККП крысы. Культивирование клеток, трансфицированных плазмидой pEGFP-N1 без селекции (не использовали дженетицин (G418, Sigma, USA)), показало снижение количества клеток, синтезирующих зеленый флуоресцентный белок, вследствие их вытеснения нетрансфицированными клетками. Но даже спустя 1 неделю в культуре трансфицированных клеток 1 пассажа, высеянных из плотности 5000 клеток на 1 см^2 , наблюдали клетки, синтезирующие зеленый флуоресцентный белок.

Кроме того, часть АМСККП с геном GFP, согласно инструкции производителя (Sigma, USA), инкубировали с красителем ядер клеток DAPI в концентрации 1 мг/мл среды α -MEM с 10% эмбриональной сывороткой теленка, антибиотиком/антимикотиком (Gibco, USA) в CO_2 -инкубаторе в атмосфере насыщенной влажности. Через 10 мин среду сливали, клетки промывали физиологическим раствором в модификации Дальбекко (Биолот, Россия) и заливали культуральной средой.

В доступной литературе содержится множество экспериментальных моделей венозного тромбоза. Однако самым простым, самым воспроизводимым и наименее травматичным является метод S. Wessler и соавт. [15]: сочетание венозного застоя, например лигирование вены, и гиперкоагуляции за счет введения активированного фактора свертывания, например, тромбина. В асептических условиях скальпелем производили разрез кожи длиной до 3 см по внутренней стороне бедра от паховой складки. Тупым способом выделяли сосудистый пучок и накладывали лигатуру на v. femoralis, как можно ближе к месту впадения в v. circumflexa ilium profunda. В нижнюю треть v. femoralis вводили раствор тромбина (0,5 Ед/мл) до заполнения всего участка от места инъекции до места лигирования (0,03–0,05 мл). Место инъекции пережимали на 3 мин (до формирования тромба) для исключения ретроградного распространения и элиминации введенного препарата через инъекционное отверстие. Через 1 сутки осуществляли повторный доступ к тромбированной вене и после удаления лигатуры по 50 мкл суспензии АМСККП в культуральной среде (1×10^6 клеток в 1 мл) вводили в ткани справа и слева (не далее 5 мм) от тромбированной вены. Животных выводили из эксперимента передозировкой эфирного наркоза через 4 суток, 1, 2, 3, 4 и 5 недель после введения АМСККП. В каждой группе было 11–12 животных (таблица). В качестве контроля использовали intactных крыс, животных с венозным тромбозом без использования АМСККП и с паравазальным применением АМСККП без предварительного моделирования венозного тромбоза. Половине животных последней группы на сроки в 4 суток и 2 недели вводили АМСККП с геном GFP и ядрами, окрашенными DAPI.

V. femoralis с окружающими тканями фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатном буфере

Группы
и количество животных

Группы животных	Срок после операции					Всего
	4 суток	1 нед.	2 нед.	3 нед.	4 нед.	
Интактные	12					12
Венозный тромбоз без АМСККП	12	12	11	12	12	71
Введение АМСККП рядом с						
нормальной веной	12	12	12	12	12	72
тромбированной веной	12	12	12	12	11	71
Всего						226

(рН 7,4) не менее 24 ч, обезвоживали в градиенте этанола возрастающей концентрации, просветляли в кислоте и заключали в парафин. Неокрашенные срезы толщиной 5–7 мкм изучали на световом микроскопе Axioimager M1 при увеличении до 1500 раз в режиме люминесценции с фильтрами Alexa 488 или DAPI.

При исследовании оценивали наличие или отсутствие специфически светящихся структур. Наличие в клетках, расположенных отдельно или в структурах, зеленого свечения при использовании фильтра для ультрафиолетового света Alexa 488 или синего свечения при применении фильтра DAPI при полном отсутствии свечения во всех контролях считали доказательством происхождения этих клеток или структур из введенных АМСККП.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании методом люминесцентной микроскопии у интактных животных и при тромбозе без последующего введения АМСККП на все сроки наблюдения специфическое свечение отсутствовало в стенке магистральных сосудов и в паравазальной клетчатке, в тканях вдали от сосудистого пучка и в сосудах, проходящих в массиве мышц бедра.

Через 4 суток после тромбирования вены и введения АМСККП в ткани вокруг сосуда непосредственно в самой вене сохранялись только остатки тромба, большая часть просвета такого сосуда была свободна. Фрагменты тромба на большом протяжении располагались на стенке сосуда (пристеночный тромбоз), были уже фрагментированы на более мелкие остатки и инфильтрированы крупными клетками, скорее всего макрофагами.

В тканях вокруг сосуда, в грануляциях на месте хирургического вмешательства было обнаружено множество отдельно расположенных клеток со специфическим свечением в цитоплазме (рис. 1, а). Иногда в тканях на месте операции были обнаружены группы мелких сосудов капиллярного типа (грануляции), в стенке которых присутствовали светящиеся клетки (рис. 1, а). В некоторых случаях можно было четко проследить специфическое свечение в цитоплазме и более темное ядро (рис. 1, а).

На срок в 1 неделю после инъекции АМСККП рядом с нормальной веной в паравазальной клетчатке и остатках послеоперационных грануляций присутствовали единичные сосуды со специфически светящимися клетками. В некоторых случаях были найдены группы светящихся мелких сосудов капиллярного типа. После тромбирования вены и введения АМСККП в ткани вокруг сосуда тромб почти полностью лизирован и от него остались только мелкие пристеночные фрагменты. Ни у одного животного светящихся объектов в стенке тромбированной вены не найдено.

В тканях на месте операции были отмечены мелкие сосуды, стенка которых содержала светящиеся клетки.

Такие сосуды были крупнее, и их стенка была толще, чем на предыдущий срок (рис. 1, б). В некоторых случаях можно было четко проследить яркое специфическое свечение в цитоплазме и темное ядро (рис. 1, б).

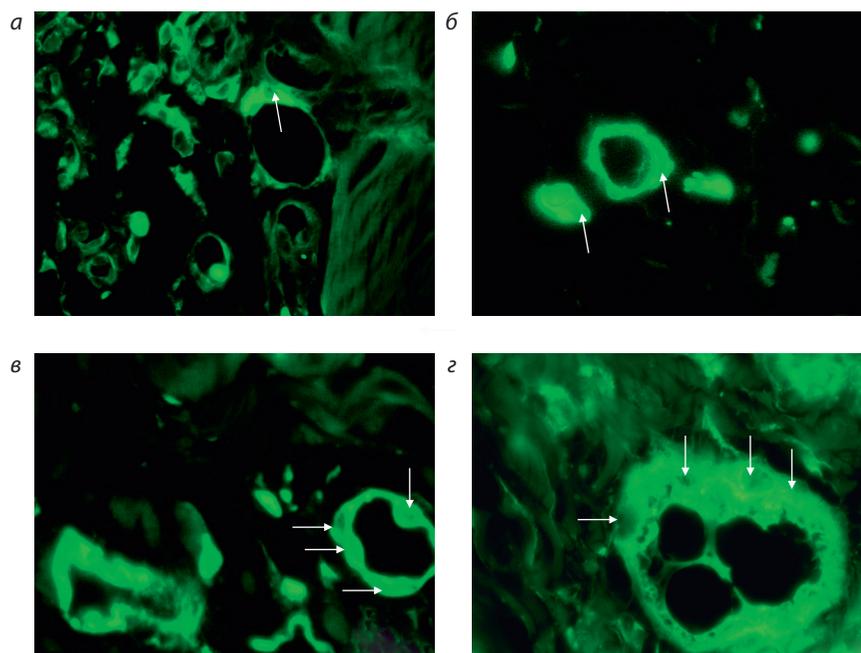
Через 2 недели в качестве контроля возле нормальной вены были введены АМСККП не только меченные GFP, но и с параллельной меткой клеточных ядер DAPI. Возле интактной вены в большинстве наблюдений в паравазальной клетчатке и в послеоперационном рубце присутствовали единичные специфически светящиеся клетки. Также были найдены небольшие группы мелких сосудов, в стенке которых были обнаружены светящиеся объекты. При использовании фильтра Alexa 488 в таких клетках ярко светилась зеленым цветом цитоплазма и оставалось темным ядро, а при применении фильтра DAPI было отмечено специфическое синее свечение ядра (рис. 2).

Через 2 недели после введения АМСККП рядом с тромбированной веной проходимость всех сосудов была практически восстановлена. Ни у одного животного светящихся объектов в стенке тромбированной вены не обнаружено. Количество сосудов со светящимися клетками в клетчатке возле сосудистого пучка уменьшилось, практически исчезли структуры, похожие на грануляции. Очень редко в клетчатке были обнаружены группы сосудов с клетками, которые имели специфическое свечение в цитоплазме (рис. 1, в). На предыдущие точки не было отмечено, но появилось на этот срок специфическое свечение стенки отдельных сосудов венозного типа, расположенных в массиве мышечной ткани бедра. Практически всегда сосуды со специфическим свечением имели широкий просвет, в некоторых случаях в нем находились остатки тромба с макрофагами. Иногда такие сосуды с тромбом имели характерный для процесса реканализации вид. Стенка сосуда была утолщена, в ней можно отметить крупные клетки с темным ядром и светящейся цитоплазмой (рис. 1, з). Просвет сосуда выполнен гетерогенными массами с большими отверстиями и перетяжками между ними, скорее всего остатками частично лизированного тромба (рис. 1, з). На срок в 3, 4 и 5 недель после введения АМСККП около нормального сосуда в стенке вены, в паравазальной клетчатке и в месте хирургического вмешательства не было найдено специфически светящихся объектов.

После операции по моделированию венозного тромбоза и введения АМСККП рядом с пораженной веной, как и на более ранние сроки, ни у одного животного светящихся объектов в стенке тромбированной вены не найдено, также не было обнаружено фрагментов тромба в ее просвете. Основное место как в паравазальной клетчатке, так и в рубцовой ткани на месте хирургического вмешательства и грануляций занимали сосуды без специфического свечения в своих структурах. Значительно реже и только на срок в 3 недели были найдены группы сосудов со специфическим свечением в стенке, но эти группы были небольшими.

Рис. 1.

Участие АМСККП в ангиогенезе после их введения в ткани. Неокрашенные срезы в отраженном ультрафиолетовом свете с фильтром «Alexa 488». На фоне ярко светящейся цитоплазмы клеток в стенке сосудов видны более темные ядра после введения АМСККП рядом с тромбированной веней: а – через 4 суток; б – на месте операции к исходу 1-й недели; в – через 2 недели; г – светящийся тромбированный сосуд в момент реканализации тромба присутствует в мышцах бедра спустя 2 недели.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Несмотря на многочисленные литературные данные о положительных результатах применения клеточных технологий в лечении сосудистых тромбозов [6–10, 14], согласно нашим результатам, восстановление кровотока в тромбированной магистральной вене в эксперименте на крысах всегда идет за счет тромболизиса, приводящего уже к 4-м суткам к рассасыванию большей, значительной части тромба в магистральной вене. Признаки встраивания АМСККП в стенку тромбированного сосуда не найдены ни в одном случае на все сроки эксперимента. Признаки реканализации тромба и формирования коллатералей также не обнаружены. При паравазальном введении АМСККП без предварительного тромбирования вены в месте хирургического вмешательства было отмечено появление групп мелких сосудов, построенных из клеток с ярко светящейся зеленым цветом цитоплазмы при использовании фильтра Alexa 488 и светящимся синим цветом ядром при применении фильтра DAPI.

Уже к 4-м суткам в грануляциях, развивающихся на месте хирургической травмы, содержатся сосуды, сформированные из введенных АМСККП. Рост сосудов происходит как в результате прорастания уже имеющихся в регионе сосудов, так и за счет неоангиогенеза с привлечением клеток-предшественников из костного мозга [4, 13]. При введении АМСККП они сразу начинают встраиваться в растущие сосуды и формировать новые в результате дифференцировки в эндотелиоциты и перициты [2].

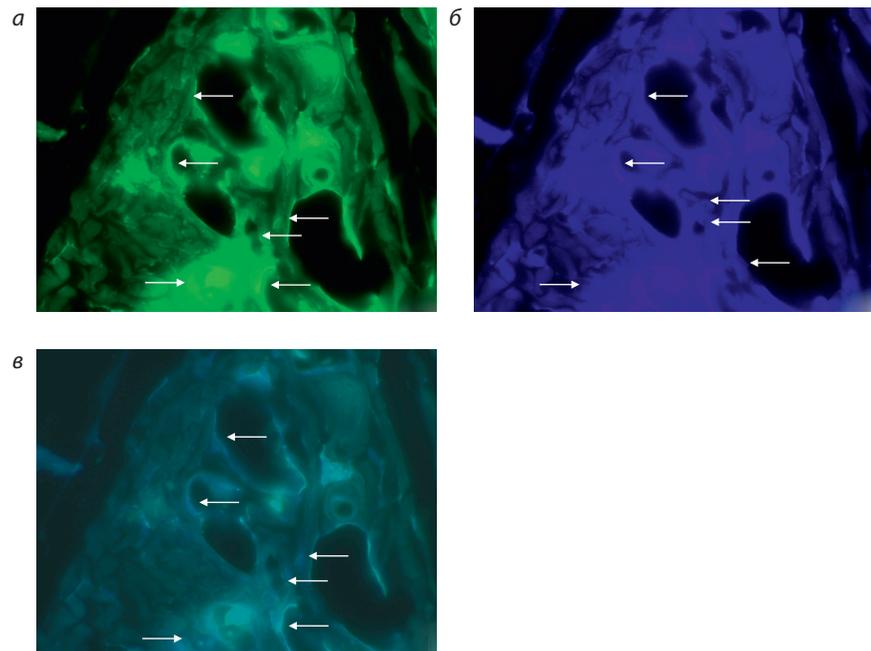
Начиная со срока в 1 неделю после инъекции АМСККП рядом с нормальной веной количество светящихся клеток и сосудов, построенных из них, в месте хирургического вмешательства постепенно уменьшается, а с 3-й недели светящихся объектов практически нет. Это, наиболее вероятно, связано с заживлением раны и инволюцией грануляций. После введения АМСККП на фоне сосудистого тромбоза на эти сроки в послеоперационных грануляциях присутствовали множество отдельно расположенных клеток со специфическим свечением в цитоплазме или группы мелких сосудов капиллярного типа, стенки которых состояли из клеток со светящейся цитоплазмой и более темным ядром. Количество сосудов со светящимися объектами в стенке постепенно нарастало, стенки их становились толще.

Доказательством того, что указанные группы сосудов были сформированы именно в результате введения АМСККП и из них, является свечение клеточной цитоплазмы. Ген GFP, введенный в ДНК АМСККП, неизменным передается дочерним клеткам и клеткам следующих поколений. Эти клетки и структуры, сформированные из них, точно так же светятся в отраженном ультрафиолетовом свете. Таким образом экономится время на миграцию собственных плюрипотентных клеток к месту операции и ускоряются процессы развития грануляций.

С точки эксперимента в 2 недели количество сосудов со светящимися клетками в клетчатке возле сосудистого пучка начинает уменьшаться, постепенно исчезают структуры, похожие на грануляции. В основном, там присутствовали сосуды без светящихся объектов в стенке, и

Рис. 2.

Ангиогенез в послеоперационных грануляциях после введения АМСККП, меченных GFP и ядерным красителем DAPI, рядом с нетромбированной веной: неокрашенный срез в отраженном ультрафиолетовом свете с фильтром «Alexa 488» (а) и «DAPI» (б); в – результат компьютерного совмещения рис. «а» и «б». Спустя 2 недели в грануляциях расположены группы мелких сосудов, в стенке которых содержатся единичные светящиеся зеленым цветом клетки, ядра которых окрашены синим цветом (стрелки).



только в отдельных случаях в сосудистой стенке среди обычных клеток были найдены клетки со свечением. На ранние сроки эксперимента не было отмечено, но появилось на этот срок специфическое свечение стенки сосудов венозного типа, расположенных в массиве мышечной ткани бедра. Практически всегда сосуды со специфическим свечением имели широкий просвет. Иногда в мышечной ткани бедра были найдены сосуды с широким просветом, в котором находились остатки тромба с макрофагами.

Патогенез тромбирования мелких сосудов, проходящих в мышечной ткани бедра после введения тромбина скорее всего точно такой же, как и крупного. После введения тромбина он присутствует не только в самом сосуде, но и распространяется ретроградно вследствие перевязки магистралы и нарушения оттока на его ветви, осуществляющие сбор крови от тканей. В результате этого происходит тромбирование не только магистральной вены, но и ее более мелких ветвей. Далее в магистральной вене тромб лизируется, а в мелких сосудах фибрин организуется и постепенно поглощается макрофагами, которые даже могут образовывать гигантские клетки инородных тел [1], что часто приводит к облитерации просвета такого сосуда. Затем или рядом развиваются новые сосуды или питание мышечной ткани осуществляется за счет уже имеющихся коллатералей. Яркое свечение эндотелия в сосуде в момент его реканализации может свидетельствовать о восстановлении структур сосудистой стенки и роста эндотелия по отверстиям в тромбе с участием АМСККП.

К 3-й неделе завершается репарация тканей и полностью формируется рубец на месте операции. Численность

сосудов, в стенке которых имеются светящиеся объекты, начинает сокращаться. Также уменьшается интенсивность свечения клеток в сосудистой стенке. В основном, в тканях возле сосудов присутствовали только единичные сосуды со светящимися клетками в различных слоях стенки. Не всегда постепенное исчезновение свечения в стенке сосудов не означает, что появились новые сосуды, построенные с участием собственных стволовых клеток, а сосуды, сформированные с привлечением введенных АМСККП, исчезли. По-видимому, сначала сосуды в паравазальной клетчатке и грануляциях образуются с участием привнесенных извне АМСККП. Постепенно, с исчезновением грануляций, на таких участках исчезают и сосуды, сформированные из клеток с белком GFP. В клетчатке рядом с сосудистым пучком сначала сосуды также образуются с привлечением светящихся клеток, однако затем, пусть и аутологичные, но все-таки взятые у другой особи АМСККП (и клетки, в которые дифференцировались введенные АМСККП), которые кроме всего прочего имеют чужеродный ген GFP, постепенно замещаются собственными клетками.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Федеральной целевой программы «Исследование генных и клеточных подходов в терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы или опорно-двигательного аппарата» (ГК16.512.11.2099 «Исследование возможности использования генных и клеточных подходов в диагностике, профилактики и лечении тромбоэмболических осложнений сердечно-сосудистых заболеваний для снижения уровня смертности и ранней инвалидизации трудоспособного населения РФ»).

ВЫВОДЫ

1. При введении АМСККП в паравазальную клетчатку тромбированной вены они принимают участие в развитии грануляций в месте хирургического вмешательства, выполненного при моделировании тромбоза.
2. Восстановление кровотока в тромбированной магистральной вене всегда идет за счет тромболитика. Признаки встраивания АМСККП в стенку тромбированного сосуда не найдены ни в одном случае. Реканализация тромба и формирование коллатералей также не обнаружены.
3. При моделировании тромбоза в эксперименте введением тромбина и лигированием магистральной вены также происходит тромбирование ее мелких ветвей, находящихся в тканевом регионе. В них восстановление кровотока происходит с привлечением введенных АМСККП или через реканализацию тромба или через облитерацию тромбированных сосудов и прорастание новых.
4. Постепенно введенные АМСККП и структуры, сформированные с их участием, вытесняются собственными клетками организма-реципиента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Майбородин И.В., Колесников И.С., Шеплев Б.В. и др. // *Стоматология*. 2009. Т. 88. № 1. С. 9–13.
2. Майбородин И.В., Якимова Н.В., Матвеева В.А. и др. // *Бюл. экспериментальной биологии и медицины*. 2010. Т. 150. № 12. С. 705–711.
3. Шевченко Ю.Л., Стойко Ю.М., Лыткина М.И. *Основы клинической флебологии*. М. 2005.
4. Carmeliet P, Luttun A. // *Thromb. Haemost.* V. 86. № 1. P. 289–297.
5. Chen Y.K., Jiang X.M., Gong J.P. // *J. Vasc. Surg.* 2008. V. 47. № 5. P. 1058–1065.
6. Gu Y., Qi L., Zhang J. et al. // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2009. V. 23. № 3. P. 341–344.
7. Li X.Q., Meng Q.Y., Wu H.R. // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2007. V. 120. № 24. P. 2245–2249.
8. Meng Q.Y., Li X.Q., Yu X.B. et al. // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2010. V. 123. № 4. P. 471–477.
9. Modarai B., Burnand K.G., Sawyer B., Smith A. // *Circulation*. 2005. V. 111. № 20. P. 2645–2653.
10. Modarai B., Humphries J., Burnand K.G. et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. V. 28. № 10. P. 1753–1759.
11. Moldovan N.I., Asahara T. // *Trends Cardiovasc. Med.* 2003. V. 13. № 7. P. 265–269.
12. Santo S.D., Tepper O.M., Ballmoos von M.W. et al. // *Thromb. Haemost.* 2009. V. 101. № 3. P. 460–464.
13. Shi Q., Rafi S., Wu M.H. et al. // *Blood*. 1998. V. 92. № 2. P. 362–367.
14. Tong Z., Gu Y., Zhang J. et al. // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2008. V. 22. № 10. P. 1218–1221.
15. Wessler S., Reimer S.M., Sheps M.C. // *J. Appl. Physiol.* 1959. V. 14. P. 943–946.

Майбородин Игорь Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории стволовой клетки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Центр новых медицинских технологий (Новосибирск).

Морозов Виталий Валерьевич – доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории стволовой клетки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Новикова Яна Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Матвеева Вера Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории стволовой клетки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Артемьева Людмила Владимировна – ведущий инженер лаборатории стволовой клетки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Матвеев Андрей Леонидович – аспирант лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Хоменюк Сергей Владимирович – научный сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Марчуков Сергей Вадимович – аспирант лаборатории стволовой клетки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).