

УДК 57.084.1; 616-001.33

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

Научная статья



# Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии

М.В. Волкова<sup>1</sup>, В.В. Бояринцев<sup>1</sup>, А.В. Трофименко<sup>1</sup>, С.П. Рыбалкин<sup>2</sup>, Е.В. Ковалева<sup>2</sup>, С.А. Бирюков<sup>1</sup>, Г.И. Фильков<sup>1</sup>, М.О. Дурыманов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Московская область, Россия;

<sup>2</sup> Институт иммунологии Федерального медико-биологического агентства России, Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов, Серпуховский городской округ, Московская область, Россия

**Актуальность.** Арктические условия осложняют патогенез различных травм кожи и мягких тканей. Для терапии данных заболеваний рассматривается возможность применения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, способствующих пролиферации клеток гранулярной ткани, ангиогенезу и сокращению длительности воспалительной фазы при заживлении раны благодаря секреции цитокинов и факторов роста.

**Цель** — оценка эффективности клеточной терапии на модели рвано-ушибленной раны у крыс, находящихся в условиях гипоксии и гипотермии.

**Материалы и методы.** Животные содержались в условиях климатической камеры (15 % кислорода, 4 °С) в течение 48 ч. Травму наносили через 24 ч после помещения в контролируемые условия. Введение стволовых клеток осуществляли через 1 сут после нанесения раны. Для инъекции использовали мезенхимальные стромальные клетки, полученные из красного костного мозга крыс Wistar. Используемая клеточная культура имела соответствующий стволовым клеткам иммунофенотип и обладала способностью дифференцировки в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях. В ходе исследования у крыс оценивали степень воспалительной реакции в травмированных тканях и наличие возможных патологических выделений из раневого канала, проводили измерения толщины поврежденной лапы.

**Результаты.** Для описания процесса воспаления проведен гистологический анализ на 6-е и 21-е сут после нанесения раны. На 6-й день исследования отмечена слабая инфильтрация лимфоцитов в мышечной ткани у крыс, которым вводили мезенхимальные стромальные клетки, что может свидетельствовать о более раннем переходе раневого процесса в пролиферативную фазу.

**Заключение.** Установлено стимулирующее влияние суспензии мезенхимальных стволовых клеток на динамику снижения отека травмированного бедра на 10 % по сравнению с контрольной группой.

**Ключевые слова:** гипоксия; гипотермия; животная модель; клеточный продукт; ранозаживляющее действие; регенеративная медицина; стволовые клетки; травма.

## Как цитировать:

Волкова М.В., Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Рыбалкин С.П., Ковалева Е.В., Бирюков С.А., Фильков Г.И., Дурыманов М.О. Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 3. С. 261–268. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

Research Article

# The effectiveness of the use of mesenchymal stromal cells for the treatment of lacerated wounds under conditions of hypothermia and hypoxia

Marina V. Volkova<sup>1</sup>, Valery V. Boyarintsev<sup>1</sup>, Alexander V. Trofimenko<sup>1</sup>, Sergey P. Rybalkin<sup>2</sup>, Elena V. Kovaleva<sup>2</sup>, Stanislav A. Biryukov<sup>1</sup>, Gleb I. Filkov<sup>1</sup>, Michail O. Durymanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Moscow Region;

<sup>2</sup> Institute of Immunology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Research Center for Toxicology and Hygienic Regulation of Biological Products, Serpukhov City District, Moscow Region

**BACKGROUND:** Patients Arctic conditions complicate the pathogenesis of various skin and soft tissue injuries. For the treatment of these diseases, the possibility of using multipotent mesenchymal stromal cells, which promote the proliferation of granular tissue cells, angiogenesis, and reduce the duration of the inflammatory phase during wound healing due to the secretion of cytokines and growth factors, is being considered.

**AIM:** In order to evaluate the effectiveness of cell therapy, experimental studies were carried out on the model of a lacerated wound in rats under conditions of hypoxia and hypothermia.

**MATERIALS AND METHODS:** The animals were kept in a climate chamber (15% oxygen, 4°C) for 48 hours. Injury was applied 24 hours after placement in controlled conditions. The introduction of stem cells was carried out a day after the wound was applied. Mesenchymal stromal cells obtained from the red bone marrow of Wistar rats were used for injection. The cell culture used had an immunophenotype corresponding to stem cells and had the ability to differentiate in the osteogenic, chondrogenic and adipogenic directions. During the study, the degree of inflammatory reaction in injured tissues and the presence of possible pathological discharges from the wound canal were assessed in rats, and the thickness of the injured paw was measured.

**RESULTS:** The stimulating effect of the suspension of mesenchymal stem cells on the dynamics of reducing the edema of the injured hip by 10% was established compared to the control group. To describe the process of inflammation, a histological analysis was performed on the 6<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days after the wound was applied. On the 6<sup>th</sup> day of the study, a weak infiltration of lymphocytes in the muscle tissue was noted in rats that were injected with MMSC, which may indicate an earlier transition of the wound process to the proliferative phase.

**CONCLUSION:** The stimulating effect of the suspension of mesenchymal stem cells on the dynamics of reducing the edema of the injured hip by 10% was established compared to the control group.

**Keywords:** animal model; cell product; hypothermia; hypoxia; injury; regenerative medicine; stem cells; wound healing action.

## To cite this article:

Volkova MV, Boyarintsev VV, Trofimenko AV, Rybalkin SP, Kovaleva EV, Biryukov SA, Filkov GI, Durymanov MO. The effectiveness of the use of mesenchymal stromal cells for the treatment of lacerated wounds under conditions of hypothermia and hypoxia. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(3):261–268. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar109211>

Received: 06.07.2022

Accepted: 14.07.2022

Published: 30.09.2022

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Одним из самых распространенных видов травм в мире являются механические травмы различного характера. В Российской Федерации каждый год регистрируется несколько миллионов случаев подобных травм [1]. Многостадийный процесс заживления механических повреждений может быть осложнен влиянием внешних факторов. Например, в условиях Арктической зоны Российской Федерации переохлаждение организма препятствует регенеративным процессам [2]. Воздействие низких температур и гипоксии приводит к сужению сосудов и снижению кровоснабжения тканей в целом [3]. В связи с этим актуальной задачей является разработка новых подходов для ускорения заживления механических повреждений [4].

Важную роль в процессе заживления играют так называемые сигнальные молекулы, включая цитокины, хемокины и факторы роста, которые координируют физиологические процессы восстановления тканей [5]. Данные молекулы вырабатываются различными клетками раневого микроокружения, что обеспечивает, с одной стороны, элиминацию попавших в рану патогенов, а с другой — восстановление барьерной функции кожного покрова. В связи с этим перспективной стратегией лечения подобного рода заболеваний является разработка биомедицинских клеточных продуктов. В качестве основной клеточной культуры могут быть выбраны мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), способные оказывать ранозаживляющее действие благодаря паракринной секреции цитокинов и факторов роста [6, 7], которая сохраняется в течение первых дней после введения [8]. Таким образом, ММСК способствуют пролиферации клеток гранулярной ткани, ангиогенезу и сокращению длительности воспалительной фазы при заживлении раны [9, 10].

*Цель данной работы* — изучение влияния внутримышечной инъекции ММСК на скорость заживления рвано-ушибленной раны на животной модели крыс, содержащихся в условиях гипоксии и гипотермии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ММСК были получены из красного костного мозга крыс Wistar согласно стандартному протоколу [11]. Клеточную культуру выращивали в среде DMEM (Gibco, США) с 10 % бычьей эмбриональной сыворотки (Gibco, США), заменимыми аминокислотами (Capricorn Scientific, Германия), 100 ед./мл пенициллина и 10 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия). Культивирование клеток проводили в атмосфере 5 % углекислого газа при температуре 37 °С и влажности 95 % в инкубаторе Smart Biotherm (Biosan, Латвия).

С целью анализа фенотипа клетки снимали с помощью раствора Версена и окрашивали растворами антител против

CD105 (BiOrbyt, orb187245), CD90 (BioLegend, 206105), CD73 (Bioss, bs-4834R-A488), CD44 (BioLegend, 203906), CD29 (BioLegend, 102205), CD45 (BioLegend, 202205), CD34 (Abcam, ab223930), CD31 (Abcam, ab28364), CD14 (Abcam, ab182032), CD11b (Abcam, ab25533), содержащими 0,5 % бычьего сывороточного альбумина. Анализировали с использованием проточного цитометра CytoFLEX (Beckman Coulter, США). На основании показателей прямого и бокового светорассеяния выбирали одиночные клетки и регистрировали 10 000 событий.

Для дифференцировки клеточной культуры в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях клетки культивировали с использованием коммерческих наборов StemPro® Differentiation Kit (Gibco, США) в соответствии с протоколами производителя. Затем проводили окраску дифференцированных и недифференцированных (контроль) ММСК красителями Alizarin Red S, Safranin O и Sudan III соответственно. Изображения клеток получали с помощью микроскопа Axio VertA1 (Zeiss, Германия).

Эксперименты на животных проводились на базе НИЦ ТБП — филиала ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА» в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики, утвержденными приказом № 199н от 01.04.2016 г. МЗ РФ, и требованиями гуманного обращения с животными. В качестве тест-системы были использованы крысы Wistar, приобретенные в питомнике ФГБУН НЦБМТ ФМБА, филиал «Столбовая».

Для эксперимента использовали модель рвано-ушибленной раны бедра у крыс, которых содержали в климатической камере в течение суток до и после нанесения механической травмы в условиях гипотермии (температура 4 °С) и гипоксии (15 % кислорода в атмосфере) [12]. До помещения в климатическую камеру, а также через 24 и 48 ч у животных измеряли температуру тела.

Рану наносили с помощью чистого стерильного металлического стержня круглого сечения с выступом после обработки 70 % спиртом кожи бедра в области нанесения травмы. Стержень опускали путем свободного падения на бедро крысы с высоты 80 см внутри направляющей трубы. Введение суспензии ММСК (2 млн клеток в мл) или физраствора в мягкие ткани проводили путем инфильтрирования вокруг раны через 24 ч после нанесения травмы.

При обследовании области механической травмы у крыс оценивали степень воспалительной реакции в травмированных тканях и наличие возможных патологических выделений из раневого канала. Определение степени отека проводили путем измерения толщины поврежденной лапы с помощью внешнего микрометра HENGLIANG (Lang Tools, Китай). Измерение толщины бедра проводили до нанесения травмы, а также на 3, 9, 16 и 21-й день после ее нанесения.

Для описания процесса заживления проводили гистологический анализ тканей раны, которые отбирали у трех крыс каждой из групп на 6-е сут после нанесения

механической травмы для оценки морфологической картины первого этапа заживления раны, а также у оставшихся в каждой группе 7 крыс на 21-е сут после нанесения травмы. Изучение гистологических препаратов осуществляли под световым микроскопом CX41 (Olympus, Япония).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделенные из красного костного мозга крысы ММСК обладают способностью адгезии к пластику и экспрессируют на своей поверхности соответствующие маркеры CD105, CD90, CD73, CD44 и CD29 [13]. При этом экспрессия маркеров CD45, CD34, CD31, CD14 и CD11b менее 2 % подтверждает высокую чистоту и однородность полученной первичной линии. Результаты анализа фенотипа представлены на рис. 1.

Полученные линии ММСК способны дифференцироваться в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях (рис. 2) [13]. При использовании Alizarin Red S происходит окрашивание минерализованного внеклеточного матрикса остеобластов по сравнению с недифференцированными ММСК. Окрашивание жировых включений Sudan III подтверждает дифференцировку ММСК в адипоциты. Хондроциты идентифицируются путем окрашивания Safranin O глюкозамингликанов во внеклеточном матриксе.

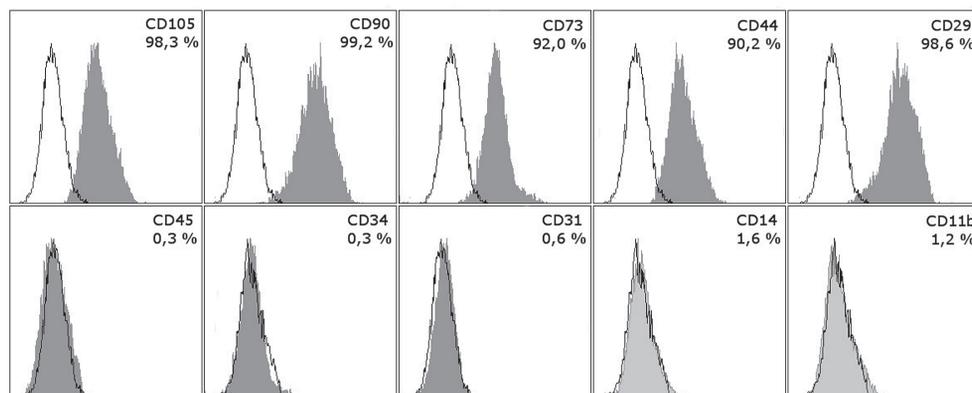
С целью оценки эффективности клеточного продукта для терапии травм в арктических условиях животных помещали в специально разработанную климатическую камеру.

Результаты контроля температуры тела крыс (табл. 1) показали снижение ее среднего значения на 1 °С в течение времени нахождения в климатической камере. Для крыс температура тела ниже 37 °С является пониженной и свидетельствует о гипотермии [14].

Для проведения различных исследований используют животных с иссеченной раной, когда с их спины аккуратно вырезается часть кожи определенного размера [15]. Нанесение травмы металлическим стержнем в свободном падении обеспечивает получение рвано-ушибленной травмы. Выступ на стержне обеспечивает проникающий механический разрыв кожи и мышц бедра, а сам стержень вызывает контузию мягких тканей (рис. 3).

На 3-й день после травмы и на 2-й — после введения суспензии ММСК или физраствора отмечено увеличение толщины бедра у контрольных и подопытных животных в проекции раневого канала (табл. 2). Травмированные лапы у животных были отечными и плотными при пальпации, раневой канал был закрыт небольших сухим струпом, выделений из-под него не было.

На 6-й день морфологическая картина раны у подопытных и контрольных животных была схожей и соответствовала регенеративной фазе раневого процесса.



**Рис. 1.** Фенотип ММСК крысы: распределение клеток, окрашенных антителами против положительных (верхний ряд) и отрицательных (нижний ряд) маркеров

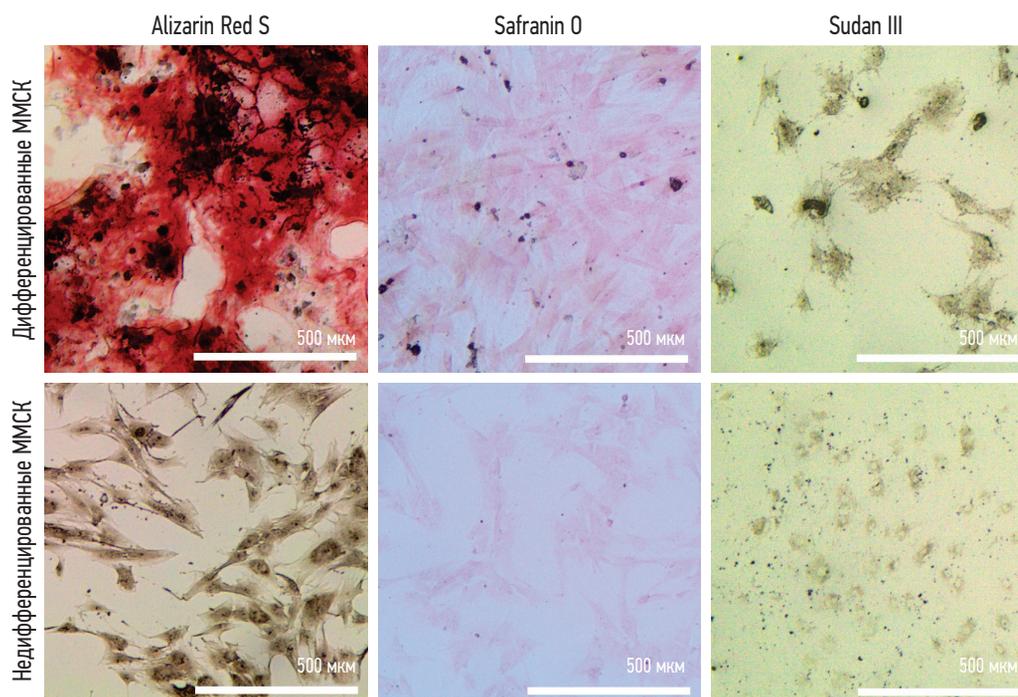
**Таблица 1.** Средняя температура тела крыс в период нахождения в климатической камере

Исходная	Через 24 ч	Через 48 ч
37,9 ± 0,3	37,0 ± 0,5	36,3 ± 0,3

**Таблица 2.** Показатели измерения толщины бедра крыс в ходе наблюдений

Препарат	Толщина бедра в день исследования, мм				
	0-й день	3-й день	9-й день	16-й день	21-й день
Физраствор	9,8 ± 0,6	11,7 ± 0,6	11,3 ± 0,6	10,2 ± 0,3	9,4 ± 0,5
МСК	9,3 ± 0,4	12,4 ± 0,6	10,8 ± 0,8	9,1 ± 0,3*	8,1 ± 0,6*

\* различие с показателем группы «Физраствор» статистически значимо по *U*-критерию Манна–Уитни при  $p = 0,05$ .



**Рис. 2.** Дифференцировка ММСК крысы в остециты (Alizarin Red S), хондроциты (Safranin O) и адипоциты (Sudan III)

При этом у животных, которым вводили физраствор, отмечали лимфоцитарную инфильтрацию между волокнами сохранившейся мышечной ткани. У крыс, которым вводили ММСК, подобная инфильтрация была слабо заметна, что может свидетельствовать о более раннем переходе воспалительной фазы раневого процесса в пролиферативную.

На 9-й день установлено снижение толщины бедра у крыс. Поверхность раневого канала у всех животных была полностью покрыта эпителием, струпы на поверхности отсутствовали. При пальпации поврежденной конечности отмечено отсутствие отека тканей.

На 16-й и 21-й дни были установлены статистически значимые различия в толщине бедер крыс подопытной и контрольной групп. Значения толщины в конечный срок исследования у животных, леченных ММСК, оказались меньше исходных, что свидетельствует о высокой степени зрелости рубцовой соединительной ткани и новообразованной мышечной ткани в зоне регенерации.

На 21-й день после нанесения травмы согласно гистологическому анализу отмечена высокая степень регенерации по всей толщине ранее поврежденных тканей у всех подопытных и контрольных животных. Эпителий и дерма в месте травмы имели нормальную гистологическую структуру, под кожей на месте раневого канала имелось разрастание слоя плотной волокнистой соединительной ткани, местами диффузно между волокнами мышечной ткани. На рис. 4 показан толстый слой плотной волокнистой соединительной (рубцовой) ткани между кожей и мышечной тканью. В выноске представлены скопления сидероцитов и соединительной ткани.

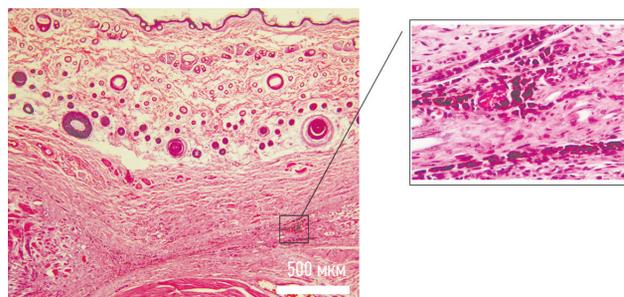


*a*



*b*

**Рис. 3.** Вид сквозной рвано-ушибленной раны с наружной (*a*) и внутренней (*b*) поверхности бедра



**Рис. 4.** Морфология участка зажившей раны в области травмы бедра у крысы, леченой ММСК. Окраска гематоксилином и эозином

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного на модели механической травмы исследования установлено стимулирующее влияние суспензии ММСК на заживление рвано-ушибленной раны у крыс после нахождения в течение 48 ч в условиях гипоксии и гипотермии. Динамика снижения отека травмированного бедра в подопытной группе происходит на 10 % быстрее, чем в контрольной. Таким образом, использование ММСК для лечения механических травм является перспективным терапевтическим подходом, который может ускорить процесс заживления.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке гранта в форме субсидии по соглашению

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Здравоохранение в России. 2021. Статистический сборник. М.: Росстат, 2021. 171 с.
2. Черников О.Г., Кульнев С.В., Куприянов С.А., и др. Особенности организации медицинского обеспечения группировок войск (сил) в арктической зоне // Военно-медицинский журнал. 2020. Т. 341, № 4. С. 4–11.
3. Tamama K., Kerpedjieva S.S. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells // *Advances in Wound Care*. 2012. Vol. 1, No. 4. P. 177–182. DOI: 10.1089/wound.2011.0296
4. Александров В.Н., Болахан В.Н., Бунтовская А.С., и др. Развитие клеточных технологий, молекулярно-генетических исследований и тканевой инженерии в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова и Военном инновационном технополисе «Эра» // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. № 3. С. 243–248.
5. Dash B.C., Xu Z., Lin L., et al. Stem cells and engineered scaffolds for regenerative wound healing // *Bioengineering*. 2018. Vol. 5, No. 1. Art. 23. DOI: 10.3390/bioengineering5010023
6. Slegtenhorst B.R., Dor F.J., Rodriguez H., Voskuil F.J., Tullius S.G. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation // *Curr. Transplant. Rep.* 2014. Vol. 1, No. 3. P. 147–154. DOI: 10.1007/s40472-014-0017-6
7. Han Y., Li X., Zhang Y., et al. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine // *Cells*. 2019. Vol. 8, No. 8. Art. 886. DOI: 10.3390/cells8080886

от 28 ноября 2018 г. № 14.575.21.0179 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57518X0179), заключенному между Министерством науки и высшего образования Российской Федерации и Московским физико-техническим институтом.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Этическая экспертиза.** Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского центра токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов (ветеринарный протокол № 704 от 14.07.2020 г.).

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

8. Wu X., Jiang J., Gu Z., et al. Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress // *Stem. Cell Res. Ther.* 2020. Vol. 11, No. 1. Art. 345. DOI: 10.1186/s13287-020-01855-9
9. Li H., Shen S., Fu H., et al. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells in tissue engineering // *Stem Cells Int.* 2019. Vol. 2019. Art. 9671206. DOI: 10.1155/2019/9671206
10. Fu X., Liu G., Halim A., et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair // *Cells*. 2019. Vol. 8, No. 8. Art. 784. DOI: 10.3390/cells8080784
11. Soleimani M., Nadri S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow // *Nat. Protoc.* 2009. Vol. 4, No. 1. P. 102–106. DOI: 10.1038/nprot.2008.221
12. Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Рыбалкин С.П., и др. Установка для проведения экспериментальных исследований на животных в гипоксических условиях при низких температурах. Пат. 201120. Заявитель и патентообладатель МФТИ — № 2020122211; заявл. 06.07.2020; опубл. 27.11.2020, Бюл. № 33.
13. Fitzsimmons R.E.B., Mazurek M.S., Soos A., Simmons C.A. Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering // *Stem Cells Int.* 2018. Vol. 2018. Art. 8031718. DOI: 10.1155/2018/8031718
14. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник / Под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. СПб.: Лема, 2013. 116 с.
15. Ring A., Goertz O., Steintraesser L., et al. Analysis of biodegradation of copolymer dermis substitutes in the dorsal skinfold chamber of balb/c mice // *Eur. J. Med. Res.* 2006. Vol. 11, No. 11. P. 471–478.

## REFERENCES

1. *Zdravookhraneniye v Rossii*. 2021. Statistical compendium. Moscow: Rosstat Publisher; 2021. 171 p. (In Russ.)
2. Chernikov OG, Kulnev SV, Kupriyanov SA, et al. Features of the organization of medical support for troops (forces) in the arctic zone. *Military Medical Journal*. 2020;341(4):4–11. (In Russ.)
3. Tamama K, Kerpedjieva SS. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells. *Advances in Wound Care*. 2012;1(4):177–182. DOI: 10.1089/wound.2011.0296
4. Alexandrov VN, Bolekhan VN, Buntovskaya AS, et al. Development of cell technology, molecular genetics and tissue enginee-

ring in S.M. Kirov Military Medical Academy and Military Innovation Technopolis "Era". *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019(3): 243–248. (In Russ.)

5. Dash BC, Xu Z, Lin L, et al. Stem cells and engineered scaffolds for regenerative wound healing. *Bioengineering*. 2018;5(1):23. DOI: 10.3390/bioengineering5010023

6. Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity and inflammation. *Curr Transplant Rep*. 2014;1(3):147–154. DOI: 10.1007/s40472-014-0017-6

7. Han Y, Li X, Zhang Y, et al. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. 2019;8(8):886. DOI: 10.3390/cells8080886

8. Wu X, Jiang J, Gu Z, et al. Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):345. DOI: 10.1186/s13287-020-01855-9

9. Li H, Shen S, Fu H, et al. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells in tissue engineering. *Stem Cells Int*. 2019;2019:9671206. DOI: 10.1155/2019/9671206

10. Fu X, Liu G, Halim A, et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair. *Cells*. 2019;8(8):784. DOI: 10.3390/cells8080784

11. Soleimani M, Nadri S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. *Nat Protoc*. 2009;4(1):102–106. DOI: 10.1038/nprot.2008.221

12. Boyarintsev VV, Trofimenko AV, Rybalkin SP, et al. *Ustanovka dlya provedeniya eksperimental'nykh issledovaniy na zivotnykh v gipoksicheskikh usloviakh pri nizkikh temperaturakh*. Pat. 201120 Applicant and patent holder MIPT — No. 2020122211; decl. 07/06/2020; publ. 11/27/2020, Bull. No. 33. (In Russ.)

13. Fitzsimmons REB, Mazurek MS, Soos A, Simmons CA. Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering. *Stem Cells Int*. 2018;2018:8031718. DOI: 10.1155/2018/8031718

14. Makarov VG, Makarova MN, eds. *Fiziologicheskiye, biokhimi-cheskiye i biometricheskiye pokazateli normy eksperimental'nykh zivotnykh: spravochnik*. Saint Petersburg: Lema Publisher; 2013. 116 p. (In Russ.)

15. Ring A, Goertz O, Steinstraesser L, et al. Analysis of biodegradation of copolymer dermis substitutes in the dorsal skinfold chamber of balb/c mice. *Eur J Med Res*. 2006;11(11): 471–478.

## ОБ АВТОРАХ

\***Марина Викторовна Волкова**, младший научный сотрудник; адрес: Россия, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5966-3026>; eLibrary SPIN: 4104-5195; Author ID: 1004074; e-mail: [biotech.volkova@list.ru](mailto:biotech.volkova@list.ru)

**Валерий Владимирович Бояринцев**, докт. мед. наук, профессор, главный научный сотрудник; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9707-3262>; eLibrary SPIN: 2491-7199; Author ID: 279778; e-mail: [marinarage@mail.ru](mailto:marinarage@mail.ru)

**Александр Викторович Трофименко**, канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией; eLibrary SPIN: 5228-7073; Author ID: 964835; e-mail: [trofimenko.av@mipt.ru](mailto:trofimenko.av@mipt.ru)

**Сергей Петрович Рыбалкин**, канд. биол. наук, директор; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2933-5758>; eLibrary SPIN: 1988-4621; Author ID: 187759; e-mail: [rybalkin-sp@yandex.ru](mailto:rybalkin-sp@yandex.ru)

**Елена Владимировна Ковалева**, старший научный сотрудник; eLibrary SPIN: 2952-1038; Author ID: 124176; e-mail: [e-kovaleva@yandex.ru](mailto:e-kovaleva@yandex.ru)

**Станислав Анатольевич Бирюков**, докт. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник; Author ID: 275194; e-mail: [biryukov.sa@mipt.ru](mailto:biryukov.sa@mipt.ru)

## AUTHORS' INFO

\***Marina V. Volkova**, Junior Research Fellow; address: 9, Institutsky lane, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5966-3026>; eLibrary SPIN: 4104-5195; Author ID: 1004074; e-mail: [biotech.volkova@list.ru](mailto:biotech.volkova@list.ru)

**Valery V. Boyarintsev**, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Chief Researcher; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9707-3262>; eLibrary SPIN: 2491-7199; Author ID: 279778; e-mail: [marinarage@mail.ru](mailto:marinarage@mail.ru)

**Alexander V. Trofimenko**, M.D., Ph.D. (Medicine), Associate Professor, Head of Laboratory; eLibrary SPIN: 5228-7073; Author ID: 964835; e-mail: [trofimenko.av@mipt.ru](mailto:trofimenko.av@mipt.ru)

**Sergey P. Rybalkin**, Ph.D. (Biology), director; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2933-5758>; eLibrary SPIN: 1988-4621; Author ID: 187759; e-mail: [rybalkin-sp@yandex.ru](mailto:rybalkin-sp@yandex.ru)

**Elena V. Kovaleva**, Senior Researcher; eLibrary SPIN: 2952-1038; Author ID: 124176; e-mail: [e-kovaleva@yandex.ru](mailto:e-kovaleva@yandex.ru)

**Stanislav A. Biryukov**, D.Sc. (Physics and Mathematics), Senior Researcher; Author ID: 275194; e-mail: [biryukov.sa@mipt.ru](mailto:biryukov.sa@mipt.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ОБ АВТОРАХ

**Глеб Игоревич Фильков**, научный сотрудник;  
eLibrary SPIN: 7733-8460;  
Author ID: 964836;  
e-mail: filcom.gl@gmail.com

**Михаил Олегович Дурыманов**, канд. биол. наук,  
заместитель заведующего лабораторией;  
eLibrary SPIN: 5796-0022;  
Author ID: 1021594;  
Researcher ID: T-8711-2018;  
e-mail: durymanov.mo@mipt.ru

## AUTHORS' INFO

**Gleb I. Fil'kov**, Researcher;  
eLibrary SPIN: 7733-8460;  
Author ID: 964836;  
e-mail: filcom.gl@gmail.com

**Michail O. Durymanov**, Ph.D. (Biology),  
Deputy Head of Laboratory;  
eLibrary SPIN: 5796-0022;  
Author ID: 1021594;  
Researcher ID: T-8711-2018;  
e-mail: durymanov.mo@mipt.ru