УДК 616.36-003.93:576.54

И.Ю. Маклакова [1, 2], В.В. Базарный [1], Д.Ю. Гребнев [1, 2]

ВЛИЯНИЕ ММСК И ГСК НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ЕЕ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

[1] ФГБУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[2] ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. ***Целью*** настоящего исследования стало изучение влияния сочетанной трансплантации ММСК и ГСК на показатели регенерации печени в условиях ее токсического повреждения тетрахлорметаном. ***Материалы и методы***. Исследование выполнено на белых мышах-самцах с токсическим повреждением печени путем внутрибрюшинного введения тетрахлорметана в дозе 50 мкл на мышь однократно. Через час после моделирования повреждения печени осуществлялось внутривенное введение плацентарных ММСК и ГСК соответственно в дозе 4 млн клеток/кг и 330 тыс. клеток/кг, суспендированные в 0,2 мл 0,9% раствора NaCl. Животным контрольной группы вводили 0,9% раствор NaCl — 0,2 мл внутривенно. На 1, 3, 7 сутки после трансплантации клеток производилась оценка изменения воспалительной активности в печени, определение митотического, апоптотического индексов. На 7 сутки после введения клеток производился анализ активности ферментов репарации ДНК семейства PARP. ***Результаты***. Сочетанная трансплантация ММСК и ГСК приводит к снижению индекса воспалительной активности в печени вследствие уменьшения некроза, дистрофии гепатоцитов, снижения инфильтрации. В результате исследования установлено повышение активности ферментов репарации системы PARP, что привело к уменьшению запрограммированной клеточной гибели. Также котрансплантация ММСК и ГСК сопровождалась повышением митотической активности гепатоцитов. ***Заключение***. Котрансплантация ММСК и ГСК в условиях токсического повреждения печени снижает воспалительную реакцию, стимулирует митотическую активность гепатоцитов, повышает активность ферментов системы репарации ДНК. Активация репаративной системы печени, в свою очередь, обеспечивает снижение запрограммированной гибели гепатоцитов.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, гемопоэтические стволовые клетки, токсический гепатит, репаративная регенерация печени

Конфликт интересов отсутствует.
Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Гребнев Дмитрий Юрьевич
dr-grebnev77@mail.ru
Дата поступления 03.12.2020 г.
Образец цитирования:
Маклакова И.Ю., Базарный В.В., Гребнев Д.Ю. Влияние ММСК и ГСК на репаративную регенерацию печени в условиях ее токсического повреждения. http://vestnikural.ru/article/1143. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №3, с. 243–248, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-243-248

Введение

Печень — многофункциональный орган, участвующий в различных метаболических процессах, поэтому нарушение его функции приводит к серьезному нарушению обмена веществ в организме. Введение тетрахлорметана используется с 1928 года для изучения механизмов токсического повреждения печени на лабораторных животных [1]. Известно, что в повреждении печени важную роль играют активные формы кислорода. Тетрахлорметан в клетках печени метаболизируется под влиянием цитохрома Р-450 с образованием активных форм кислорода [2]. Окислительный стресс, вызванный большим количеством свободных радикалов, вызывает повреждение печени. В настоящее время продолжается поиск эффективных способов восстановления структуры и функции печени после ее токсического повреждения. Перспективным в лечении повреждений печени представляется использование котрансплантации двух видов клеток: мультипотентных мезенхимальных стромальных (ММСК) и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). ММСК способны к синтезу противовоспалительных

цитокинов, факторов роста [3, 4]. Иммуномодулирующие свойства ММСК позволяют проводить сочетанную трансплантацию двух видов клеток [5]. Доказана способность ГСК активировать регенерацию печени как путем дифференцировки в гепатоциты, так и с помощью слияния с клетками печени (fusion-effect). Кроме того, ММСК секретируют SDF-1 (Stromal derived factor-1), который стимулирует миграцию аллогенных и аутологичных ГСК в поврежденную печень [6]. Перспективным источником стволовых клеток является плацента, так как получение ее не связано с оперативным вмешательством и не влечет за собой этических проблем. Кроме того, плацентарные клетки обладают большим пролиферативным и дифференцировочным потенциалом. Таким образом, **целью** данного исследования стало изучение влияния котрансплантации плацентарных ММСК и ГСК на репаративную регенерацию печени в условиях ее токсического повреждения.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 42 белых мышах-самцах возраста 7-8 месяцев, массой 20-23 г. Производилось выделение культуры ММСК из хориона плаценты 5 лабораторных животных мышей-самок возраста 3-4 месяца, срок гестации 18 дней. Мононуклеарная фракция клеток была получена путем последовательной механической и ферментативной (раствор аккутазы (Millipore, США)) обработки ткани плаценты. Выделение ГСК осуществлялось методом позитивной иммуномагнитной сепарации по антигенам SCA-1 (StemCell Technologies, США) и CD 117 (StemCell Technologies, США) (X. Munira et al., 2009). Все эксперименты, уход и содержание животных осуществлялись в соответствии с Директивой №63 от 22 сентября 2010 года Президиума и Парламента Европы «О защите животных, используемых для научных исследований» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Выполнение исследований одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» протокол №8 от 20.10.2017.

Культивирование ММСК проводилось в условиях CO2 — инкубатора (Termo Scientific, США) при температуре 37 °C с содержанием углекислого газа 5% и влажностью 90%. Для трансплантации лабораторным животным были использованы ММСК третьего пассажа. Идентификация ММСК проводилась иммуноцитохимическим методом с использованием набора Mesenchymal Stem Cell Characterization Kit (Millipore, США), содержащего позитивные (антитела к integrin β1, CD 54, collagen type I и fibronectin) и негативные маркеры (антитела к CD 14, CD 45). Изучение функциональных свойств выделенных клеток было проведено путем направленной дифференцировки полученной культуры в направлениях, характерных для ММСК — в адипоцитарном и остеогенном. Идентификация ГСК была проведена на проточном цитометре Beckman Coulter Navios. В суспензии трансплантируемых клеток оценивалось содержание ГСК с иммунофенотипом положительных по CD117, Sca-1 и отрицательных по Lin- (CD45, C3e, Ly-6G, M1/70, Ter-119). Содержание клеток после иммуномагнитной сепарации с иммунофенотипом CD117+, Sca-1+, Lin- составило 80-93%. Жизнеспособность клеток была определена с помощью суправитальной окраски раствором трипанового синего и перед трансплантацией составила 95-97%. Животным опытной группы внутривенно вводились ММСК и ГСК соответственно в дозе 4 млн клеток/кг и 330 тыс. клеток/кг, суспендированные в 0,2 мл 0,9% раствора NaCl. Животным контрольной группы вводили 0,9% раствор NaCl — 0,2 мл внутривенно. Внутривенные введения осуществлялись через 1 час после введения тетрахлорметана.

Исследовалось влияние сочетанной трансплантации ММСК и ГСК на показатели регенерации печени на 1, 3, 7 сутки после внутрибрюшинного введения тетрахлорметана в дозе 50 мкл на мышь однократно. Из опыта животных выводили декапитацией под легким эфирным наркозом. Изготавливали гистологические срезы печени толщиной 3-5 мкм, окрашивали гематоксилином-эозином. Для морфометрического анализа данных использовали компьютерную программу анализа изображений (Biovision, Россия). С этой целью производили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов цифровой камерой OLYMPUS XC30 на базе микроскопа OLYMPUS BX51 (OLYMPUS, Япония) при увеличении ×100, ×200, ×400, ×600, ×1000 (не менее 10 полей зрения в каждом гистологическом срезе).

Для количественной оценки выраженности воспалительных явлений в ткани печени был введен индекс воспалительной активности (ИВА). При этом производился анализ следующих гистологических изменений: 1) некрозы гепатоцитов – оценивались от 0 до 10 баллов; 2) дистрофия гепатоцитов % оценивались от 0 до 4 баллов; 3) воспалительный инфильтрат % оценивался от 0 до 4 баллов. ИВА определялся по сумме полученных баллов. Также производился расчет митотического индекса (МИ) гепатоцитов, апоптотического индекса (АИ), выраженные в промилле. Верификация выраженности апоптоза осуществлялась с использованием метода ApopTag® Peroxidase In Situ Oligo Ligation (ISOL) (Millipore, США). Апоптотический индекс определялся как отношение числа клеток в состоянии апоптоза к общему числу подсчитанных гепатоцитов.

С целью оценки выраженности репаративных процессов в клетках печени производился анализ количества Поли-АДФ-рибозаполимера (PARP), который является продуктом реакции Поли-АДФ-рибозилирования. По количеству этого полимера можно судить об активности ферментов репарации ДНК. Определение уровня данного показателя осуществлялось в клетках печени с использованием первичных (Anti-Poly (ADP-Ribose) Polymer

antibody, abcam) и вторичных антител (Rabbit Anti-Chicken IgY H&L (FITC), abcam) на проточном цитометре Beckman Coulter по методу A. Kunzmann, D. Lui, K. Annett на 7 сутки после моделирования токсического повреждения печени. Определялась средняя интенсивность флуоресценции популяции клеток (MFI), которая служит количественным критерием, характеризующим экспрессию антигенов (плотность рецепторов) внутри клетки.

Достоверность отличий в сравниваемых выборках проведено с применением t-критерия Стьюдента. Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета SPSS Statistics (версия 17,0).

Результаты и обсуждения

Повреждение печени тетрахлорметаном сопровождается развитием воспалительной реакции с гиперпродукцией цитокинов и хемокинов. На гистологических препаратах печени наблюдаются зоны некрозов, вакуольная дистрофия гепатоцитов, лимфоцитарная инфильтрация. На первые сутки после сочетанного введения ММСК и ГСК на фоне токсического повреждения печени при анализе выраженности индекса воспалительной активности в печени не выявлено достоверных отличий между опытной и контрольной группами. На 3 сутки после введения тетрахлорметана в опытной группе получено уменьшение инфильтрации и дистрофии гепатоцитов, что привело к снижению индекса воспалительной активности. На 7 сутки также имеются отличия между опытной и контрольной группами. Снижение индекса воспалительной активности произошло за счет сокращения зон некрозов, уменьшения дистрофии гепатоцитов, снижения воспалительной инфильтрации (таблица 1). Уменьшение интенсивности воспалительного процесса в печени может быть обусловлено способностью ММСК к синтезу спектра противовоспалительных цитокинов (TGF-β, ИЛ-10), а также ГСК к синтезу TGF-β. Известно, что TGF-β оказывает противовоспалительное действие за счет уменьшения выработки клетками иммунной системы ИЛ-1, ФНО, за счет торможения пролиферации Т- и В-лимфоцитов, подавления активности макрофагов.

Таблица 1

Выраженность воспалительных явлений в печени мышей после введения CCl4, M±m, n=7

Показатели	1 сутки		3 сутки		7 сутки	
	NaCl	ММСК+ГСК	NaCl	ММСК+ГСК	NaCl	ММСК+ГСК
Некрозы, баллы	6,0±0,52	5,1±0,49	5,6±0,50	4,7±0,42	3,8±0,32	3,1±0,28*
Дистрофия гепатоцитов, баллы	3,1±0,24	2,8±0,20	2,9±0,22	2,4±0,20*	2,0±0,17	1,6±0,12*
Воспалительный инфильтрат, баллы	3,3±0,30	2,9±0,25	3,1±0,21	2,5±0,18*	2,2±0,23	1,7±0,14*
Итого ИВА:	12,4±1,13	10,8±0,93	11,6±1,08	9,6±0,88*	8,0±0,81	6,4±0,57*

Примечание: * отличие от контрольной группы животных, достоверно с $p<0,05$

Введение тетрахлорметана привело к повышению митотической активности гепатоцитов. Это произошло в результате выраженного воспалительного ответа в печени, что сопровождается повышенной экспрессией транскрипционного фактора NF-kB, который усиливает пролиферацию гепатоцитов [7]. Развивающаяся в очаге воспаления гипоксия, накопление активных форм кислорода повреждают мембрану митохондрий, что ведет к высвобождению цитохрома С. В результате активируется каспаза 9 и запускается процесс апоптоза.

Токсическое повреждение печени вызывает компенсаторное повышение активности ферментов репарации ДНК семейства PARP. После котрансплантации ММСК и ГСК установлено еще большее повышение активности этих ферментов по сравнению с контрольной группой (рисунок 1).

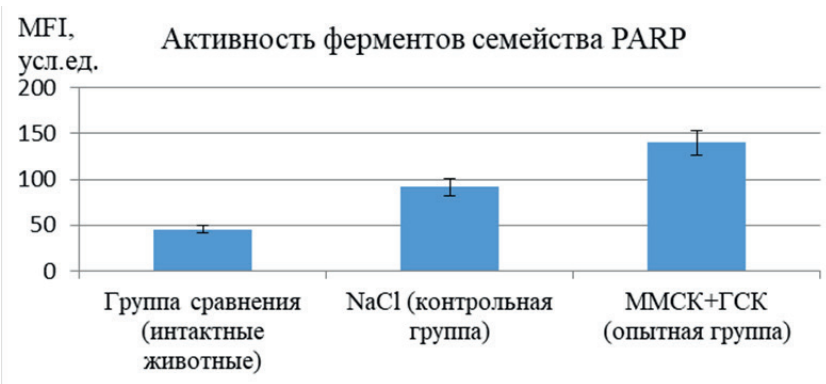


Рис. 1. Показатели активности ферментов репарации ДНК семейства PARP

Возможным механизмом активации системы репарации ДНК может быть способность трансплантируемых ММСК индуцировать в клетках синтез белков теплового шока (70 кД) — шаперонов [8, 9]. Эти белки обеспечивают поддержание структуры и функции ферментов репарации в условиях действия повреждающего фактора. Повышение уровня ферментов системы репарации ДНК приводит к уменьшению количества повреждений в клетке, что снижает активацию инициирующих и эффекторных каспаз и, как следствие, угнетает выраженность запрограммированной клеточной гибели.

В результате исследования получено, что котрансплантация ММСК и ГСК уже на 1 сутки после моделирования токсического повреждения печени приводит к активации митотической активности гепатоцитов, а на 3 сутки – к снижению запрограммированной клеточной гибели (таблица 2). Повышение митотического индекса в опытной группе можно объяснить способностью ММСК к синтезу фактора роста гепатоцитов — HGF. Известно, что HGF является митогеном для гепатоцитов, а также способствует дифференцировке перисинусоидальных клеток печени в гепатоциты. Также повышению митотической активности гепатоцитов может способствовать fusion-effect –способность ГСК к слиянию с гепатоцитами.

Таблица 2

Показатели регенераторной активности гепатоцитов после введения CCl4, M±m, n=7

	Группы животных	Показатели	
		МИ, ‰	АИ, ‰
	Интактные животные	0,48±0,07	0,41±0,05
1 сутки	NaCl (контрольная группа)	17,74±2,13*	4,87±0,36*
	ММСК+ГСК (опытная группа)	22,04±1,53* **	4,34±0,36*
3 сутки	NaCl (контрольная группа)	15,20±1,20*	3,70±0,31*
	ММСК+ГСК (опытная группа)	20,40±1,60* **	2,67±0,23* **
7 сутки	NaCl (контрольная группа)	17,06±1,64*	3,74±0,31*
	ММСК+ГСК (опытная группа)	23,56±1,85* **	2,67±0,20* **

Примечание: * отличие от группы интактных животных, достоверно с $p<0,05$; ** отличие от контрольной группы животных, достоверно с $p<0,05$;

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о способности сочетанной трансплантации ММСК и ГСК снижать выраженность воспалительной реакции в печени при ее токсическом повреждении. Также котрансплантация ММСК и ГСК стимулирует митотическую активность гепатоцитов, повышает активность ферментов системы репарации ДНК. Активация репаративной системы печени, в свою очередь, обеспечивает снижение запрограммированной гибели гепатоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Minot A.S, Cutler J.T. Guanidine retention and calcium reserve as antagonistic factors in carbon tetrachloride and chloroform poisoning / A.S. Minor, J.T. Cutler // J Clin Invest. – 1928. - 6(3): 369.

2. Guo, Q. Liver metabolomics study reveals protective function of Phyllanthus urinaria against CCl4-induced liver injury / Q. Guo // Chinese journal of natural medicines. - 2017. - 15 (7). - 525–0533.

3. Hu C. Chenxia Hu, Lanjuan Li. Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties in vitro and in vivo // Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2018. – Vol. 22(3). – P. 1428-1442.

4. Alfaif M. Mesenchymal stromal cell therapy for liver diseases / Mohammed Alfaifi, Young Woo Eom, Philip N. Newsome [et al.] // Journal of Hepatology. – 2018. – Vol.68. – P. 1272-1285.

5. S. F. H. de Witte, Franquesa M., Baan C. C., Hoogduijn M. J. “Toward development of iMesenchymal stem cells for immunomodulatory therapy,” Frontiers in Immunology. – 2016. - Vol. 6. - P. 648.

6. Brown Ch. Mesenchymal Stem Cells: Cell Therapy and Regeneration Potential / Ch. Brown, Ch. McKee, Sh. Bakshi [et al.] // Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. – 2019. - Vol. 13(9). – P. 1738-1755.

7. Konishi T. “Hepatic ischemia/reperfusion: mechanisms of tissue injury, repair, and regeneration,” / T. Konishi, A. B. Lentsch // Gene Expression. – 2017. - Vol. 17. - №. 4. - P. 277–287.

8. Fitter S., Gronthos S., Ooi S.S., Zannettino A.C.W. “The mesenchymal precursor cell marker antibody STRO-1 binds to cell surface heat shock cognate 70,” Stem Cells. – 2017. - Vol. 35. №. 4. - P. 940–951.

9. Human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against SCA3 by modulating the level of 70 kD heat shock protrin / T. Li, Y. Liu, L Yu [et al.] // Cellular and molecular neurobiolody. – 2018. – Vol 38. – P. 641–655.

Авторы
Маклакова Ирина Юрьевна
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
Кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии
Российская Федерация, 620028 г. Екатеринбург, ул. Репина 3
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Старший научный сотрудник
Российская Федерация, 620026 г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса 22а
makliu@mail.ru

Базарный Владимир Викторович
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
Доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии
Российская Федерация, 620028 г. Екатеринбург, ул. Репина 3
vlad-bazarny@yandex.ru

Гребнев Дмитрий Юрьевич
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
Доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической физиологии
Российская Федерация, 620028 г. Екатеринбург, ул. Репина 3
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Старший научный сотрудник
Екатеринбург, 620026 г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса 22 а
dr-grebnev77@mail.ru

I.Yu. Maklakova [1, 2], V.V.Bazarnyi [1], D.Yu. Grebnev [1, 2]

EFFECT OF MMSC AND HSC ON REPARATIVE REGENERATION OF THE LIVER UNDER CONDITIONS OF ITS TOXIC DAMAGE

[1] Ural State Medical University of the Ministry of health of Russia,
Yekaterinburg, Russian Federation;
[2] Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. ***The aim*** of this study was to study the effect of combined MMSC and HSC transplantation on liver regeneration under conditions of toxic carbon tetrachloride damage.

Materials and methods. The study was performed on white male mice with toxic liver damage by intraperitoneal administration of carbon tetrachloride at a dose of 50 µl per mouse once. An hour after modeling liver damage, placental MMSCs and HSCs were administered intravenously at a dose of 4 million cells/kg and 330 thousand cells/kg, respectively, suspended in 0.2 ml of 0.9% NaCl solution. Control group animals were given 0.9% NaCl solution-0.2 ml intravenously. On days 1, 3, and 7 after cell transplantation, changes in inflammatory activity in the liver were evaluated, and mitotic and apoptotic indices were determined. On the 7th day after the introduction of cells, the activity of DNA repair enzymes of the PARP family was analyzed. ***Results***. Combined MMSC and HSC transplantation leads to a decrease in the index of inflammatory activity in the liver due to a decrease in necrosis, hepatocyte dystrophy, and a decrease in infiltration. As a result of the study, an increase in the activity of PARP repair enzymes was found, which led to a decrease in programmed cell death. Also, cotransplantation of MMSCs and HSCs was accompanied by increased mitotic activity of hepatocytes. ***Conclusion***. Cotransplantation of MMSCs and HSCs under conditions of toxic liver damage reduces the inflammatory response, stimulates the mitotic activity of hepatocytes, and increases the activity of enzymes of the DNA repair system. Activation of the liver's reparative system, in turn, reduces the programmed death of hepatocytes.

Keywords: multipotent mesenchymal stromal cells, hematopoietic stem cells, toxic hepatitis, reparative liver regeneration

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Dmitry Yu. Grebnev
dr-grebnev77@mail.ru
Received 03.12.2020
For citation:
Maklakova I.Yu., Bazarny V.V., Grebnev D.Yu. Effect of MMSC and HSC on reparative regeneration of the liver under conditions of its toxic damage. Url: http://vestnikural.ru/article/1143 [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 3, pp. 243–248. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-243-248 (In Russ)

REFERENCES

1. Minot A.S, Cutler J.T. Guanidine retention and calcium reserve as antagonistic factors in carbon tetrachloride and chloroform poisoning. A.S. Minor, J.T. Cutler. J Clin Invest. – 1928. - 6(3): 369.
2. Guo, Q. Liver metabolomics study reveals protective function of Phyllanthus urinaria against CCl4-induced liver injury. Q. Guo. Chinese journal of natural medicines. - 2017. - 15 (7). - 525–0533.
3. Hu C. Chenxia Hu, Lanjuan Li. Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties in vitro and in vivo. Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2018. – Vol. 22(3). – pp. 1428-1442.
4. Alfaif M. Mesenchymal stromal cell therapy for liver diseases. Mohammed Alfaifi, Young Woo Eom, Philip N. Newsome [et al.] Journal of Hepatology. – 2018. – Vol. 68. – pp. 1272-1285.
5. S. F. H. de Witte, Franquesa M., Baan C. C., Hoogduijn M. J. "Toward development of iMesenchymal stem cells for immunomodulatory therapy," Frontiers in Immunology. – 2016. - Vol. 6. - P. 648.
6. Brown Ch. Mesenchymal Stem Cells: Cell Therapy and Regeneration Potential / Ch. Brown, Ch. McKee, Sh. Bakshi [et al.] Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. – 2019. - Vol. 13(9). – pp. 1738-1755.
7. Konishi T. "Hepatic ischemia/reperfusion: mechanisms of tissue injury, repair, and regeneration," T. Konishi, A. B. Lentsch. Gene Expression. – 2017. - Vol. 17. - No. 4. - pp. 277–287.
8. Fitter S., Gronthos S., Ooi S.S., Zannettino A.C.W. "The mesenchymal precursor cell marker antibody STRO-1 binds to cell surface heat shock cognate 70," Stem Cells. – 2017. - Vol. 35. No. 4. - pp. 940–951.
9. Human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against SCA3 by modulating the level of 70 kD heat shock protrin. T. Li, Y. Liu, L Yu [et al.] Cellular and molecular neurobiolody. – 2018. – Vol 38. – pp. 641–655.

Authors
Irina Yu. Maklakova
Ural State Medical University
Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of pathological physiology
Russian Federation, 620028 Yekaterinburg, st. Repin 3
Institute of Medical Cell Technologies
Senior researcher
Russian Federation, 620026 Yekaterinburg, st. Karl Marx 22a
makliu@mail.ru

Vladimir V. Bazarnyi
Ural State Medical University
MD, PhD, Professor of the Department of clinical laboratory diagnostics and bacteriology
Russian Federation, 620028 Yekaterinburg, st. Repin 3
vlad-bazarny@yandex.ru

Dmitry Yu. Grebnev
Ural State Medical University
PhD, head of the Department of pathological physiology
Russian Federation, 620028 Yekaterinburg, st. Repin 3
Institute of Medical Cell Technologies
Senior researcher
Russian Federation, 620026 Yekaterinburg, st. Karl Marx 22a
dr-grebnev77@mail.ru