

О.В. ФАЛЬКО, Н.А. ШЕВЧЕНКО, В.Ю. ПРОКОПЮК,
А.А. РОЕНКО, О.С. ПРОКОПЮК



СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДИК МОДЕЛИРОВАНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ КОНЕЧНОСТИ У МЫШЕЙ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков,
Украина

Цель. Сравнить существующие методики моделирования язвенного дефекта, нарушения гемодинамики и иннервации с последующей разработкой модели трофической язвы задних конечностей у мышей.

Материал и методы. Моделирование трофической язвы проводили на мышцах самцах линии Balb/C. Сосудистую недостаточность формировали лигированием (1-я группа) или электрокоагуляцией (2-я группа) сосудисто-нервного пучка в месте бифуркации общей подвздошной и бедренной артерий и вен. Язвенный дефект формировали внутрикожным введением 0,1 мл 10%-го хлорида кальция (3-я, 5-я, 7-я группы) и 9%-й уксусной кислоты (4-я, 6-я, 8-я группы). Животным 5-й и 6-й групп электрокоагуляцию проводили до введения химических агентов, 7-й и 8-й – после. Определяли срок формирования язвы, площадь язвы, срок полного заживления и функциональное состояние конечности.

Результаты. Лигирование (1-я группа) приводило к мумификации тканей конечности, электрокоагуляция (2-я группа) – к временному нарушению функции без образования язвенной поверхности. У животных 3-й и 5-й групп на 10-е сутки выявляли сухую язву, которая полностью заживала на 20-е и 30-е сутки соответственно. У мышей 4-й и 8-й групп выявляли мокнущую язву на 3-и сутки и ее заживление на 15-е и 35-е сутки соответственно. У животных 6-й и 7-й групп образования язвенного дефекта не происходило, наблюдали некротическое поражение кожи и подлежащих структур. Нарушение функциональной активности поврежденной конечности выявлялось во всех экспериментальных группах. У животных 1-й и 7-й групп функция конечности до конца эксперимента не восстанавливалась.

Заключение. Внутрикожное введение уксусной кислоты и последующая электрокоагуляция сосудисто-нервного пучка позволяют сформировать длительно незаживающую мокнущую язву и нарушение функции конечности, которые характерны для трофических язв. Другие исследованные способы могут найти применение в моделировании разных заболеваний, связанных с сосудистыми, нервными, кожными поражениями.

Ключевые слова: трофическая язва, моделирование, мышцы, электрокоагуляция, лигирование, уксусная кислота, хлористый кальций

Objective. To compare the existing methods of modeling an ulcerative defect as well as hemodynamics and innervation disorders, and then to develop the model of the lower limbs trophic ulcer in mice.

Methods. Trophic ulcers were simulated in male Balb/C mice. Vascular insufficiency was formed by either ligation (group 1) or electrocoagulation (group 2) of the neurovascular bundle at the site of bifurcation of the common iliac and femoral arteries and veins. The ulcerative defect was formed by intradermal injection of 0.1 ml 10% calcium chloride (groups 3, 5 and 7) and 9% acetic acid (groups 4, 6 and 8). The animals of the groups 5 and 6 were electrocoagulated prior to administration of chemical agents and the animals of the groups 7 and 8 after it. The term of ulceration, ulcer area, period of complete healing and functional status of the limb were determined.

Results. Ligation (group 1) resulted in a mummification of limb tissues and electrocoagulation (group 2) led to a temporary disruption of function without forming ulcerous surface. Dry ulcer had been revealed in the animals of the groups 3 and 5 by the 10th day; the ulcer had been completely healed by the 20th day and the 30th day, respectively. A weeping ulcer was revealed in mice of the groups 4 and 8 to day 3; its healing had been observed by the 15th and the 35th, respectively. No ulcerative defects were observed in the animals of the groups 6 and 7, there was observed necrotic injury of skin and under laying structures. Impaired functional activity of the injured limb was found in all experimental groups. In the animals of the 1st and 7th groups the limb function did not recover up to the end of the experiment.

Conclusions. Intradermal administration of acetic acid and subsequent electrocoagulation of neurovascular bundle allow forming a long-lasting non-healing weeping ulcer and limb dysfunction, which were typical for trophic ulcers. Other studied techniques can be applied when simulating various diseases, related to vascular, nervous and skin damages.

Keywords: trophic ulcer, modeling, mice, electrocoagulation, ligation, acetic acid, calcium chloride

Novosti Khirurgii. 2017 Nov-Dec; Vol 25 (6): 561-566

Comparative Analysis of Limbs' Trophic Ulcers Modeling Methods in Mice

O.V. Falko, N.A. Shevchenko, V.Y. Prokopyuk, A.A. Roenko, O.S. Prokopyuk

Введение

Трофические язвы (ТЯ) представляют собой не только серьезную медицинскую, но и социальную проблему. В настоящее время ТЯ нижних конечностей являются одним из распространенных заболеваний во всем мире. По данным разных исследователей, в мире этой патологией страдают от 2% до 2,5% трудоспособного населения и около 6% людей после 65 лет [1].

В значительном количестве случаев ТЯ является рецидивирующей патологией, которая ведет к ухудшению качества жизни, потере работоспособности, инвалидизации, повышению смертности. В связи с этим экспериментальное изучение патогенеза и саногенеза трофической язвы, а также разработка новых методов ее лечения по-прежнему остаются актуальными проблемами хирургии [2]. Одним из важнейших разделов доклинических исследований лекарственных средств является исследование на моделях патологических состояний [3].

Появление ТЯ связано с нарушением иннервации и локальной гемодинамики артериальной, венозной и лимфатической систем, которые инициируют патологические изменения на тканевом, клеточном, микроциркуляторном уровнях и приводят к деструкции тканей [4]. В литературе описаны методы моделирования ишемии конечности как ведущего патогенетического звена ТЯ путем лигирования или коагуляции сосудов, которые не приводят к образованию язвенного дефекта [5, 6]. Существуют методы моделирования язвенной поверхности, основанные на введении различных химических агентов (таких как уксусная кислота, хлористый кальций), в результате чего образуется химический ожог [7], который приводит к образованию язвенного дефекта, но не к формированию ТЯ, поскольку в основу патогенеза таких нарушений не входит нарушение кровообращения и иннервации.

Для разработки адекватного метода моделирования ТЯ необходимо учитывать следующее: во-первых, экспериментальная модель должна

иметь сходные с заболеванием у человека этиопатогенетические звенья, во-вторых, отвечать клиническим и лабораторным критериям диагностики, в-третьих, быть легко воспроизводимой [8].

Цель. Сравнить существующие методики моделирования язвенного дефекта, нарушения гемодинамики и иннервации с последующей разработкой модели трофической язвы конечностей у мышей.

Материал и методы

Моделирование ТЯ проводили разными способами на лабораторных мышах самцах линии Balb/C массой 19–21 г, возрастом 6 месяцев, по 7 животных в каждой группе.

Мышам 1-й группы сосудистую недостаточность формировали путем лигирования нервно-сосудистого пучка кетгутотом №4 («Игар», Украина), 2-й группы – электрокоагуляцией. Мышам 3-й и 4-й групп в наружную поверхность бедра внутривенно вводили по 0,1 мл 10%-го хлористого кальция или 9%-й уксусной кислоты соответственно. Мышам 5-й и 6-й групп сосудистую недостаточность формировали путем электрокоагуляции. На следующий день в оперированную конечность животным 5-й группы внутривенно вводили 0,1 мл 10%-го хлористого кальция («Дарница», Украина), 6-й – 0,1 мл 9%-ой уксусной кислоты («Уралхим», Россия). Мышам 7-й группы в наружную поверхность бедра внутривенно вводили 0,1 мл 10%-го хлористого кальция, 8-й группы – 0,1 мл 9%-й уксусной кислоты, на следующий день делали электрокоагуляцию нервно-сосудистого пучка этой же конечности (патент Украины на полезную модель № 100068) (таблица 1).

Животных оперировали внебрюшинным способом, делая разрез тканей параллельно паховой связке. Лигирование и электрокоагуляцию сосудисто-нервного пучка проводили в месте бифуркации общей подвздошной и бедренной артерий и вен до прекращения кровенаполнения сосудов. Электрокоагуляцию

Таблица 1

Дизайн эксперимента		
№ группы	1 день	2 день
1	Лигирование	–
2	Коагуляция	–
3	10%-й хлористый кальций	–
4	9%-я уксусная кислота	–
5	Коагуляция	10%-й хлористый кальций
6	Коагуляция	9%-я уксусная кислота
7	10%-й хлористый кальций	Коагуляция
8	9%-я уксусная кислота	Коагуляция

проводили высокочастотным электрохирургическим аппаратом (ЕХВЧ М-50РХ «Надія-2», Украина) в режиме коагуляции. Образовавшуюся раневую поверхность исследовали на 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40-е сутки. Определяли срок формирования язвы, площадь язвы, срок полного заживления и функциональное состояние конечности. Для определения площади язвенной поверхности раны фотографировали. Цифровые изображения обрабатывали с помощью программы ImageJ 1.48.

Эксперименты проводили в соответствии с требованиями комитета по биоэтике Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (протокол №2 от 3.06.2013), которые соответствуют директиве Европарламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 (Directive 2010/63/EU). Согласно утвержденному протоколу животных оперировали под эфирным наркозом, внутривенное введение растворов хлорида кальция и уксусной кислоты проводили после анестезии 1%-м раствором «Новокаин», Дарница. Животных выводили из эксперимента смещением шейных позвонков.

Статистика

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программного обеспечения Past V.3.15. Для каждой исследуемой группы вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах (25%; 75%) (Q1; Q3).

Результаты

У животных 1-й группы, которым лигировали нервно-сосудистый пучок, язвенный дефект не формировался. Оперированная конечность в первые сроки наблюдения (3-5 дней) была синюшной, животное не могло на нее опираться. Затем, к 15-м суткам, поврежденная конечность мумифицировалась, что у некоторых животных

приводило к ее потере. В дальнейшем мы отказались от лигирования, нарушение циркуляции крови и иннервацию вызывали электрокоагуляцией нервно-сосудистого пучка.

Результаты наблюдения за животными 2-й группы (коагуляция) показали, что язвенная поверхность также не образовывалась, оперированная конечность выглядела отечной, синюшной, животное на нее не опиралось (рис. А). Однако на 10-15-е сутки эксперимента ее функциональная способность полностью восстанавливалась.

Животные 3-й группы после однократного внутривенного введения 10%-го хлористого кальция на поврежденную конечность не опирались. На 10-е сутки эксперимента выявляли формирование язвенной поверхности, покрытой сухой коркой (таблица 2, рис. Б), а на 20-е сутки эксперимента наблюдали полное ее заживление с образованием плотного рубца. Функция конечности полностью восстанавливалась только к концу срока наблюдения.

У животных 4-й группы на третий день после внутривенного введения уксусной кислоты формировалась мокнущая язва (рис. В). Животные не опирались на поврежденную конечность, однако в отличие от 3-й группы функция конечности полностью восстанавливалась к моменту заживления язвы (на 15-й день эксперимента) (таблица 2). Восстановления шерстного покрова не происходило (рис. Г).

У животных 5-й группы сочетанное воздействие электрокоагуляции с последующим введением 10%-го хлористого кальция приводило к нарушению двигательной функции конечности. Оперированная конечность выглядела цианотичной, отечность не выявлялась. Небольшая сухая язва формировалась только на 10-й день после начала моделирования (таблица 2). Язвенная поверхность покрывалась плотным, сухим струпом и полностью заживала на 30-е сутки эксперимента.

Рис. Конечности животных разных экспериментальных групп: А – ишемизация конечности коагуляцией сосудисто-нервного пучка; Б – сухая язва; В – мокнущая язва; Г – эпителизация с аллопецией.



Таблица 2

Площадь дефекта кожи (мм²) у экспериментальных животных (Ме (Q₁; Q₃))

Группы	Сутки наблюдения						
	3	5	10	15	20	30	35
1		Мумификация конечности					
2	–	–	–	–	–	–	–
3	–	–	19,625 (12,56; 22,89)	2,27 (2,01; 2,543)	–	–	–
4	42,987 (40,694; 47,759)	22,891 (19,62; 24,618)	7,065 (6,154; 9,616)	–	–	–	–
5	–	–	24,618 (22,891; 26,407)	11,35 (9,075; 13,197)	4,522 (4,522; 4,908)	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–
7	–	78,5 (69,363; 88,203)	75,39 (69,363; 88,203)	58,055 (56,718; 60,79)	47,759 (45,342; 50,24)	30,175 (28,26; 32,154)	7,065 (4,908; 9,61625)
8	60,79 (55,39; 69,363)	44,156 (44,156; 50,24)	32,154 (30,175; 34,195)	16,316 (12,56; 19,625)	7,545 (7,065; 8,038)	1,766 (1,256; 1,766)	–

У животных 6-й группы сочетанное воздействие электрокоагуляции и последующего введения 9%-й уксусной кислоты не приводило к формированию язвенной поверхности на протяжении всего срока наблюдения. Макроскопически конечность выглядела цианотичной, отека не наблюдалось. На 3-й день после начала моделирования язвы в области введения уксусной кислоты отмечали некротическое изменение кожи и подкожных структур, выпадение шерсти, нарушение двигательной активности конечности.

У мышей 7-й группы после введения 10%-го хлористого кальция с последующей электрокоагуляцией на 5-е сутки образовывалась плотная, сухая зона некроза кожи и подлежащих тканей, что приводило к функциональным нарушениям конечности. На 30-й день эксперимента выявляли отделение некротизированной ткани с образованием заживающего тканевого дефекта, полное заживление отмечали на 40-е сутки. Язвенная поверхность не образовалась, функция конечности до конца срока наблюдения не восстанавливалась (таблица 2).

Моделирование трофической язвы у животных 8-й группы (9%-я уксусная кислота + электрокоагуляция) приводило к образованию обширной мокнущей язвы. Макроскопически наблюдали цианоз, отечность конечности и нарушение ее двигательной функции. На протяжении всего эксперимента раневая поверхность струпом не покрывалась. Заживление происходило медленно, даже после месяца наблюдения выявляли язвы небольшого диаметра (таблица 2).

Таким образом, было воспроизведено восемь различных методик формирования язвенного дефекта и/или ишемии конечности на лабораторных мышах.

Обсуждение

Нами показано, что лигирование сосудов ведет к полному нарушению кровообращения, как следствие происходит мумификация конечности. Электрокоагуляция приводит к временному нарушению функции, но не к образованию язвы. Невозможность вызвать язвенный дефект ишемией в литературе связывают с небольшими размерами конечности и широкой сетью анастомозов [9]. Введение уксусной кислоты приводит к быстрому образованию мокнущей язвы, что связано с разрушением ткани, образованием некротических масс, отеком. Введение 10%-го хлористого кальция ведет к образованию сухой язвы в более поздние сроки наблюдения, при этом поражение более глубокое, связано с дегидратацией, нарушением кровоснабжения [10]. Ишемизация конечности, с химическим ожогом, приводит к более длительному заживлению раневой поверхности. В этом случае патологический процесс можно расценивать не как химический ожог, а как трофическую язву, поскольку саногенез отсрочен по причине нарушения кровоснабжения и иннервации. В случае, когда химическое воздействие произведено до ишемизации, язвы образуются более крупные и позже заживают, что, на наш взгляд, связано с тем, что процессы экссудации и альтерации проходят в полном объеме, в то время как про-

цессы пролиферации заторможены по причине нарушения кровоснабжения и иннервации. В случае, когда ишемизация и нарушение иннервации предшествуют химическому воздействию, процессы экссудации и альтерации также заторможены и крупных язв не образуется, а с восстановлением кровоснабжения процессы пролиферации происходят в полном объеме при меньшем изначальном дефекте. Заживление мокнущей язвы чаще происходит под струпом с эпителизацией, при этом шерстный покров не восстанавливается, глубокие ишемизированные повреждения чаще заживают с образованием рубца, при этом края язвы стягиваются и дефекта волосяного покрова не наблюдается, однако образуется грубый рубец.

На наш взгляд, наиболее близкой к ТЯ моделью является сочетанное влияние внутрикожного введения уксусной кислоты и последующей электрокоагуляции сосудисто-нервного пучка, поскольку в данном случае усиленная альтерация и экссудация сочетаются с замедленной пролиферацией и регенерацией. При этом патологический процесс сходен с типичной клинической картиной, которая характеризуется длительно незаживающими мокнущими язвами. В то же время другие модели могут найти применение в моделировании разных заболеваний, связанных с сосудистыми, нервными или кожными поражениями (облитерирующего эндартериит, атеросклероза, венозной недостаточности, ожогов и т.д.).

Выводы

1. Нарушение гемодинамики конечности, вызванное лигированием сосудов, приводит к трофическим нарушениям тканей с последующей их мумификацией без образования язвенного дефекта. Электрокоагуляция вызывает временное нарушение функции конечности без образования раневых дефектов.

2. Введение уксусной кислоты приводит к быстрому образованию мокнущей язвы, хлористого кальция — к отсроченному образованию сухой язвы. Ишемизация конечности, соединенная с химическим ожогом, приводит к более длительному заживлению раневой поверхности. Язвенная поверхность не формировалась у группы животных, которым проводили электрокоагуляцию сосудисто-нервного пучка с последующим введением уксусной кислоты, и после введения хлористого кальция с последующей электрокоагуляцией.

3. Наиболее оптимальным для моделирования трофической язвы является способ, которым вызывают повреждение кожи введением

уксусной кислоты с последующим нарушением гемодинамики и иннервации электрокоагуляцией сосудисто-нервного пучка. Полученный данным методом патологический процесс характеризуется длительно незаживающими мокнущими язвами. Другие модели могут найти применение в моделировании разных заболеваний, связанных с сосудистыми, нервными или кожными поражениями.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Швальб ПГ, Грязнов СВ. Миниинвазивный метод коррекции клапанной недостаточности бедренной вены при различных причинах ее происхождения. *Ангиология и Сосудистая Хирургия*. 2015;2 (2):84-87.
2. Kroege K, Storck M, Kujath P, Rabe E, Dissemond J. Prophylaxis of recurrent venous leg ulcer. *Zentralbl Chir*. 2016;(141):1-5. doi: 10.1055/s-0042-109977.
3. Стефанов ОВ, ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ, Україна: Авіцена; 2001. 528 с.
4. Оболенский ВН. Хроническая рана: обзор современных методов лечения. *РМЖ*. 2013;21(5):282-89.
5. Diao Y, Lian L, Guo L, Chen H, Chen Y, Song X, et al. A vascular endothelial growth factor activating transcription factor increases the endothelial progenitor cells population and induces therapeutic angiogenesis in a type 1 diabetic mouse with hindlimb ischemia. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(20):3623-29.
6. Hellingman AA, Bastiaansen AJ, de Vries MR, Seghers L, Lijkwan MA, Löwik CW, et al. Variations in surgical procedures for hind limb ischaemia mouse models result in differences in collateral formation. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010 Dec;40(6):796-803. doi: 10.1016/j.ejvs.2010.07.009.
7. Семенов ДВ. Вплив мазі з олією аронії чорноплідної на патогенез ранового процесу. *Клінічна Фармація*. 2009;(3):35-38.
8. Фролова НЮ, Мельникова ТИ, Бурякина АВ, Вишневская ЕК, Авенирова ЕЛ, Сивак КВ и др. Методические подходы к экспериментальному изучению дерматотропных средств. *Эксперим и Клини Фармакология*. 2009;72(5):56-60.
9. Плотников МБ, Иванов ИС, Сидехменова АВ, Алиев ОИ, Фомина ТИ, Ермолаева ЛА. Моделирование хронической венозной недостаточности нижних конечностей. *Биомедицина*. 2013;(1):55-66.
10. Уракова НА, Ураков АЛ. Инъекционная болезнь кожи. *Соврем Проблемы Науки и Образования* [Электронный ресурс]. 2013;(1). Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8171>.

REFERENCES

1. Shval'b PG, Griaznov SV. Miniinvasive method of correction of valvular insufficiency of the femoral vein for various reasons of its origin. *Angiologia i Sosud Khirurgiia*. 2015;2 (2):84-87.
2. Kroege K, Storck M, Kujath P, Rabe E, Dissemond

- J. Prophylaxis of recurrent venous leg ulcer. *Zentralbl Chir.* 2016;(141):1-5. doi: 10.1055/s-0042-109977.
3. Stefanov OV, red. Doklinichni doslidzhennia likars'kikh zasobiv: metodichni rekomendatsii [Preclinical research of medicinal products: methodical recommendations]. Kiiv, Ukraina: Avitsena; 2001. 528 p.
4. Obolenskii VN. Khronicheskaia rana: obzor sovremennykh metodov lecheniia [Chronic wound: an overview of modern methods of treatment]. *RMZh.* 2013;21(5):282-89.
5. Diao Y, Lian L, Guo L, Chen H, Chen Y, Song X, et al. A vascular endothelial growth factor activating transcription factor increases the endothelial progenitor cells population and induces therapeutic angiogenesis in a type 1 diabetic mouse with hindlimb ischemia. *Chin Med J (Engl).* 2014;127(20):3623-29.
6. Hellingman AA, Bastiaansen AJ, de Vries MR, Seghers L, Lijkwan MA, Löwik CW, et al. Variations in surgical procedures for hind limb ischaemia mouse models result in differences in collateral formation. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010 Dec;40(6):796-803. doi: 10.1016/j.ejvs.2010.07.009.
7. Semenov DV. Vpliv mazi z oleiu aronii chornoplidnoi na patogenez ranovogo protsesu [Influence of the ointment with aronia oil on the pathogenicity of the wound process]. *Klinichna Farmatsiia.* 2009; (3): 35-38.
8. Frolova NI, Mel'nikova TI, Buriakina AV, Vishnevskaiia EK, Avenirova EL, Sivak KV i dr. Metodicheskie podkhody k eksperimental'nomu izucheniiu dermatotropnykh sredstv [Methodical approaches to the experimental study of dermatotropic agents]. *Eksperim i Klin Farmakologiya.* 2009;72(5):56-60.
9. Plotnikov MB, Ivanov IS, Sidekhmenova AV, Aliev OI, Fomina TI, Ermolaeva LA. Modelirovanie khronicheskoi venoznoi nedostatochnosti nizhnikh konechnostei [Modeling of chronic venous insufficiency of lower extremities]. *Biomeditsina.* 2013;(1):55-66.
10. Urakova NA, Urakov AL. Inektsionnaia bolezn' kozhi [Injectable skin disease]. *Sovrem Problemy Nauki i Obrazovaniia* [Elektronnyi resurs]. 2013;(1). Rezhim dostupa: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8171>.

Адрес для корреспонденции

61016, Украина,
г. Харьков, ул. Переяславская, д. 23,
Институт проблем криобиологии
и криомедицины НАН Украины,
отдел криобиологии
систем репродукции,
тел. раб.: +38 057 373-59-53,
e-mail: o.v.falko@gmail.com,
Фалько Оксана Валерьевна

Сведения об авторах

Фалько О.В., к.б.н., научный сотрудник отдела криобиологии систем репродукции, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.
Шевченко Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник отдела криобиологии систем репродукции, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.
Прокопюк В.Ю., к.м.н., старший научный сотрудник отдела криопатофизиологии, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.
Роенко А.А., аспирант отдела уриобиологии систем репродукции, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.
Прокопюк О.С., д.м.н., профессор, заведующий отделом криобиологии систем репродукции, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.

Информация о статье

Поступила 23 марта 2017 г.
Принята в печать 31 августа 2017 г.
Доступна на сайте 6 ноября 2017 г.

Address for correspondence

61016, Ukraine,
Kharkov, Pereyaslavskaya str., 23,
Institute for Problems of Cryobiology
and Cryomedicine of NAS of Ukraine,
Department of Cryobiology
of the Reproduction Systems,
tel. office.: +38 057 373-59-53,
e-mail: o.v.falko@gmail.com,
Oksana V. Falko

Information about the authors

Falko O.V., PhD, Researcher of the Department of Cryobiology of the Reproduction Systems of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine.
Shevchenko N.A., PhD, Senior Researcher of the Department of Cryobiology of the Reproduction Systems of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine.
Prokopyuk V.Y., PhD, Senior Researcher of the Department of Cryopathophysiology of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine.
Roenko A.A., Post-Graduate Student of the Department of Cryobiology of the Reproduction Systems of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine.
Prokopyuk O.S., MD, Professor, Head of the Department of Cryobiology of the Reproduction Systems of the Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine.

Article history

Arrived 23 March 2017
Accepted for publication 31 August 2017
Available online 6 November 2017