

УДК: 577.112.083

**Исследование влияния эндогенных биорегуляторов, выделенных из сыворотки крови и кости млекопитающих, на регенерацию конечности амфибий**

Агильон-Гутиеррес Д. Р.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния биорегуляторов (БР) на регенерацию конечностей бесхвостых амфибий и на поддержание жизнеспособности тканей развивающегося регенерата хвостатых амфибий *in vitro*. В ходе работы выяснилось, что способность к регенерации задней конечности *Xenopus laevis* на стадии метаморфоза зависит от уровня ампутации, а стимулирующее регенерацию действие БР, выделенного из сыворотки крови, снижалось при увеличении регенерационной способности. БР сыворотки крови обладал выраженным действием на регенерацию *in vivo* конечности *Xenopus laevis* при ампутации ее в проксимальной области. БР кости и БР сыворотки крови обладали протекторным эффектом на состояние тканей регенерирующей конечности тритона *Pl. waltl* при условии ее культивирования *in vitro*.

Ключевые слова: биорегуляторы, регенерация, амфибии.

**Research on the influence of endogenous bioregulators, isolated from blood serum and bones of mammals, on the regeneration of amphibian limbs**

Aguillón-Gutiérrez David Ramiro

The purpose of this study was to investigate the effect of bioregulators (BR) on anurans limb regeneration and to maintain the viability of the tissues of the developing salamanders regenerate *in vitro*. During this work it was found that the ability of *Xenopus laevis* to regenerate hindlimb in metamorphosis stage depends on the level of amputation, while stimulating regeneration by BR isolated from blood serum, decreases when the regenerative capacity increases. BR from serum had a pronounced effect on the regeneration of *Xenopus laevis* hindlimb *in vivo* when amputation was in the proximal region. BR from bone and BR from serum had a protective effect on the condition of the tissue regenerated limb of the newt *Pleurodeles waltl* provided by cultivation *in vitro*.

Keywords: Bioregulators, regeneration, amphibians.

## Введение

Практически во всех тканях млекопитающих были обнаружены представители новой группы мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (БР) [6, 10]. Биорегуляторы данной группы впервые были идентифицированы в тканях млекопитающих как молекулы адгезии. Позже, после того, как было показано их влияние на основные биологические процессы (миграция, дифференцировка, пролиферация клеток), эти белки было предложено называть регуляторными [3, 4, 6, 10]. Интересно, что биорегуляторы данной группы характеризуются проявлением биологической активности в сверхмалых дозах (СМД), соответствующих  $10^{-8}$ — $10^{-15}$  мг белка в мл.

БР, обладая морфогенетическим потенциалом, активно участвуют в процессах восстановления и репарации тканей различных позвоночных животных [10]. Эту функцию БР можно комплексно исследовать по их влиянию на репаративную регенерацию. Модели регенерационных морфогенезов позвоночных хорошо разработаны на амфибиях. Сопоставление механизмов, обеспечивающих репаративную регенерацию, у представителей этого класса, различающихся по регенерационным способностям, может прояснить вопрос об утрате возможности восстановления полноценного органа высшими позвоночными. Хвостатые амфибии во взрослом состоянии могут полностью регенерировать морфологически функциональные конечности и ткани утраченных органов. Бесхвостые амфибии сохранили способности к полной регенерации конечностей только на ранних стадиях развития (до метаморфоза), на более поздних стадиях, если и регенерирует конечность, то лишь в виде морфологически и функционально не развитой спиккулы. Хрящ спиккулы *Xenopus laevis* несегментирован, не имеет суставов и зрелой надхрящницы. Эти особенности ассоциируют с отсутствием экспрессией генов *gdf5* и *bmp4*, характерных для надхрящницы развивающейся почки конечности [9]. Тем не менее, у *Anura* регенерация с образованием спиккулы является типичной эпиморфной, то есть включает дедифференцировку клеток, образование и нейрозависимую пролиферацию бластемы [9]. У взрослых *Anura* не полностью выключены молекулярные механизмы, регулирующие пространственную организацию конечности. Например, на спиккулах самцов *Xenopus laevis* образуются брачные мозоли; в бластеме выявляется экспрессия гена *Hox 13* (маркера аутопода), а также наблюдается экспрессия некоторых генов, ответственных за формирование anteriопостериорной оси [9].

На тканевом уровне регенерация отдельных тканей конечности у бесхвостых и хвостатых амфибий отличается: если у хвостатых все ткани успешно регенерируют, формируя целостную структуру, то у бесхвостых затруднена регенерация мезодермальных производных (мышцы, минерализованная кость, суставы, связки) при нормальной регенерации эпидермальных (кожа и кожные железы, брачные мозоли у самцов, коготь на спикеле). Присутствие отдельных регуляторов нормального морфогенеза конечности в таких гипоморфных регенератах показано, однако, согласованной их работы, приводящей к формированию нормального регенерата, нет. Так, в спикеле выявляется экспрессия гена *Scleraxis* — маркерного гена сухожилий, развитие которых идет при дифференцировке мышечной ткани [8], а гены маркеры мышечной дифференцировки (*myoD* and *myf5*) выявляются только после имплантации выделяющих HGF клеток [8]. Было показано, что некоторые БР способствуют повышению регенерационной способности у бесхвостых амфибий — БР, выделенный из сыворотки крови, в высокой концентрации способствовал образованию регенератов с пальцами после ампутации передней конечности у *Xenopus laevis* [4].

## Материалы и методы

Выделение и очистку БР проводили с использованием разработанного экспериментального подхода, по методике, описанной ранее [4]. БР сыворотки крови получали из препарата «Сыворотка крови крупного рогатого скота, инактивированная, стерильная», производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН. Для выделения БР костной ткани использовали крыс Wistar (200—230 г). Для характеристики полученных фракций использовали метод оценки мембранотропной активности [4].

Эксперименты по действию БР на регенерацию конечности шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (Daudin) проводили на животных, содержащихся в условиях аквариальной кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова в стандартных условиях ( $t^{\circ}$  воды + 20 $^{\circ}$  С, световой режим 18 С : 6 Т, кормление мотылем 2 раз в неделю). У животных на стадии 64 (конец метаморфоза) по таблицам нормального развития [7], наркотизированных 0, 3 % раствором MS-222 (Tricaine methanesulfonate C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub>S) проводили ампутацию правых задних конечностей на уровне проксимальной (1-я серия опытов) или дистальной (2-я серия опытов) трети стилопода. Плоскость ампутации проходила перпендикулярно проксимо-дистальной оси конечности. В течение эксперимента 1 раз в неделю проводили прижизненную съемку

регенерирующей конечности для оценки динамики роста регенерата с помощью МБС-10, оборудованного видеокамерой Kampro video professional, подключенной к компьютеру (программное обеспечение на компьютере — iuVCR 4 9.2.35.5.). Начиная с 2 суток после ампутации в регенерат через каждые 48 часов на протяжении 2-х (1-я серия опытов) и 6-ти (2-я серия опытов) месяцев инъецировали 0, 5 мкл БР, растворенного в физиологическом растворе для холоднокровных. Одной группе животных вводили раствор БР сыворотки крови (далее БРС) в концентрации  $10^{-1}$  мг/мл; второй группе — раствор БР костной ткани (далее БРК) в концентрации  $10^{-2}$  мг/мл (1-я серия опытов) или в концентрации  $10^{-12}$  мг/мл (2-я серия опытов). В качестве контроля использовали животных, которым в регенерат в те же сроки вводили 0, 5 мкл физиологического раствора для холоднокровных. Дополнительным контролем служили животные, в регенераты которых инъекции не проводили — интактный контроль. Каждая экспериментальная и контрольная группа включала по 7—10 животных. По окончании эксперимента регенераты отрезали проксимальнее плоскости первоначальной ампутации у анестезированных описанным выше способом лягушек, фиксировали в жидкости Буэна, заключали в парапласт, изготавливали гистологические препараты продольных срезов (толщина 8 мкм, окраска по Маллори).

Эксперименты по действию БР на регенераты конечности испанского тритона *Pleurodeles waltl* (Michahelles) in vitro проводили с использованием половозрелых тритонов, содержащихся в аквариальной Института биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН в стандартных условиях ( $t^{\circ}$  воды +  $18^{\circ}$  С, световой режим 18 С : 6 Т, кормление измельченным мясом 2 раз в неделю). У тритонов, наркотизированных 3 % раствором MS-222, ампутировали левую заднюю конечность на уровне голени. Образующиеся регенераты на стадии образования пальцев удаляли у анестезированных животных, дезинфицировали этиловым спиртом и помещали в темные флаконы, объемом 10 мл, в культуральную среду для амфибий (контроль) или со средой, в которую было добавлено 40 мкл БР. Использовали БРС в концентрации  $10^{-16}$  мг/мл (1-я серия) и  $10^{-2}$  мг/мл (2-я серия) и БРК в концентрации  $10^{-16}$  мг/мл (3-я серия). Дополнительным контролем (контроль сравнения) были регенераты, которым в культуральную среду добавляли FGF2 (Sigma) в концентрации  $10^{-10}$  мг/мл. Объем среды во флаконе 4 мл. Перед использованием среда проходила холодную стерилизацию через фильтры Millipore (0, 22 мкм).

Состав среды для культивирования: Среда 199 — 350 мл, дистиллированная вода — 150 мл, NEPES 1M — 150 мкл, гентамицина

сульфат 4 % — 1 мл, антибиотик/антимикотик (Sigma) — 5 мл, эмбриональная телячья сыворотка — 50 мл.

Было использовано роллерное культивирование на приборе Roller RM5 Assistant, Germany. 35 об/мин, (22° C) в течение 12 дней. Среду для культивирования меняли каждые 3 дня. После этого, регенераты конечности были зафиксированы в растворе Буэна для дальнейшего приготовления гистологических срезов.

## Результаты и обсуждение

Результаты наших экспериментов по регенерации конечности у шпорцевой лягушки свидетельствуют, что к концу метаморфозного климаткса (стадия 64) способность к восстановлению утраченной конечности зависит от уровня ампутации — после ампутации на уровне дистальной трети бедра у 70 % животных из групп интактного контроля образовались спиккулы, тогда как после ампутации на уровне проксимальной трети регенерационный морфогенез не проходил (рисунок 1). Периодическое травмирование постампутационной раны (инъекции физ. раствора) повышало регенерационные способности, что подтвердило данные, имеющиеся в литературе [1].

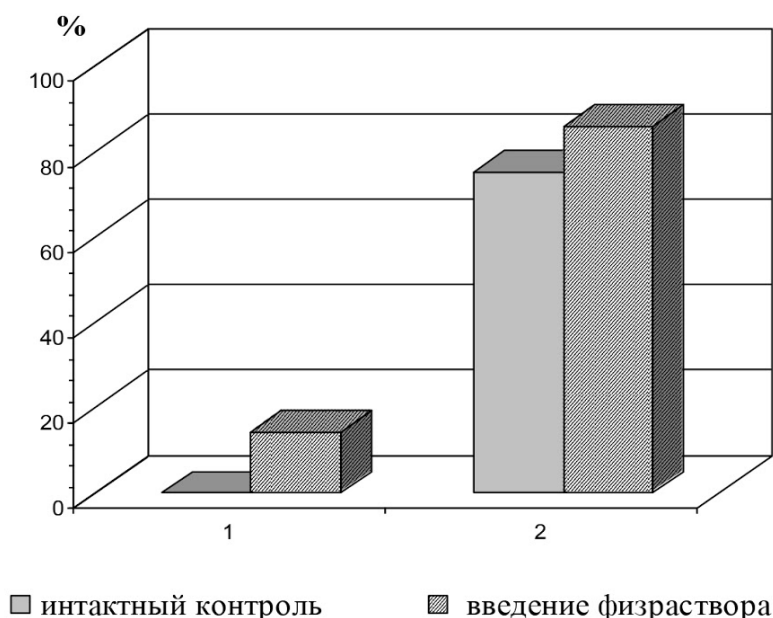


Рисунок 1 — Сопоставление регенерационной способности *X. laevis* после ампутации задней конечности на уровне проксимальной (1) и дистальной (2) трети бедра

Далее было исследовано действие изучаемых биорегуляторов в разных дозах на регенерацию конечностей амфибий в условиях *in vivo* и *in vitro*.

В условиях *in vivo*, сывороточный БР в большой концентрации (0, 1 мг/мл), а костный БР в СМД ( $10^{-12}$  мг/мл), стимулируют регенерацию задней конечности лягушки после ампутации в проксимальной области бедра (Рисунки 2 и 3). При ампутации конечности в более дистальной области их стимулирующее действие не проявлялось. Исходя из вышеописанных данных, это может указывать, что стимулирующее репарации действие БР проявилось в тех условиях, когда регенерационная способность у бесхвостых амфибий наиболее низка.

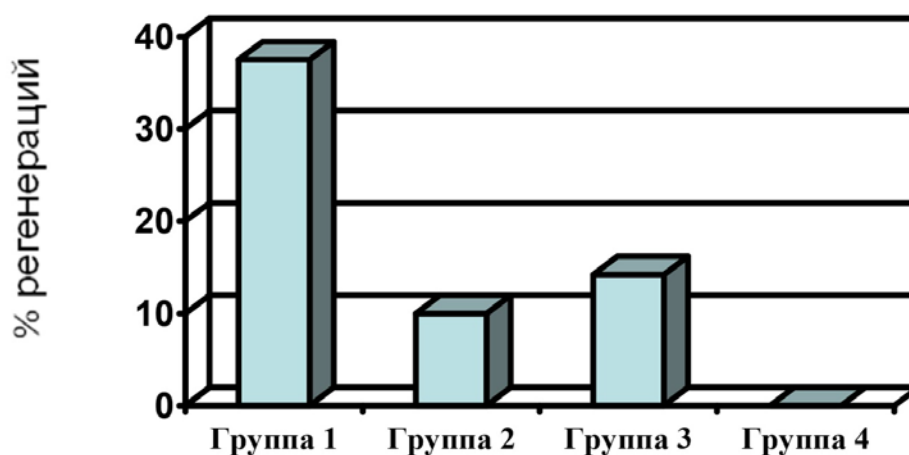


Рисунок 2 — Результаты через 2 месяца, после ампутации конечности у *Xenopus laevis* в проксимальной области  
группа 1 — РБ сыворотки крови  $10^{-1}$  мг/мл; группа 2 — РБ кости  $10^{-2}$  мг/мл; группа 3 — физ. раствор; группа 4 — контроль

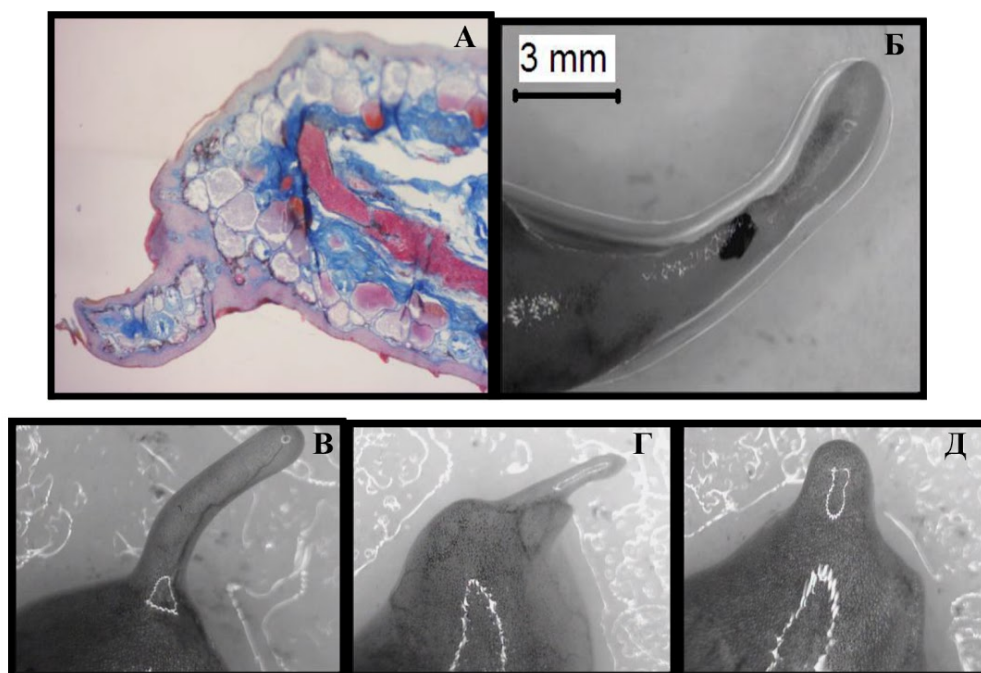


Рисунок 3— Результаты через 2 месяца, после ампутации конечности у *Xenopus laevis* в проксимальной области

А— конечность, на которой произошло морфологическое образование пальцеподобного выроста с когтем при воздействии РБ сыворотки крови  $10^{-1}$  мг/мл; Б — РБ сыворотки крови  $10^{-1}$  мг/мл; В — РБ кости  $10^{-2}$  мг/мл; Г — физ. раствор; Д — контроль

На рисунке 4 представлены регенераты задней конечности тритона *Pleurodeles waltl* на стадии формирования 3-х пальцев. В нативном регенерате хорошо выражены хрящевые структуры, соответствующие сформировавшимся пальцам, регенерат покрыт многослойным эпителием, между хрящевыми структурами наблюдаются мезенхимоподобные клетки, коллагеновые волокна, сосуды. Под эпителием и в мезенхиме наблюдаются небольшие скопления пигментированных клеток (Рисунок 4 А).



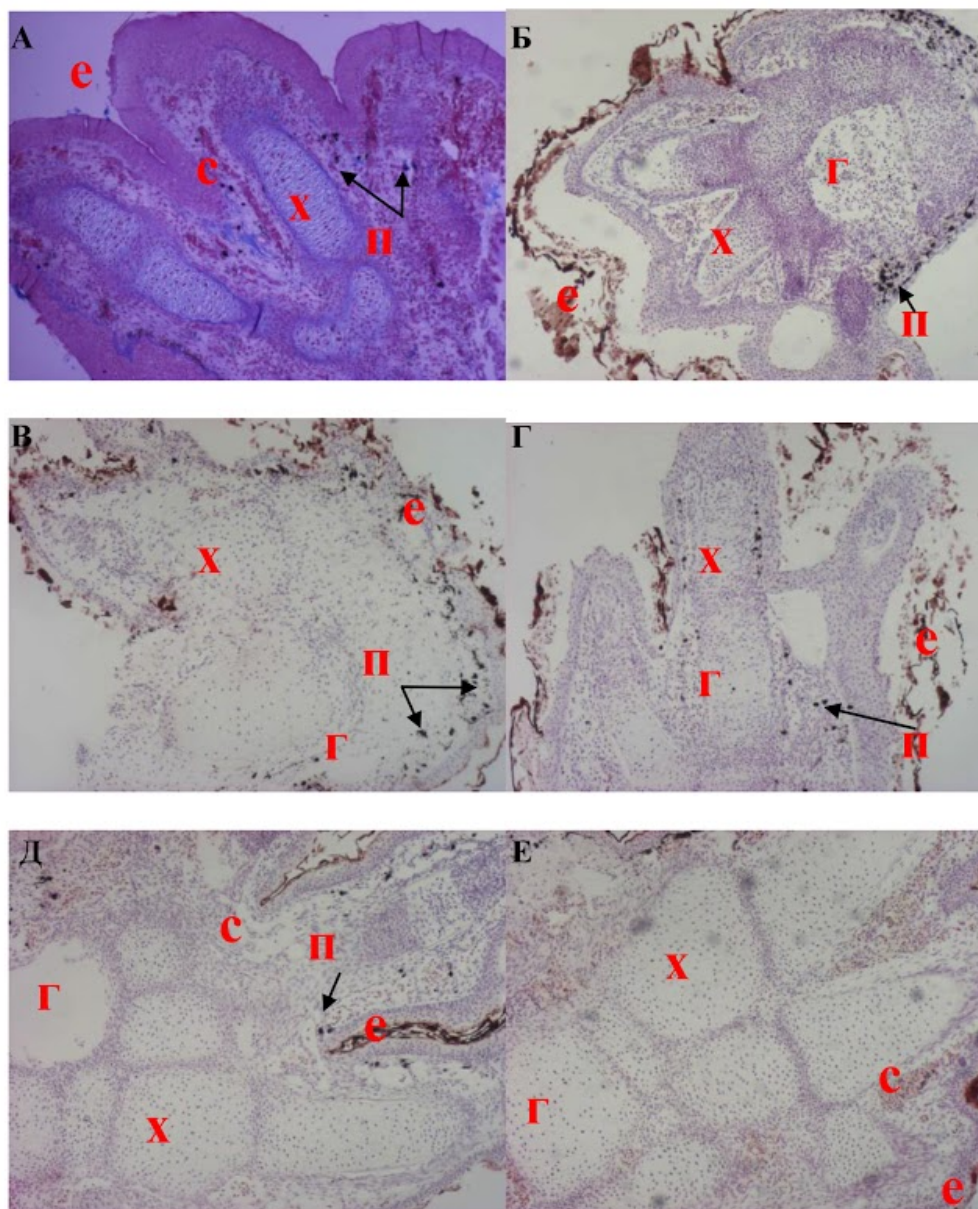


Рисунок 4 — Гистологический анализ. Конечности *Pleurodeles waltl* при культивировании *in vitro*

А — регенерат (без культивирования); Б — контроль; В — FGF2  $10^{-10}$  мг/мл; Г — БР сыворотки крови  $10^{-16}$  мг/мл; Д — БР сыворотки крови  $10^{-2}$  мг/мл; Е — БР кости  $10^{-16}$  мг/мл

е — эпителий, х — хрящ, п — пигментные клетки, с — сосуды, г — гибнущие клетки.  
УВ: Ок.  $\times 10$ , об.  $\times 4$ .

При культивировании регенератов в условиях роллерного вращения в течение 12 суток в среде культивирования для амфибий в контроле наблюдали следующую картину: в регенератах выявлена гибель хондроцитов и нарушение структуры формирующегося хряща в области формирования пальцев; в мезенхиме наблюдали много сосудов,



наполненных эритроцитами, самих мезенхимных клеток и волокон коллагена практически не наблюдали; эпителий слущивался, в нем присутствовало много гибнущих клеток. В общем в контроле наблюдали картину воспаления и дегенерации в тканях регенерата. Пигментированные клетки были представлены скоплениями в мезенхиме, под эпителием их не наблюдали (Рисунок 4 Б).

В случае добавления в среду культивирования биорегуляторов, а также FGF2, наблюдали несколько иную картину, чем в контроле.

В данном исследовании изучали FGF2, поскольку данный цитокин обнаруживался в регенератах конечностей [5]. В бластеме он может инициировать и стимулировать митотическую активность ее клеток.

В проводимом нами эксперименте под действием FGF2 происходило поддержание структуры хряща, но эпителий слущивался, в нем наблюдали гибель клеток. В соединительной ткани присутствовало много фибробласт-подобных клеток, мышечных клеток и коллагеновых волокон, сосуды не выражены. Пигментированные клетки располагались небольшими скоплениями в задней части регенерата под эпителием. Хрящевой матрикс был волокнистый, лакуны вокруг хондроцитов небольшие, самих хондроцитов было мало (Рисунок 4 В).

При добавлении в среду культивирования БРС при высоких концентрациях и в СМД наблюдали различную картину. В случае действия БР сыворотки крови в СМД наблюдали гибель хондроцитов и изменение структуры хряща. Эпителий слущивался, под ним находились небольшие скопления пигментированных клеток. В мезенхимной ткани просматривались немногочисленные фибробласт-подобные клетки и сосуды, коллагеновых волокон не наблюдали. В целом картина немного лучше, чем в контроле, но хуже, чем при добавлении FGF2 (Рисунок 4 Г).

При использовании БР сыворотки крови в концентрации, соответствующей 0, 1 мг/мл, структура хрящевой ткани поддерживалась жизнеспособной (наблюдали много хондроцитов и хорошо развит хрящевой матрикс), вокруг хряща были кровеносные сосуды. В мезенхиме наблюдали фибробласт-подобные клетки. Эпителий практически не слущивался, под ним были видны небольшие скопления пигментированных клеток (Рисунок 4 Д).

Наиболее выраженный протекторный эффект на ткани регенератов оказал БР кости. При добавлении БР кости в СМД поддержание хрящевой

структуры происходит лучше, чем в случае с FGF2, при этом вокруг хряща образовывались крупные сосуды, заполненные клетками крови. В мезенхиме наблюдали много фибробласт-подобных клеток, кое-где были видны мышечные элементы, коллагеновые волокна не были выражены. Под эпителием располагались скопления пигментированных клеток, а также были видны подкожные железы (Рисунок 4 E).

Таким образом, в высокой концентрации БР сыворотки крови обладал более выраженным, чем в СМД протекторным действием на ткани регенерата конечности тритона в условиях *in vitro*.

Что согласуется с ранее полученными данными по влиянию БР сыворотки крови на культивирование регенератов хвостов тритона *Pl. Waltl* [2]. Ранее было показано, что БР, выделенный из сыворотки крови, в концентрации, соответствующей  $10^{-4}$  мг белка/мл, поддерживал жизнеспособность тканей регенерата хвоста тритонов *in vitro* в течение длительного времени органного культивирования — состояние культивируемых регенератов приближалось к состоянию интактного регенерата, т.е. структура хряща полностью сохранялась, наблюдали прогрессивную сегментацию хряща, характерную для данной стадии, отсутствовала гибель хондроцитов, элементы спинного мозга и мышечные волокна были хорошо выражены, зрелые железы вырабатывали много секрета, в кориуме присутствовало много малодифференцированных клеток, пигментные клетки образовывали небольшие скопления [2]. В СМД ( $10^{-11}$  мг/мл) сохранялся протекторный эффект сывороточного БР для всех тканей регенерата хвостов тритонов, однако он был менее выражен, чем в высокой дозе. БР, выделенный из костной ткани, в СМД ( $10^{-14}$  мг/мл) способствовал сохранению структуры и поддержанию жизнеспособности в большей степени клеток хрящевой ткани, т.е. проявлял тканеспецифическое протекторное действие. Однако в высоких концентрациях ( $10^{-8}$  мг/мл) эта активность не проявлялась [2].

## Выводы

Таким образом, в данной работе показано, что способность к регенерации задней конечности амфибий *Xenopus laevis* на стадии метаморфоза зависит от уровня ампутации по проксимо-дистальной оси, а стимулирующее регенерацию действие БР, выделенного из сыворотки крови, снижалось при увеличении регенерационной способности. БР сыворотки крови в концентрации  $10^{-1}$  мг/мл обладал выраженным действием на регенерацию *in vivo* конечности *Xenopus laevis* при ампутации ее в проксимальной области. БР кости в концентрации  $10^{-16}$

мг/мл и БР сыворотки крови в концентрации  $10^{-2}$  мг/мл обладали протекторным эффектом на состояние тканей регенерирующей конечности тритона *Pl. waltl* при условии ее роллерного культивирования *in vitro* (особенно на поддержание жизнеспособности и структуры хрящевой ткани).

## Литература

1. Полежаев, Л. В. Утрата и восстановление регенерационной способности органов и тканей у животных // Изд-во. Наука. 1968.
2. Рыбакова, Е. Ю., Краснов, М. С., Ямскова, В. П., Ямсков, И. А. Действие разных доз биорегуляторов, выделенных из сыворотки крови и костной ткани млекопитающих, на состояние регенератов хвостов тритонов *Pleurodeles waltl in vitro* // Материалы IV Международного симпозиума «Механизмы действия сверхмалых доз». Москва. 2008. 95—96 с.
3. Ямсков, И. А., Ямскова, В. П., Даниленко, А. Н., Клеменкова, З. С., Антипов, Б. Г., Черников, Ф. Р., Гусынина, М. М., Рыбакова, Е. Ю. Экспериментальные доказательства роли физико-химических факторов в механизме биологического действия сверхмалых доз // Российский химический журнал (ЖРХО им. Д.И. Менделеева). 1999. Т. 43. №5. С. 34—39.
4. Ямскова, В. П., Резникова, М. М. Низкомолекулярный полипептид сыворотки крови теплокровных: влияние на клеточную адгезию и пролиферацию // Журнал общей биологии, 1991, т. 52, №2, с. 181—191.
5. Giampaoli, S., Bucci, S., Ragghianti, M., Mancino, G., Zhang, F., Ferretti, P. // Proc Biol Sci. 2003. 7:270;2197—2205.
6. Krasnov, M. S., Gurmizov, E. P., Yamskova, V. P., Yamskov, I. A. Analysis of a Regulatory Peptide from the Bovine Eye Lens: Physicochemical Properties and Effect on Cataract Development *in vitro* and *in vivo* // In: Varfolomeev, S. D., Burlakova, E. B., Popov, A. A., Zaikov, G. E. Biochemical physics: Frontal research. Nova Science Publishers, Inc. 2007. p. 21—34.
7. Nieuwkoop, P. D., Faber, J. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin) // Garland Publishing. 1956, 1994.
8. Satoh, A., Nakada, Ya., Suzuki, M., Tamura, K., Ide, Hi. Analysis of *scleraxis* and *dermo-1* genes in a regenerating limb of *Xenopus laevis* // Dev. dynamics 2006, 235;1065—1073.
9. Suzuki, M., Yakushiji, N., Nakada, Y., Satoh, A., Ide, H., Tamura, K. Limb regeneration in *Xenopus laevis* froglet. // The Scientific World Journal. 2006. 6;26—37.

10. Yamskova, V. P., Krasnov, M. S., Rybakova, E. Yu., Vecherkin, V. V., Bosisenko, A. V., Yamskov, I. A. Analysis of regulatory proteins from bovine blood serum that display biological activity at ultra low doses: Tissue localization and role in wound healing // In: Varfolomeev, S. D., Burlakova, E. B., Popov, A. A., Zaikov, G. E. Biochemical physics: Frontal research. Nova Science Publishers, Inc. 2007. 71—78 c.

## Literature

1. Polezhaev, L. V. Utrata i vosstanovlenie regeneracionnoj sposobnosti organov i tkanej u zhivotnyx // Izd-vo. Nauka. 1968.

2. Rybakova, E. Yu., Krasnov, M. S., Yamskova, V. P., Yamskov, I. A. Dejstvie raznyx doz bioregulyatorov, vydelenykh iz syvorotki krovi i kostnoj tkani mlekopitayushhix, na sostoyanie regeneratov xvostov tritonov *Pleurodeles waltl* in vitro // Materialy IV Mezhdunarodnogo simpoziuma «Mexanizmy dejstviya sverxmalyx doz». Moskva. 2008. 95—96 c.

3. Yamskov, I. A., Yamskova, V. P., Danilenko, A. N., Klemenkova, Z. S., Antipov, B. G., Chernikov, F. R., Gusynina, M. M., Rybakova, E. Yu. E'ksperimental'nye dokazatel'stva roli fiziko-ximicheskix faktorov v mexanizme biologicheskogo dejstviya sverxmalyx doz // Rossijskij ximicheskij zhurnal (ZhRXO im. D.I. Mendeleeva). 1999. T. 43. №5. S. 34—39.

4. Yamskova, V. P., Reznikova, M. M. Nizkomolekulyarnyj polipeptid syvorotki krovi teplokrovnyx: vliyanie na kletochnuyu adgeziyu i proliferaciyu // Zhurnal obshhej biologii, 1991, t. 52, №2, s. 181—191.

5. Giampaoli, S., Bucci, S., Raghianti, M., Mancino, G., Zhang, F., Ferretti, P. // Proc Biol Sci. 2003. 7:270;2197—2205.

6. Krasnov, M. S., Gurmizov, E. P., Yamskova, V. P., Yamskov, I. A. Analysis of a Regulatory Peptide from the Bovine Eye Lens: Physicochemical Properties and Effect on Cataract Development in vitro and in vivo // In: Varfolomeev, S. D., Burlakova, E. B., Popov, A. A., Zaikov, G. E. Biochemical physics: Frontal research. Nova Science Publishers, Inc. 2007. p. 21—34.

7. Nieuwkoop, P. D., Faber, J. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin) // Garland Publishing. 1956, 1994.

8. Satoh, A., Nakada, Ya., Suzuki, M., Tamura, K., Ide, Hi. Analysis of scleraxis and dermo-1 genes in a regenerating limb of *Xenopus laevis* // Dev. dynamics 2006, 235;1065—1073.

9. Suzuki, M., Yakushiji, N., Nakada, Y., Satoh, A., Ide, H., Tamura, K. Limb regeneration in *Xenopus laevis* froglet. // The Scientific World Journal. 2006. 6;26—37.

10 Yamskova, V. P., Krasnov, M. S., Rybakova, E. Yu., Vecherkin, V. V., Bosisenko, A. V., Yamskov, I. A. Analysis of regulatory proteins from bovine blood serum that display biological activity at ultra low doses: Tissue

localization and role in wound healing // In: Varfolomeev, S. D., Burlakova, E. B., Popov, A. A., Zaikov, G. E. Biochemical physics: Frontal research. Nova Science Publishers, Inc. 2007. 71—78 с.

Агильон-Гутиеррес Д. Р., Исследование влияния эндогенных биорегуляторов, выделенных из сыворотки крови и кости млекопитающих, на регенерацию конечности амфибий // «Живые и биокосные системы». – 2015. – № 11; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-11/article-7>