

**ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ЦЕЛОМИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ГОЛОТУРИЙ С
ПОВЕРХНОСТНОЙ РАНОЙ НА АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ**

Долматова Л. С. ¹,

Караулова Е. П. ²

¹ ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им В.И. Ильичева ДВО
РАН, Владивосток, Россия.

² Тихоокеанский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ТИНРО»), Владивосток, 690091
Владивосток, Россия.

**EFFECT OF PROTEINS FROM THE COELOMIC FLUID OF
SUPERFICIALLY WOUNDED HOLOTHURIANS ON THE ACTIVITY OF
PHAGOCYTES**

Dolmatova L. S. ^a,

Karaulova E. P. ^b

^a V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia.

^b Pacific branch of the "VNIRO" ("TINRO"), Vladivostok, Russia.

Резюме

Голотурии являются одними из наиболее способными к регенерации животными. Их фагоциты являются аналогами макрофагов, которые играют ключевую роль в регуляции заживления ран, но механизмы участия фагоцитов в заживлении ран не изучены. Целью работы явилось выяснение влияния отдельных белковых компонентов, выделенных из целомической жидкости голотурии *Eupentacta fraudatrix* с поверхностными повреждениями стенки тела, на уровень функциональной активности двух типов фагоцитов (Ф1 и Ф2). Материалы и методы. Белковые компоненты целомической жидкости голотурий с поверхностным ранением стенки тела анализировали и собирали методом гель-проникающей хроматографии. Использовали белки, содержание которых значительно менялось в период заживления в предварительных опытах. Два белка и пептид добавляли к выделенным методом градиентного центрифугирования фагоцитам одновременно с термостабильным токсином *Yersinia pseudotuberculosis* и инкубировали 24 ч. Продукцию супероксиданион-радикала определяли по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) колориметрическим методом. Для оценки специфичности действия белков в качестве внутреннего контроля использовали бычий сывороточный альбумин (БСА). В 1 сут опытах *in vivo* белки вводили раненым животным. Результаты. Два белка, при сравнении с действием бычьего сывороточного альбумина (БСА) не проявили специфического влияния на продукцию активных форм кислорода в фагоцитах *in vitro*. Однако сравнение действия пептида на оксидантную активность и жизнеспособность фагоцитов с таковыми БСА выявило специфичность его действия. При этом пептид снижал оксидантную активность Ф1 фагоцитов и повышал ее в Ф2 фагоцитах в прямой концентрационной зависимости. Введение одного из двух белков раненым голотуриям вызывало разнонаправленное концентрационно-зависимое действие на оксидантную активность фагоцитов двух типов, с преимущественным подавлением активности Ф1 фенотипа. Исследованные белки разнонаправлено влияли на концентрацию целомоцитов у раненых голотурий, что указывает на их способность влиять на рекрутирование фагоцитов. Способность белковых компонентов вызывать сдвиг в соотношении оксидантной активности двух типов фагоцитов в сторону преимущественной активизации Ф2 фагоцитов, являющихся функциональными аналогами М2 макрофагов, позволяет предположить, что их действие носит противовоспалительный характер.

Ключевые слова: голотурии, целомическая жидкость, белки, заживление ран, фагоциты, активные формы кислорода.

Abstract

Holothurians are among the most capable of regenerating animals. Their phagocytes are analogues of macrophages, but the mechanisms of their participation in wound healing have not been studied. The aim of the work is to determine the effect of individual protein components isolated from the coelomic fluid of holothurians with superficial damage to the body wall on the functional activity of the two types of phagocytes (P1 and P2) in holothurian *Eupentacta fraudatrix*. Materials and methods. Protein components of the coelomic fluid of holothurians with superficial wounds of the body wall were analyzed and collected by gel permeation chromatography. We used proteins whose content changed significantly during the wound healing period in preliminary experiments. Two proteins and a peptide were added to phagocytes, isolated by gradient centrifugation, simultaneously with the thermostable toxin of *Yersinia pseudotuberculosis* and incubated for 24 h. The production of superoxide anion radical was determined by the reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) using a colorimetric method. To assess the specificity of the proteins, bovine serum albumin (BSA) was used as an internal control. In one-day *in vivo* experiments, proteins were administered to wounded animals. Results. Two proteins, when compared with the effect of bovine serum albumin (BSA), did not show a specific effect on the production of reactive oxygen species in phagocytes *in vitro*. However, a comparison of the effect of the peptide on the oxidative activity and viability of phagocytes with those of BSA revealed the specificity of its action. The peptide reduced the oxidative activity of P1 phagocytes and increased it in P2 phagocytes in a direct concentration-dependent manner. One of the two proteins being administered to wounded holothurians caused a multidirectional concentration-dependent effect on the oxidative activity of the two types of phagocytes, with a predominant suppression of the P1 phenotype activity. The ability of protein components to cause a shift in the ratio of oxidative activity of the two types of phagocytes towards the preferential activation of P2 phagocytes, which are considered as functional analogues of M2 macrophages, suggests that they act as anti-inflammatory agents.

Keywords: Holothurians, coelomic fluid, proteins, wound healing, phagocytes, reactive oxygen species.

1 Введение

Восстановление тканей и регенерация органов являются одной из важнейших проблем медицины. Важное место в механизмах регенерации тканей имеют клетки иммунной системы. Ключевую роль играют макрофаги, основными типами которых являются М1 макрофаги, играющие роль на стадии воспаления, и М2 макрофаги, участвующие в восстановлении тканей [9]. Известно, что при воспалительных состояниях и ранениях состав белковых фракций крови существенно меняется [2], что связано с появлением в крови белков из поврежденных клеток и цитокинов, в частности, таких как S100 белки, белки теплового шока, интерлейкины (IL) IL-1 и IL-33, которые, по-видимому, могут влиять на рекрутирование и активацию неповрежденных иммунных клеток. Кроме того, активные формы кислорода (АФК) способны стимулировать воспаление [9]. Вместе с тем известно, что способность к регенерации у беспозвоночных, у которых адаптивный иммунитет практически отсутствует [3], значительно более выражена, чем у позвоночных. При этом голотурии являются одними из наиболее способных к регенерации животных [4].

Иммунные клетки голотурий, амебоциты, или фагоциты, являются аналогами макрофагов [3]. У голотурии *Eupentacta fraudatrix* Djakonov et Baranova, 1958 выявлено два типа фагоцитов, получившие название Ф1 и Ф2, с различными морфофункциональными характеристиками [5]. В частности, высокий уровень оксида азота (NO) является маркером Ф1, а высокая активность аргиназы-маркер Ф2 фагоцитов), подобно М1 и М2 макрофагам, соответственно [6].

Ранее нами из целомической жидкости *E. fraudatrix*, которым был произведен поверхностный надрез тела, были выделены несколько фракций белков, концентрация которых изменялась в наибольшей степени на различных этапах заживления раны. Целью настоящей работы явилось выяснение влияния отдельных белковых компонентов на уровень функциональной активности двух типов фагоцитов голотурии *E. fraudatrix*.

Голотурии с длиной тела 4,5-5,5 см собирали в б. Восток (зал. Петра Великого Японского моря) с использованием легководолазного снаряжения. До начала экспериментов животные находились в аэрируемом аквариуме с сезонной температурой воды не менее двух недель.

На 1 этапе эксперимента животным (n=14) наносили поверхностную рану (надрез стерильным скальпелем) и через сутки получали целомическую жидкость, добавляя ее к антикоагулирующему раствору [6]. Анализировали молекулярное распределение белков, отбирали белковые компоненты, содержание которых изменялось на отдельных этапах ранозаживления, как было установлено в предварительных экспериментах. Эти белковые компоненты замораживали и хранили при -20 °С до использования в дальнейших экспериментах.

На следующем этапе для экспериментов *in vitro* отбирали и объединяли целомическую жидкость 14 голотурий ($n=3$). Выделяли фракции фагоцитов Ф1 и Ф2 в градиенте плотности фиколл-верографина, как описано ранее [6].

Для стимуляции продукции АФК использовали термостабильный токсин *Yersinia pseudotuberculosis* (TsTYp), предоставленный д.м.н., профессором Н.Ф. Тимченко. Клетки (1 млн на мл) инкубировали в круглодонных планшетах 24 ч при температуре 22 °C с TsTYp (0,15 мкг/мл) и одним из выделенных белков или бычьим сывороточным альбумином (БСА) (Serva, Германия), который использовали как контроль на неспецифическое действие белка. В контрольные лунки добавляли фосфатно-солевой буфер с добавлением 36 г/л NaCl (ФСБН, pH 7,6).

Для экспериментов *in vivo* отобранные белковые фракции с молекулярной массой 39,1 (белок 39) и 10 кДа (белок 10), а также пептид с молекулярной массой 2,99 (пептид) инъецировали в целомическую полость через стенку тела, на другом конце тела голотурии делали поверхностный надрез. Контрольным животным инъецировали ФСБН. Еще одной группе раненых животных вводили БСА. В каждой группе использовали 4 животных в трех независимых экспериментах. Через 24 ч получали целомическую жидкость и выделяли фагоциты Ф1 и Ф2, ресуспендировали их в ФСБН.

Молекулярную массу белков определяли методом гель-проникающей хроматографии на хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity (США). Использовали колонку TSK gel G 3000PWXL (7,8 мм × 30см) (TOSOH Corporation, Токио, Япония). Детектирование проводили при 280 нм. Для определения молекулярной массы использовали калибровочный график, построенный с использованием стандартных образцов белков (Sigma-Aldrich Co., США). Объем пробы, вносимой для разделения, составлял 30 – 50 мкл. Сбор фракций осуществляли в непрерывном автоматическом режиме, в объеме 100 мкл/фракция. Все измерения проводили трижды. Фракции, содержащие индивидуальные белки, объединяли в соответствии с хроматографическим профилем. Концентрацию белков в отдельных пробах определяли методом Брэдфорда. О функциональной активности фагоцитов судили по уровню продукции супероксиданион-радикала, который определяли по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) колориметрическим методом [2].

Жизнеспособность клеток определяли по исключению трипанового синего. Концентрацию клеток определяли в камере Горяева.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения GraphPad InStat, v. 3.01 (GraphPad Software, Inc.). Данные представлены как средние значения ± средняя ошибка измерений. Достоверность различий определяли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Разницу между экспериментальными значениями считали достоверной при $P < 0,05$.

85 Как показано на рис. 1, продукция НСТ была одинаковой в двух типах
86 фагоцитов при инкубации клеток только с TsTYp (контроль). Добавление в
87 инкубационную среду белка 39 (рис. 1a) не приводило к достоверным
88 изменениям уровня НСТ в Ф1 фагоцитах ни при одной из исследованных
89 концентраций. Но в Ф2 фагоцитах продукция НСТ возрастала по сравнению с
90 контролем в прямой концентрационной зависимости. Белок 10 (рис. 1b) также
91 не вызывал достоверных изменений в продукции НСТ в Ф1 фагоцитах и
92 стимулировал ее в Ф2 фагоцитах в прямой концентрационной зависимости.

93 В отличие от белков, пептид подавлял продукцию НСТ в Ф1, а также повышал
94 ее в Ф2 фагоцитах в прямой концентрационной зависимости (рис. 1c). БСА,
95 как и белки целомической жидкости, не влиял на продукцию НСТ в Ф1
96 фагоцитах и повышал ее в Ф2 фагоцитах (рис. 1d), но в исследованном
97 диапазоне концентраций, близком таковому для белка 10, концентрационная
98 зависимость эффекта не отмечена. Концентрационно-зависимый эффект
99 пептида позволяет предположить, что этот пептид играет роль в регуляции
100 активности фагоцитов. Пептид не только стимулировал активность Ф2
101 фагоцитов, но и подавлял активность Ф1 фагоцитов, сдвигая соотношение
102 активностей в пользу первых. Такой эффект сходен с наблюдаемым при
103 поляризации макрофагов, со снижением количества клеток с М1 фенотипом
104 и повышением такового с М2 фенотипом, наблюдаемым при заживлении ран
105 [9].

106 При этом пептид значительно повышал жизнеспособность Ф1
107 фагоцитов по сравнению с действием TsTYp (рис. 2a). В Ф2 фагоцитах также
108 возрастала жизнеспособность в прямой концентрационной зависимости.
109 БСА, в отличие от пептида, не влиял на жизнеспособность фагоцитов (рис. 2b),
110 что также свидетельствует в пользу специфического действия пептида.

111 В то же время белки 39 и 10 оказывали сходное действие на
112 оксидантную активность фагоцитов и не проявили значимых отличий от
113 действия БСА. Таким образом, при воздействии *in vitro* они не оказывают
114 специфическое действие. Можно предполагать, что если эти белки и играют
115 роль в регуляции активности фагоцитов, то их действие опосредовано.

116 В серии экспериментов *in vivo* было исследовано влияние белка 10 на
117 фагоциты раненых животных (рис. 3a). Белок 10 и БСА снижали оксидантную
118 активность Ф1 и Ф2 фагоцитов по сравнению с таковой, наблюдаемой при
119 ранении в отсутствие белков. Однако в близких концентрациях (1,1 и 1 мкг/г,
120 соответственно) белок 10 вызывал более выраженное подавление накопления
121 НСТ в Ф1 фагоцитах и менее подавлял его в Ф2 фагоцитах по сравнению с
122 БСА. Так, в Ф2 фагоцитах белок снижал уровень НСТ по сравнению с одним
123 ранением почти на 50%, а БСА-на 90%. БСА способен связывать кислородные
124 радикалы без взаимодействия с поверхностными рецепторами клеток [8] и, по-
125 видимому, действие белка 10 и БСА осуществляется по разным механизмам.

126 Нами также была изучена возможность влияния белков 39 и 10 на
127 концентрацию целомацитов, до 50 % которых составляют фагоциты [7], у
128 раненых животных (рис. 3b). Оба белка снижали концентрацию целомацитов

по сравнению с влиянием самого ранения, что свидетельствует о том, что они могут влиять на рекрутирование целомоцитов/фагоцитов к месту повреждения. Однако концентрационные зависимости белков были разные: белок 39 снижал концентрацию целомоцитов в прямой концентрационной зависимости, а белок 10 – в обратной. Это дает основание полагать, что действие белков было специфичным, и может быть связано с их разной ролью в процессе заживления раны.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что изученные в настоящей работе белковые компоненты, полученные из целомиической жидкости голотурий, которым было нанесено поверхностное повреждение тела, могут участвовать в регуляции активности фагоцитов при заживлении раны. Механизмы этого влияния нуждаются в дальнейших исследованиях, необходима и идентификация самих белков. Особого внимания заслуживает пептид с молекулярной массой 2,99, который способен оказывать непосредственное влияние на фагоциты, подавляя оксидантную активность Ф1 фагоцитов и вызывая активацию Ф2 фагоцитов. Последние по своим морфофункциональным свойствам аналогичны М2 макрофагам, играющим основную роль при восстановлении тканей. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем для получения новых ранозаживляющих препаратов из голотурий.

(Для Л.С. Долматовой работа выполнена в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования РФ (№. 124022100077-0), для Е.П. Карауловой в рамках выполнения Государственной работы «Проведение прикладных исследований» (раздел 3 государственного задания ФГБНУ «ВНИРО» № 076-00005-19-00)).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Содержание НСТ в фагоцитах Ф1 и Ф2 при воздействии белков целомической жидкости и БСА в присутствии TsTYp. Время инкубации 24 ч. а – белок 39, б – белок 10, с – пептид, д – БСА. Концентрации белков (мкг/мл) для а: 1–0, 2–1, 7, 3–8,3, 4–16,5; для б: 1–0, 2–0,1, 3–0,2, 4–1,7; для с: 1–0, 2–2,0, 3–10,0, 4–20; для д: 1–0, 2–0,1, 3–1,0. По оси ординат – содержание НСТ, мг/мг белка.

Здесь и далее достоверность различий между опытом и контролем: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$.

Figure 1. NBT content in P1 and P2 phagocytes exposed to coelomic fluid proteins and BSA in the presence of TsTYp. Incubation time 24 hours. a – protein 39, b – protein 10, c – peptide, d – BSA. Protein concentrations ($\mu\text{g/ml}$) for a: 1–0, 2–1, 7, 3–8.3, 4–16.5; for b: 1–0, 2–0.1, 3–0.2, 4–1.7; for c: 1–0, 2–2.0, 3–10.0, 4–20; for d – 1–0, 2–0.1, 3–1.0. The y-axis is NBT content, mg/mg protein.

Hereinafter, the significance of differences between the experiment and the control: * – $P < 0.05$, ** – $P < 0.01$.

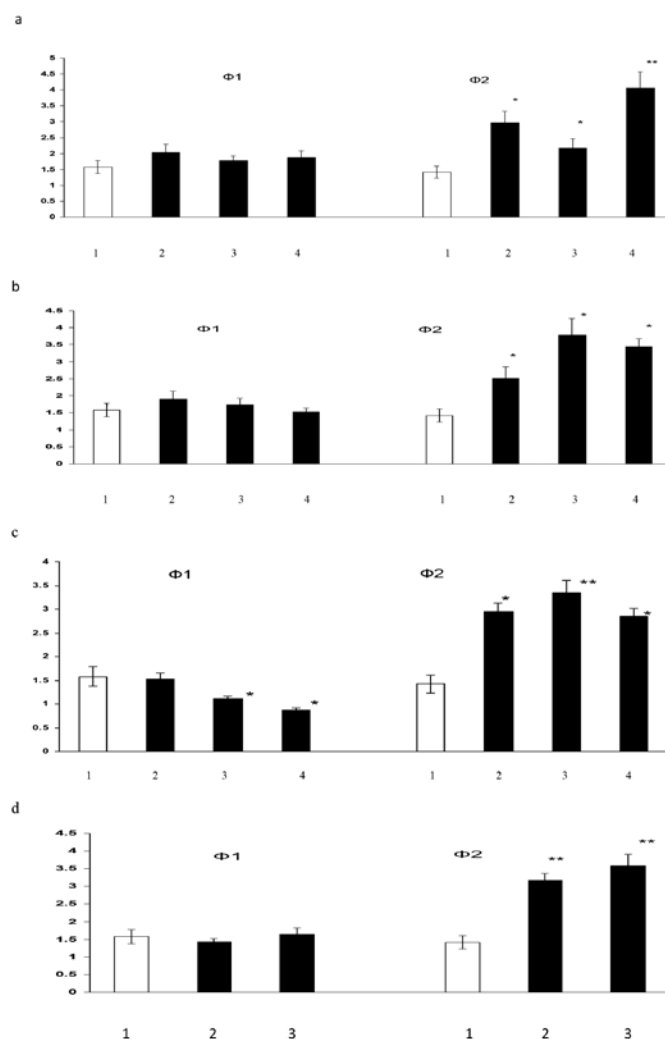


Рисунок 2. Жизнеспособность фагоцитов $\Phi 1$ и $\Phi 2$ при воздействии пептида целомической жидкости (а) или БСА (b) при коинкубации с TsTYp в течение 24 ч. Концентрация (мкг/мл): для а: 1–0, 2–2,0, 3–10,0, 4–20; для b: 1–0, 2–0,1, 3–1,0. По оси ординат – жизнеспособность клеток, %.

Figure 2. Viability of P1 and P2 phagocytes when exposed to coelomic fluid peptide (a) or BSA (b) when coincubated with TsTYp for 24 hours. Concentration ($\mu\text{g/ml}$) for a: 1–0, 2–2.0, 3–10, 0, 4–20; for b: 1–0, 2–0.1, 3–1.0. The y-axis is cell viability, %.

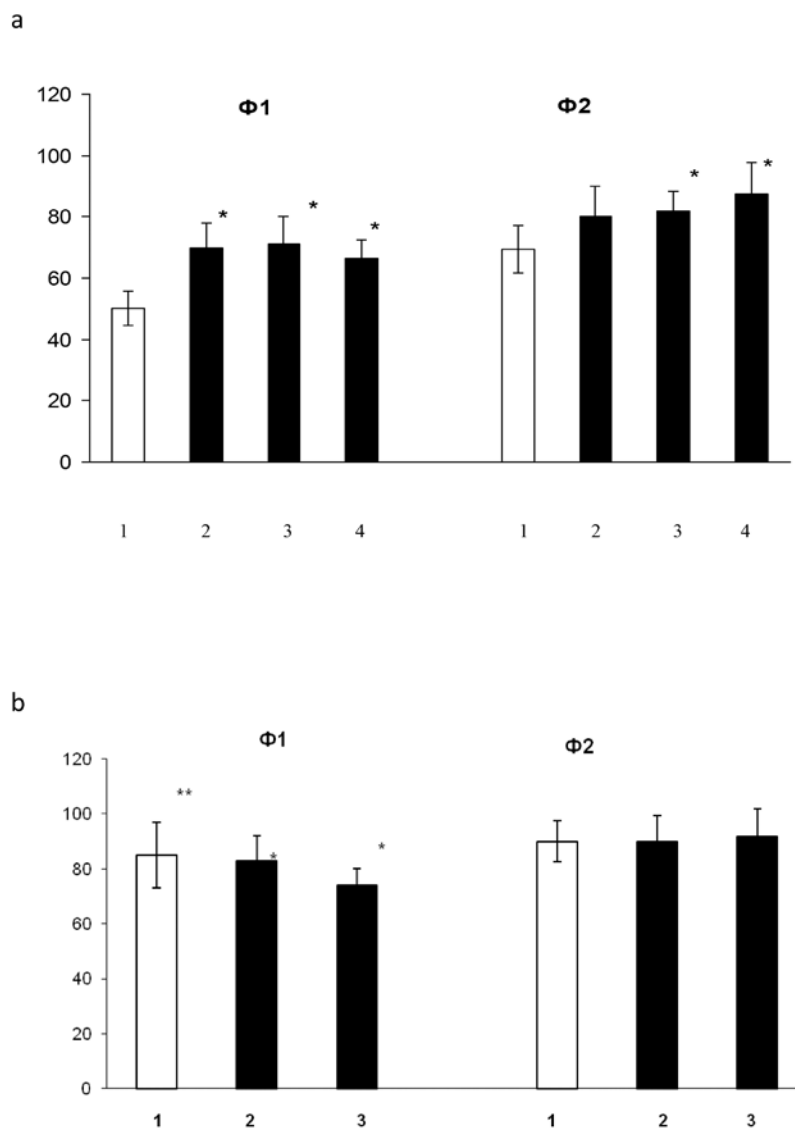
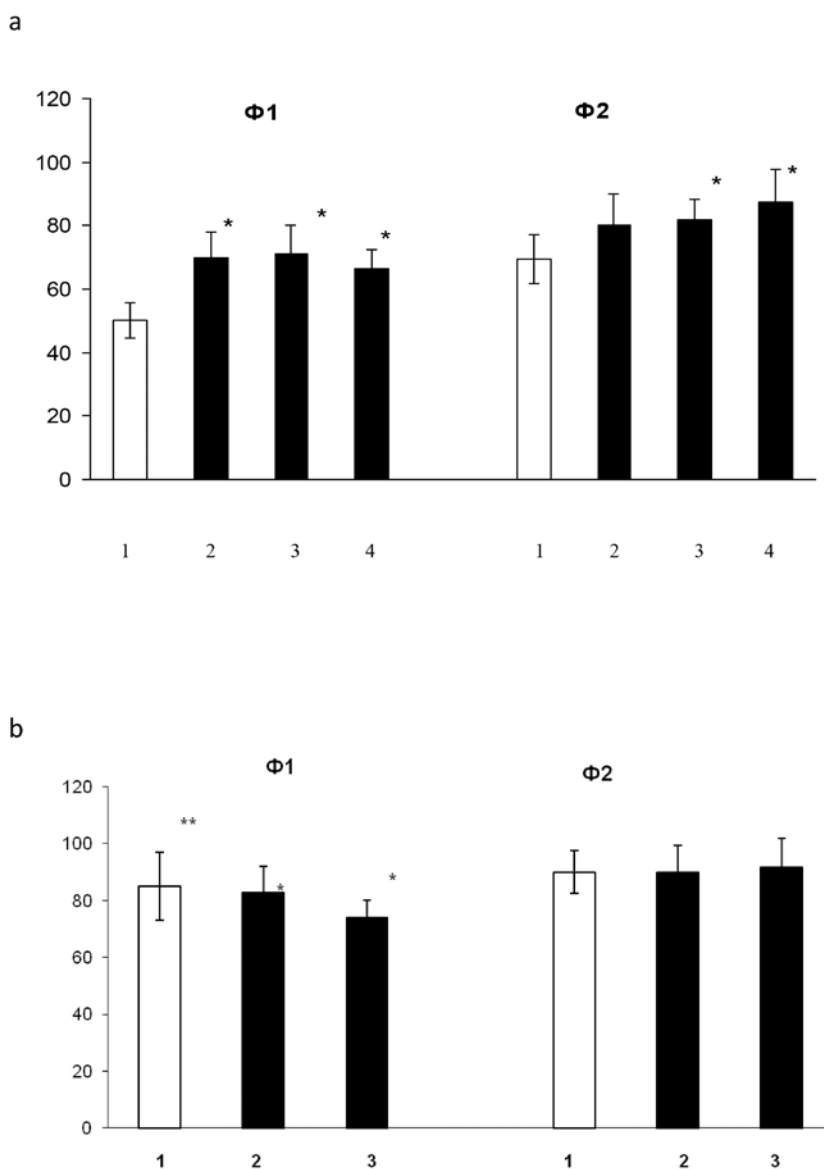


Рисунок 3. Влияние белков на оксидантную активность фагоцитов $\Phi 1$ и $\Phi 2$ (а) и концентрацию целомоцитов (b) голотурий через 24 ч после ранения. Для а – белок 10 в концентрациях (мкг/г): 1–0, 2–0,1, 3–0,6, 4–1,1; БСА (мкг/г): 5–1,0. По оси ординат – содержание НСТ, мг/мг белка. Для b: 1–инъекция ФСБН, 2–ранение, 3–5–ранение+белок 39, 6–8–ранение+белок 10. Концентрации белка 39 (мкг/г): 3–0,02, 4–0,11, 5–0,65. Концентрации белка 10 (мкг/г): 6–0,1, 7–0,6, 8–1,1. По оси ординат – концентрация целомоцитов, 10^6 клеток в 1 мл.

Figure 3. The effect of proteins on the oxidative activity of P1 and P2 phagocytes (a) and the concentration of coelomocytes (b) of sea cucumbers 24 h after wounding. For a-protein 10 in concentrations ($\mu\text{g/g}$): 1–0, 2–0.1, 3–0.6, 4–1.1; BSA ($\mu\text{g/g}$): 5–1.0. The ordinate is the NBT content, mg/mg protein. For b: 1–PSBN injection, 2–wound, 3–5–wound+protein 39, 6–8–wound+protein 10. Protein 39 concentrations ($\mu\text{g/g}$): 3–0.02, 4–0.11, 5–0.65. Protein 10 concentrations ($\mu\text{g/g}$): 6–0.1, 7–0.6, 8–1.1. The ordinate is the concentration of coelomocytes, 10^6 cells per 1 ml.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Долматова Людмила Степановна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии Тихоокеанского океанологического института им В.И. Ильичева ДВО РАН;

адрес: 690041 Владивосток, ул. Балтийская, 43;

телефон: 8(423)312580;

e-mail: dolmatova@poi.dvo.ru

Dolmatovaa Lyudmila Stepanovna – candidat of biological sciences, senior scientific researcher, leading scientific researcher;

telephone: 8(423)312580;

e-mail: dolmatova@poi.dvo.ru

Блок 2. Информация об авторах

Караулова Екатерина Павловна – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности и качества морского растительного сырья Тихоокеанского филиала «ВНИРО» («ТИНРО»);

адрес: 690091 Владивосток, пер. Шевченко, 4;

телефон: 8 (423)240-09-21;

e-mail: ekaterina.karaulova@tinro.vniro.ru

Karaulova Ekaterina Pavlovna – candidat of technical sciences, leading scientific researcher;

telephone: 8 (423)240-09-21;

e-mail: ekaterina.karaulova@tinro.vniro.ru

Блок 3. Метаданные статьи

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ЦЕЛОМИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ГОЛОТУРИЙ С ПОВЕРХНОСТНОЙ РАНОЙ НА АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ

EFFECT OF PROTEINS FROM THE COELOMIC FLUID OF SUPERFICIALLY WOUNDED HOLOTHURIANS ON THE ACTIVITY OF PHAGOCYTES

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

БЕЛКИ ЦЕЛОМИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ

COELOMIC FLUID PROTEINS

Ключевые слова: голотурии, целомическая жидкость, белки, заживление ран, фагоциты, активные формы кислорода.

Keywords: Holothurians, coelomic fluid, proteins, wound healing, phagocytes, reactive oxygen species.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 4,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 3.

03.04.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Ермолаев В.А., Никулина Е.Н. Динамика белковых фракций крови при заживлении гнойных ран // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2010. – Т. 2, № 12. – С.40-43.	Ermolaev V.A., Nikulina E.N. Dynamics of protein fractions of blood during the healing of purulent wounds. Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy (Vestnik Ul'yanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii), 2010, Vol. 2, no 12, pp. 40-43. Melnikov V.P. Test for the reduction of nitroblue tetrazolium by mononuclear phagocytes. Laboratornoe Delo, 1991, no. 8, pp. 51-53. -	https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-belkovykh-fraktsiy-krovi-pri-zazhivlenii-gnoynyh-ran

2		-	https://elibrary.ru/title_about.asp?id=8800
3	Мельников В.П. Тест восстановления нитросинего тетразолия мононуклеарными фагоцитами // Лаб. дело. – 1991. – № 8. – С. 51–53.	-	https://zoolstud.sinica.edu.tw/Journals/35.4/231.pdf .
4	Chia Fu-Sh., Xing J. Echinoderm coelomocytes. Zoological Studies, 1996, Vol. 35, no. 4, pp. 231-254.		

5	Dolmatov I.Y. Variability of regeneration mechanisms in echinoderms. Rus. J. Mar. Biol., 2020, Vol. 46, no 6, pp. 391-404.	-	[doi:10.1134/S106307402006005X.5]
6	Dolmatova L.S., Smolina T. P. Morphofunctional features of two types of phagocytes in the holothurian <i>Eupentacta fraudatrix</i> (Djakonov et Baranova, 1958). J. Evol. Biochem. Physiol., 2022, Vol. 58, no 4, pp. 955–970.	-	[doi: 10.1134/S0022093022040020]

7	Dolmatova L.S., Ulanova O.A, Timchenko N.F. <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> thermostable toxin dysregulates the functional activity of two types of phagocytes in the holothurian <i>Eupentacta fraudatrix</i>. Biol. Bull. Russ. Acad. Sci., 2019, Vol. 46, pp.117–127. Eliseikina M.G., Magarlamov T. Yu. Coelomocyte morphology in the holothurians <i>Apostichopus japonicus</i> (Aspidochirota: Stichopodidae) and <i>Cucumaria japonica</i> (Dendrochirota: Cucumariidae). Rus. J. Mar. Biol., 2002, Vol. 28, no 3, pp.197-202. doi:10.1023/A:1016801521216.	-	[doi:10.1134/S1062359019020043]
---	---	---	--

8	Iglesias J., Abernethy V.E., Wang Z., Lieberthal W., Koh J.S., Levine J. S. Albumin is a major serum survival factor for renal tubular cells and macrophages through scavenging of ROS. Am. J. Physiol., 1999, Vol. 277, pp.F711-722. doi: 10.1152/ajprenal.1999.277.5.F711.	-	[doi:10.1023/A:1016801521216]
9	Raziyeva K., Kim Y., Zharkinbekov Z., Kassymbek K., Jimi S., Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. Biomolecules, 2021, Vol. 11, 700. doi: 10.3390/biom11050700.		

[doi:
10.1152/ajprenal.1999.277.5.F71
1]

[doi: 10.3390/biom11050700]