

Биологическая оценка свойств Fe-содержащих комплексов

А.Г. Карапетян¹, А.М. Даллакян¹, Ж.Г. Петросян¹,
В.С. Григорян^{1,2}, И. В. Корольков³, А. В. Зиберт³

¹Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22,

²Биотехнологическая лаборатория "Фолдинг",

³Институт ядерной физики
050032, Казахстан, Алматы, ул. Ибрагимова, 1

Ключевые слова: токсичность, пролиферативная активность, хромосомные аберрации, плоидность клеток, количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина

Целью токсикологических исследований веществ является установление характера и выраженности их повреждающего действия на организм экспериментальных животных и оценка безопасности воздействия [1].

Известно, что кроветворная система, как активно пролиферирующая ткань, чрезвычайно чувствительна к действию различных факторов, в том числе токсичных составляющих [4,6]. Поэтому влияние токсичных составляющих на систему крови также может применяться для оценки свойств комплексов. Весьма существенной является регистрация сроков развития интоксикации и гибели животных.

Цель данной работы – определение токсичности металлокомплексов $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{PreTeosGpTAllylAmine}$ (Fe_3O_4) и $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{GpTMSAllylAmine}$ (Fe_2O_3) путем определения выживаемости, средней продолжительности жизни, некоторых показателей крови и цитогенетических показателей.

Материал и методы

Была произведена серия экспериментов *in vivo*. Для определения токсичности Fe_3O_4 и Fe_2O_3 поставлены эксперименты на белых, беспородных, половозрелых крысах средней массой 185г. Крысам подкожно инъецировался водный раствор данных соединений. Наряду с подопытными животными, получающими исследуемые вещества, в аналогичных условиях содержались контрольные (интактные) животные.

Определение токсичности соединений проводилось с целью количественной оценки зависимости «доза-эффект». Животные были распределены на 3 группы (на каждую группу отводилось по 10 животных): I – с

инъекцией Fe_3O_4 в дозе 420мг/кг, II – с инъекцией Fe_2O_3 в той же дозе объемом 2мл, III группа – контрольная (интактные животные).

Токсичность веществ обычно характеризуется на основе вычисления показателя $\text{LD}_{50/7}$, т.е. той дозы соединения, при которой наблюдается гибель 50% животных в течение 7 дней после подкожного введения вещества в организм. Эти вещества вводятся животным в постепенно возрастающих дозах — от максимально неэффективной до $\text{LD}_{100/7}$, т.е. до той минимальной дозы, абсолютно смертельной для 100% животных в течение 7 дней. С использованием метода интегрирования по Г.Беренсу [2] в опытах на крысах вычисляется среднелетальная доза — $\text{LD}_{50/7}$.

В определенные сроки (3,7,14,21,30-е сутки) производился забор крови из хвостовой вены для гематологического анализа.

Гематологические параметры экспериментальных животных, а именно: количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрит и содержание гемоглобина, а также время свертываемости крови определяли с использованием стандартного лабораторного оборудования [5].

Маркерами токсичности могут быть также цитогенетические показатели. Материалом для цитогенетического исследования является костный мозг из бедренной кости животных. По методике Ford-Wollam определялись: митотический индекс (МИ) в ‰, хромосомные aberrации (ХА) в ‰ и полиплоидные клетки (ПК) в ‰. Цитогенетический материал брался на 12-е и 30-е сутки.

Анализ данных проводился с помощью ряда специализированных статистических пакетов: StatSoft7, SPSS-10.0 и StatGraphicsPlus. Использовали мультирегрессионный и корреляционный методы анализа [3].

Результаты и обсуждение

Анализ выживаемости и средней продолжительности жизни показал, что Fe_3O_4 и Fe_2O_3 обладают низкой токсичностью. Следует отметить, что при подкожном введении крысам Fe_3O_4 и Fe_2O_3 в диапазоне доз от 0мг/кг до 400мг/кг не наблюдалось нарушений поведенческих реакций и гибели животных. В случае введения вещества Fe_3O_4 дозой 420мг/кг лишь у одного животного сразу же после инъекции наблюдались вялость, заторможенность движений, сниженный аппетит. Наблюдалась гибель этого животного (10%) на 2-е сутки мониторинга, а у остальных животных до конца эксперимента поведенческие реакции не отличались от интактных. Исходя из того, что предыдущие эксперименты на токсичность с низкотоксичными химическими соединениями дозой 420мг/кг показали результат $\text{LD}_{50/7}$, а та же доза Fe_3O_4 вызвала только 10% гибель животных ($\text{LD}_{10/7}$), можно заключить, что исследуемое вещество довольно низкотоксично, так как требуется доза, примерно в 4-5 раз превышающая нами примененную для получения $\text{LD}_{50/7}$. Таким образом, при дозе

420мг/кг к 7-м суткам мы получили выживаемость 90%, а к 30-м – 70%, средняя продолжительность жизни составила 26,8 суток. Что касается вещества Fe_2O_3 , та же доза вещества вызвала гибель 3 животных к концу эксперимента (30-е сутки), получено также $\text{LD}_{20/7}$, это свидетельствует о том, что Fe_2O_3 более токсичен, чем Fe_3O_4 . При инъекции Fe_2O_3 в дозе 420мг/кг к 7-м суткам мы получили выживаемость в 80%, а 30-м суткам – в 70%. Средняя продолжительность жизни II группы равна 22,7 суток.

Были получены уравнения логарифмической регрессии для I и II групп: $y_1=99,06-22,26\lg(x)$ и $y_2=97,74-21,35\lg(x)$ (где y – выживаемость групп с введенным веществом, а x – количество дней эксперимента), позволяющие не только описывать динамику выживаемости, но и с помощью экстраполяции прогнозировать изменение процента выживаемости в отдаленных сроках.

Гематологические показатели (время свертываемости крови (ВСК), количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и уровень гемоглобина и гематокрита) анализировались в динамике в течение всего срока эксперимента. Был проведен анализ показателей крови на 3, 7, 14, 21 и 30-е сутки после введения Fe_3O_4 и Fe_2O_3 в дозе по 420мг/кг. Результаты гематологического анализа приведены в табл. 1. На всех сроках исследований наблюдалось достоверное понижение ВСК во всех испытываемых группах относительно контрольной группы. Сокращение времени свертываемости крови наблюдалось с 3 суток и нормализация не наблюдалась до конца срока исследований. Тенденция к повышению количества лейкоцитов, свидетельствующая о течении воспалительных процессов в организме, наблюдалась в обеих группах к 7-м суткам, и если начиная с 14-х суток наблюдалось достоверное понижение этого показателя в I группе, во II группе наблюдалось волнообразное течение и нормализация не отмечена до конца срока исследования.

Уровень гемоглобина был достоверно повышен только на 3-и сутки после введения Fe_3O_4 , в остальные сроки ни в одной из групп не наблюдалось достоверного изменения этого показателя относительно интактной группы. Гематокрит был достоверно повышен на всех сроках исследований в I группе. Возможно, здесь были задействованы определенные компенсаторные механизмы, связанные с перераспределением крови из депо органов. Тем не менее и в I, и во II группах отмечена тенденция к нормализации этих показателей.

Что касается количества эритроцитов, в I группе наблюдалось достоверное повышение, а во II – достоверное понижение относительно контрольной к 3-м суткам, а далее – несмотря на различный механизм воздействия, приведший к повышению в случае с Fe_3O_4 и понижению при инъекции Fe_2O_3 , уровень показателей выравнивается и отмечается тенденция к нормализации к концу исследования. Согласно приведенным в табл. 1 данным, при подкожном введении вещества Fe_3O_4 нормализация

Таблица 1

Результаты гематологического анализа при введении
 $Fe_3O_4PreTeosGpTallylAmine$ и $Fe_2O_3GpTMSAllylAmine$

Показатели крови	ВСК (sec)	Лейкоциты (N/ μ L)	Тромбоциты (N/ μ L)	Эритроциты (N/ μ L)	Гемоглобин (g/L)	Гематокрит (%)
norm	311,0 $\pm 19,00$	11500,0 $\pm 420,0$	522000,0 $\pm 10560,0$	5823000,0 $\pm 278800,0$	138,1 $\pm 5,82$	37,2 $\pm 1,75$
3-и сутки	Fe_3O_4 206,4 $\pm 5,85$ (*)	11000,0 $\pm 620,29$	467857,1 $\pm 26273,68$ (*)	7194285,7 $\pm 303862,89$ (*)	163,6 $\pm 3,47$ (*)	50,4 $\pm 2,01$ (*)
	Fe_2O_3 246,0 $\pm 13,73$ (*)	9840,0 $\pm 923,9$	446000,0 $\pm 15524,17$ (*)	4694000,0 $\pm 169428,45$ (*)	129,1 $\pm 5,38$	36,1 $\pm 2,68$
7-е сутки	Fe_3O_4 128,6 $\pm 14,71$ (*)	13514,3 $\pm 1259,52$	427857,1 $\pm 34690,08$ (*)	5577142,9 $\pm 405284,82$	148,0 $\pm 4,2$	43,9 $\pm 2,23$ (*)
	Fe_2O_3 217,0 $\pm 9,82$ (*)	12240,0 $\pm 1328,76$	458000,0 $\pm 43491,38$	3950000,0 $\pm 268179,04$ (*)	123,5 $\pm 7,07$	35,1 $\pm 3,32$
14-е сутки	Fe_3O_4 145,0 $\pm 15,33$ (*)	7440,0 $\pm 1081,48$ (*)	548000,0 $\pm 23270,15$	5962000,0 $\pm 444740,37$	152,9 $\pm 5,66$	42,0 $\pm 2,46$
	Fe_2O_3 194,0 $\pm 18,26$ (*)	13080,0 $\pm 786,38$	456000,0 $\pm 36276,71$	4792000,0 $\pm 166355,04$ (*)	131,0 $\pm 5,18$	39,8 $\pm 1,43$
21-е сутки	Fe_3O_4 249,0 $\pm 13,45$ (*)	9680,0 $\pm 427,08$ (*)	518000,0 $\pm 33712,02$	4736000,0 $\pm 300076,66$ (*)	135,6 $\pm 6,06$	42,9 $\pm 2,04$ (*)
	Fe_2O_3 177,0 $\pm 12,1$ (*)	11280,0 $\pm 889,04$	338000,0 $\pm 9565,56$ (*)	5500000,0 $\pm 492990,87$	143,0 $\pm 5,56$	44,0 $\pm 3,98$
30-е сутки	Fe_3O_4 215,0 $\pm 10,0$ (*)	8920,0 $\pm 741,89$ (*)	379000,0 $\pm 15280,71$ (*)	5006000,0 $\pm 247519,7$ (*)	141,5 $\pm 2,96$	43,0 $\pm 2,39$ (*)
	Fe_2O_3 150,4 $\pm 9,47$ (*)	14920,0 $\pm 2487,25$	382000,0 $\pm 37436,61$ (*)	4910000,0 $\pm 437367,12$	141,9 $\pm 7,87$	43,2 $\pm 3,81$

(*) при $p < 0,05$ (при сравнении с контрольными значениями, т.е. с группой интактных животных)

этого показателя наступила на 10-11-й день раньше, чем во II группе. На всем протяжении экспериментов сохранялась прямая корреляционная зависимость между уровнем эритроцитов и гемоглобина (коэффициент корреляции $r = 0,98 \div 0,97$), гемоглобина и гематокрита ($r = 0,88 \div 0,96$).

Начиная с 21-х суток была отмечена нормализация всех показателей кроме ВСК и количества тромбоцитов во II группе.

Был проведен также мультирегрессионный анализ 3 показателей: уровней эритроцитов, гемоглобина и гематокрита при введении Fe_3O_4 (а) и Fe_2O_3 (б) для выявления их взаимозависимости и взаимовлияния. Результаты мультирегрессионного анализа приведены на рис. 1. В полученных уравнениях z – уровень гематокрита, x – уровень эритроцитов, y – уровень гемоглобина.

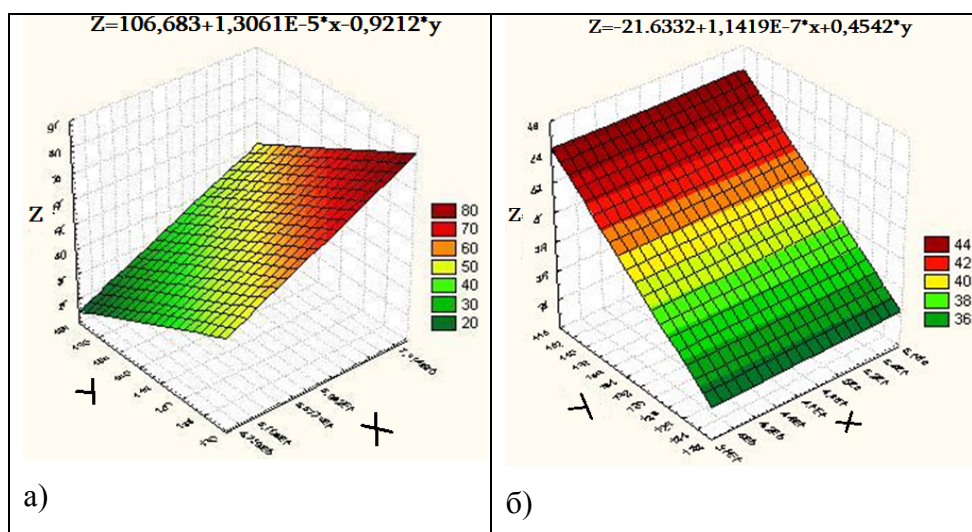


Рис. 1. Результаты мультирегрессионного анализа при введении $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{PreTeosGpTAllylAmine}$ (a) и $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{GpTMSAllylAmine}$ (б)

Несмотря на разнонаправленность изменений показателей крови, которую можно расценить как проявление развития интоксикации, наблюдалась тенденция к нормализации у обеих групп с введением Fe_3O_4 и Fe_2O_3 . Различие наблюдается в скорости восстановления. Восстановление показателей крови при применении Fe_3O_4 происходит быстрее, чем в группе с применением Fe_2O_3 .

Результаты гематологических исследований также подтвердили меньшую токсичность соединения Fe_3O_4 .

Материалом для цитогенетического исследования является костный мозг из бедренной кости животных. По методике Ford-Wollam определили: митотический индекс, хромосомные aberrации и полиплоидные клетки.

Целью анализа цитогенетических показателей костного мозга крыс на 12-е и 30-е сутки после подкожного введения химических соединений Fe_3O_4 и Fe_2O_3 было выявление цитогенетических нарушений и степени токсичности. Результаты этих исследований приведены в табл. 2.

Было найдено достоверное различие между цитогенетическими показателями у интактных животных и животных с инъекцией Fe_3O_4 и Fe_2O_3 к 12-м суткам (по хромосомным aberrациям и количеству полиплоидных клеток). Абберрантность хромосом, в основном в виде двойных фрагментов, в I группе значительно выше нормы, а во II группе этот показатель не превышает статистически значимого уровня.

Таблица 2

Цитогенетические показатели ККМ крыс на 12-е и 30-е сутки после инъекции Fe_3O_4 PreTeosGpTAllylAmine и Fe_2O_3 GpTMSAllylAmine для определения токсичности

Группа		Интактные (III группа)	С инъекцией соединения Fe_3O_4 (I группа)	С инъекцией соединения Fe_2O_3 (II группа)
МИ(‰)	на 12-е сутки	20,35±2,8	14,2±2,38	17,2±2,4
	на 30-е сутки		21,0±0,22	18,9±2,8
ХА(%)	на 12-е сутки	2,6±0,26	3,6±0,42 (*)	2,8±0,32
	на 30-е сутки		2,8±0,3	2,4±0,27
ПК(%)	на 12-е сутки	0,5±0,08	2,0±0,24 (*)	2,2±0,26 (*)
	на 30-е сутки		1,6±0,24 (*)	1,5±0,2 (*)

(*) статистически достоверные отклонения показателей от нормы

Немаловажна скорость восстановления цитогенетических показателей (нормализация). Итоги регрессионного анализа динамики нормализации уровня ПК при применении Fe_3O_4 и Fe_2O_3 приведены на рис. 2 (в приведенных уравнениях x – дни эксперимента, y – значение ПК).

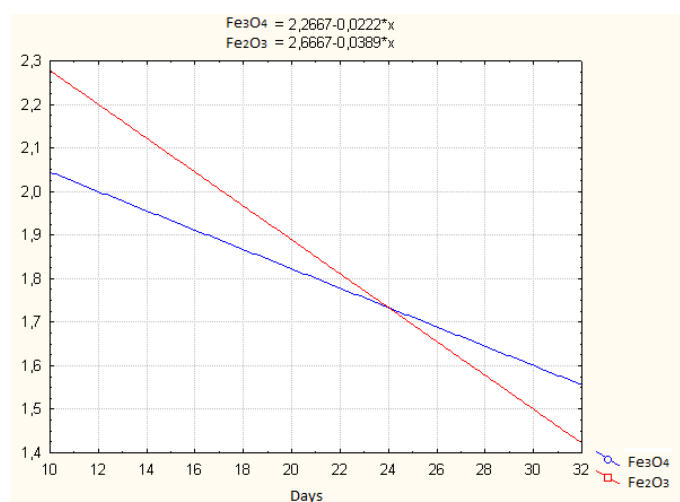


Рис. 2. Динамика изменения уровня ПК после введения веществ Fe_3O_4 и Fe_2O_3

К 30-м суткам наблюдалась полная нормализация в I группе по показателям МИ и ХА, что проявлялось в отсутствии превышения статистически значимого уровня. Применив регрессионный метод, мы получили данные о том, что показатель ПК может достигнуть нормальных значений к 70-м суткам. Во II группе к 30-м суткам также отмечалась нормализация 2 показателей – МИ и ХА, а показатель ПК, благодаря

свойствам вещества Fe_2O_3 , имеет явную тенденцию к нормализации (согласно формуле, нормализация ожидается к 50-м суткам).

Были обнаружены следующие генетические нарушения, количество которых уменьшилось к 30-м суткам (рис.3).

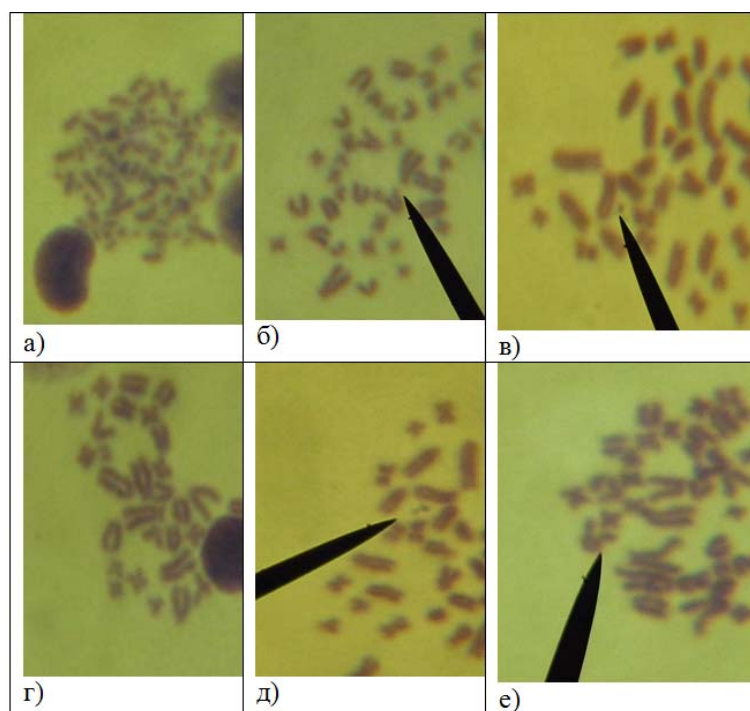


Рис. 3. Полиплоидная клетка (а), хромосомные aberrации в виде одиночного фрагмента (б,в) и двойного фрагмента (г,д), делеция (е)

Таким образом, анализ кариотипа показал, что почти все цитогенетические показатели в 2 группах подопытных животных в начале эксперимента статистически достоверно различались с данными кариотипа интактных особей. При сравнении цитогенетических параметров последнего срока эксперимента 2 опытных групп с интактной группой отмечалась четкая тенденция к нормализации всех цитогенетических показателей. Хотя в I и II группах ПК в обеих группах все еще значительно выше нормального значения, тем не менее экстраполируя мы получили, то что этот показатель не превысит статистически значимый уровень относительно контрольной группы ко второму месяцу. Причем нормализация при применении Fe_2O_3 произойдет раньше, чем при Fe_3O_4 .

Учитывая цитогенетический статус, показатели крови, среднюю продолжительность жизни, выживаемость и визуальный мониторинг в группах с инъекцией Fe_3O_4 и Fe_2O_3 соединений, можно заключить, что в поздние сроки эксперимента наблюдается восстановление всех показа-

телей. Исследования этих веществ на предмет токсичности показали, что они мало токсичны, так как в поздние сроки наблюдения приближаются к показателям интактных животных.

Эти вещества, в частности, повышают пролиферацию костномозговых клеток, вследствие чего улучшается гемопоэз животных.

Таким образом, вещества $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{PreTeosGpTAllylAmine}$ и $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{GpTMSAllylAmine}$ оказались низкотоксичными соединениями. Но для определения стандартных $\text{LD}_{50/7}$ и $\text{LD}_{100/7}$ нужны дополнительные исследования и высокие дозы вещества.

Меньшей токсичностью обладает $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{PreTeosGpTAllylAmine}$, это доказано и результатами показателей крови и цитогенетических показателей и самочувствием, поведением, а также физиологическими проявлениями животных.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке МОНК РА в рамках научного проекта № 21T-IF126.

Поступила 26.09.22

Fe պարունակող կոմպլեքսների կենսաբանական հատկությունների գնահատում

**Ա.Գ. Կարապետյան, Ա.Մ. Դավաթյան, Ժ.Հ. Պետրոսյան,
Վ.Ս. Գրիգորյան, Ի.Վ. Կորոլկով, Ա.Վ.Զիբերտ**

Հոդվածում ներկայացված է երկաթ պարունակող միացությունների՝ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{PreTeosGpTAllylAmine}$ (Fe_3O_4) և $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{GpTMSAllylAmine}$ (Fe_2O_3), ազդեցությունը սպիտակ, սեռահասուն առնետների օրգանիզմի վրա՝ միջին քաշով 185գ: Այս աշխատանքում բացահայտվել են Fe_3O_4 և Fe_2O_3 մետաղական համալիրների թունաբանական հատկանիշները՝ որոշելով ապրելունակությունը, կյանքի միջին տևողությունը, արյան որոշ ցուցանիշներ (էրիթրոցիտների, լեյկոցիտների, թրոմբոցիտների, հեմատոկրիտի և հեմոգլոբինի պարունակությունը, ինչպես նաև արյան մակարդման ժամանակը) և բջջազենետիկ պարամետրերը (միտոտիկ ինդեքսը, քրոմոսոմային շեղումները և պոլիպոիդ բջիջների քանակը):

Ապրելունակության և կյանքի միջին տևողության վերլուծությունը ցույց է տվել, որ Fe_3O_4 -ը և Fe_2O_3 -ն ունեն ցածր տոքսիկություն: 420 մգ/կգ Fe_3O_4 դոզան առաջացրել է կենդանիների միայն 10% մահ ($\text{LD}_{10/7}$), որից կարելի է եզրակացնել, որ փորձարկման նյութը ցածր թունավոր է (քանի որ պահանջվում է մոտավորապես 4-5 անգամ ավելի բարձր դոզա՝ $\text{LD}_{50/7}$ ստանալու համար): Ինչ վերաբերում է Fe_2O_3 նյութին, ապա այդ նյութի նույն չափաբաժինը փորձի ավարտին (30-րդ օրը) 3 կենդանիների մահվան պատճառ է դարձել,

ստացվել է նաև LD_{20/7}, ինչը ցույց է տալիս, որ Fe₂O₃-ն ավելի թունավոր է, քան Fe₃O₄-ը: Fe₂O₃ ներարկումով խմբի կյանքի միջին տևողությունը 22,7 օր է:

Արյան և բջջագենետիկ ցուցանիշների փոփոխությունների արդյունքները ցույց են տալիս դրանց նորմալացման կայուն միտում՝ սկսած 8-10 օրից և մոտենալով ինտակտ կենդանիների պարամետրերին մինչև փորձի ավարտը:

Էական տարբերություն է հայտնաբերվել անձեռնմխելի և 12-րդ օրը Fe₃O₄ և Fe₂O₃ ներարկված կենդանիների ցիտոգենետիկ պարամետրերի միջև (ըստ քրոմոսոմային շեղումների և պոլիպլոիդ բջջիների քանակի): Քրոմոսոմների շեղումը, հիմնականում կրկնակի բեկորների տեսքով, Fe₃O₄ ներարկումով խմբում զգալիորեն բարձր է նորմայից, իսկ Fe₂O₃ ներարկման դեպքում այս ցուցանիշը չի գերազանցում վիճակագրորեն նշանակալի մակարդակը: PC-ի մակարդակի փոփոխությունների դինամիկայի ռեգրեսիոն վերլուծության արդյունքները ցույց են տվել, որ չնայած Fe₂O₃ հավելվածում պոլիպլոիդ բջջիների թիվն ավելի մեծ է, քան Fe₃O₄ ներարկմամբ խմբում, սակայն ԱՀ-ի վերականգնման արագությունն ավելի բարձր է Fe₂O₃ խմբում:

Fe₃O₄-ն ունի ավելի քիչ թունավորություն, ինչն ապացուցվում է կենդանիների արյան հաշվարկի, ցիտոգենետիկ պարամետրերի և ֆիզիոլոգիական դիստրոֆիաների արդյունքներով:

Biological Evaluation of the Properties of Fe-Containing Complexes

A. G. Karapetyan, A. M. Dallakyan, Zh. H. Petrosyan, V. S. Grigoryan,
I. V. Korolkov, A.V. Zibert

The article presents the effect of iron-containing compounds Fe₃O₄PreTeosGpTAllylAmine (Fe₃O₄) and Fe₂O₃GpTMSAllylAmine (Fe₂O₃) on the body of white, outbred, mature rats with an average weight of 185g. In this work, the toxicity of metal complexes Fe₃O₄ and Fe₂O₃ was revealed by determining the survival rate, average life expectancy, some blood parameters (the number of erythrocytes, leukocytes, platelets, hematocrit and hemoglobin content, as well as blood clotting time) and cytogenetic parameters (mitotic index, chromosomal aberrations and polyploid cells).

Analysis of survival and average lifespan showed that Fe₃O₄ and Fe₂O₃ have low toxicity. A dose of 420 mg/kg Fe₃O₄ caused only 10% death of animals (LD_{10/7}), from which it can be concluded that the test substance is of low toxicity, because a dose approximately 4-5 times higher than that used to obtain LD_{50/7} is required. As for the substance Fe₂O₃, the same dose of the substance caused the death of 3 animals by the end of the experiment (30th day), LD_{20/7} was also obtained, which indicates that Fe₂O₃ is more toxic than Fe₃O₄. The average life expectancy of a group with Fe₂O₃ injection is 22,7 days.

The results of changes in blood parameters and cytogenetic parameters indicate a persistent trend towards their normalization starting from 8-10 days and approaching the parameters of intact animals by the end of the experiment.

A significant difference was found between cytogenetic parameters in intact animals and animals injected with Fe₃O₄ and Fe₂O₃ by the 12th day (according to chromosomal aberrations and the number of polyploid cells). Chromosome aberration,

mainly in the form of double fragments, in the group with Fe_3O_4 injection is significantly higher than the norm, and with Fe_2O_3 injection, this indicator does not exceed a statistically significant level. The results of the regression analysis of the dynamics of changes in the level of PC showed that although the number of polyploid cells in the Fe_2O_3 application is higher than in the group with the injection of Fe_3O_4 , the recovery rate of PC is higher in the Fe_2O_3 group.

Fe_3O_4 has less toxicity, which is proved by the results of blood counts, cytogenetic parameters and physiological manifestations of animals.

Литература

1. *Арзамасцев Е.В., Гуськова Е.В., Березовская И.В., Любимов Б.И., Либерман С.С., Верстакова О.Л.* Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005, с.41-54.
2. *Беренс Г., Клей П.Д.*, Микрохимический анализ, ч.1, Научное хим.-техн. Изд. НТУ ВСНХ, 1928.
3. *Вуколов Э.Л.* Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операции с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL., 2-е изд. М., 2008.
4. *Карапетян А.Г., Даллакян А.М., Петросян Ж.Г., Арутюнян Н.К., Порция М., Сантини К.* Оценка показателей периферической крови и цитогенетических показателей при использовании соединений медь-органических комплексов после ожога. Мед.наука Армении НАН РА, 2020, т. LX, 1, с. 46-54, ISSN: 0514-7484.
5. *Кишкун А.А.* Руководство по лабораторным методам диагностики, М., 2007.
6. *Сологуб Т. В., Романцова М. Г., Кремень Н. В. и др.* Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). М., 2008, ISBN 978-5-98654-030-6; ISBN 978-5-91327-021-4.