

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА ЖЕЛЕЗА (III) ГИДРОКСИД ПОЛИМАЛЬТОЗАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

УДК 615.015.44

Поступила 29.03.2010 г.



Л.В. Ловцова, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии;
В.Б. Кузин, д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и клинической фармакологии

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород

Цель исследования — изучение особенностей влияния препарата железа (III) гидроксид полимальтозата на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови экспериментальных животных на фоне смоделированной железодефицитной анемии.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 120 нелинейных крысах-самцах. В ходе исследования определялись показатели индуцированной биоchemiluminesценции, содержание малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы и каталазы, концентрация церулоплазмينا в крови экспериментальных животных при введении препарата, содержащего трехвалентное железо, — железа (III) гидроксид полимальтозат (мальтофер) — в эквитерапевтической дозе 17,14 мг/кг в сутки (в пересчете на железо элементарное) в течение 30 сут.

Результаты. Препарат трехвалентного железа (III) гидроксид полимальтозат (мальтофер) на ранних этапах обуславливает незначительное, а на более поздних этапах — выраженное влияние на указанный процесс, что подтверждается увеличением скорости спада процесса свободно-радикального окисления в плазме крови экспериментальных животных, а также снижением активности супероксиддисмутазы (через 1 сут его введения), снижением концентрации малонового диальдегида (через 5 сут), снижением антиоксидантной активности и активности супероксиддисмутазы (через 10 сут), увеличением свободно-радикальной активности плазмы и скорости спада процесса свободно-радикального окисления (через 20 сут), снижением содержания малонового диальдегида (через 30 сут).

Заключение. Исследуемый препарат трехвалентного железа активизирует процесс перекисного окисления липидов. Отличительной его особенностью является более выраженное влияние на указанный процесс на поздних этапах введения.

Ключевые слова: железодефицитная анемия, препараты железа, перекисное окисление липидов.

English

Experimental investigation of the ferrum (III) hydroxide polymaltosate preparation influence peculiarities on the lipid peroxidation values

L.V. Lovtsova, c.m.s., assistant professor of a general and clinical pharmacology chair;
V.B. Kuzin, M.D., professor, head of a general and clinical pharmacology chair

Nizhny Novgorod state medical academy, N. Novgorod

Aim of investigation is a study of the ferrum (III) hydroxide polymaltosate preparation influence peculiarities on the lipid peroxidation and antioxidant protection values in blood of experimental animals at the background of a ferodeficient anemia.

Materials and methods. The experiment is made on 120 nonlinear male-rats. The values of induced biochemiluminescence, a content of malone dialdehyde, an activity of superoxidisedismutase and catalase, a concentration of ceruloplasmin in blood of experimental animals at infusion of a preparation, containing a trivalent ferrum, — a ferrum (III) hydroxide polymaltosate (maltofer) — in equitherapeutic dose of 17.14 mg/kg a day (calculating the elementary ferrum) have been detected during investigation for 30 days.

Results. A trivalent ferrum (III) hydroxide polymaltosate preparation (maltofer) stipulates at the early stages an insignificant, and at the later stages — expressed influence on the pointed process, which is confirmed by an increase of a free-radical oxidation process abatement rate in blood plasma of experimental animals, and also a decrease of a superoxidisedismutase activity (in a day of its infusion), a decrease of a malone

Для контактов: Ловцова Любовь Валерьевна, тел. раб. 8(831)436-54-01, тел. моб. +7 960-196-86-58; e-mail: farmnnov@mail.ru.

dialdehyde concentration (in 5 days), a decrease of the antioxidant and superoxidodismutase activity (in 10 days), an increase of a plasma free-radical activity and a free-radical oxidation process abatement rate (in 20 days), a decrease of a malone dialdehyde content (in 30 days).

Conclusion. The investigating trivalent ferrum preparation activates a process of lipid peroxidation. Its distinctive feature is a more expressed influence on the pointed process at the late stages of its infusion.

Key words: ferredicient anemia, ferrum preparations, lipid peroxidation.

При железодефицитной анемии формируются функциональные и морфологические изменения в различных органах и тканях [1], а основным патогенетическим звеном является тканевая гипоксия, при которой активируются свободно-радикальные процессы и снижается активность антиоксидантной системы организма [2—4].

Лечение железодефицитной анемии проводится препаратами железа. При этом вопросы, касающиеся влияния препаратов, представляющих собой многомолекулярные комплексы трехвалентного железа, на процесс свободно-радикального окисления и, в частности, перекисное окисление липидов (ПОЛ), до настоящего времени остаются недостаточно изученными. Некоторые исследователи считают, что вследствие особенностей химической структуры и обусловленных ими особенностей фармакокинетики препараты, содержащие трехвалентное железо, не требуют окисления и, следовательно, не приводят к образованию свободных радикалов, т.е. не обладают прооксидантными свойствами [5]. В частности, в условиях клиники установлено, что гидроксидполимальтозный комплекс железа, в отличие от сульфата железа, не только не повышает процесс свободно-радикального окисления, но даже приводит к снижению данных показателей по сравнению с нормой [6, 7].

Вместе с тем имеются данные, что из этих комплексов все же может происходить выделение ионов железа [8], а при аноксии восстановление ионов трехвалентного железа до двухвалентного с последующим переносом электронов с двухвалентного железа на перекись водорода приводит к появлению гидроксил-радикала [9, 10].

Цель исследования — изучение особенностей влияния препарата железа (III) гидроксид полимальтозата на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови экспериментальных животных на фоне смоделированной железодефицитной анемии.

Материалы и методы. Работа выполнена на кафедре общей и клинической фармакологии с использованием экспериментально-лабораторной базы ЦНИЛ НижГМА.

Экспериментальные исследования проводились в соответствии с требованиями нормативных правовых актов, регламентирующих проведение исследований безопасности и эффективности фармакологических веществ в Российской Федерации (Федеральный закон «О лекарственных средствах» №86-ФЗ от 22.06.1998; Приказ МЗ РФ «Об утверждении правил лабораторной практики» №267 от 19.06.2003), и международными

правилами правовых и этических норм использования животных.

Сначала у животных (120 белых нелинейных крыс-самцов) определялись исходные гематологические показатели (уровень гемоглобина, количество эритроцитов, содержание сывороточного железа) фотометрическим методом. Затем создавалась экспериментальная модель алиментарной железодефицитной анемии [11], при этом у животных контролировались вышеуказанные гематологические показатели, а также определялся исходный уровень показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) в крови. Отбор крови для определения уровня гемоглобина и количества эритроцитов проводился из хвостовой вены, для определения содержания сывороточного железа и показателей ПОЛ и АОЗ часть животных забивали методом декапитации. При этом крысам предварительно вводили гепарин.

В последующем из оставшейся части животных осуществлялось формирование групп методом случайных чисел.

Затем животным опытной группы (60 крыс) перорально через зонд вводили препарат трехвалентного железа (III) гидроксид полимальтозат (мальтофер) в эквивалентной дозе — 17,14 мг/кг в сутки (в пересчете на железо элементарное) в течение 30 сут [12]. Животным контрольной группы (n=60) перорально вводили дистиллированную воду по 0,5 мл 1 раз в сутки. В течение всего периода исследований проводилось взвешивание и наблюдение за поведением крыс.

Забой животных осуществлялся через 1, 3, 5, 10, 20 и 30 сут введения препарата железа (по 10 крыс из каждой группы). При этом исследовались гематологические показатели (уровень гемоглобина — на каждом из указанных сроков, количество эритроцитов и концентрация сывороточного железа — через 30 сут введения препаратов железа), а также показатели ПОЛ и АОЗ (на каждом из перечисленных этапов забоя).

Были изучены показатели максимальной интенсивности хемилюминесцентного свечения плазмы (Imax), светосуммы хемилюминесценции (ХЛ) (S), тангенса угла наклона кинетической кривой ХЛ (tgα₂) методом индуцированной биохемилюминесценции (ИБХЛ) на биохемилюминометре БХЛ-06; содержание малонового диальдегида (МДА) по методу J.B. Smith (1976); активность супероксиддисмутазы (СОД) по методу M. Nischikimi (1972) и каталазы по методу Y. Aebi (1970); концентрация церулоплазмина с помощью иммуно-турбидиметрического метода на биохимическом автоматическом анализаторе Olympus AU640.

Выполнено 120 исследований, включающих одновременное определение показателей ИБХЛ, концент-

рации МДА, активности СОД и каталазы, а также содержания церулоплазмينا.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Stadia 7.0/prof и с оценкой уровня значимости различий между двумя выборками с помощью параметрических и непараметрических критериев. Результаты представлялись в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — стандартная ошибка средней величины.

Результаты и обсуждение. Препарат железа (III) гидроксид полимальтозат (мальтофер) вызывает увеличение максимальной интенсивности ХЛ (I_{max}), свидетельствующей о потенциальной способности биологического объекта к свободно-радикальному окислению, по сравнению с исходным уровнем на 9,21% ($p < 0,05$) уже через 1 сут введения. Причем тенденция к увеличению указанного показателя противоположна таковой в группе контроля, у животных которой, напротив, отмечается некоторое снижение I_{max} (табл. 1). Увеличение максимальной интенсивности ХЛ через 3 сут введения изучаемого препарата является не только несущественным по сравнению с исходной величиной, но и менее выраженным, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Через 5 и 10 сут введения I_{max} увеличивается относительно исходного значения на 22,22 и 37,14% ($p < 0,001$) соответственно, что, однако, практически не отличается от аналогичных показателей в группе контроля. Через 20 сут введения мальтофер обуславливает статистически значимое по сравнению с исходным уровнем повышение максимальной интенсивности ХЛ на 13,81% ($p < 0,05$), тогда как в группе контроля, напротив, регистрируется снижение показателя ($p < 0,001$ между опытной и контрольной группами).

Таким образом, мальтофер статистически значимо повышает свободно-радикальную активность плазмы в более поздние сроки, чем препараты двухвалентного железа [13], хотя небольшое увеличение указанного показателя, отличающееся по направленности изменений от группы контроля, отмечается уже через 1 сут введения мальтофера. По-видимому, это связано с тем, что в процессе применения препарата трехвалентного железа насыщающая концентрация возникает позже в связи с особенностями его фармакокинетики. Установлено, что гидроксидполимальтозный комплекс железа в организме экспериментальных животных обнаруживается в основном в ретикулоэндотелиальной системе, где в последующем происходят постепенная утилизация препарата и инкорпорация железа эритроцитами [13].

Препарат мальтофер через 1 и 3 сут введения обуславливает повышение общей антиоксидантной активности (АОА) плазмы по сравнению с исходным уровнем, о чем свидетельствует динамика показателя S , обратно пропорционального АОА. Снижение значения S при этом составляет 19,02% по сравнению с исходной величиной ($p < 0,001$), что не отличается статистически значимо от аналогичного показателя в группе контроля. Через 10 сут тенденция изменяется и АОА снижается по сравнению с исходным значением (увеличение показателя S на 13,10%; $p < 0,05$), причем более существ-

Таблица 1

Динамика показателей индуцированной биохемилюминесценции при введении препарата железа (III) гидроксид полимальтозата ($M \pm m$)

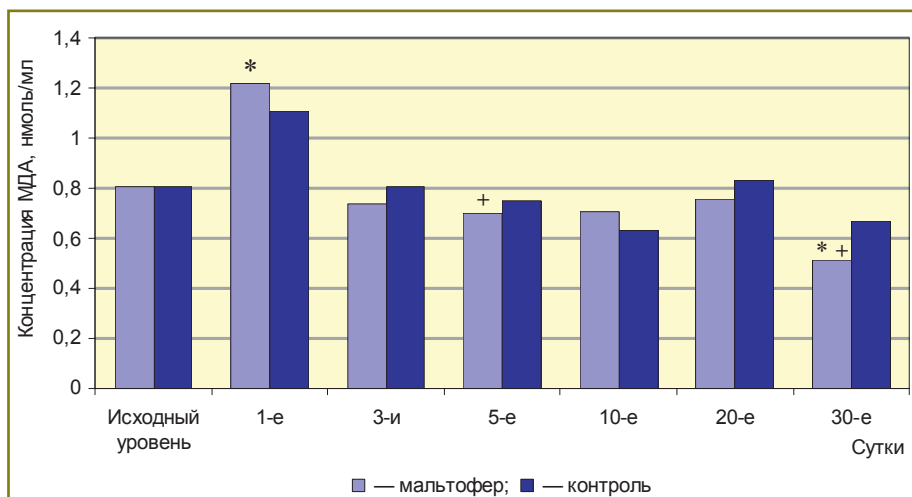
| Этапы исследования показателя | Группы экспериментальных животных | |
|--|-----------------------------------|-------------|
| | мальтофер | контрольная |
| Максимальная интенсивность ХЛ, имп./с: | | |
| исходный уровень | 6,30±0,22 | 6,30±0,22 |
| 1-е сутки | 6,88±0,44* | 6,24±0,18 |
| 3-и сутки | 6,99±0,17+ | 7,20±0,43 |
| 5-е сутки | 7,70±0,17* | 7,12±0,20 |
| 10-е сутки | 8,64±0,33* | 8,71±0,47 |
| 20-е сутки | 7,17±0,26** | 4,98±0,42 |
| 30-е сутки | 6,48±0,36 | 6,18±0,27 |
| Светосумма ХЛ, мВ/с: | | |
| исходный уровень | 47,33±1,40 | 47,33±1,40 |
| 1-е сутки | 38,33±1,47* | 38,57±1,09 |
| 3-и сутки | 41,54±1,31* | 44,33±2,00 |
| 5-е сутки | 44,03±1,44 | 41,64±0,92 |
| 10-е сутки | 53,53±2,61** | 48,88±2,08 |
| 20-е сутки | 44,13±0,72** | 37,02±1,25 |
| 30-е сутки | 43,86±1,52* | 39,07±1,79 |
| Тангенс угла наклона кинетической кривой: | | |
| исходный уровень | 1,88±0,06 | 1,88±0,06 |
| 1-е сутки | 2,92±0,18** | 2,24±0,06 |
| 3-и сутки | 2,66±0,08* | 2,65±0,12 |
| 5-е сутки | 3,03±0,12* | 2,79±0,09 |
| 10-е сутки | 3,32±0,15* | 3,29±0,22 |
| 20-е сутки | 3,08±0,10** | 2,49±0,12 |
| 30-е сутки | 2,56±0,08* | 2,49±0,04 |

* — статистическая значимость различий по сравнению с исходным значением показателя; + — по сравнению с группой контроля.

венно, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Через 20 и 30 сут мальтофер вызывает увеличение АОА по сравнению с исходным уровнем на 6,76 и 7,33%; $p < 0,05$, однако оно менее значительное, чем в группе контроля ($p < 0,01$ через 20 сут). Таким образом, препарат мальтофер, обуславливая повышение потенциальной способности плазмы экспериментальных животных к свободно-радикальному окислению через 20 сут введения, в этот же период сдерживает увеличение АОА по сравнению с контрольной группой животных (см. табл. 1).

Кроме того, мальтофер статистически значимо увеличивает показатель $tg\alpha_2$ (скорость спада процесса свободно-радикального окисления) на всех исследованных этапах ($p < 0,001$) на 55,32; 41,49; 61,17; 76,60; 63,83 и 36,17% соответственно. Причем через 1 и 20 сут это увеличение является более значительным, чем в группе контроля ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно).

Установлено, что мальтофер вызывает повышение содержания вторичного продукта ПОЛ — МДА по отношению к исходному уровню только через 1 сут после введения — на 50,62% ($p < 0,01$), но это увеличение существенно не отличается от изменений данного по-



Динамика концентрации МДА при введении препарата железа (III) гидроксид полимальтозата; * — статистическая значимость различий по сравнению с исходным значением показателя; + — по сравнению с группой контроля

казателя в группе контроля. В последующем мальтофер обуславливает различной степени выраженности снижение концентрации МДА по сравнению с исходным значением. Причем через 5 сут это снижение, хотя и не является статистически значимым относительно исходной величины, все же более существенное, чем в группе контроля ($p < 0,001$). Через 30 сут мальтофер обуславливает не только статистически значимое по сравнению с исходным уровнем снижение концентрации МДА на 37,04% ($p < 0,001$), но и более существенное, чем в контрольной группе животных ($p < 0,05$) (см. рисунок).

Активность фермента первого этапа антиоксидантной защиты — СОД при введении мальтофера снижается на протяжении практически всего периода наблюдения, за исключением 5-х суток, когда регистрируется незначительное увеличение активности указанного фермента относительно исходного уровня. При этом снижение активности СОД через 1 и 30 сут, хотя и является несущественным по сравнению с исходной величиной, но через 1 сут наблюдения отличается статистически значимо от увеличения аналогичного показателя в группе контроля ($p < 0,01$), а через 30 сут это снижение менее выражено, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Через 3 и 20 сут снижение активности СОД по сравнению с исходным показателем составляет 12,71% ($p < 0,05$) и 25,56% ($p < 0,001$) соответственно, но при этом снижение является менее выраженным, чем в группе контроля ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). Через 10 сут активность СОД снижается значительно относительно исходного уровня (на 31,32%; $p < 0,01$), что отличается от увеличения аналогичного показателя в группе контроля ($p < 0,01$) (табл. 2).

Активность фермента второго этапа АОЗ при введении препарата мальтофер также снижается по сравнению с исходным уровнем на протяжении всего периода исследования, причем через 10, 20 и 30 сут — статистически значимо, соответственно на 36,86% ($p < 0,05$), 78,64% ($p < 0,001$) и 62,25% ($p < 0,01$). Вместе с тем все

изменения активности указанного фермента практически не отличаются от аналогичных показателей в группе контроля (см. табл. 2).

Мальтофер обуславливает также снижение концентрации церулоплазмينا (эндогенного антиоксиданта, тормозящего развитие цепных реакций свободно-радикального окисления в липидной фазе биологических мембран и липопротеинов крови) по сравнению с исходным уровнем на протяжении всего периода его введения (на 52,45%, $p < 0,001$; 19,17%, $p < 0,05$; 48,02%, $p < 0,01$; 58,23%, $p < 0,001$; 64,69%, $p < 0,001$ и 64,32%, $p < 0,001$ соответственно через 1, 3, 5, 10, 20 и 30 сут).

При этом снижение концентрации церулоплазмينا через 3 сут является менее выраженным, чем в груп-

Таблица 2

Динамика активности и содержания эндогенных антиоксидантов при введении препарата железа (III) гидроксид полимальтозата (M±m)

| Этапы исследования показателя | Группы экспериментальных животных | |
|---|-----------------------------------|--------------|
| | мальтофер | контрольная |
| Активность супероксиддисмутазы, ед. акт./г Hb/мин: | | |
| исходный уровень | 57,98±2,53 | 57,98±2,53 |
| 1-е сутки | 52,43±3,99* | 74,53±5,23 |
| 3-и сутки | 50,61±2,61** | 38,94±5,97 |
| 5-е сутки | 67,50±5,49 | 72,43±9,55 |
| 10-е сутки | 39,82±2,66** | 66,85±4,61 |
| 20-е сутки | 43,16±1,57** | 26,31±2,21 |
| 30-е сутки | 57,35±3,32* | 48,45±3,64 |
| Активность каталазы, ед. акт./г Hb/с: | | |
| исходный уровень | 104,40±12,06 | 104,40±12,06 |
| 1-е сутки | 84,02±13,10 | 58,65±12,70 |
| 3-и сутки | 74,49±8,88 | 70,77±10,23 |
| 5-е сутки | 85,98±12,07 | 66,09±13,19 |
| 10-е сутки | 65,92±6,78* | 38,90±4,02 |
| 20-е сутки | 22,30±3,93* | 24,73±3,30 |
| 30-е сутки | 39,41±9,30* | 32,08±5,99 |
| Концентрация церулоплазмينا, мг/л: | | |
| исходный уровень | 19,20±1,46 | 19,20±1,46 |
| 1-е сутки | 9,13±0,92* | 8,16±1,10 |
| 3-и сутки | 15,52±1,90** | 7,95±0,95 |
| 5-е сутки | 9,98±1,75* | 9,97±1,37 |
| 10-е сутки | 8,02±0,75* | 6,05±0,91 |
| 20-е сутки | 6,78±0,94* | 9,28±1,58 |
| 30-е сутки | 6,85±1,18* | 9,83±1,36 |

* — статистическая значимость различий по сравнению с исходным значением показателя; + — по сравнению с группой контроля.

пе контроля, а на остальных исследованных этапах не отличается от группы контроля ($p < 0,01$) (см. табл. 2). Последнее, по-видимому, связано с тем, что феррооксидазная активность церулоплазмينا при применении препарата трехвалентного железа, не требующего окисления и сразу встраивающегося в молекулу трансферрина, не проявляется.

Анализ результатов исследований свидетельствует, что препарат железа (III) гидроксид полимальтозат (мальтофер) на ранних этапах введения животным с экспериментальной железодефицитной анемией обуславливает незначительное влияние на процессы ПОЛ, о чем свидетельствует динамика таких показателей, как I_{max} и общая АОА плазмы экспериментальных животных. Повышение свободно-радикальной активности на этом этапе сопровождается некоторым повышением концентрации МДА, а также снижением активности СОД. Однако обращает на себя внимание, что препарат мальтофер, вызывая увеличение скорости спада процесса свободно-радикального окисления через 1 сут после введения, уже к 5-м суткам приводит к снижению содержания МДА и повышению активности СОД.

На более поздних этапах влияние препарата мальтофер на изучаемый процесс более выраженное. Так, через 10 сут под влиянием мальтофера существенно снижается АОА не только по сравнению с исходным уровнем, что сопровождается снижением активности СОД, в отличие от ее увеличения в группе контроля. Через 20 сут введения мальтофера не только повышается потенциальная способность плазмы к свободно-радикальному окислению и увеличивается скорость спада процесса свободно-радикального окисления, но и замедляется увеличение общей АОА по сравнению с группой контроля. Кроме того, через 30 сут мальтофер обуславливает значительное по сравнению с группой контроля снижение концентрации МДА в плазме экспериментальных животных. Активность СОД при этом несколько снижается, но менее существенно, чем в группе контроля. Снижение активности каталазы и концентрации церулоплазмينا на всех исследованных этапах на фоне введения мальтофера не отличается от такового в группе контроля, за исключением 3-х суток, когда мальтофер обуславливает менее выраженное, чем в группе контроля, снижение концентрации церулоплазмينا.

Заключение. Препараты, содержащие трехвалентное железо, так же, как и препараты двухвалентного железа, активируют процесс перекисного окисления липидов. При этом отличительной особенностью их действия является то, что на ранних этапах введения они обуславливают незначительное, а на более поздних — выраженное влияние на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови экспериментальных животных, что, по-видимому, связано с особенностями всасывания, распределения и депонирования этих препаратов.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости индивидуального подхода и обоснованного выбора препарата железа, назначаемого при лечении

железодефицитной анемии, с учетом особенностей его влияния на процесс свободно-радикального окисления и сроков активации им указанных реакций, при осуществлении динамического контроля этих показателей.

Литература

1. Протокол ведения больных. Железодефицитная анемия. М: Ньюдиамед; 2005; 76 с.
2. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Парфенов Э.А. Фармакологически совместимые антиоксиданты в коррекции острой гипоксии. В кн.: Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека. Смоленск; 2005; с. 363—364.
3. Бегова С.В., Османова З.М., Омаров Н.С. Процессы перекисного окисления липидов и система антиоксидантной защиты сыворотки крови у многорожавших женщин с гестозом в сочетании с железодефицитной анемией. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2007; 6(3): 23—27.
4. Gibson G.E., Huang H.M. Mitochondrial enzymes and endoplasmic reticulum calcium stores as targets of oxidative stress in neurodegenerative diseases. J Bioenerg Biomembr 2004; 36: 335—394.
5. Latour I., Pregaldien L., Buc-Calderon P. Cell death and lipid peroxidation in isolated hepatocytes incubated in the presence of hydrogen peroxide and iron salts. Arch Toxicology 1992; 66: 743—749.
6. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание по состоянию на 1 сентября 2004 г. В 2-х т. М; 2004; 1791 с.
7. Kaltwasser J.P., Werner E. Assessment of bioavailability of oral iron preparations in man. In: IRON, Bioavailability, Absorption, Utilization. Band 2. Wissenschaftsverlag. Ed. W. Forth. 1983; p. 31—57.
8. Клиническая фармакология: Национальное руководство. Под ред. Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепехина, В.И. Петрова. М: ГЭОТАР-Медиа; 2009; 976 с.
9. Ganz T., Nemeth E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. Amer J Physiol 2006; 290: 199—203.
10. Pak M., Lopez M.A., Gabayan V. et al. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. Blood 2006; 108: 3730—3735.
11. МУК 2.3.2.721—98. Пищевые продукты и пищевые добавки. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище. М; 1998; 30 с.
12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общ. ред. члена-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М: ОАО «Издательство Медицина»; 2005; 832 с.
13. Кузин В.Б., Ловцова Л.В., Соловьева Т.И. Динамика показателей перекисного окисления липидов при воздействии препарата двухвалентного железа по данным эксперимента. Современ технол мед 2010; 2: 17—21.
14. Granger S. Have liposomes, will travel. Dairy Industries International 1999; 64(10): 29.