УДК 615.099 Оригинальная статья.

ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ, КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА И ОПУХОЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС С ПЕРЕВИТОЙ САРКОМОЙ-45 ПРИ ВВЕДЕНИИ ЭКСТРАКТОВ АВРАНА ЛЕКАРСТВЕННОГО, БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО, КУКУРУЗЫ АНТАЦИАНОВОЙ

Н.А. Наволокин *— ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, аспирант кафедры патологической анатомии;* ***Д.А. Мудрак*** *— ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, студент 4 курса;* ***С. А. Тычина*** *— ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, студент 4 курса;* ***Н.В. Корчаков*** *— ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, студент 4 курса.*

CHANGES OF LEUKOCYTE RATES, BONE MARROW AND TUMORS IN LABORATORY RATS WITH TRANSPLANTED SARCOMA-45 IN INTRODUCTION OF EXTRACTS OF GRATIOLA OFFICINALIS, HELICHRYSUM ARENARIUM AND ZEA MAYS

Navolokin N.A. *— Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Pathological Anatomy, Post-graduate;* ***Mudrak D.A.*** *— Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Student;* ***Tychina S. A.*** *— Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Student;* ***Korchakov N.V.*** *— Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Student.*

Дата поступления — 28.05.2015 г. Дата принятия в печать — 28.08.15 г.

Наволокин Н.А., Мудрак Д.А., Тычина С. А., Корчаков Н.В. **Изменения лейкоцитарной формулы, красного костного мозга и опухоли лабораторных крыс с перевитой саркомой-45 при введении экстрактов аврана лекарственного, бессмертника песчаного, кукурузы антацианновой. Саратовский научно-медицинский журнал 2015; 11 (3): 328–332.**

Цель: изучить влияние флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного, бессмертника песчаного и кукурузы обыкновенной на костный мозг и периферическую кровь при внутримышечном и пероральном введениях в эксперименте на лабораторных крысах с перевитой саркомой-45. *Материал и методы*. В эксперименте использовано 48 самцов белых беспородных крыс линии Wistar, которым через 72 часа после перевивки опухоли перорально и внутримышечно в течение двух недель ежедневно вводили экстракты (аврана, бессмертника и кукурузы). При этом ежедневно оценивали динамику роста опухоли. После окончания эксперимента у животных забирали кровь, костный мозг (изготавливали мазки) и опухоль для гистологического исследования. В дальнейшем подсчитывали клетки и рассчитывали лейкоцитарную формулу и миелограмму, проводили описание гистологических препаратов опухоли. *Результаты.* Все три изученных экстракта замедляют темпы роста перевиваемой саркомы и вызывают в ней выраженные морфологические изменения, а также не оказывают токсического эффекта на периферическую кровь. Экстракты аврана лекарственного и кукурузы антациаоновой благоприятно влияют и нормализуют процентное соотношение клеток красного костного мозга у животных с перевитой саркомой, а экстракт бессмертника не оказывает влияния на миелограмму. *Заключение.* Флавоноидсодержащие экстракты положительное влияют на периферическую кровь и костный мозг и обладают противоопухолевой активностью.

Ключевые слова: флавоноиды, авран, бессмертник, кукуруза, костный мозг, кровь.

Navolokin NA, Mudrak DA, Tychina SA, Korchakov NV. **Changes of leukocyte rates, bone marrow and tumors in laboratory rats with transplanted sarcoma-45 in introduction of extracts of Gratīola officinālis, Helichrysum arenarium and Zea mays. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2015; 11 (3): 328–332.**

Objective. The aim of this study was to investigate the effect of flavonoid-containing extracts of medicinal Hauran (Gratīola officinālis), immortelle (Helichrəsum arenбrium) and maize anthocyanin (Zea mays) in the bone marrow and peripheral blood after intramuscular and oral administration in experiments on laboratory rats with transplanted sarcoma-45. *Materials and methods.* Male albino rats of the Wistar (48 rats) were used in the experiment. Extracts (Abraham, helichrysum and maize) was administered daily orally and intramuscularly after 72 hours after tumor inoculation (sarcoma-45) for two weeks. Dynamics of tumor growth was assessed daily. After the experiment the animals were taken out and blood, bone marrow (prepared smears) and the tumor for histological examination were taken. Then the cells were counted and leukogram count and myelogram were counted, description of histological section tumor was carried out. *Results.* Three flavonoid containing extracts have antitumor activity (slow growth of transplantable sarcomas and cause marked morphological changes), and do not have a toxic effect on peripheral blood. Gratiola officinalis extract and Zea mays provide positive affect and normalize percentage of cells in the bone marrow of animals with transplantated sarcoma. Helichrysum extract doesn`t influences on myelogramms. *Conclusion.* Flavonoid extracts have a positive influence on the peripheral blood and bone marrow and have antitumor activity.

Key words: flavonoids, Gratīola officinālis, bone marrow, blood, Helichrəsum arenбrium, Zea mays.

Введение. Онкологические заболевания занимают одно из ведущих мест в структуре смертности населения во всем мире. Долгое время считалось, что биофлавоноиды, обладающие широким спектром фармакологической активности, не слишком перспективны в плане противоопухолевой активности. Открытие в 2011 г. способности растительного флавоноида Вагонина к активации апоптоза в опухолевых клетках [1] сделало актуальным не только поиск других биофлавоноидов, обладающих противоопухолевой активностью, но и выяснение механизмов такой активности.

Ранее нами был разработан способ получения флавоноидсодержащих экстрактов из трех растений: аврана лекарственного, бессмертника песчаного и диплоидной антоциановой формы кукурузы обыкновенной, позволяющий получать нетоксичные или слаботоксичные извлечения даже из ядовитых растений, к которым как раз и относился авран лекарственный [2]. Были также получены сведения, что данные экстракты обладают антиканцерогенным, антиоксидантным, противоопухолевым, иммуномодулирующим [3–6] и антимикробным действиями, в том числе и противотуберкулезным [7–9]. Однако детального анализа токсичности исследуемых флавоноидсодержащих растительных экстрактов, а именно анализа их влияния на лейкоцитарную формулу крови и костный мозг, до сих пор не проводилось.

*Цель***:** изучить влияние флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного (*Gratīola officinālis*), бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) и диплоидной антоциановой формы кукурузы обыкновенной *(Zea mays)* на костный мозг и периферическую кровь при внутримышечном и пероральном введениях в эксперименте на лабораторных крысах с перевитой саркомой-45.

Материал и методы. В работе использовали экстракты, полученные запатентованным нами способом двойной спиртовой экстракции с последующим осаждением неполярных веществ (алкалоидов и гликозидов и др.) хлороформом из следующего сырья: листьев и цветков аврана лекарственного, цветков бессмертника песчаного и листьев обертки антоциановой формы кукурузы обыкновенной [10]. Растительное сырье было собрано на территории Саратовской области: на островах Волгоградского водохранилища в районе с. Чардым; пойме р. Медведица Лысогорского района. Сырье кукурузы антоциановой, выращенной на экспериментальном участке в окрестностях г. Петровска, было предоставлено нам сотрудниками кафедры генетики и дарвинизма СГУ им. Н. Г. Чернышевского.

Стандартизацию флавоноидсодержащих экстрактов проводили по кверцетину и рутину. Среднее значение кверцетина в экстракте аврана, определенное по градуировочному графику с использованием стандартного образца кверцетина (Sigma, 98%), не должно было быть ниже 0,66%; количество кверцетина в сухом остатке экстрактивных веществ (на 350 мг экстрактивных веществ), установленное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), не должно было быть ниже 350 мкг.

В экстракте бессмертника среднее значение кверцетина в смеси, установленное методом ВЭЖХ, не должно было быть ниже 0,3 мкг/мл, а количество кверцетина в сухом остатке (на 350 мг экстрактивных веществ) — не ниже 150 мкг; найдено количество флавоноидов в пересчете на рутин, определенное методом молекулярной абсорбционной спектроскопии, — не ниже 29,40 мкг/мл; массовое процентное содержание флавоноидов в экстракте — не ниже 21,0%.

Среднее значение полученных определений кверцетина в смеси экстракта кукурузы, установленное нами методом ВЭЖХ, не должно было быть ниже 0,7 мкг/мл; количество кверцетина в сухом остатке (на 260 мг экстрактивных веществ) — не ниже 350 мкг; найдено количество флавоноидов в пересчете на рутин, определенное методом молекулярной абсорбционной спектроскопии, — не ниже 16,46 мкг/мл; массовое процентное содержание флавоноидов в экстракте — не ниже 15,8%.

В эксперименте, проводимом в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [11], использовано 48 самцов белых беспородных крыс линии Wistar массой 152±12 г в возрасте трех месяцев (по 6 животных в группе). Саркома-45 перевивалась подкожно в область между лопатками в виде 25%-ной взвеси культуры клеток в растворе Хенкса.

В качестве контроля были сформированы две группы: группа контроля №1 –«здоровые» животные без воздействия и без опухоли; группа контроля №2 — животные с перевитой саркомой-45 без воздействия. Двойной контроль в данном эксперименте был необходим для исключения развивающихся изменений под влиянием перевитой опухоли.

Оставшиеся животные были разделены на шесть опытных групп: первые две группы получали экстракт бессмертника: группа №3 внутримышечно в дозе 1г/кг; №4 перорально в дозе 1 г/кг. Следующие две группы получали экстракт кукурузы: группа №5 нутримышечно в дозе 0,32 г/кг; № 6 перорально в дозе 0,32 г/кг. Следующие две группы получали экстракт аврана: №7 внутримышечно в дозе 0,11 г/кг; № 8 перорально в дозе 0,11 г/кг. Рабочая концентрация растворов экстрактов составляла 100 мг/мл.

Дизайн эксперимента. Животных вводили в эксперимент через 72 часа после перевивки опухоли (саркомы-45) и вводили перорально и внутримышечно экстракты ежедневно в течение двух недель. Внутримышечное введение осуществлялось стерильными инсулиновыми шприцами поочередно в мышцы правых и левых задних лап животных. Пероральное введение осуществляли при помощи желудочных зондов. Перед введением экстракта ежедневно рассчитывали дозу водного раствора каждого экстракта для каждого животного, исходя из определения его массы. Таким образом, достигали постоянство концентрации действующего агента на килограмм массы животного.

По истечении двух недель животных выводили из эксперимента путем декапитации. Определяли объем опухоли и производили забор периферической крови и костного мозга из бедренной кости и опухоли, которая взвешивалась. Окраску мазков крови и костного мозга осуществляли стандартными методами. Проводили количественную и качественную оценки мазков крови. В мазках крови производили подсчет не менее 100 клеток, а затем вычисляли процентное соотношение клеток и определяли лейкоцитарную формулу. Мазки костного мозга фиксировали в течение пяти минут раствором фиксатора — красителя эозина метиленового синего по Май-Грюнвальду, затем окрашивали 20 минут красителем по Романовскому. Подсчет проводили под большим увеличением

Ответственный автор — Наволокин Никита Александрович
Тел. + 8452669750
E-mail: navolokin1@rambler.ru

(х1000), на не менее чем 500 клетках и рассчитывали их процентное соотношение (миелограмму) [12].

Для обработки полученных данных использовалось статистическое программное обеспечение SPSS v.20.0 с вычислением средней и ее стандартной ошибки, проведением дисперсионного анализа на нормальность распределения. Распределение признаков в группах являлось нормальным, поэтому значимость различий при параметрическом распределении определяли при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок, достоверными отличия считали при p<0,05.

Результаты. При гистологическом исследовании опухоли после введения экстрактов отмечали развитие обширных зон некроза до 90% гистологического среза, а также атрофические и дистрофические изменения клеток. Таким образом, введение экстрактов приводило как к уменьшению размеров опухоли, так и к развитию в ней некротических и дистрофических процессов.

Введение экстракта бессмертника как внутримышечно, так и перорально приводит к уменьшению опухоли на 70 и 64,6% соответственно (табл. 1), и не приводит к изменению лейкоцитарной формулы крови в группе экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой крыс, имеющих перевитую саркому. Однако изменения в опытных группах отличаются от показателей в контрольной группе здоровых животных №1.

В костном мозге животных опытных групп при введении экстракта бессмертника процентное соотношение недифференцированных бластов, нейтрофильных миелоцитов, пронормобластов также сходно с изменениями миелограммы в группе контроля №2 (животных с опухолью) по сравнению с нормой. Следовательно, можно полагать, что все изменения, как в периферической крови, так и в костном мозге, развиваются под воздействием самой опухоли и ее вторичных изменений (некроза и дистрофии).

Следует отметить, что пероральное введение бессмертника нормализует количество нейтрофильных миелоцитов в миелограмме, а внутримышечное введение понижает их долю в миелограмме по сравнению с обеими контрольными группами. Кроме этого, при пероральном введении экстракта бессмертника увеличивается доля эозинофилов и уменьшается количество сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с контрольной группой животных №2 с опухолью, т.е. приводит к нормализации данного показателя (табл. 2 и 3).

Под действием экстракта кукурузы независимо от метода введения происходит уменьшение объема опухоли на 61% (табл. 1). В костном мозге животных опытных групп по сравнению с контрольной группой №2 отмечается увеличение доли недифференцированных бластных клеток, а также миелобластов и нейтрофильных миелоцитов. Данные показатели приближаются к норме и статистически

Таблица 1

Объем опухоли у животных с перевиваемой саркомой-45 на конец эксперимента (14-й день)

Группа	Контроль (группа сравнения)	Бессм. в/м	Бессм. Peros	Кук. в/м	Кук. Peros	Авран в/м	Авран Peros
Объем опухоли ($см^3$)	25,58± 3,72	7,66± 1,37 **	9,05± 2,96 *	9,96± 1,56 *	10,0± 0,6 **	9,41± 1,7 **	10,89± 1,47 *

Примечание: степень достоверности отличий, при * — p<0,05; ** — p<0,001.

Таблица 2

Показатели лейкоцитарной формулы периферической крови крыс при введении флавоноидсодержащих экстрактов, %

Группа	Палочки	Сегменты	Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты
Контроль №1	1,5±0,5	58,00±1,0	2,0±0,5	0,0±0,0	9,5±0,5	29,0±1,0
Контроль №2	8,33±0,33 А-**	11,33±0,33 А-**	2,0±0,57	1,33±0,33	8,0±1,54	69,0±2,64 А-**
Бессм. в/м	7,67±0,33 А-**	12,67±2,18 А-**	1,67±0,33	0,67±0,33	6,33±0,88	71,0±1,73 А-**
Бессм. рег	7,0±1,15 А-**	12,0±1,54 А-**	1,67±0,33	0,67±0,33	8,33±0,88	70,3±1,2 А-**
Кукуруза в/м	13,3±1,77 А-** Б-*	17,0±2,51 А-**	1,33±0,33	0,67±0,33	8,0±1,0	59,0±5,17 А-**
Кукуруза пер/	10,5±0,5 А-* Б-*	13,5±2,5 А-**	1,0±0,5	1,0±0,5	4,0±1,0	70,0±4,0 А-**
Авран в/м	9,66±1,2 А-*	14,67±1,67 А-**	1,67±0,33	1,0±0,33	8,67±0,67	64,33±3,17 А-**
Авран пер.	9,33±0,66 А-**	15,67±0,88 А-** Б-*	1,33±0,33	0,33±0,33	5,67±0,89	67,67±2,72 А-**

Примечание: p — значимость отличий определяли между контрольными группами, контрольными животными №1 и экспериментальными группами (А), группой контроля №2 и экспериментальными группами (Б); * — достоверные отличия при p<0,05; ** — достоверные отличия при p<0,01.

Таблица 3

Процентное соотношение клеточного состава костного мозга, %

Клетки	Группа контроля №1	Группа контроля №2	Бессм. в/м	Бессм. Peros	Кук. в/м	Кук. Peros	Авран в/м	Авран Peros
Недифференцированные бласты	1,25 ±0,25	0,62± 0,125 А-**	0,5±0,0 Б-*	0,75± 0,25 Б-*	1,5±0,0 С-**	1,33±0,17 С-*	1,25 ±0,25	1,0±0,0
Мелобласты	1,25 ±0,25	0,62± 0,12 А-**	0,83± 0,33	1,0± 0,0	1,17± 0,17 С-*	1,17± 0,17 С-*	1,0± 0,0	0,75± 0,25
Нейтрофильные промиелоциты	1,75 ±0,25	1,25± 0,25 А-*	0,67± 0,17 Б-*	1,5± 0,5	1,5± 0,29	1,5± 0,29	1,5± 0,0	2,0± 0,0 Б-*
Нейтрофильные миелоциты	1,25 ±0,25	0,5± 0,0 А-**	0,67± 0,44 Б-*	0,25± 0,25 Б-*	1,0± 0,29	1,17± 0,17 С-*	1,0± 0,5	0,25± 0,25 А-*
Нейтрофильные метамиелоциты	1,75 ±1,25	2,12± 0,53	2± 0,87	1,25± 0,75	2,33± 0,73	2,0± 0,58	2,0± 1,0	1,75± 0,25
Нейтрофильные палочкоядерные лейкоциты	6,75 ±1,25	6,12± 0,83	10± 1,53	9,25± 1,25	7±0,5	6,17± 0,67	6,75± 1,25	7,0± 1,0
Нейтрофильные сегментоядерные лейкоциты	41,75 ±1,25	44,87 ±1,65 А-*	37,33± 5,78	35,00 ±3,0 Б-** В-*	39,5± 3,62	42,33± 2,59	36,75± 6,25	40,5± 4,5
Эозинофилы	3,00 ±0,0	5,87± 1,45 А-*	6,83± 3,61	12,75± 1,75 Б-* С-*	7,17± 2,52 Б-*	5,33± 1,36 Б-*	7,5± 0,5 С-*	4,5± 1,5
Базофилы	0,25 ±0,25	0,75± 0,32	0,33± 0,17	0,25± 0,25	0,67± 0,44	1± 0,76	0	0,75± 0,25
Эритробласты	2,00 ±0,0	1,62± 0,31	1,5±0,5	1,75± 0,75	1,83± 0,44	2,0± 0,0	1,25± 0,75	2± 0,1
Пронормобласты	3,25 ±0,75	2,12± 0,24 А-**	2,33± 0,73 Б-*	2,0± 0,5 С-*	3,5± 0,76	4,0± 1,0	3,0± 1,0	4,0± 1,0
Нормобласты базофильные	4,75 ±0,75	5,87± 1,01	4,5± 1,15	5,75± 0,25	4,33± 1,36	3,67± 1,09	7,5± 0,5	4,75± 1,75
Нормобласты полихроматофильные	11,25 ±2,25	9,5± 1,41	10,17± 1,92	9± 2,0	11,17± 0,73	14,± 1,04 Б-*	16,0 ±0,1 Б-* С-*	12,5± 0,5
Нормобласты оксифильные	5,75 ±1,25	6,0± 0,89	8,17± 1,86	7,5± 1,5	7,5± 1,15	6,67± 0,6	7,25± 2,25	4,5± 1,0
Лимфоциты	13,75 ±1,75	12,0± 0,82	13,0± 1,0	11,75± 0,75 Б-*	9,17± 0,17 Б-* С-*	8,5± 0,5 Б-* С-*	8,75 ±1,75 Б-** С-*	6,25± 1,25 Б-** С-*
Моноциты	0	0	0	0	0	0	0	0
Плазматические клетки	0,25 ±0,25	0 А-*	0	0,25± 0,25	0,67± 0,44	0	0,25± 0,25	0,5± 0,5
Лейко-эритробластическое отношение	2,85 ±0,08	3,08± 0,35	3,16± 0,44	3± 0,77	2,76± 0,27	2,3± 0,05	2,06± 0,07 С-*	2,94± 0,71

Примечание: А — значимость отличий между контрольными группами, Б — также между контрольной группой №1 и экспериментальными группами; С — значимость отличий между группой контроля №2 и экспериментальными группами; * — достоверные отличия p<0,05; ** — достоверные отличия p<0,01;

достоверно не различаются с показателями контрольной группы здоровых животных (табл. 3). Следовательно, экстракт кукурузы сам по себе не приводит к изменению данных показателей и нормализует изменения, вызванные опухолевым ростом. Процентное уменьшение количества лимфоцитов в составе клеток костного мозга может свидетельствовать об ускоренном или повышенном переходе лимфоцитов на второй этап созревания в периферические органы иммуногенеза. Кроме этого, мы наблюдали увеличение лимфоцитов в периферической крови по сравнению с контролем, что может являться следствием опухолевого процесса и активации специфической иммунной системы [13].

При внутримышечном введении экстракта аврана лекарственного уменьшение объема опухоли происходит на 63% — при внутримышечном и на 57,4% при пероральном введении (табл. 1). В костном мозге отмечается увеличение полихроматофильных нормобластов, являющихся предшественниками эри-

троцитов, как по отношению к группе сравнения, так и по отношению к контролю, что может служить показателем стимулирующего эффекта на эритроцитарный росток. Уменьшение количества лимфоцитов в костном мозге также может свидетельствовать об ускоренном созревании лимфоцитов и переходе их на второй этап созревания в периферические органы иммуногенеза [13]. Увеличение в периферической крови сегментоядерных нейтрофилов, по-видимому, служит следствием выраженного некроза опухоли под действием экстракта и развитием интоксикации (табл. 2 и 3).

Обсуждение. Введение каждого из трех исследованных нами растительных экстрактов, содержащих флавоноиды, уменьшает объем перевитой опухоли от 61 до 70% в зависимости от метода их введения, а также вызывает развитие дистрофических и некротических изменений в опухолевой ткани.

У животных перевиваемая опухоль (саркомы-45) вызывает изменения процентного соотношения ряда клеток в лейкоформуле и миелограмме.

Пероральное и внутримышечное введение животным экстрактов кукурузы антоциановой и аврана лекарственного благоприятно влияет на миелоцитарный росток (недифференцированных бластных клеток, миелобластов и нейтрофильных миелоцитов) с приведением показателей к норме, а также приводит к увеличению лимфоцитов как в лейкоформуле крови, так и в миелограмме, что, с нашей точки зрения, служит важным звеном в активации иммунной системы и реализации противоопухолевого эффекта экстрактов.

Экстракт бессмертника приводит к нормализации процентного соотношения сегментоядерных нейтрофилов, но по большинству показателей не изменяет количественного соотношения клеток по сравнению с контрольной группой животных с опухолью.

Заключение. Таким образом, все три изученных флавоноидсодержащих экстракта обладают выраженной противоопухолевой активностью (замедляют темпы роста перевиваемой саркомы и вызывают в ней выраженные морфологические изменения), а также не оказывают токсического эффекта на периферическую кровь. Экстракты аврана лекарственного и курукурузы антациаоновой благоприятно влияют и нормализуют процентное соотношение клеток красного костного мозга у животных с перевитой саркомой, а экстракт бессмертника не оказывает влияния на миелограмму.

Благодарности. Авторы выражают благодарность научным руководителям: заведующей кафедрой патологической анатомии д.м.н., проф. Г.Н. Масляковой; профессору кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники Н.В. Полуконовой; руководителю ЦКП НИИ клинической и фундаментальной уронефрологии к.б.н. А.Б. Бучарской за помощь в обсуждении результатов и написании статьи.

References (Литература)

1. Polier G1, Ding J, Konkimalla BV, et al. Wogonin and related natural flavones are inhibitors of CDK9 that induce apoptosis in cancer cells by transcriptional suppression of Mcl-1. Cell Death Dis. 2011 Jul 21; 2:182.

2. Polukonova AV, Durnova NA, Kurchatov MN, et al. The chemical analysis and a method of producing a new From Biological active composition of Gratiola Officinalis L. Chemistry of plant raw material 2013; (4): 165–173. Russian (Полуконова А.В., Дурнова Н.А., Курчатова М.Н. и др. Химический анализ и способ получения новой билогически активной композиции из травы аврана лекарственного (Gratiola Officinalis L.). Химия растительного сырья 2013; (4): 165–173)

3. Baitman TP, Navolokin NA. Effect of extract of Hauran drug on laboratory animals inoculated with sarcoma S-45. Bulletin of Medical Internet conferences 2013; 3 (2):374. Russian (Байтман Т.П., Наволокин Н.А. Влияние экстракта аврана лекарственного на лабораторных животных с перевитой саркомой S-45. Бюллетень медицинских интернет-конференций 2013; 3 (2); 374)

4. Navolokin NA, Polukonova AV, Bibikova OA, et al. Cytomorphological changes pig embryo kidney cells in culture (spev-2) under the action of a medicinal extract of Gratiola officinalis l. Fundamental Research 2014; 10 (7): 1369–1374. Russian (Наволокин Н.А., Полуконова А.В., Бибикова О.А. и др. Цитоморфологические изменения клеток почки эмбриона свиньи в культуре (spev-2) при воздействии экстракта аврана лекарственного (Gratiola officinalis l.). Фундаментальные исследования 2014; 10 (7): 1369–1374)

5. Navolokin NA, Polukonova NV, Maslyakova GN, et al. The morphology of internal organs and tumors in laboratory rats with transplanted liver cancer Pc-1 when administered orally flavonoid containing extracts of Gratiola Officinalis L. and Zea-Mays L. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2013; 9 (2): 213–220. Russian (Наволокин Н.А., Полуконова Н.В., Маслякова Г.Н. и др. Морфология внутренних органов и опухоли лабораторных крыс с перевитым раком печени РС-1 при пероральном введении флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного (Gratiola Officinalis L.) и кукурузы антоциановой (Zea Mays L.). Саратовский научно-медицинский журнал 2013; 9 (2): 213–220)

6. Polukonova AV, Navolokin NA, Bibikova OA. The cytotoxic activity in vitro extract of Gratiola officinalis L cell culture embryonic kidney pigs infected Oncoviruses. Bulletin of Medical Internet conferences 2013; 3 (2):375. Russian (Полуконова А.В., Наволокин Н.А., Бибикова О.А. Цитотоксическая активность in vitro экстракта аврана на культуре клеток почек эмбрионов свиньи, зараженных онковирусом. Бюллетень медицинских интернет-конференций 2013; 3 (2):375)

7. Polukonova AV, Navolokin NA, Raikova SV, et al. Antl-inflammatory, antipyretic and antimicrobial activity of flavonoid-containing extract of Gratiola officinalis L. Experimental and Clinical Pharmacology 2015; 78 (1): 34–38. Russian (Полуконова А.В., Наволокин Н.А., Райкова С. В. и др. Противовоспалительная, жаропонижающая и антимикробная активность флавоноидсодержащего экстракта аврана лекарственного (Gratiola officinalis L.). Экспериментальная и клиническая фармакология 2015; 78 (1): 34–38)

8. Skvortsova VV, Navolokin NA, Polukonova NV, et al. Antituberculous in vitro activity of Helichrasum arenyrium extract. Experimental and Clinical Pharmacology 2015; 78 (2): 30–33. Russian (Скворцова В.В., Наволокин Н.А., Полуконова Н.В. и др. Противотуберкулезная активность экстракта бессмертника песчаного (Helichrasum arenyrium) in vitro. Экспериментальная и клиническая фармакология 2015; 78 (2): 30–33).

9. Navolokin NA, Skvortsov VV, Polukonova NV, et al. Antituberculous in vitro activity of Gratiola officinalis extract. Experimental and Clinical Pharmacology 2015; 78 (4): 10–13. Russian (Наволокин Н.А., Скворцова В.В., Полуконова Н.В. и др. Противотуберкулезная активность экстракта аврана лекарственного (Gratiola officinalis) in vitro. Экспериментальная и клиническая фармакология 2015; 78 (4): 10–13)

10. Navolokin NA, Polukonova NV, Maslyakova GN, et al. Effect of extracts of Gratiola officinalis and Zea mays on the tumor and the morphology of the internal organs of rats with transplanted liver cancer. Russian Open Medical Journal 2012; 2 (1): 02–03.

11. Khabriev RW. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow: Medicine, 2005; 832 p. Russian (Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005; 832 с.)

12. Gladilin GP, Simonova MI. Hemogram and myelogram: A teaching guide. Department of Clinical Laboratory Diagnostics FPK PPS, 2004; 37 p. Russian (Гладилин Г.П., Симонова М.И. Гемограмма и миелограмма: учеб.-метод. Рук-во. Кафедра клинической лабораторной диагностики ФПК ППС, 2004; 37 с.).

13. Belousov YB, Moiseyev VS, Lepahin VK. Clinical pharmacology and pharmacotherapy: Guidelines for doctors Moscow: GEOTOR Media, 2010; 532 p. Russian (Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия: рук-во для врачей. М.: ГЭОТОР-Медиа, 2010; 532 с.)