

# Современные тенденции в стандартизации препаратов аллергенов

*Игнатов А.А., Раменская Г.В., Смирнов В.В.*

ГБОУ ВПО «Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова», г. Москва

**Резюме.** В статье рассмотрены современные требования к качеству аллергенных экстрактов, используемых для аллерген-специфической иммунотерапии. Проведён сравнительный анализ нормативной документации, регламентирующей качество аллергенных препаратов. Приведены требования Европейской фармакопеи к качеству аллергенов как фармацевтических препаратов. Рассмотрены возможности применения современных физико-химических методов (ВЭЖХ-МС, ЯМР) для анализа препаратов данной группы.

**Ключевые слова:** аллерген-специфическая иммунотерапия, аллергенные экстракты, стандартизация, суммарная аллергенная активность, биологическая активность

## Current trends in the standardization of preparations of allergens

Ignatov A.A., Ramenskaya G.V., Smirnov V.V.

First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow

**Abstract.** The article deals with the modern requirements to the quality of the allergenic extracts used for allergen-specific immunotherapy. The comparative analysis of regulatory documents governing the quality of the allergenic drugs. Presents the requirements of the European Pharmacopoeia the quality of allergens like pharmaceuticals. The possibilities of application of modern physico-chemical methods (HPLC-MS, NMR) analysis of drugs in this group.

**Keywords:** allergen-specific immunotherapy, allergenic extracts, standardization, total allergenic activity, biological activity

Автор, ответственный за переписку:

*Игнатов Алексей Анатольевич* — аспирант, ГБОУ ВПО «Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова», г. Москва; адрес: 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; e-mail: rem\_browne@mail.ru; тел. +7 (985) 788-93-05

## Введение

В настоящее время в мире наблюдается рост заболеваемости аллергическими болезнями, к которым относятся бронхиальная астма, аллергический ринит, аллергический конъюнктивит, атопический дерматит, крапивница, пищевая, лекарственная, инсектная аллергия [1]. Причиной развития аллергических болезней является воздействие аллергенов на сенсibilизированный организм. Для диагностики аллергических заболеваний проводится сбор аллергологического анамнеза, физикальное обследование и аллергические тесты, например, кожные пробы или определение *in vitro* аллерген-специфических IgE антител [2].

Наиболее эффективным методом лечения сезонных аллергических риноконъюнктивитов является аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ) [3]. Этот метод лечения был впервые предложен *Леонардом Нуном* и *Джоном Фриманом* в 1911 году для лечения поллиноза. Они установили, что в результате инъекции больному поллинозом экстракта пыльцы трав до сезона цветения растений, во время цветения отмечается облегчение или полное исчезновение симптомов аллергии [1]. Метод АСИТ заключается в назначении пациенту возрастающих доз того аллергена, к которо-

му у него выявлена гиперчувствительность. Аллергены применяются в виде специально приготовленных водно-солевых экстрактов, а также модифицированных на разных носителях препаратов [4]. Основной задачей данной терапии является гипосенсибилизация, то есть постепенное снижение чувствительности пациента вплоть до полной индифферентности к естественной экспозиции аллергена, к которому он чувствителен, в окружающей среде [5].

АСИТ является единственным этиопатогенетическим методом лечения аллергических болезней (аллергического ринита, конъюнктивита, бронхиальной астмы), воздействующим на все патогенетические звенья аллергического процесса, изменяющим характер реагирования организма на аллерген. Использование этого метода позволяет достичь долгосрочного улучшения состояния пациентов после завершения курса. Данный метод лечения оказывает профилактическое действие на прогрессирование аллергических заболеваний и развитие осложнений. АСИТ снижает вероятность развития бронхиальной астмы у больных аллергическим риноконъюнктивитом [1, 6].

Аллергенные экстракты представляют собой лекарственные препараты, которые могут быть использованы для диагностики, профилактики и лечения

аллергических болезней. На протяжении всей истории клинической аллергологии их получали экстракцией водно-солевым раствором активных действующих веществ из различного сырья растительного и животного происхождения, вызывающих аллергические реакции и заболевания. Процесс приготовления экстрактов аллергенов на основе природного сырья включает следующие этапы: измельчение, экстракция, очистка, диализ, стерилизация, проба на токсичность [7, 8].

Важное значение имеет оценка качества исходного сырья (растения, клещи домашней пыли, насекомые, грибы и т.д.). В сырье регламентируется содержание посторонних примесей. При проведении визуального и микробиологического анализов допускается присутствие не более 1% любых посторонних примесей в исследуемом образце [9]. Для измельчения сырья используют лабораторный миксер, ультразвуковые приборы.

Поскольку в процессе экстракции возможно закисление раствора, для экстракции используют слабощелочную среду с pH 7,5 — 8,5. Для поддержания pH используют буферные растворы: щелочной раствор Кока для приготовления экстрактов из грибов, домашней пыли, пыльцы и др., буферный раствор с NaCl для приготовления экстрактов из овощей, орехов, фруктов, эпидермиса животных и т.д. Обезжиренный материал смешивают с наиболее подходящим раствором, проводят экстрагирование при комнатной температуре в тест-системе от 17 до 24 ч при постоянном встряхивании [8].

Полученные таким образом водно-солевые экстракты содержат, помимо аллергенных, другие компоненты, что влияет на качество препарата. Поэтому аллергенные препараты подвергают специальной очистке, которая может быть проведена следующими методами: осаждением, центрифугированием, фильтрованием либо сочетанием этих методов. После очистки следует диализ, в процессе которого происходит удаление низкомолекулярных веществ и пигментов.

Экстракты аллергенов, предназначенные для инъекционного введения, подвергаются стерилизации, наиболее эффективным способом которой является фильтрация через бактериальные фильтры. Данный метод подходит для термолabileльных веществ. Контроль стерильности проводится путём посева на питательные среды и обнаружения возможного роста микроорганизмов.

Испытание на токсичность включает в себя определение pH, а также проведение микробиологического и токсикологического контролей [8].

Новые технологии клонирования белковых молекул позволяют получить многие важные аллергены (например, пыльцы растений, постельного клеща, эпидермиса некоторых животных, насекомых, яда перепончатокрылых) в виде индивидуальных рекомбинантных белков. Полученные таким методом аллергены обладают аллергенной активностью, сопоставимой с соответствующими природными белковыми аллер-

генами. Данная технология облегчает стандартизацию препаратов аллергенов, позволяя количественно определять только главные аллергены в производственных сериях лекарственных форм [7, 10].

Лекарственные формы аллергенов совершенствуются с целью повышения их безопасности при сохранении основного свойства — иммуногенности. Предприняты попытки модификации аллергенов путём полимеризации формальдегидом или глутаровым альдегидом, а также получения сорбированных форм на L-тирозине или гидроокиси алюминия, применения пролонгированных форм с использованием различных природных и синтетических носителей [7].

Качество аллергенных препаратов является ключевым вопросом как диагностики, так и лечения аллергических заболеваний. Поэтому стандартизация аллергенных экстрактов имеет первостепенное значение для улучшения их качества и предоставления врачам надёжного метода диагностики и лечения аллергических болезней [11].

Общая всемирная стратегия стандартизации препаратов аллергенов предусматривает определение суммарной аллергенной активности, биологической активности и содержания главных аллергенов в единице массы препарата.

Основная проблема стандартизации аллергенных препаратов связана с отсутствием единых протоколов стандартизации для всех производителей. В США регулирующим органом, осуществляющим стандартизацию, контроль за качеством и чистотой лечебных аллергенов, является FDA (Food and Drug Administration — Управление по контролю качества продуктов питания и лекарственных средств). В Европе оценкой соответствия экстрактов аллергенов всем требованиям Европейской Фармакопеи занимается ЕМА (European Medicines Agency — Европейское агентство по лекарственным средствам). Также в европейских странах действует несколько регулирующих организаций, которые придерживаются единых установленных правил в соответствии с рекомендациями ВОЗ.

Суммарную аллергенную активность лекарственного препарата стандартизируют по соотношению вызываемой им кожной реакции на аллерген (*prick*-тест) со степенью кожной реакции на гистамин у больных, чувствительных (сенситизированных) к данному аллергену [12]. Таким образом, основным методом стандартизации аллергенных экстрактов является определение биологической активности препарата посредством способности связывания комплекса антиген-антитело (АГ-АТ) [13].

Для оценки биологической активности используют методы *in vitro* и *in vivo*. К *in vitro* методам относятся такие методы, как изоэлектрофокусирование, электрофорез в полиакриламидном геле с додецил-сульфатом натрия, IgE-иммуноблоттинг, перекрёстный радиоиммуноэлектрофорез, радиоаллергосорбентный тест (РАСТ), используемый для оценки IgE-связывающих

свойств препарата. К методам *in vivo* относятся: кожные пробы, *prick*-тесты, аппликационные, скарификационные, внутрикожные тесты [5, 7, 12, 13].

Однако, до настоящего времени каждый производитель оценивал специфическую активность и концентрацию аллергенов в удобных для него единицах с использованием своих внутренних стандартов — In House Reference Standards (IHRS). Иммунологическая активность выражалась в следующих единицах: биологические единицы — Biological Units (BU), биологические аллергенные единицы — Biological Allergenic Units (BAU), аллергенные единицы — Allergy Units (AU), единицы активности АСИТ — Specific treatment units (STU), индекс реактивности — Index of reactivity (IR-Europe) и др. [8]. Использование собственных внутренних стандартов делает практически невозможным сравнение качества продукции различных производителей. Даже если количество главных аллергенов установлено, различия в методиках количественного определения, эталонных экстрактах и используемых антителах могут повлиять на результат. Таким образом, для сравнения диагностических и иммунотерапевтических средств от разных производителей следует использовать одинаковые аналитические методы и материалы [11].

В настоящее время для разных производителей стало важным определение содержания главных аллергенов, преимущественно ответственных за повышенную чувствительность организма к сложному по составу аллергену. С этой целью Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) передаёт в распоряжение разных стран международные референс-стандарты, содержащие определённые количества соответствующих аллергенов. ВОЗ также была предложена система международных единиц — International Units (IU). В этих единицах выражается биологическая активность международных стандартов, разработанных организацией [8]. Но, несмотря на все достоинства, международные референс-стандарты не получили широкого распространения: каждый производитель использует свой IHRS и активность каждого стандарта выражает в своих собственных единицах. Разработка одной унифицированной единицы, по которой проводилась бы стандартизация у подавляющего большинства производителей, до сих пор остаётся практически нерешаемой задачей [8].

Европейская фармакопея предъявляет ряд требований к качеству препаратов аллергенов. Предъявляются требования к качеству исходного сырья, используемого для приготовления аллергенных препаратов. Так, содержание пыльцы других растений не должно превышать 1% для смесей пыльцы разных видов и 0,5% для пыльцы одного вида (устанавливается подсчётом пыльцевых частиц под микроскопом). При использовании плесени в качестве сырья особые меры принимаются для предотвращения попадания посторонних штаммов плесени. В случае экстрактов клещей не допускается попадания в сырьё посторонних видов

клещей. Виды насекомых, из которых экстрагируется яд, должны быть идентифицированы, а пищевые аллергены должны отвечать требованиям, предъявляемым к продуктам питания [18].

Согласно требованиям Европейской фармакопеи, препараты аллергенов, предназначенные для парентерального применения, а также глазные препараты, препараты для ингаляций и препараты для проведения кожных проб должны производиться в асептических условиях. Эти препараты должны выдерживать испытание на стерильность. Нестерильные аллергенные препараты должны соответствовать требованиям, предъявляемым к нестерильным фармацевтическим препаратам. Аллергенные экстракты могут содержать в своём составе консерванты, природа и концентрация которых нормируется [18].

В лиофилизированных препаратах регламентируется содержание воды (не более 5%). Содержание белков определяется методами изоэлектрического фокусирования, электрофореза в полиакриламидном геле с додецил-сульфатом натрия, иммуноэлектрофореза, капиллярного электрофореза, хроматографическими методами и масс-спектрометрией. Оно должно составлять от 80 до 120% от указанного количества. Если в качестве адсорбентов используются алюминия или кальция фосфат, в препаратах нормируется содержание алюминия или кальция, которое должно составлять от 80 до 120% от указанного количества. Суммарная аллергенная активность должна находиться в пределах от 50 до 150% от указанного количества (определяется путём подавления связывающей способности специфических IgE антител или эквивалентного *in vitro* метода). Содержание индивидуальных аллергенов должно составлять от 50 до 200% от указанного количества для каждого компонента [18].

В Российской Федерации стандартизацию, контроль качества и чистоты аллергенных препаратов осуществляет Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича. Диагностические и терапевтические препараты, выпускаемые отечественными производителями, стандартизуют по содержанию единиц белкового азота — Protein nitrogen units (PNU). Аллергенную активность устанавливают по результатам кожного тестирования на пациентах, которые чувствительны к данному аллергену. Количественную оценку ни в испытаниях *in vitro*, ни на пациентах не проводят [7, 13].

В последнее время на российском фармацевтическом рынке стали появляться стандартизованные в индексах реактивности препараты. Подобная система стандартизации применяется французской компанией «Stallergenes» при изготовлении препаратов «Phostal»® «Аллерген пыльцы деревьев», «Staloral»® «Аллерген пыльцы берёзы» и «Staloral»® «Аллерген клещей» [14, 15, 19].

В настоящее время в РФ для комплексной АСИТ применяют водно-солевые экстракты, представляю-

щие собой смесь аллергенных и неаллергенных материалов, депонированные и модифицированные формы аллергенов. Их применяют для лечения респираторных аллергических заболеваний, а также анафилактических реакций на яд насекомых. Депонированные аллергены, так же, как и модифицированные аллергены обладают меньшей аллергенностью и большей иммуногенностью. Такие средства более эффективны и безопасны при проведении АСИТ. В клинической практике широко применяются алергоиды. Термин «алергоиды» используется для обозначения природных аллергенов, которые были модифицированы с помощью альдегидов с целью снижения их аллергенности и повышения безопасности. Алергоиды обычно получают путём полимеризации аллергенов формальдегидом. Депонированные аллергены представляют собой суспензионную форму аллергенов, адсорбированную на гидроокиси алюминия или фосфате кальция и химически модифицированную с помощью глутарового альдегида. В ГНЦ Институте иммунологии ФМБА проводятся работы по направленной модификации белков путём создания новых конъюгированных форм аллергенов (аллерготропинов) с иммуномодулятором полиоксидонием. Клинические исследования новой группы препаратов показали их высокую эффективность и безопасность использования для АСИТ, что позволяет судить о перспективности дальнейшей разработки данной группы лекарственных средств [7, 14].

Стандартизации модифицированных аллергенов предусматривает проведение стандартизации исходного аллергена до модификации, определение воспроизводимости процесса модификации с сохранением содержания главных аллергенных эпитопов в конечном продукте, а также соответствие свойств (иммуногенности) исходного и конечного продуктов.

В России к медицинскому применению допущены аллергены в виде водно-солевых экстрактов пыльцы растений (деревьев, злаковых и сорных трав), домашней пыли, клещей рода *Dermatophagoides*; алергоиды из пыльцы злаковых трав и сорных трав. Разрешены к медицинскому использованию также смеси водно-солевых аллергенов пыльцы злаков, деревьев и сорных трав. Другие лекарственные формы аллергенов в нашей стране пока не зарегистрированы и находятся на стадии внедрения в медицинскую практику [7]. Лечебные аллергены, разрешённые к медицинскому применению в РФ, производятся компаниями ФГУП НПО «Микроген» (Ставрополь), «Севафарма» (Чехия), «Биомед» (ФГБУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» РАМН) [8].

Разработанный при финансовой поддержке Европейского Союза проект «CREATE» («Development of Certified Reference Materials for Allergenic Products and Validation of Methods for their Quantification») — «Сертифицированные эталоны (референсы) аллергенов для оценки качества продукции» должен был решить проблему внедрения унифицированных методов ко-

личественного определения содержания главных аллергенов в стандартные протоколы [11, 16]. Главными («мажорными») аллергенами считаются те аллергены, которые способны вызывать иммунологический ответ более чем у половины пациентов и связывать более половины антител IgE у сенсibilизированных к данному аллергену пациентов [13, 17]. Однако реализовать данный проект не удалось в связи с трудновыполнимостью поставленных задач. В результате только две молекулы рекомбинантных аллергенных белков Bet v 1 (аллерген пыльцы берёзы) и Phl p 5 (аллерген пыльцы тимopheвки), произведённые по правилам GMP, смогли быть включены в Европейскую фармакопею в качестве международных стандартов [11, 18].

Поскольку единицы биологической активности трудно сопоставимы у разных производителей, активность препарата может быть выражена в концентрациях «мажорных» аллергенов. Для их определения можно предложить метод жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ЖХ-МС) — Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) [20]. В настоящий момент данное направление является приоритетным в области стандартизации экстрактов аллергенов.

В связи с тем, что выпускаемые отечественными производителями лечебные и диагностические аллергены стандартизируются ещё старым методом (по содержанию единиц белкового азота), необходимо привести отечественные технологии получения и стандартизации аллергенных препаратов в соответствие с мировым уровнем. Это может быть достигнуто путём внедрения в стандартизацию современных физико-химических методов, таких как ЖХ-МС (LC-MS) [20, 21].

Метод масс-спектрометрии (МС) заключается в ионизации молекул в исследуемом образце с последующим разделением и регистрацией образующихся ионов. Данный метод позволяет проводить определение нескольких различных аллергенных компонентов одновременно (аллергенов и их изоформ). Это облегчает работу с аллергенными препаратами, которые содержат обширную группу IgE-связывающих белков, такими как, например, экстракты клещей. Метод МС также позволяет различить изоформы аллергенов, чего трудно достичь, используя иммунологические методы. МС могла бы быть полезна и для стандартизации алергоидов, поскольку определение «мажорных» аллергенов в данных препаратах другими методами невозможно из-за их химической модификации альдегидами [11]. Таким образом, благодаря ряду преимуществ (высокая чувствительность, экспрессность, информативность, возможность работы с многокомпонентными смесями и др.) применение масс-спектрометрии для анализа белковых молекул, в т.ч. аллергенных белков, стало одним из важнейших этапов в их исследовании. Введение таких методик, как ионизация электрораспылением (ИЭР) и матрично-адсорбированная лазерная десорбция / ионизация (МАЛДИ), привело к большому про-



рыву в масс-спектрометрии [8]. В ведущих научных и учебных центрах России широко используются хромото-масс-спектрометры компании Shimadzu [22].

Для изучения молекул аллергенов также могут быть применены новые методы, такие как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и рентгеноструктурный анализ. Они могли бы стать важным шагом на пути к полноценной стандартизации аллергенных препаратов [11].

Дальнейшее усовершенствование метода АСИТ требует развития стандартизации аллергенных препаратов. Это, в свою очередь, требует разработки новых методов определения содержания аллергенов в лекарственных препаратах. Достижения в области стандартизации экстрактов аллергенов позволят наладить производство качественных лечебных и диагностических аллергенов в Российской Федерации и повысят эффективность и безопасность аллергенных вакцин.

Подводя итог, представим международные требования, предъявляемые к препаратам аллергенов. Суммарную аллергенную активность определяют по соотношению степени вызываемой препаратом кожной реакции со степенью кожной реакции на гистамин у

пациентов, чувствительных к данному аллергену [7]. В США регулирующим органом, осуществляющим стандартизацию лечебных аллергенов, является FDA. В европейских странах контроль соответствия качества аллергенных препаратов требованиям Европейской фармакопеи осуществляет ЕМА.

В мире широко распространены две системы стандартизации препаратов аллергенов. В США, согласно требованиям FDA, используются аллергенные единицы AU (Allergy Units). Проводится оценка степени выраженности кожной реакции пациента *in vivo*: измеряется суммарный диаметр эритемы в мм в ответ на внутрикожное титрование аллергеном. В Европе применяется система стандартизации в биологических единицах BU (Biological Units). Она позволяет измерить дозу аллергена в биоэквивалентных единицах, которые рассчитываются по степени выраженности кожной реакции при *prick*-тестировании. 1000 BU/мл эквивалентны кожной реакции пациента на раствор гистамина в концентрации 10 мг/мл. Европейская фармакопея также даёт полноценную характеристику аллергенов как фармацевтических препаратов [9, 18].

#### Литература

1. Аллергология и иммунология / Под общ. ред. А.А. Баранова и Р.М. Хаитова. — М.: Союз педиатров России, ООО «М-Студио». — 2008. — 248с. (серия «Клинические рекомендации для педиатров»).
2. Ferrer M. et al. Molecular diagnosis in Allergy: application of the microarray technique. // J Investig Allergol Clin Immunol. — № 19 (1). — P. 19-24.
3. Маслова Л.В. Поллиноз: методы контроля заболевания. // Рецепт. — 2013.- № 3. — С. 118 — 127.
4. Гуцин И.С. Аллерген-специфическая иммунотерапия (гипосенсибилизация). // Лечащий врач. — 2001. — № 3. — С.10 — 27.
5. Курбачева О.М., Павлова К.С. Аллерген-специфическая иммунотерапия. // Доктор.ру. — 2010. — № 3. — С.16 — 19.
6. Jacobsen L., Wahn U., Bilo M.B. Allergen-specific immunotherapy provides immediate, long-term and preventive clinical effects in children and adults: the effects of immunotherapy can be categorized by level of benefit — the centenary of allergen specific subcutaneous immunotherapy. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.ctajournal.com/content/2/1/8> (дата обращения: 15.11.2014).
7. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология: Национальное руководство. — М.: Гэотар-Медиа. — 2009. — 656 с.
8. Боков Д.О., Смирнов В.В. К вопросу стандартизации аллергенных экстрактов: пути дальнейшего развития. // Сеченовский вестник.- 2013. — №4. — С. 39 — 46.
9. Code of Federal Regulations Food and Drug Administration (21 680.1) — «Allergenic Products». — Vol. 7. — Date: 2011 — 04 — 01. — P. 133 — 136.
10. Павлов А.Е. и др. Получение и оценка свойств рекомбинантного аналога мажорного аллергена пыльцы берёзы Bet v 1. // Российский аллергологический журнал. — 2012. — № 3. — С. 7 — 13.
11. Fernández-Caldas E., Zakzuk J, Lockey F.R. Allergen Standardization and Characterisation [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://files.sld.cu/allergen/files/2011/08/allergenvaccines2009opt1.pdf> (дата обращения: 17.11.2014).
12. Желтикова Т.М. Аллергены для аллерген-специфической иммунотерапии: достижения и проблемы. // Consilium medicum (Педиатрия). — 2012. — № 1. — С. 29 — 31.
13. Астафьева Н.Г. и др. Место аллерген-специфической иммунотерапии в лечении атопии. // Consilium medicum. — 2013. — № 3. — С. 55 — 61.
14. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. — М.: АстраФармСервис. — 2013. — 1640 с.
15. Stallergenes S.A. [Электронный ресурс]: Stallergenes group. Режим доступа: <http://www.stallergenes.com/en/stallergenes-group/our-products.html> (дата обращения: 15.11.2014).
16. Van Ree R. et al. The CREATE project: development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. // Allergy. — 2008. — № 63. — P. 310 — 326.
17. Breiteneder H., Chapman M.D. Allergen Nomenclature. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.allergen.org/pubs/10BRP69BreitenederMDCAllergenNomenclature2014.pdf> (дата обращения: 16.11.2014).
18. European pharmacopoeia. 7-th ed. suppl. 7.0. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. — 2010. — № 1. — 1207 p.
19. Frati F. et al. Development of a sublingual allergy vaccine for grass pollinosis. // Drug Design, Development and Therapy. — 2010. — № 4. — P. 99 — 105.
20. LC/MS Information. [Электронный ресурс]: Technology Reviews. Режим доступа: [http://www.lcms.com/lcms\\_information/refer\\_books.html](http://www.lcms.com/lcms_information/refer_books.html) (дата обращения: 17.11.2014).
21. Ласкин Дж., Лифишиц Х. Принципы масс-спектрометрии в приложении к биомолекулам. — М.: Техносфера. — 2012. — 608 с.
22. Родин И.А., Варламов В.В. Инновационные хромото-масс-спектрометры Shimadzu в лабораторной практике 21 века. // Аналитика. Оборудование и материалы. — 2012. — №1. — С. 6 — 10.