

УДК: 616.36-07:619

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.91

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ D-ГЛЮЦИТОЛА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В КОНТЕКСТЕ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ

Андреева Н.Л.* – д-р биол. наук, проф., проф. каф. фармакологии и токсикологии; Понамарев В.С. – канд. ветеринар. наук, ст. преп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); Погодаева П.С. – канд. ветеринар. наук, асс. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0001-7115-5921); Кострова А.В. – асп.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*farm07@mail.ru

Ключевые слова: гепатобилиарная система, клиренс-тест, D-глюцитол, фармакокинетика.

Keywords: hepatobiliary system, clearance test, caffeine, D-Glucitol, pharmacokinetics.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00005, <https://rscf.ru/project/24-26-00005>

Поступила: 19.01.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Одним из наиболее развивающихся методов оценки состояния гепатобилиарной системы является динамический клиренс-метод (оценка клиренса путём изучения фармакокинетических параметров). Клиренс представляет собой меру скорости, с которой определенное (чаще всего наиболее фармакодинамически связанное с изучаемой системой) вещество элиминируется из организма. Данный метод позволяет не только диагностировать заболевания печени, но и определить их степень тяжести и динамику изменений в процессе дальнейшей фармакотерапии. Цель настоящего исследования – провести экспериментальное исследование, направленное на изучение изменений фармакокинетики экзогенного сорбитола в плазме крови лабораторных животных, что позволит установить отправные точки для дальнейшей оценки изменений его элиминационных свойств при гепатобилиарных патологиях. Уровень D-глюцитола определялся методом Коркорана и Пейджа с модификацией в течение 12 часов (шаг – 2 часа) в депротенизированной плазме, получаемой путём венепункции хвостовой вены, после введения экспериментальной композиции на основе D-глюцитола. Временные интервалы выбирались исходя из зарегистрированного периода полувыведения препарата. По результатам исследования нами отмечались следующие закономерности в биотрансформации D-глюцитола: линейное повышение концентрации до 6 часов после введения (с пиком в 6 часов) линейное снижение в период с 6 до 8 часов после введения, затем – резкое снижение концентрации. Таким образом, тип элиминации D-глюцитола у клинически здоровых животных можно оценить как «линейный». В процессе дальнейших исследований планируется разработка специальных «кривых элиминации D-глюцитола». Эти графики отражают динамику удаления экзогенного D-глюцитола в зависимости от времени при различных гепатобилиарных нарушениях.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Разработка клиренс-методов оценки состояния гепатобилиарной системы представляет собой одним из перспективных диагностических механизмов в современной ветеринарной медицине [1-3]. Гепатобилиарная система, включающая в себя печень, желчные пути и желчный пузырь, играет ключевую роль в элиминации эндо- и экзогенных веществ, синтезе биохимических компонентов, а также в процессе пищеварения. Поэтому определение ее функционального состояния является актуальной задачей в контексте проведения обследования животных и выявления различных, связанных с данной системой, патологий.

Одним из наиболее развивающихся методов оценки состояния гепатобилиарной системы является динамический клиренс-метод (оценка клиренса путём изучения фармакокинетических параметров). Клиренс представляет собой меру скорости, с которой определенное (чаще всего наиболее фармакодинамически связанное с изучаемой системой) вещество элиминируется из организма. Данный метод позволяет не только диагностировать заболевания печени, но и определить их степень тяжести и динамику изменений в процессе дальнейшей фармакотерапии [4].

Клиренс-методы имеют свои преимущества перед другими методами оценки функции гепатобилиарной системы. Во-первых, они являются более точными, поскольку позволяют оценить непосредственно процесс выведения вещества из организма. Более того, клиренс-методы могут быть использованы для оценки функций не только печени, но и желчных путей, что делает их более универсальными и полезными в клинической практике.

В настоящее время методы клиренса становятся все более доступными и точными, что в свою очередь содействует диагностике и лечению заболеваний гепатобилиарной системы.

Разработка клиренс-методов оценки состояния гепатобилиарной системы является сложной задачей, требующей науч-

ных исследований (с целью накопления статистически достоверных данных о фармакокинетических параметрах различных веществ), проведения клинических испытаний, совершенствования технологий проведения данных тестов, а также расширения арсенала тех экзогенных субстанций, которые возможно будет целесообразно использовать без вреда для организма животного. Одним из подобных соединений является D-глюцитол (название по международной номенклатуре IUPAC, общепринятое «сорбитол») [5,6], количество которого без экзогенного введения практически невозможно определить в биологических жидкостях животных по причине незначительности его следовых концентраций в процессе естественного метаболизма [7,8], а также в связи с его высокой тропностью к тканям гепатобилиарной системы (до 98%) [9].

Цель настоящего исследования - провести экспериментальное исследование, направленное на изучение изменений первичной фармакокинетики экзогенного сорбитола в плазме крови лабораторных животных, что позволит установить отправные точки для дальнейшей оценки изменений его элиминационных свойств при гепатобилиарных патологиях, путем построения графика и дальнейшего практического графического наложения на аналогично построенные «кривые элиминации», демонстрирующие первичные фармакокинетические данные при различных патологиях гепатобилиарной системы

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Исследования были проведены в соответствии принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, правилами надлежащей лабораторной и клинической (GLP и GCP) практики, а также требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22

сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях [10,11]. Дизайн исследования одобрен комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Для проведения данного исследования, нами были использованы нелинейные лабораторные крысы (10 самцов и 10 самок, средняя живая масса которых составляла около 200 г с погрешностью 5%, возраст исследуемых крыс составлял 3-4 месяца). Условия кормления и содержания подопытных животных было организовано в соответствии с методическими рекомендациями [12,13]. По результатам оценки классических клинико-биохимических параметров, подопытные животные были оценены как клинически здоровые [14]. В связи с тем, что наиболее стабильные и статистически значимые фармакокинетические показатели D-глюцитолола фиксируется в депротеинизированной плазме, а пероральный путь введения в большинстве случаев не характеризуется определяемыми уровнями в плазме уровнями по причине моментального включения в полиольный (сорбитол-альдозоредуктазный) путь метаболизма глюкозы [5-9], нами была изготовлена экспериментальная композиция для внутривенного введения: беспримесный пищевой сорбит смешивался с водой для инъекций, до достижения концентрации 200 мг/мл; стерильность и апиrogenность полученного раствора достигалась методом мембранной фильтрации согласно «ОФС.1.1.0016.15 Стерилизация» и «ОФС.1.2.4.0005.15 Пирогенность»; показатели растворимости, цветности, прозрачности, вязкости и водородного показателя контролировались и соответствовали «ФС 5583.1 Сорбитол» [15].

Из подопытных животных были сформированы опытная и контрольная группы (по 5 самок и 5 самцов в каждой), подопытной внутривенно вводился вышеописанный экспериментальный раствор из расчёта 10 мг/кг в пересчёте на чистый D-глюцитол, так как данная дозировка является рекомендуемой согласно литератур-

ным источникам [16]. Контрольная группа использовалась с целью оценки возможной перекрёстной чувствительности с глюкозой, исходя из специфики метода детекции D-глюцитолола, животным вводился эквивалентный объём физиологического раствора.

Уровень D-глюцитолола определялся колориметрическим методом Коркорана и Пейджа с модификацией (с использованием периодата калия и хромотроповой кислоты, в методике учитывается расчетный показатель D-сорбитолола из суммы полиолов) [17,18] с использованием спектрофотометра УФ-100 (производитель - "Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd.", Китай) в течение 12 часов (шаг – 2 часа) в депротеинизированной плазме, получаемой путём венепункции хвостовой вены [19,20]. Предпочтение данной методике было обусловлено её доступностью и экономической эффективностью, а также соответствием грантовому соглашению с Российским научным фондом №24-26-00005. Общий объём отобранной цельной крови не превышал 1 мл. Временные интервалы выбирались исходя из зарегистрированного периода полувыведения препарата. Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m), расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе эксперимента нами не отмечались негативные реакции в ответ на введение экспериментального раствора. У контрольной группы животных D-глюцитол не был обнаружен, что объясняется наличием вещества в физиологических концентрациях (при отсутствии экзогенного введения), находящихся ниже предела чувствительности метода определения. Уровни D-глюцитолола в депротеинизированной плазме подопытной группы представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1 – Уровень D-глюцитола в депротеинизированной плазме (в мкмоль/л, с округлением до целого значения) после введение экспериментального раствора у подопытных крыс (n=5)

Т после введения / пол животных	♂	♀
2 часа	148 ±3	151 ±2
4 часа	164 ± 4	162 ±3
6 часов	171 ±7	173 ±5
8 часов	167 ±4	169 ±3
12 часов	138 ±5	142 ±3

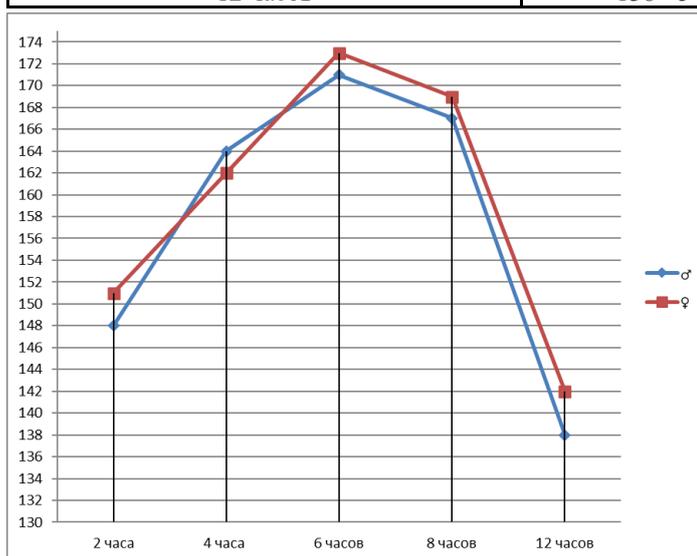


Рисунок 1 – Уровень D-глюцитола в депротеинизированной плазме (в мкмоль/л, с округлением до целого значения) после введение экспериментального раствора у подопытных крыс (n=5)

При анализе полученных данных было установлено отсутствие связи между состоянием метаболизма D-глюцитола у самок и самцов. Этот результат подтверждает выводы других исследователей и дает нам основание отказаться от использования этого показателя для дальнейшего анализа.

По результатам исследования нами отмечались следующие закономерности в биотрансформации D-глюцитола: линейное повышение концентрации до 6 часов после введения (с пиком в 6 часов), что можно объяснить некоторой временной задержкой включения вещества в полиоловый метаболический путь, линейное снижение в период с 6 до 8 часов после введение, затем – резкое снижение концентрации. Таким образом, тип элиминации D-глюцитола у клинически здоровых

животных можно оценить как «линейный».

Линейная элиминация экзогенного вещества – это процесс, при котором химическое соединение, введенное в организм, подвергается последовательному (закономерному) выводу из систем органов и тканей. Этот процесс обеспечивает выведение из организма самого вещества и его метаболитов, предотвращает их накопление и связанное с этим токсическое действие. Построенные график элиминации D-глюцитола свидетельствует о характере первичных фармакокинетических данных, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве эталона, для сравнения с фармакокинетическими кривыми при различных патологиях (в т.ч. путём графического наложения на аналогично построенные «кривые элиминации», демонстрирующие первичные

фармакокинетические данные при различных патологиях гепатобилиарной системы).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Построение кинетических кривых является неотъемлемой частью фармакологических исследований и имеет важное значение для понимания динамики воздействия экзогенных веществ на организм. Изучение фармакокинетических параметров и последующее построение специальных графиков позволяют оценить скорость и масштабы процессов всасывания, распределения, метаболизма и выведения препарата из организма.

В процессе дальнейших исследований планируется разработка специальных "кривых элиминации D-глюцитол". Эти графики будут отражать динамику удаления экзогенного D-глюцитол в зависимости от времени при различных гепатобилиарных нарушениях. Их целью будет определение тех уровней D-глюцитол, которые, исходя из вектора графика удаления, позволят делать выводы о функциональном состоянии печени. Такие исследования направлены на изучение фундаментальных особенностей в исследовании прогностических функций изменений клиренса различных фармацевтических веществ.

PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF D-GLUCITOL IN LABORATORY ANIMALS IN THE CONTEXT OF ASSESSING THE FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER

Andreeva N.L. * – d. biol. Sc., prof. department pharmacology and toxicology, **Ponamarev V.S.** – senior lecturer., Ph.D. of Veterinary Science (ORCID 0000-0002-6852-3110), **Pogodaeva P.S.** – ass. department Biochemistry and Physiology, Ph.D. of Veterinary Science (ORCID 0000-0001-7115-5921), **Kostrova A.V.** – graduate student

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*farm07@mail.ru

Acknowledgments: The study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 24-26-00005, <https://rscf.ru/project/24-26-00005>.

ABSTRACT

One of the most developing methods for assessing the state of the hepatobiliary system is the dynamic clearance method (assessment of clearance by studying pharmacokinetic parameters). Clearance is a measure of the rate at which a specific (usually most pharmacodynamically related to the system being studied) substance is eliminated from the body. This method allows not only to diagnose liver diseases, but also to determine their severity and the dynamics of changes in the process of further pharmacotherapy. The purpose of this study is to conduct an experimental study aimed at studying changes in the pharmacokinetics of exogenous sorbitol in the blood plasma of laboratory animals, which will establish starting points for further assessment of changes in its elimination properties in hepatobiliary pathologies. The level of D-glucitol was determined by the Corcoran and Page method with modification for 12 hours (step - 2 hours) in blood serum obtained by venipuncture of the tail vein, after administration of an experimental composition based on D-glucitol. Time intervals were selected based on the reported half-life of the drug. Based on the results of the study, we noted the following patterns in the biotransformation of D-glucitol: a linear increase in concentration up to 6 hours after administration (with a peak at 6 hours), a linear decrease in the period from 6 to 8 hours after administration, then a sharp decrease in concentration. Thus, the type of elimination of D-glucitol in clinically healthy animals can be assessed as "linear". In the process of further research, it is planned to develop special "D-glucitol elimination curves". These graphs will show the dynamics of exogenous D-glucitol removal over time in various hepatobiliary disorders.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клиренс-тесты как метод диагностики

- патологий гепатобилиарной системы у животных / В. С. Понамарев, О. С. Попова, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2023. – Т. 24, № 6. – С. 924-938. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938.
- 2.Краснов О. А., Павленко В. В., Краснов А. О. Клиническая и прогностическая значимость критериев оценки функциональных резервов печени при заболеваниях печени и выполнении ее резекции. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2014;17(4):66-77.
- 3.Рапопорт С. И., Шубина Н. А. Дыхательные тесты в диагностике заболеваний печени. *Клиническая медицина*. 2016;94(12):885-892. DOI: <https://doi.org/10.18821/0023-2149-2016-94-12-885-892>
- 4.Обзор современных методов диагностики заболеваний гептобилиарной системы / О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // *Международный вестник ветеринарии*. – 2023. – № 1. – С. 113-122. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.113.
- 5.Insights into the evolution of sorbitol metabolism: phylogenetic analysis of SDR196C family / A. Sola-Carvajal, M. I. García-García, F. García-Carmona, Á. Sánchez-Ferrer // *BMC Evolutionary Biology*. – 2012. – Vol. 12, No. 1. – P. 1-14. – DOI 10.1186/1471-2148-12-147.
- 6.Evaluation of a sorbitol dehydrogenase inhibitor on diabetic peripheral nerve metabolism: A prevention study / I. G. Obrosova, L. Fathallah, D. A. Greene, H. J. Lang // *Diabetologia*. – 1999. – Vol. 42, No. 10. – P. 1187-1194. – DOI 10.1007/s001250051290.
- 7.Primary metabolism changes in transgenic apple plants with reduced activity of sorbitol dehydrogenase / F. Martinelli, S. Uratsu, S. Yousefi [et al.] // *European Journal of Horticultural Science*. – 2022. – Vol. 87, No. 3. – DOI 10.17660/ejhs.2022/033.
- 8.Цветкова, М. А. Адаптивная динамика сорбита и активности сопутствующих ферментов в пищеварительной железе речной живородки / М. А. Цветкова, И. Л. Цветков // *Актуальные проблемы биологической и химической экологии: Сборник материалов VI Международной научно-практической конференции, Мытищи/–Московский государственный областной университет, 2019. – С. 238-241.*
- 9.Цветков, И. Л. Стрессиндуцированная динамика накопления сорбита и активности сопутствующих ферментов в пищеварительной железе живородки речной / И. Л. Цветков, А. С. Кониичев // *Биохимия*. – 2009. – Т. 74, № 11. – С. 1548-1555.
- 10.Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Доступно по: <https://rm.coe.int/168007aba8>. Ссылка активна на 14 января 2023 г.
- 11.Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Доступно по: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>. Ссылка активна на 14 января 2023 г.
- 12.Медведев, А. П. Основы анатомии, физиологии, содержания и использования лабораторных животных / А. П. Медведев, А. А. Вербицкий. - Витебск: Учреждение образования "Витебская орден "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", 2016. - 204 с. -. ISBN: 978-985-512-930-2
- 13.Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений РД-АПК 3.10.07.02-09 (утв. Министерством сельского хозяйства РФ 1 декабря 2009 г.)
- 14.Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния: учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. - 116 с.
- 15.Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания
- 16.Ramadan G. A. Sorbitol-induced diabetic-like retinal lesions in rats: microscopic study // *American Journal of Pharmacology*

and Toxicology. – 2007. – Т. 2. – №. 2. – С. 89-97.

17. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. *Experimental Biology and Medicine*. 1949;70(1):141-142. DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-70-16853>

18. Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. *Journal of Biological Chemistry*. 1947;5(1):130.

19. Васильева С.В., Карпенко Л.Ю., Душенина О.А. Поиск оптимальных способов забора крови у лабораторных крыс в условиях хронического опыта. *Генетика и разведение животных*. 2022;(4):56-60. DOI: 10.31043/2410-2733-2022-4-56-60

20. Душенина, О. А. Анализ методов взятия крови у экспериментальных крыс / О. А. Душенина, Л. Ю. Карпенко, С. В. Васильева // *Ветеринария Кубани*. - 2022. - № 6. - С. 21-24. 10.33861/2071-8020 -2022-6-21-24.

REFERENCES

1. Clearance tests as a method for diagnosing pathologies of the hepatobiliary system in animals / V. S. Ponamarev, O. S. Popova, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // *Agricultural Science of the Euro-North-East*. – 2023. – Т. 24, No. 6. – P. 924-938. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938.

2.2. Krasnov O. A., Pavlenko V. V., Krasnov A. O. Clinical and prognostic significance of criteria for assessing the functional reserves of the liver in liver diseases and its resection. *Issues of reconstructive and plastic surgery*. 2014;17(4):66-77.

3.3. Rapoport S.I., Shubina N.A. Breathing tests in the diagnosis of liver diseases. *Clinical medicine*. 2016;94(12):885-892. DOI: <https://doi.org/10.18821/0023-2149-2016-94-12-885-892>

4. Review of modern methods for diagnosing diseases of the hepatobiliary system / O. S. Popova, V. S. Ponamarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. – 2023. – No. 1. – P. 113-122. – DOI 10.52419/

issn2072-2419.2023.1.113.

5. Insights into the evolution of sorbitol metabolism: phylogenetic analysis of SDR196C family / A. Sola-Carvajal, M. I. García-García, F. García-Carmona, A. Sánchez-Ferrer // *BMC Evolutionary Biology*. – 2012. – Vol. 12, No. 1. – P. 1-14. – DOI 10.1186/1471-2148-12-147.

6. Evaluation of a sorbitol dehydrogenase inhibitor on diabetic peripheral nerve metabolism: A prevention study / I. G. Obrosova, L. Fathallah, D. A. Greene, H. J. Lang // *Diabetologia*. – 1999. – Vol. 42, No. 10. – P. 1187-1194. – DOI 10.1007/s001250051290.

7. Primary metabolic changes in transgenic apple plants with reduced activity of sorbitol dehydrogenase / F. Martinelli, S. Uratsu, S. Yousefi [et al.] // *European Journal of Horticultural Science*. – 2022. – Vol. 87, No. 3. – DOI 10.17660/ejhs.2022/033.

8. Tsvetkova, M. A. Adaptive dynamics of sorbitol and the activity of accompanying enzymes in the digestive gland of the river viviparus / M. A. Tsvetkova, I. L. Tsvetkov // *Current problems of biological and chemical ecology: Collection of materials of the VI International Scientific and Practical Conference, Mytishchi–Moscow State Regional University, 2019*. – P. 238-241.

9. Tsvetkov, I. L. Stress-induced dynamics of sorbitol accumulation and the activity of accompanying enzymes in the digestive gland of the river viviparus / I. L. Tsvetkov, A. S. Konichev // *Biochemistry*. – 2009. – Т. 74, No. 11. – P. 1548-1555.

10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available at: <https://rm.coe.int/168007a6a8>. Link active 14 January 2023.

11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available from: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>. Link active as of January 14, 2023

12. Medvedev, A. P. Fundamentals of anatomy, physiology, maintenance and use of

- laboratory animals / A. P. Medvedev, A. A. Verbitsky. - Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", 2016. - 204 p. -. ISBN: 978-985-512-930-2
13. Guidelines for keeping laboratory animals in vivariums of research institutes and educational institutions RD-APK 3.10.07.02-09 (approved by the Ministry of Agriculture of the Russian Federation on December 1, 2009)
14. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: educational manual / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. - 116 p.
15. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition
16. Ramadan G. A. Sorbitol-induced diabetic-like retinal lesions in rats: microscopic study //American Journal of Pharmacology and Toxicology. – 2007. – Т. 2. – №. 2. – С. 89-97.
17. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. *Experimental Biology and Medicine*. 1949;70(1):141-142. DOI: <https://doi.org/10.3181/00379727-70-16853>
18. Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. *Journal of Biological Chemistry*. 1947;5(1):130.
19. Vasilyeva S.V., Karpenko L.Yu., Dushenina O.A. Search for optimal methods for collecting blood from laboratory rats under conditions of chronic experiment. *Genetics and animal breeding*. 2022;(4):56-60. DOI: 10.31043/2410-2733-2022-4-56-60
20. Dushenina, O. A. Analysis of methods for collecting blood from experimental rats / O. A. Dushenina, L. Yu. Karpenko, S. V. Vasilyeva // *Veterinary Science of Kuban*. - 2022. - No. 6. - P. 21-24. 10.33861/2071-8020-2022-6-21-24.