

УДК: 616.36-07:619

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.2.132

ОЦЕНКА КЛИРЕНСА СОРБИТОЛА ПРИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ОСТРОЙ ПЕЧЁНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

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. каф. фармакологии и токсикологии.

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, D-Glucitol, pharmacokinetics.

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

Поступила: 16.05.2024

Принята к публикации: 10.06.2024

Опубликована онлайн: 28.06.2024



РЕФЕРАТ

Изучение клиренса веществ играет важную роль в диагностике патологий печени. Повышенный или пониженный клиренс определенных веществ может свидетельствовать о гепатобилиарных нарушениях, в том числе на начальных стадиях развития подобных патологий, что позволяет оценивать предикторный потенциал данных методов оценки как высокий. В научной литературе представлены подробные и статистически апробированные данные об использовании в диагностических протоколах таких веществ, как галактоза, амидопирин, сорбитол и другие. Каждое вещество характеризуется своим уровнем клиренса, что позволяет получить комплексное представление о работе гепатобилиарной системы. Тем не менее, по большому числу вышеуказанных экзогенных веществ информация в научной литературе либо указана применительно к гуманной медицине, либо представляет из себя пилотные исследования на незначительном количестве животных, что требует дополнительного проведения подобного рода испытаний для наработки статистически достоверного массива полученных данных. Цель настоящего исследования - провести экспериментальное исследование, направленное на изучение изменений фармакокинетики экзогенного сорбитола в плазме крови лабораторных животных при острой печёночной недостаточности. Уровень сорбитола определялся колориметрическим методом Коркорана и Пейджа с модификацией (с применением периодата калия и хромотроповой кислоты, в методике учитывается расчетный показатель сорбитола из суммы полиолов) с использованием спектрофотометра УФ-100 (производитель - "Shanghai Mapada Instruments Co.,

Ltd.", Китай) в течение 12 часов (шаг – 2 часа) в плазме крови, депротеинизированной с использованием 0,4 М перхлората лития, получаемой путём венепункции хвостовой вены. Сравнивая между собой фармакокинетические кривые, следует отметить, что у животных с острой печёночной недостаточностью графическое изображение уровней сорбитола сходно с обратной экспонентой, характеризующейся резким планомерным снижением, в то время как у клинически здоровых животных графическое изображение уровней сорбитола сходно с ветвью параболы, характеризующейся «плавностью» снижения. Полученные в ходе данного исследования фармакокинетические кривые, описывающие уровни экзогенного сорбитола в плазме крови, могут быть в дальнейшем использованы как один из способов ранней диагностики подобных патологий.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современные диагностические протоколы, позволяющие оценить функциональное состояние гепатобилиарной системы, и печени в частности, указывают на актуальность использования, кроме ординарных, специфические и высокочувствительные методики. Один из таких параметров, который помогает определить функциональное состояние печени, является клиренс экзогенных веществ. Различные экзогенные субстанции значительно отличаются по вышеописанному показателю, следовательно, изучение данных параметров позволяет расширить арсенал диагностических подходов для оценки состояния гепатобилиарной системы [1-3].

Изучение клиренса различных веществ играет важную роль в диагностике патологий печени. Повышенный или пониженный клиренс определенных веществ может свидетельствовать о гепатобилиарных нарушениях, в том числе на начальных стадиях развития подобных патологий, что позволяет оценивать предикторный потенциал данных методов оценки как высокий [4,5].

В научной литературе представлены подробные и статистически апробированные данные об использовании в диагностических протоколах таких веществ, как галактоза, амидопирин, сорбитол и другие. Каждое вещество характеризуется своим уровнем клиренса, что позволяет получить комплексное представление о работе гепатобилиарной системы. Тем не менее, по большому числу вышеуказанных экзогенных веществ информация в научной литературе либо указана применительно к гуманной медицине, либо пред-

ставляет из себя пилотные исследования на незначительном количестве животных, что требует дополнительного проведения подобного рода испытаний для наработки статистически достоверного массива полученных данных [6-9].

Цель настоящего исследования – провести экспериментальное исследование, направленное на изучение изменений фармакокинетики экзогенного сорбитола в плазме крови лабораторных животных при острой печёночной недостаточности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

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

Эксперименты проводились в соответствии с нормами 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 был утвержден Комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Для проведения данного исследования, нами были использованы нелинейные лабораторные крысы (5 самцов и 5 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 были организованы в соответствии с методическими рекомендациями [12,13]. Для контроля физиологического состояния включённых в экспе-

римент животных оценивали классические клинико-биохимические параметры, по результатам которых подопытные животные были оценены как клинически здоровые [14].

Модель эксперимента полностью повторяла предыдущую серию опытов (с внутривенным введением вышеописанного экспериментального раствора из расчёта 10 мг/кг в пересчёте на чистый сорбитол) [15], за исключением того, что, предварительное, перед проведением исследования, у подопытных животных проводилось индуцирование острой печёночной недостаточности сернокислым стронцием в дозировке 5 мг/голову (производитель – «Ленреактив», Россия) [16], успешность индуцирования оценивалась по клинико-биохимическим показателям, включающим, в том числе, основную биохимическую печёночную панель (оценка уровня аминотрансфераз, дефосфолирующих гидролаз, желчных пигментов). Для контроля индукции, по завершении эксперимента проводилось гистологическое исследование печени подопытных животных со статистической обработкой изображений гистосрезов (открытое ПО «ImageJ»).

Уровень сорбитола определялся колориметрическим методом Коркорана и Пейджа с модификацией (с применением периода калия и хромотроповой кислоты, в методике учитывается расчетный показатель сорбитола 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 плазме крови, депротеинизированной с использованием 0,4 М перхлората лития [19], получаемой путём венепункции хвостовой вены [20,21]. 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 полувыве-

дения препарата.

Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m); а также расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента.

Полученные результаты сравнивались с предыдущей серией опытов путём наложения графиков фармакокинетических кривых элиминации экзогенного сорбитола.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Гистосрезы печени подопытной группы представлены на рисунках 1,2. По результатам их анализа можно сделать вывод, что гепатоциты находятся в состоянии гидропической дистрофии, что подтверждает успешность индуцирования.

В ходе эксперимента у подопытных животных не наблюдалось реакций, указывающих на токсические свойства экспериментального раствора. Уровни сорбитола в депротеинизированной плазме подопытной группы с индуцированной острой печёночной недостаточностью представлены в таблице 1.

По результатам исследования можно сделать вывод, что острое поражение печени, приводит к изменению активности ферментативных систем, что отражается на клиренсе сорбитола. В связи с усиленной способностью печени к ферментативному синтезу, полиоловый путь превращения сорбитола у животных с данной патологией оказывается полностью загружен экзогенным сорбитолом при его введении в рамках данного теста, при этом следует отметить повышение уровня трансфераз у подопытных животных с индуцированной патологией, в среднем, на 16,7% .

Сорбитол является промежуточным продуктом превращения глюкозы во фруктозу в рамках полиолового пути. Сорбитол-дегидрогеназная ферментная система имеет важное биологическое значение в организме, так как является ответственной за конвертацию сорбитола во фруктозу. Полиоловый путь является

важным процессом для обеспечения клеток организма необходимой энергией, а также является доминирующей в системе биотрансформации экзогенного сорбитола, поступающего в организм. Фруктоза, в свою очередь, является одним из ключевых источников энергии для клеток и играет значительную роль в обмене веществ. Благодаря сорбитол-дегидрогеназной ферментной системе, организм может эффективно реализовывать биотрансформацию сорбитола и обеспечивать клетки необходимой энергией для нормального функционирования.

Накапливаясь в системном кровотоке сорбитол оказывает раздражающее действие на ткани организма, вызывая активацию сорбитол-дегидрогеназной ферментной системы, что приводит к изменению характера фармакокинетической кривой концентрации сорбитола в плазме. Данное резкое снижение концентрации сорбитола в плазме крови, в дальнейшем, возможно использовать в качестве диагностического критерия при определении функционального состояния гепатобилиарной системы.

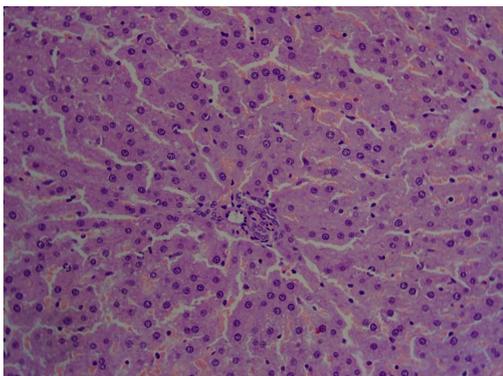


Рисунок 1 – Гидропическая дистрофия гепатоцитов, окраска гематоксилином и эозином, увеличение X20.

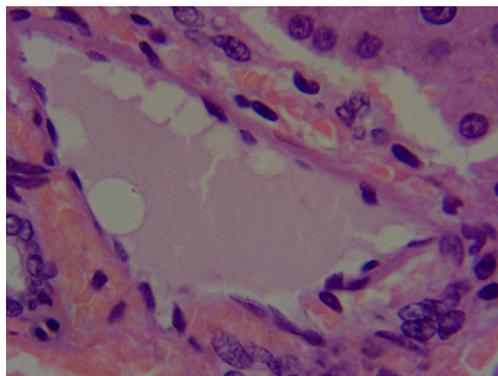


Рисунок 2. Гидропическая дистрофия гепатоцитов, окраска гематоксилином и эозином, увеличение X100.

Таблица 1 – Уровень сорбитола в депротеинизированной плазме после введение экспериментального раствора у подопытных крыс с острой печёночной недостаточностью (n=5)

Время измерения/ пол животных	Уровень сорбитола в депротеинизированной плазме у клинически здоровых животных (по результатам предыдущей серии опытов, в мкмоль/л)[15]		Уровень сорбитола в депротеинизированной плазме у животных с индуцированной патологией (в мкмоль/л)	
	♂	♀	♂	♀
2 часа	148 ±3	151 ±2	102 ± 4*	111 ±13*
4 часа	164 ± 4	162 ±3	134 ±11	141 ±8
6 часов	171 ±7	173 ±5	112 ±7*	122 ±5*
8 часов	167 ±4	169 ±3	95 ± 9*	103 ±7*
12 часов	138 ±5	142 ±3	98 ±6*	92 ±3*

* – $p < 0.05$, при сравнении с группой клинически здоровых животных того же пола

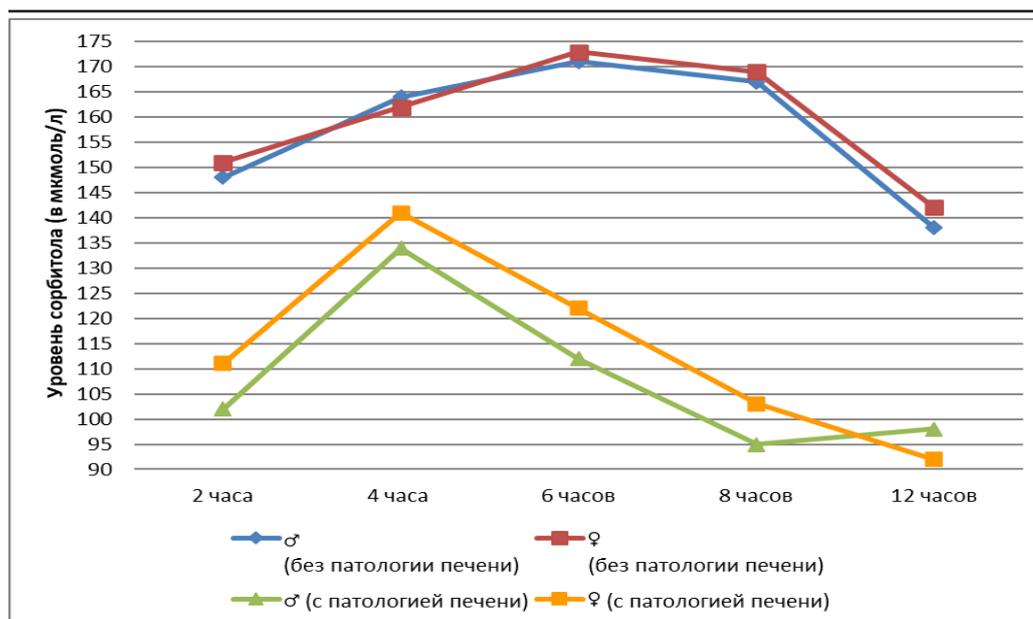


Рисунок 3 – Уровень сорбитола в депротенизированной плазме (в мкмоль/л) после введение экспериментального раствора у подопытных крыс с индуцированной острой печёночной недостаточностью (n=5), в сравнительном аспекте с уровнями клинически здоровых животных

Для сравнения характера фармакокинетических кривых концентрации сорбитола в плазме крови нами был построен график, отражающий уровень сорбитола в депротенизированной плазме (в мкмоль/л) после введение экспериментального раствора у подопытных крыс с индуцированной острой печёночной недостаточностью с наложением фармакокинетических кривых из предыдущей серии опытов для сравнения с клинически здоровыми животными (рис. 3).

Таким образом, при индуцированной острой печёночной недостаточности детектируются более низкие уровни сорбитола в плазме крови в сравнении с клинически здоровыми животными, что объясняется усилением детоксикационной функции печени и мобилизацией ферментативных и биотрансформационных систем с целью усиления элиминации поступивших в организм ксенобиотиков (сернокислого стронция, как реактива для индуцирования патологии, и экзогенного сорбитола).

Также, сравнивая между собой фармакокинетические кривые, следует отметить, что у животных с острой печёночной недостаточностью графическое изображение уровней сорбитола сходно с обратной экспонентой, характеризующейся резким планомерным снижением, в то время как у клинически здоровых животных графическое изображение уровней сорбитола сходно с ветвью параболы, характеризующейся «плавностью» снижения.

В рамках представленного исследования мы наблюдали незначительный подъём уровня сорбитола в плазме спустя 4 часа после введения, затем резкое, лавинообразное снижение концентрации вплоть до окончания измерений.

Таким образом, активация сорбитол-дегидрогеназной ферментной системы полиолового пути является компенсаторным механизмом в ответ на длительное присутствие сорбитола в системном кровотоке.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Предикторный потенциал клиренс-методов оценки функционального состояния печени представляет один из важных и потенциально полезных аспектов в диагностике и мониторинге заболеваний этого органа. Клиренс-методы предоставляют возможность оценить скорость фильтрации экзогенных веществ через печень и выявлять различные нарушения в ее функционировании. Реализация предикторного потенциала клиренс-методов оценки функционального состояния гепатобилиарной системы позволяет более точно определить вероятность развития печеночных патологий и спрогнозировать их возможные последствия. Таким образом, дальнейшее исследование и развитие клиренс-методов является важным направлением в ветеринарной медицине для повышения эффективности диагностики и последующей фармакокоррекции патологий печени.

Полученные в ходе данного исследования фармакокинетические кривые, описывающие уровни экзогенного сорбитола в плазме крови, могут быть в дальнейшем использованы как один из способов ранней диагностики подобных патологий.

ASSESSMENT CLEARANCE OF SORBITOL IN INDUCED ACUTE LIVER FAILURE

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

The study of substance clearance plays an important role in the diagnosis of liver pathologies. Increased or decreased clearance of certain substances may indicate hepatobiliary disorders, including at the initial stages of the development of such pathologies, which allows us to evaluate the predictive potential of these assessment methods as high. The scientific literature provides detailed and statistically proven data on the use of substances such as galactose, amidopyrine, sorbitol and others in diagnostic protocols. Each substance is characterized by its own level of clearance, which allows one to obtain a comprehensive picture of the functioning of the hepatobiliary system. However, for most of the above exogenous substances, information in the scientific literature is either indicated in relation to humane medicine, or consists of pilot studies on a small number of animals, which requires additional testing of this kind to develop a statistically reliable array of data obtained. 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 with acute liver failure. The level of sorbitol was determined by the colorimetric Corcoran and Page method with modification (using potassium periodate and chromotropic acid, the method takes into account the calculated sorbitol indicator from the sum of polyols) using a UV-100 spectrophotometer (manufacturer - Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., China) for 12 hours (step – 2 hours) in blood plasma deproteinized using 0.4 M lithium perchlorate, obtained by venipuncture of the tail vein. Comparing pharmacokinetic curves with each other, it should be noted that in animals with acute liver failure, the graphical representation of sorbitol levels is similar to the inverse exponential, characterized by a sharp systematic decrease, while in clinically healthy animals the graphical representation of sorbitol levels is similar to the branch of a parabola, characterized by "smoothness" » reduction. The pharmacokinetic curves obtained in this study, which

describe the levels of exogenous sorbitol in the blood plasma, can be used in the future as one of the methods for the early diagnosis of such pathologies.

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 гепатобилиарной 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. Коничев // *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/168007a6a8>. 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 государ-

ственная академия ветеринарной медицины, 2014. - 116 с.

15. Андреева Н.Л., Понамарев В.С., Погодаева П.С., Кострова А.В. Фармакокинетические параметры D-глюцитолола у лабораторных животных в контексте оценки функционального состояния печени. *Международный вестник ветеринарии*. 2024;(1):91-98. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2024.1.91>

16. Патент № 2766772 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28, А61Р 1/16. Способ моделирования жировой дистрофии печени с использованием сернокислого стронция: № 2021113112: заявл. 05.05.2021 : опубл. 15.03.2022 / В. С. Понамарев, А. М. Лунегов, В. А. Барышев, К. Ф. Зенков; заявитель ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

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. Патент № 2018836 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/66. Способ депротеинизации цельной капиллярной крови при ферментативном определении глюкозы: № 4781548/14: заявл. 11.01.1990 : опубл. 30.08.1994 / Н. С. Крылова, Г. А. Афонина, Т. А. Чимитова, Т. Ю. Аликина ; заявитель Новосибирский институт биоорганической химии СО РАН, Межотраслевое научно-производственное объединение "Биостарт".

20. 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

21. 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. Ponomarev, 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. 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. 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. Ponomarev, 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. Andreeva N.L., Ponamarev V.S., Pogodaeva P.S., Kostrova A.V. Pharmacokinetic parameters of D-glucitol in laboratory animals in the context of assessing the functional state of the liver. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2024;(1):91-98. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2024.1.91>
16. Patent No. 2766772 C1 Russian Federation, IPC G09B 23/28, A61P 1/16. Method for modeling fatty liver using strontium sulfate: No. 2021113112: application. 05/05/2021: publ. 03/15/2022 / V. S. Ponamarev, A. M. Lunegov, V. A. Baryshev, K. F. Zenkov; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.
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. Patent No. 2018836 C1 Russian Federation, IPC G01N 33/66. Method for deproteinization of whole capillary blood during enzymatic determination of glucose: No. 4781548/14: application. 01/11/1990: publ. 08/30/1994 / N. S. Krylova, G. A. Afonina, T. A. Chimitova, T. Yu. Allkina; applicant Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry SB RAS, Interindustry Research and Production Association "Biostart".
20. 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
21. Dushenina, O. A. Analysis of methods for taking 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.