

# Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106

Алексеева С.В.<sup>1</sup>, Сорокина А.В.<sup>1</sup>, Волкова А.В.<sup>1</sup>, Забродина В.В.<sup>1</sup>, Мирошкина И.А.<sup>1</sup>, Качалов К.С.<sup>1,2</sup>, Алексеев И.В.<sup>1,2</sup>, Захаров А.Д.<sup>1</sup>, Поварнина П.Ю.<sup>1</sup>, Дурнев А.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

<sup>2</sup> – Московский медицинский университет «Реавиз», Москва

**Резюме.** Проведено изучение острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы (ГЛФ) ГСБ-106, активным веществом которой является замещённый димерный пептид гексаметилендиамид бис(*N*-моносукцинил-*L*-серил-*L*-лизина), обладающий антидепрессивной и нейропротекторной активностью. ГСБ-106, вводимый в максимально допустимых объёмах и концентрациях при однократном внутривнутреннем и внутривнутреннем введении самцам и самкам беспородных белых мышей в максимально возможных дозах, составивших, соответственно, 120 мг/кг активного вещества (12 г/кг таблеточной массы) и 40 мг/кг активного вещества (4 г/кг таблеточной массы), не вызывал гибели животных. ГСБ-106 в дозах 1 мг/кг активного вещества (0,1 г/кг таблеточной массы) и 10 мг/кг активного вещества (1 г/кг таблеточной массы) при ежедневном пероральном и внутривнутреннем введении в течение месяца самкам и самцам крыс и кроликов не влиял на регистрируемые интегральные показатели. Токсических эффектов ГСБ-106 не отмечено при клинико-лабораторном, патоморфологическом и гистологическом исследованиях, выполненных в общепринятом объёме.

**Ключевые слова:** ГСБ-106; острая токсичность; хроническая токсичность; мыши; крысы; кролики

## Для цитирования:

Алексеева С.В., Сорокина А.В., Волкова А.В., Забродина В.В., Мирошкина И.А., Качалов К.С., Алексеев И.В., Захаров А.Д., Поварнина П.Ю., Дурнев А.Д. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 2. – С. 46–50. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10047.

## The study of the acute and chronic toxicity dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106 finished dosage form

Alekseeva SV<sup>1</sup>, Sorokina AV<sup>1</sup>, Volkova AV<sup>1</sup>, Zabolodina VV<sup>1</sup>, Miroshkina IA<sup>1</sup>, Kachalov KS<sup>1,2</sup>, Alekseev IV<sup>1,2</sup>, Zaharov AD<sup>1</sup>, Povarnina PYu<sup>1</sup>, Durnev AD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

<sup>2</sup> – Moscow Medical University «Reaviz», Moscow

**Resume.** The study of acute and chronic toxicity of the finished dosage form (SFF) GSB-106, the active substance of which is the substituted dimeric peptide, hexamethylenediamine bis (*N*-monosuccinyl-*L*-seryl-*L*-lysine), which has antidepressant and neuroprotective activity. GSB-106, administered in the maximum allowable volumes and concentrations in a single intragastric and intraperitoneal administration to males and females of outbred white mice in the maximum possible doses, which made up, respectively, 120 mg / kg of the active substance (12 g / kg tablet weight) and 40 mg / kg of active substance (4 g / kg tablet weight) did not cause the death of animals. GSB-106 in doses of 1 mg / kg of the active substance (0.1 g / kg of the tablet mass) and 10 mg / kg of the active substance (1 g / kg of the tablet mass) with daily oral and intragastric administration during the month to females and male rats and rabbits did not affect the recorded integral indicators. The toxic effects of GSB-106 were not observed in clinical, laboratory, pathological and histological studies performed in a generally accepted volume.

**Keywords:** GSB-106; acute toxicity; chronic toxicity; mice; rats; rabbits

## For citations:

Alekseeva SV, Sorokina AV, Volkova AV, Zabolodina VV, Miroshkina IA, Kachalov KS, Alekseev IV, Zaharov AD, Povarnina PYu, Durnev AD. The study of the acute and chronic toxicity dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106 finished dosage form. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;2: 46–50. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10047.

## Введение

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» на основе структуры β-изгиба 4-й петли мозгового нейротрофического фактора BDNF синтезирован низкомолекулярный миметик, представляющий собой димерный пептид ГСБ-106, обладающий антидепрессивной и нейропротекторной активностью [1].

Результаты, установленные в экспериментальных фармакологических исследованиях ГСБ-106 [2], определили перспективу создания на его основе нового

лекарственного препарата, потенциально превосходящего имеющиеся лекарства по эффективности и безопасности. Потребность в новых антидепрессантах весьма велика, поскольку число пациентов, страдающих депрессией, постоянно нарастает и сегодня распространённость депрессий в различных странах колеблется от 8 до 12 % [3].

Исследование острой и хронической токсичности является общепринятой процедурой доклинического исследования безопасности потенциальных лекарств.

### Цель исследования

**Оценка острой и хронической токсичности ГСБ-106 ГЛФ.** Задачи исследования — определить среднелетальные дозы, установить выраженность токсического действия и переносимость препарата при однократном введении, зарегистрировать сроки развития интоксикации и гибели животных, определить класс токсичности ГЛФ ГСБ-106. Выявить возможные токсические эффекты ГСБ-106 при его ежедневном пероральном введении в течение одного месяца, возможные органы-мишени токсических воздействий и местное раздражающее действие, а также обратимость возможных токсических эффектов.

### Материалы и методы

В эксперименте использовали таблеточную массу ГСБ-106 (серия 230317), предназначенную для формирования таблеток. Каждая 100 г массы содержали ГСБ-106 (замещённый димерный пептид, гексаметилендиамид бис(*N*-моносукцинил-*L*-серил-*L*-лизина) — 1 г; МСС-101 — 34 г; лактозы — 60 г, Kollicoat IR — 4 г, магния стеарат — 1 г. Из таблеточной массы готовили суспензию *ex tempore* дисперсионным методом на 1 % растворе крахмала.

Все животные (мыши, крысы и кролики) были получены из сертифицированных питомников и содержались в виварии в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Работы с крысами и кроликами выполняли в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», соответствующих правилам Европейской Конвенции ETS 123.

Исследование острой токсичности было проведено на белых беспородных мышах ( $n = 48$ , масса 18–20 г) и белых беспородных крысах ( $n = 48$ , масса 180–200 г).

ГСБ-106 вводили однократно в желудок с помощью металлического атравматического зонда в дозе 120 мг/кг активного вещества (12 г/кг таблеточной массы) и 40 мг/кг активного вещества (4 г/кг таблеточной массы) однократно внутрибрюшинно с использованием стерильных одноразовых шприцев самкам и самцам мышей и крыс [8]. Введение ГСБ-106 осуществляли в максимально возможных объёмах для каждого из способов введения и для каждого из видов животных (мыши — 0,5 мл внутрижелудочно и 1 мл внутрибрюшинно; крысы — 5 мл внутрижелудочно и 5 мл внутрибрюшинно), в максимально возможных концентрациях суспензий, проходящих через иглу. Концентрации твердой фазы ГСБ-106 в суспензии составили 48 % при внутрижелудочном введении мышам и крысам, 8 % — при внутрибрюшинном введении мышам, 16 % — при внутрибрюшинном введении крысам. Животным контрольных групп

однократно вводили эквивалентный объём 1 % раствора крахмала [4, 5].

Общая продолжительность наблюдения за всеми экспериментальными и контрольными животными составляла 14 суток. Первые 8 ч после введения препарата каждое животное находилось в индивидуальной, прозрачной, пластиковой камере и было доступно для непрерывного визуального наблюдения. Через 8 ч все животные перемещались в клетки группового содержания. В последующие сутки для выявления возможной гибели, а также для регистрации общего состояния и поведения животных клетки осматривались ежедневно утром и вечером. В течение эксперимента фиксировали массу тела животных и суточное потребление корма и воды: до введения суспензии ГСБ-106 или 1 % раствора крахмала, в первые, седьмые и четырнадцатые сутки эксперимента. На 15-е сутки после введений ГСБ-106 была осуществлена эвтаназия декапитацией всех выживших мышей и крыс.

Исследование хронической токсичности было проведено на двух видах животных: белых беспородных крысах обоего пола ( $n = 48$ ) и кроликах породы шиншилла обоего пола ( $n = 36$ ). ГСБ-106 вводили (в клинике планируется пероральное введение) крысам внутрижелудочно, ежедневно в течение месяца с помощью металлического атравматического зонда и кроликам перорально с помощью одноразовых шприцев. В эксперимент были введены четыре группы крыс: 1-я группа — контроль; 2-я группа получала препарат в фармакологически эффективной дозе 1 мг/кг по активному веществу (0,1 г/кг таблеточной массы); 3-я группа — препарат, превышающей фармакологически эффективную дозу в 10 раз, в дозе 10 мг/кг по активному веществу (1 г/кг таблеточной массы); 4-я группа («отставленная группа», сформированная для оценки обратимости возможных токсических эффектов) — препарат в дозе 10 мг/кг (1 г/кг таблеточной массы), и три группы кроликов: 1-я группа — контроль; 2-я группа получала 1 мг/кг по активному веществу (0,1 г/кг таблеточной массы); 3-я группа — 10 мг/кг по активному веществу (1 г/кг таблеточной массы). Животным контрольной группы (1-я группа) вводили 1 % раствор крахмала. Перед каждым введением препарата оценивали внешний вид и поведение экспериментальных животных [4, 5].

В течение опыта оценивали влияние ГСБ-106 на интегральные показатели: у крыс и кроликов — внешний вид, поведение, симптомы интоксикации, масса тела (еженедельно), у крыс — суточное потребление корма и воды (еженедельно). Регистрацию физиологических параметров проводили до начала эксперимента, через 24 ч после заключительного введения (крысы и кролики групп 1–3), через 2 нед. после заключительного введения (крысы «отставленной» группы 4). Влияние ГСБ-106 на сердечно-сосудистую систему оценивали с помощью компьютерного электрокардиографа «Поли-Спектр-8/В» во втором

стандартном отведении и неинвазивного измерения пульса и артериального давления с использованием модулей аппаратного комплекса ADInstruments и программного обеспечения LabChart (Австралия). Изучение поведенческих реакций у крыс проводили по тесту «Открытое поле». Измерения ректальной температуры у крыс осуществляли с использованием ректального датчика на оборудовании производства компании ADInstruments Ltd (Австралия). Гематологические исследования выполняли с помощью автоматического гематологического анализатора «Abacus Uniior vet», Австрия (крысы), автоматического гематологического анализатора «MINDRAY», Германия (кролики). Определяли следующие гематологические показатели периферической крови: количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов; гематокрит, тромбокрит, средний объём эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците [12]. Количество ретикулоцитов подсчитано на мазках (окраска во влажной камере, микроскоп «Nikon Eclipse E200», Япония).

Соотношение различных видов лейкоцитов (окраска мазков крови по Романовскому) и морфометрические параметры эритроцитов были проанализированы на компьютеризированной микроскопической системе МЕКОС-Ц2. Отбор проб проводили до начала введения ГСБ-106 или 1 % раствора крахмала, через 24 ч после заключительного введения (крысы групп 1–3 и кролики всех групп), через 2 нед. после заключительного введения (только крысы «отставленной» группы 4).

Исследование гемостаза у крыс и кроликов проводили с использованием коагулометра TS 4000 (США). Определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), количество фибриногена. Биохимические исследования крови у крыс и кроликов осуществляли с помощью автоматического биохимического и иммуноферментного анализатора «Chem Well 2910 Combi» (США). Определяли содержание глюкозы, общего белка, альбумина, креатинина, мочевины, активность аланин- и аспартатамино-трансферазы. Взятие материала проводили через 24 ч после заключительного введения ГСБ-106 (крысы групп 1–3 и кролики всех групп), через 2 нед. после заключительного введения (только крысы «отставленной» группы 4).

Клинико-биохимическое исследование мочи крыс включало в себя определение удельного веса, кислотности, содержания глюкозы, белка (полуколичественный метод анализа) диагностическими полосками LabStrip U1116 на анализаторе мочи PRO DocUReader 2 (производитель «77 Электроника Кфт.», Венгрия), креатинина и мочевины (автоматический биохимический и иммуноферментный анализатор «Chem Well 2910 Combi», США).

Все животные опытных и контрольных групп были подвергнуты эвтаназии способом декапитации и патологоанатомическому вскрытию с последующей оценкой микроскопической картины внутренних органов, через 24 ч после заключительного введения (крысы и кролики групп 1–3), через 2 нед. после заключительного введения (только крысы «отставленной» группы 4). Возможное местное раздражающее действие ГСБ-106 при пероральном и внутрижелудочном введении оценивали клинически, затем макроскопически при проведении патологоанатомического вскрытия, а также микроскопически при исследовании гистологических срезов пищевода, желудка, тонкой и толстой кишки.

Нормальность распределения полученных данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, гомогенность дисперсий — с помощью критерия Левена. Если нормальность распределения отсутствовала или дисперсии выборок статистически различались, использовали непараметрические методы статистики. В случае независимых выборок сравнение проводили с помощью непараметрического аналога дисперсионного анализа по Краскалу–Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Сравнение зависимых выборок проводили с помощью критерия Фридмана, с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Полученные результаты выражали в виде медиан, нижнего и верхнего квартилей. Во всех случаях различия считали значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

В результате наблюдений после однократного перорального и внутрибрюшинного введения готовой лекарственной формы ГСБ-106 в дозах 120 мг/кг активного вещества (12 г/кг таблеточной массы) и 40 мг/кг активного вещества (4 г/кг таблеточной массы) в максимально допустимых объёмах и концентрациях беспородным белым мышам и крысам не было установлено гибели животных.

ГСБ-106 при ежедневном пероральном введении крысам и кроликам в дозах 1 мг/кг активного вещества (0,1 г/кг таблеточной массы) и 10 мг/кг активного вещества (1 г/кг таблеточной массы) в течение одного месяца не вызывал изменений их общего состояния, внешнего вида и выраженных изменений массы тела экспериментальных животных, не влиял на потребление корма и потребление воды крысами опытных групп. ГСБ-106 не вызывал значительных изменений ректальной температуры и не влиял на поведения экспериментальных крыс в тесте «открытое поле».

В результате проведённого исследования не выявлено патологических изменений сердечно-сосудистой системы, регистрируемых по показателям электрокардиограммы во втором стандартном отведении и данным артериального давления у крыс.



ГСБ-106 не оказывал повреждающего действия на систему крови экспериментальных животных, не вызывал существенных изменений биохимических показателей сыворотки крови экспериментальных животных и физико-химических свойств мочи у крыс.

В результате проведённого патологоанатомического вскрытия, последующих макрокопических и микрокопических исследований установлено, что ГСБ-106 не вызывает изменений строения внутренних органов крыс (головной мозг, сердце, лёгкие, тимус, печень, селезёнка, почки, надпочечники и гонады) и кроликов (сердце, лёгкие, тимус, печень, селезёнка, почки, надпочечники и гонады), а также головного мозга крыс и не обладает местно-раздражающим действием.

### Заключение

Готовая лекарственная форма ГСБ-106 может быть отнесена к 5 классу токсичности — практически нетоксичное вещество (по классификации Сидорова К.К. — 1973 г.). Данные проведённых токсикологических исследований подкрепляют перспективы дальнейшего развития исследований ГСБ-106 в качестве лекарственного препарата.

*Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».*

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Алексеева Светлана Витальевна**  
**Автор, ответственный за переписку**  
 e-mail: alexeeva.sv@mail.ru  
 ORCID ID: 0000-0002-1262-6997  
 SPIN код: 8985-3418  
 с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Alekseeva Svetlana**  
**Corresponding author**  
 e-mail: alexeeva.sv@mail.ru  
 ORCID ID: 0000-0002-1262-6997  
 SPIN code: 8985-3418  
 Senior Research Officer of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Сорокина Александра Валериановна**  
 ORCID ID: 0000-0002-9600-7244  
 к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Sorokina Aleksandra**  
 ORCID ID: 0000-0002-9600-7244  
 Candidate of Biological Sciences, Leading researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Волкова Анна Валерьевна**  
 с. н. с. лаборатории психофармакологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Volkova Anna**  
 Senior Research Officer of laboratory of psychopharmacology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Забродина Виктория Владимировна**  
 ORCID ID: 0000-0002-8450-9853  
 SPIN код: 8473-6920  
 к. б. н., н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Zabrodina Victoria**  
 ORCID ID: 0000-0002-8450-9853  
 SPIN code: 8473-6920  
 Candidate of Biological Sciences, Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Мирошкина Ирина Александровна**  
 ORCID ID: 0000-0002-3208-198X  
 SPIN код: 4697-7938  
 н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Miroshkina Irina**  
 ORCID ID: 0000-0002-3208-198X  
 SPIN code: 4697-7938  
 Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Качалов Кирилл Сергеевич**

SPIN код: 2992-6789

инженер 1-й категории лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва; студент фармацевтического факультета Московского медицинского университета «Реавиз»

**Kachalov Kirill**

SPIN code: 2992-6789

engineer of the 1st category of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow; student of the pharmaceutical faculty of the Moscow medical university «Reaviz»

**Алексеев Иван Владимирович**

SPIN код: 9757-6210

инженер 1-й категории лаборатории фармакологии мутагенеза институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Alekseev Ivan**

SPIN code: 9757-6210

engineer of the 1st category of the laboratory of pharmacology of mutagenesis FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Захаров Алексей Дмитриевич**

SPIN код: 9013-6228

инженер 1-й категории лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Zakharov Aleksei**

SPIN code: 9013-6228

engineer of the 1st category of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Дурнев Андрей Дмитриевич**

ORCID: 0000-0003-0218-8580

SPIN код: 8426-0380

зав. лабораторией лекарственной токсикологии, член-корр. РАН, д. м. н. профессор, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Durnev Andrei**

ORCID: 0000-0003-0218-8580

SPIN code: 8426-0380

Head of the laboratory of drug toxicology, RAS corresponding member, Ph.D., Professor, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Литература / References**

1. Серединин С.Б., Гудашева Т.А. Патент РФ №2410392 приоритет от 16.02.2011. [Seredinin SB, Gudasheva TA. Patent RF №2410392 prioritet ot 16.02.2011. (In Russ).] URL: <http://www.freepatent.ru/images/patents/50/2410392/patent-2410392.pdf> Ссылка активна на 12.12.2014.
2. Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Помогайбо С.В., и др. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора // *Биоорганическая химия*. — 2012. — Т. 38. — № 3. — С. 280–290. [Gudasheva TA, Tarasyuk AV, Pomogaibo SV, et al. Design and synthesis of dipeptide mimetics of the brain-derived neurotrophic factor. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2012;38(3):243–252. (In Russ).]
3. Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, et al. The longterm natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59:530–537
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение острой токсичности. Изучение хронической токсичности. — М.: Гриф и К; 2012. — С. 15–19. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. CH. 1. Metodicheskie rekomendacii po izucheniyu obshchetoksicheskogo dejstviya lekarstvennykh sredstv. Izuchenie ostroj toksichnosti. Izuchenie hronicheskoy toksichnosti. Moscow: Grif i K; 2012:15–19. (In Russ).]
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Изучение «острой» токсичности. Изучение «хронической» токсичности. — М.: Медицина; 2005. — С. 41–54. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv.

- Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu obshchetoksicheskogo dejstviya farmakologicheskikh veshchestv. Izuchenie «ostroj» toksichnosti. Izuchenie «hronicheskoy» toksichnosti. Moscow: Medicina; 2005:41–54. (In Russ).]
6. Красовский Г.Н., Рахманин Ю.А., Егорова Н.А. Экстраполяция токсикологических данных с животных на человека. — М.: Медицина; 2009. [Krasovskij GN, Rahmanin YuA, Egorova NA. Ekstrapolyaciya toksikologicheskikh dannyh s zhivotnyh na cheloveka. Moscow: Medicina; 2009. (In Russ).]
7. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press (US). Washington (DC). 2011. DOI: 10.17226/12910
8. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств. РД 64-126-91. — М.: МЗ России, ФК; 1992. [Krasovskij GN, Rahmanin YuA, Egorova NA. Ekstrapolyaciya toksikologicheskikh dannyh s zhivotnyh na cheloveka. Moscow: MZ Russia, FK; 1992. (In Russ).]
9. Бельский М.Б. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Л.: Медгиз; 1963. [Belen'kij MB. Elementy kolichestvennoy ocenki farmakologicheskogo effekta. L.: Medgiz; 1963. (In Russ).]
10. Diehl KH, Hull R, Morton D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology*. 2001;21:15–23.
11. Тэмк Х., Диам Х., Хаферлах Т. Атлас по гематологии. — М.: МЕДпресс-информ; 2010. [Тэмк Х, Диам Х, Хаферлах Т. Атлас по гематологии. Moscow: MEDpress-inform; 2010. (In Russ).]
12. Исследование системы крови в клинической практике / под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. — М.: Триада-Х; 1997. [Issledovanie sistemy krovi v klinicheskoy praktike pod red. G.I. Kozinca, V.A. Makarova. Moscow: Triada-H; 1997. (In Russ).]
13. Rolls GO. 101 Steps to Better Histology — a Practical Guide to Good Histology Practice. *Leica Microsystems*. 2008.