

Nikolaeva A. V., Shnayder S. A. Разработка модели экспериментального пародонтита = Development of the model of experimental periodontitis. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(12):317-325. ISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.35463>  
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%2812%29%3A317-325>  
<http://pbn.nauka.gov.pl/works/682215>  
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014  
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.  
Zgodnie z informacją MNIŚW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland  
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.  
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.  
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.  
Received: 10.11.2015. Revised 25.11.2015. Accepted: 16.12.2015.

УДК: 616.314.17-008.1-0.2-092.9(086.48):599.323.4

UDC: 616.314.17-008.1-0.2-092.9(086.48):599.323.4

## РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА

## DEVELOPMENT OF THE MODEL OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

A. В. Николаева, С. А. Шнайдер

A. V. Nikolaeva, S. A. Shnayder

Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной Академии  
Медицинских Наук Украины»

SE «The Institute of Stomatology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

### Реферат

В опытах на 14 белых крысах с помощью купренила (D-пеницилламина) была воспроизведена экспериментальная модель пародонтита. Ксенобиотик купренил вызвал воспалительные явления в тканях пародонта и резорбцию его костных структур. Под влиянием купренила было выявлено разрушение коллагена и снижение уровня ГАГ десны. По данным морфологических исследований выявлено уменьшение объема соединительной ткани слизистой оболочки полости рта; уменьшение числа клеток, синтезирующих компоненты межклеточного вещества.

**Ключевые слова:** купренил, воспалительные явления, резорбция кости альвеолярного отростка, морфологические исследования, фибробласты, соединительная ткань, эпителиальный пласт, белые крысы.

A.V. Nikolaeva, S. A. Shnayder

SE «The Institute of Stomatology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

## DEVELOPMENT OF THE MODEL OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

### Summary

Kuprenil – is a synthetic drug that is used for acute and chronic poisoning metals. Kuprenil has multilateral influence on the metabolism of collagen by blocking its synthesis. Under its influence take place the binding of transverse collagen fibers. The study of mechanisms of damage MKM periodontal tissue in a play of his inflammatory diseases.

**The Aim** of study was modeling of the experimental periodontitis and in connection with this study of the molecular mechanisms and cytomorphologic changes of metabolic disorders of the extracellular matrix and periodontal buccal mucosa of rats.

**Materials and methods.** The experiments conducted on 14 white rats 1.5-2 months. age. Intact group consisted of 6 rats. The experimental model of periodontitis was reproduced on the 8 rat with introduction of the kuprenil with drinking water in a dose of 20 mg / kg body weight of rats continuing for 55 days.

**Results and conclusions.** Xenobiotic kuprenil caused the inflammation in the periodontal tissues and the resorption of its bone's structures. Under the influence of the kuprenil was revealed the destruction of collagen and GAG reduction of the gums. According to the morphological studies revealed a decrease in volume of the connective tissue of the oral mucosa; reducing the number of cells synthesizing components of the intercellular substance.

**Key words:** kuprenil, inflammatory effects, resorption of the alveolar bone, morphological studies, fibroblasts, connective tissue, epithelial layer, white rats.

Межклеточный матрикс (МКМ) соединительной ткани (СТ) представлен коллагеновыми, ретикулярными, эластиновыми волокнами и основным веществом (аморфным компонентом межклеточного вещества), в которое заключены клетки и волокна [1].

Воспалительные заболевания пародонта сопровождаются деградацией десны и кости альвеолярного отростка. С целью моделирования нарушений метаболизма МКМ пародонта предполагалось применение у экспериментальных животных Д-пенициллина (купренила) – комплексообразующего препарата. Основное свойство купренила – связывать и выводить из организма ионы металлов: медь, железо, магний, кальций и др., в т. ч. и из костной ткани. Купренил оказывает многостороннее влияние на метаболизм коллагена, блокируя его синтез. Под его воздействием происходит связывание поперечных волокон коллагена.

Представляло интерес изучение механизмов повреждений МКМ тканей пародонта в условиях воспроизведения его воспалительных заболеваний.

**Цель исследования** – моделирование экспериментального пародонтита и в связи с этим изучение молекулярных механизмов и цитоморфологических изменений нарушений метаболизма межклеточного матрикса пародонта и слизистой оболочки щеки крыс.

**Материалы и методы.** Опыты проведены на 14 белых крысах линии Вистар 1,5-2 мес. возраста. Интактную группу составили 6 крыс. 8-ми крысам воспроизводили экспериментальную модель пародонтита введением с питьевой водой купренила (АТ ТЕВА, Польша) в дозе 20 мг/кг массы тела крыс в продолжении 55 дней. Купренил – синтетический препарат, по структуре представляющий собой часть молекулы пенициллина, является диметильным производным аминокислоты цистеина. Купренил применяют при острых и хронических отравлениях металлами.

Животных выводили из опыта путем тотального кровопускания из сердца с помощью тиопенталового наркоза (40 мг/кг). Предварительно отделив десну, вычленили верхние и нижние челюсти и подвергали их морфометрическому исследованию [2]. Объектами биохимических исследований служили сыворотка крови, надосадочная жидкость гомогенатов печени, десны и кости альвеолярного отростка

крыс, полученная путем центрифугирования в центрифуге РС-6 в течении 15 мин при 3000 об./мин при температуре +4°C. Состояние СТ крыс оценивали по содержанию сиаловых кислот в сыворотке крови с помощью набора (ЭкоСервис, РФ – сер. 0910), состояние коллагена – по содержанию оксипролина (связанного, свободного и общего) [3], гликозаминогликанов (ГАГ) в тканях пародонта [4]. Уровень процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) тиобарбитуровым методом [5]; определяли активность антиоксидантных ферментов – каталазы [6] и глутатионпероксидазы (ГПО) [7]. Активность кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз определяли методом Bessay et al в модификации А. П. Левицкого с соавт [8].

Используя коммерческие наборы реактивов, определяли содержание кальция (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 36/200); фосфора (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 22/200); магния (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 25/100); общего белка (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 61/250).

После окончания опытов кусочки слизистой оболочки щеки (СОЩ) иссекали, фиксировали в формалине и заключали в парафин. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по Ван Гизону и проводили дифференцированную окраску клеточных ядер по методу А. Н. Яцковского [9]. Полученные препараты использовали для обзорных цитоморфологических исследований. В первую очередь обращали внимание на изменения в структуре СТ. Для этого анализировали ее общую картину, оценивали особенности клеточного состава и компонентов межклеточного вещества. Для оценки состояния сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) соединительной ткани СОЩ определяли коэффициент стеноза сосудов (КСС). Учитывая то, что СТ слизистой обеспечивает трофику ее эпителия и, следовательно, влияет на его состояние, были определены некоторые морфометрические показатели, характеризующие эпителий СОЩ. Так, определяли коэффициент эрозирования эпителия (КЭЭ). Для этого при малом увеличении микроскопа измеряли с помощью окулярного микрометра протяженность участков наружного повреждения эпителиального слоя и определяли, какую долю составляет зона повреждений относительно протяженности всего изученного эпителия (усл.ед.). Это позволяло оценивать состояние эпителия в целом. Кроме того, используя стереометрический метод «полей» определяли процентное соотношение зон, состоящих из зоны клеточных слоев (ЗКС) эпителия и зоны его рогового слоя (ЗРС) [10]. Эти показатели позволяли дополнительно характеризовать состояние СТ слизистой.

Результаты экспериментов обрабатывали общепринятыми методами с определением t критериев достоверности различий по Стьюденту.

**Результаты исследований.** Прирост массы тела крыс в результате 55-дневного введения купренила составил:  $224 \pm 7,8$  г против  $130 \pm 2,6$  г ( $p < 0,001$ ).

Экспериментальное моделирование пародонтита вызвало значительное увеличение резорбции костных структур пародонта: на нижней челюсти резорбция усилилась на 23,5% ( $p = 0,002$ ); на верхней челюсти – на 37,8% ( $p = 0,002$ ) по сравнению со 100% в интактных группах (табл.1). Среднее увеличение резорбции кости альвеолярного отростка для двух челюстей составило 29,4 % ( $p = 0,003$ ; табл. 1).

Таблица 1

Показатели резорбции кости альвеолярного отростка крыс под действием купренила (M±m;p)

Группы животных	показатели резорбции (%)		
	нижняя челюсть	верхняя челюсть	среднее значение
Интактная	30,7±1,5	22,2±0,9	26,5±1,2
Купренил	37,9±1,1 p=0,002	30,6±2,1 p=0,002	34,3±1,6 p=0,003

Примечание: В табл. 1-6 показатель достоверности p рассчитан относительно интактной группы

Усиление резорбции костных структур пародонта явилось следствием активации в 2,2 раза маркерного фермента остеокластов – кислой фосфатазы (p=0,05; табл. 2).

Таблица 2

Активность кислой фосфатазы в тканях пародонта крыс под действием купренила (M±m; p)

Группы животных	Активность КФ (рН 4,8) мкмоль/с·г	
	десна	кость альвеолярного отростка
Интактная	3,51±1,27	1,01±0,45
Купренил	16,6±6,27 p=0,07	2,19±0,31 p=0,05

В условиях хронического введения купренила в мягких тканях пародонта более значительно, в 4,7 раза увеличивалась активность провоспалительного фермента КФ по сравнению с интактной группой (p=0,07; табл.2).

Рассмотрим, как изменялись показатели состояния МКМ пародонта в условиях моделирования пародонтита. Наибольшая деградация МКМ под действием купренила выявлена в мягких тканях пародонта экспериментальных животных (табл. 3).

Таблица 3

Показатели состояния межклеточного матрикса пародонта крыс под действием купренила ( $M \pm m$ ;  $p$ )

Показатели	Группы животных	
	интактная	купренил
десна		
Содержание оксипролина (мкмоль/г)		
— свободный	4,68±0,67	0,32±0,11
— связанный	4,76±0,87	1,59±0,11
— общий	8,19±0,68	1,91±0,17
Содержание ГАГ (мг/г)	6,76±0,0044	4,39±1,27 $p=0,08$
кость альвеолярного отростка		
Содержание ГАГ (мг/г)	21,1±0,41	21,4±2,37

Так содержание свободного оксипролина в десне снижалось на 93 % ( $p=0,001$ ); связанного – на 67 % ( $p=0,016$ ); общего – на 77 % ( $p<0,001$ ) по сравнению с интактными группами (100 %). Уровень ГАГ в десне снижался на 35 % ( $p=0,08$ ; табл. 3). В то же время содержание ГАГ в кости альвеолярного отростка в данных условиях эксперимента достоверно не изменялось (табл.3).

Уровень сиаловых кислот увеличивался в сыворотке крови на 25 % по сравнению с интактной группой, что свидетельствовало о тенденции усиления воспалительных явлений в тканях крыс:  $2,24 \pm 0,16$  ммоль/л против  $1,79 \pm 0,27$  ммоль/л в интактной группе. Таким образом, под действием купренила была выявлена деградация гликопротеинов МКМ, т.к. известно, что сиаловые кислоты – производные нейраминной кислоты образуются под действием нейраминидазы при распаде гликопротеинов.

Содержание общего растворимого неколлагенового белка под влиянием купренила снижалось в десне на 53 % :  $0,15 \pm 0,068$  мг/ (тенденция;  $p=0,16$ ) против  $0,32 \pm 0,094$  мг/г в интактной группе и на 63 % в кости альвеолярного отростка:  $0,10 \pm 0,057$  (тенденция;  $p=0,16$ ) мг/г против  $0,27 \pm 0,089$  мг/г.

Хроническое введение купренила вызвало значительное усиление процессов ПОЛ на уровне организма (в печени на 28 %;  $p=0,05$ ) и в твердых тканях пародонта крыс (табл. 4).

Таблица 4

Содержание МДА и активность ферментов антиоксидантной защиты в тканях под действием купренила ( $M \pm m$ ;  $p$ )

Показатели	Группы животных	
	Интактная	Купренил
печень		
Содержание МДА (нмоль/г)	95,0±6,79	122±10,5 $p=0,05$
десна		
Содержание МДА (нмоль/г)	19,3±2,24	21,3±7,29
Активность:		
каталазы (мкат/г)	33,1±1,16	21,0±3,53 $p=0,013$
ГПО (мкмоль/с·г)	34,1±4,65	12,2±1,21 $p=0,006$
кость альвеолярного отростка		
Содержание МДА (нмоль/г)	5,70±0,60	12,3±0,96 $p=0,001$
Активность ГПО (мкмоль/с·г)	28,3±0,47	19,8±2,60 $p=0,015$

Содержание МДА в кости альвеолярного отростка увеличивалось в 2,2 раза ( $p=0,001$ ); в десне этот показатель имел тенденцию к увеличению (табл.4). При моделировании пародонтита имели место нарушения синтеза регуляторных белков – ферментов антиоксидантной защиты в тканях пародонта (табл.4). Так, в десне активность каталазы снижалась на 37 % ( $p=0,013$ ). Активность ГПО в десне снижалась на 64 % ( $p=0,001$ ); в кости альвеолярного отростка – на 30 % ( $p=0,015$ ; табл.4).

Известно, что при дефиците  $Mg^{2+}$  синтез белков МКМ замедляется, и он прогрессивно деградирует. Уровень  $Mg^{2+}$  в кости пародонта под влиянием купренила снижался на 22 % ( $p=0,03$ ) по сравнению с интактной группой (табл. 5).

Таблица 5

Состояние минерального обмена и содержание  $Mg^{2+}$  в костной ткани пародонта крыс под действием купренила ( $M \pm m$ ;  $p$ )

Группы животных	Активность ЩФ (нмоль/с·г)	Содержание, (ммоль/г)		
		Ca	P	Mg
Интактная	0,17±0,035	0,023±0,0038	0,0059±0,0013	0,18±0,0029
Модель (К)	0,19±0,012	0,010±0,00 $p=0,01$	0,0011±0,0020 $p=0,05$	0,14±0,015 $p=0,03$

В костной ткани пародонта при пероральном введении купренила выявлены нарушения минерального обмена (табл.5). Так, содержание ионов  $Ca^{2+}$  снижалось в 2,3 раза ( $p=0,01$ ), а уровень фосфата – напротив, увеличивался в 1,9 раза ( $p=0,05$ ) относительно интактных групп. Активность ЩФ при этом существенно не изменялась (табл.5).

При цитоморфологических исследованиях СОЩ интактных крыс слой СТ слизистой и подслизистой оболочек по толщине превышал слой эпителия. Ткань выглядела умеренно рыхлой, отекаемости не отмечалось. Клеточный состав представлен, в основном клетками фибробластического дифферона. Клетки располагались одиночно и в форме скоплений, состоящих из 2-3-х клеток. Преобладали клетки (около 70%), у которых выявляли относительно крупные овальные ядра, заполненные эухроматином, на фоне которого четко были видны ядрышки. Цитоплазма таких клеток без четких границ переходила в межклеточное вещество. Другие клетки фибробластического ряда – фиброциты – имели более четкие клеточные границы, их ядра, меньшие по размеру, были более вытянуты, содержали в основном гетерохроматин и поэтому выглядели более темными.

Межклеточное вещество собственной пластинки СОЩ занимало более значительный объем, чем клетки. Коллагеновые волокна относительно тонкие, собраны в изгибающиеся пучки, сетевидно переплетающиеся между собой. Отечность СТ выражена не была. Сосуды МЦР не расширены. Показатели КСС микроциркуляторного русла составили:  $2,20 \pm 0,20$  усл.ед. Эндомизий хорошо выражен, границы отдельных мышечных волокон видны четко. Хорошо видна и поперечная исчерченность отдельных волокон. Картина межмышечной СТ практически не отличалась в слизистой и подслизистой оболочках.

Под влиянием перорально вводимого купренила были отмечены некоторые особенности цитоморфологической картины. В целом, общий слой СТ слизистой и подслизистой оболочек выглядел истонченным. Мышцы расположены ближе к эпителию, чем в интактной группе. Клетки, в основном, фибробластического ряда, расположены более компактно, чем в интактной группе. Чаще отмечалось и групповое расположение клеток. Среди фибробластических клеток примерно поровну встречались функционально активные фибробласты, с округлыми ядрами и фиброциты. Их ядра уплотнены и имели веретеновидную форму. Объем межклеточного вещества СТ собственной пластинки в этой группе меньший, чем в интактной. Коллагеновых волокон также меньше. Они выглядели более грубыми, отдельные пучки мало переплетались. Признаки отекаемости СТ выражены не были. Сосуды МЦР внешне мало отличались от таковых в интактной группе, что подтвердили показатели КСС:  $1,90 \pm 0,27$  усл.ед. Соединительнотканые сосочки на границе с эпителием расположены относительно равномерно вдоль границы тканей. Глубина проникновения в слой эпителия местами превышала половину толщины эпителиального пласта. Показатели КЭЭ увеличивались на 71 % (табл.6). Зона клеточных слоев (ЗКС) под влиянием купренила существенно не изменялась, в то время как показатели ЗРС существенно снижались:  $13,1 \pm 0,9$  % по сравнению с интактной группой :  $16,5 \pm 1,2$  % ( $p=0,06$ ; табл. 6).

Показатели состояния эпителия слизистой оболочки щеки крыс под действием купренила ( $M \pm m$ ; p)

Группа животных	КЭЭ (усл.ед.)	ЗКС (%)	ЗРС (%)
Интактная	0,07±0,03	36,8±1,1	16,5±1,2
Купренил	0,12±0,04	39,2±1,3	13,1±0,9 p=0,06

**Заключение.** Таким образом, с помощью купренила (D-пенициллина) была воспроизведена экспериментальная модель пародонтита. Под влиянием купренила выявлено разрушение коллагена и снижение уровня ГАГ десны. Усиление катаболических процессов МКМ в организме крыс подтвердили данные об увеличении уровня сиаловых кислот в сыворотке крови. Ксенобиотик купренил значительно усиливал резорбцию костных структур пародонта, согласующееся с активацией остеокластов и существенным снижением уровня ионов  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  в кости альвеолярного отростка. Об усилении воспалительных явлений в тканях пародонта свидетельствовало увеличение активности КФ в десне и содержания МДА в кости пародонта. По данным цитоморфологических исследований моделирование пародонтита способствовало уменьшению объема соединительной ткани слизистой оболочки полости рта; снижению числа клеток, способных синтезировать компоненты межклеточного вещества.

#### Список литературы:

1. Серов В. Соединительная ткань / В. Серов, А. Шехтер. – М.: Медицина. – 1981. – 312 с.
2. Николаева А.В. Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей при раздражении верхнего шейного симпатического узла: Автореф. дис. канд. мед. наук / А. Николаева – Харьков. – 1967. – 29с.
3. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. / П. Шараев. // Лаб. дело. – 1981. – 5. – С. 283-285.
4. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях. / [П. Шараев, В. Пешков, Н. Соловьева, Т. Широкова, Н. Зворыгина, А. Солопаев, Н. Алексеева] // Лаб. дело. – 1987. – 5. – С. 330-332.
5. Стальная И. Д. Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Стальная, Т. Гаришвили // Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М. – 1977. – С.63-64.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М. Королюк., Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.
7. А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н.Козлянина, Г. Крюкова. – Оpubл. 25.04.82, Бюл. №15. – 2 с.
8. Левицкий А.П. Сравнительная оценка трёх методов определения активности фосфатаз слюны человека / А. Левицкий, А. Марченко, Т. Рыбак // Лаб. дело. – 1972. – №10. – С. 624-625.
9. Яцковский А.Н. Оценка активности клеточных ядер. / А. Яцковский. // Архив АГЭ. – 1987. – 1. – С.76-79.



10. Меркулов Г.А. Курс патологической техники / Г.А. Меркулов // Л. – 1969. – 423 с.

#### REFERENCES:

1. Serov V., Shekhter A. *Soedinitel'naya tkan'* [Connective tissue]. Moscow: Meditsina, 1981. 312 p.
2. Nikolaeva A.V. *Vliyanie nekotorykh neyrotropnykh sredstv na sostoyanie tkaney pri razdrazhenii verkhnego sheynogo simpaticeskogo uzla* [The influence of some neurotropic drugs on the state of tissue irritation of the upper cervical sympathetic ganglion]: Avtoref. dis. kand. med. nauk. Khar'kov, 1967. 29p.
3. Sharaev P. N. *Metod opredeleniya svobodnogo i svyazannogo oksiprolina v syvorotke krovi* [Method for the determination of free and bound serum hydroxyproline]. Lab.delo, 1981;5; 283-285.
4. Sharaev P., Peshkov V. *Metod opredeleniya glikozaminoglikanov v biologicheskikh zhidkostyakh* [Method for determination of glycosaminoglycans in biological fluids]. Lab. delo, 1987;5; 330-332.
5. Stal'naya I. D., Garishvili T. [Method for determination of conjugated dienes unsaturated higher fatty acids] *Sovremennye metody biokhimii*, 1977; 63-64.
6. Korolyuk M., Ivanova D., Mayorova I. *Metod opredeleniya aktivnosti katalazy* [The method for determining the activity of catalase]. Lab.delo, 1988; 1; 16-18.
7. A.S.922637 SSSR. MKI 01 33/48. *Sposob opredeleniya aktivnosti glutation-peroksidazy v biologicheskikh tkanyakh* [The method for determining the activity of glutathione peroxidase in biological tissues] / Pakhomova V., Kozlyanina N., Kryukova G. – Opubl. 25.04.82, Byul. №15. – 2 s.
8. Levitskiy A., Marchenko A., Rybak T. *Sravnitel'naya otsenka trekh metodov opredeleniya aktivnosti fosfataz slyuny cheloveka* [Comparative evaluation of two methods for determining the activity of phosphatases of human saliva] Lab. delo, 1972; 10; 624-625.
9. Yatskovskiy A. N. *Otsenka aktivnosti kletochnykh yader* [Evaluation of the activity of cell nuclei]. *Arkhiv AGE*, 1987; 1; 76-79.
10. Merkulov G. A. *Kurs patologicheskoy tekhniki* [The course of the pathological technology], Leningrad: Lengis, 1969, 423 p.