

## Некоторые особенности фиксации органов и тканей лабораторных животных для повышения качества гистологического анализа

К.Е. Коптяева, научный сотрудник, патоморфолог,  
А.А. Мужикян, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, руководитель  
лаборатории гистологии и патоморфологии, Я.А. Гущин, научный сотрудник, патоморфолог,  
Е.В. Беляева, научный сотрудник, патоморфолог,  
М.Н. Макарова, директор,  
В.Г. Макаров, доктор медицинских наук, профессор, зам. директора по науке  
НПО «Дом Фармации», Российская Федерация 188663, Ленинградская область,  
Всеволожский район, г. п. Кузьмолловский, ул. Заводская, дом 3, корп. 245  
E-mail: koptyaeva.ke@doclinika.ru

**Резюме.** Фиксация органов и тканей предшествует непосредственному приготовлению гистологических препаратов. Качество фиксации оказывает влияние на результативность микроскопического исследования. Поэтому необходим выбор наиболее оптимальных способов фиксации с учетом индивидуальных факторов. Рассмотрены наиболее распространенные способы фиксации, применяемые на этапе доклинических исследований. С учетом полученных результатов предложены рекомендации по использованию перфузионного метода фиксации, эндотрахеальной инстилляцией фиксатора и фиксации стандартного органокомплекса мелких лабораторных животных. Установлено, что перфузионный метод фиксации обеспечивает полную и моментальную фиксацию органов, отсутствие искусственных изменений, связанных с аутолитическими процессами в органах. Однако у этого метода есть недостаток – невозможность определить кровенаполнение сосудов вследствие вымывания крови из них, а также исследовать ткань на наличие геморрагических изменений. При эндотрахеальной инстилляцией легких отмечено лучшее качество фиксации органа и отсутствие артефактов, характерных для постмортальной фиксации (очаговый ателектаз, десквамация эпителия бронхов). Тем не менее этот метод не позволяет выявить наличие геморрагий, эмфизем и локализацию воспалительного экссудата в бронхах. В ходе исследования определен оптимальный объем 10% нейтрального формалина для полной постмортальной фиксации стандартного органокомплекса мышей, крыс и кроликов.

**Ключевые слова:** гистологические исследования, фиксация, формалин, перфузионная фиксация, эндотрахеальная инстилляцией.

**Для цитирования:** Коптяева К.Е., Мужикян А.А., Гущин Я.А., Беляева Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Некоторые особенности фиксации органов и тканей лабораторных животных для повышения качества гистологического анализа. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2018; 2. <https://doi.org/10.29926/2618723X-2018-07>

## Some features of fixation of organs and tissues of laboratory animals for quality of histological analysis

K. Koptyaeva, researcher, pathomorphologist,  
A. Muzhikyan, PhD veterinary medicine, senior researcher, Head of the Laboratory of Histology and Pathomorphology, Ya.Gushchin, researcher, pathomorphologist,  
E. Belyaeva, researcher, pathomorphologist,  
M. Makarova, Director,  
V. Makarov, Doctor of Medicine, Professor, Deputy dir. of science  
JSC «Research-and-manufacturing company «Houm of Pharmacy», 188663, Russia, Leningradskiy region, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy, st. Zavodskaya, 3. b. 245  
E-mail: koptyaeva.ke@doclinika.ru

**Summary.** Fixation of organs and tissues precedes the direct preparation of histological preparations. The quality of fixation affects the achievement of microscopic research, so it is very important to choose the most optimal methods of fixation individually. In this study considering the most common methods of fixation that are used at the stage of preclinical research. Based on the results of the work, the recommendations were made on the use of the perfusion method of fixation, endotracheal instillation with fixative and fixation of the standard organocomplex of small laboratory animals. It was found that the perfusion method of fixation provides full and instantaneous fixation and lack the artificial changes related to autolytic processes in organs. Disadvantages of this method are the inability to determine the blood vessel filling after washing out the blood and examine the tissue for hemorrhagic changes. By tracheal instillation of the lungs the best quality of organ fixation and the absence of artifacts characteristic of postmortal fixation (i.e., focal atelectasis, desquamation of the bronchial epithelium) were noted. Nevertheless, this method can't determine the presence of hemorrhages, emphysema and the localization of inflammatory exudate in the bronchi. Besides, in this work was defined the optimal volume of 10% neutral formalin for complete postmortal fixation of the standard organocomplex of mice, rats and rabbits.

**Key words:** histological examination, fixation, formalin, perfusion fixation, tracheal instillation.

**For citation:** Коптыяева К., Мухикян А., Гущин Я., Беляева Е., Макарова М., Макаров В. Some features of fixation of organs and tissues of laboratory animals for quality of gistological analysis. *Laboratory Animals for Science*. 2018; 2. <https://doi.org/10.29926/2618723X-2018-02-07>

## Введение

Фиксация биологического материала, полученного при некропии или биопсии, – важный этап гистологической обработки. Адекватная фиксация предотвращает аутолиз, уплотняет и упрочняет тканевые структуры, а также сохраняет текущую архитектуру органов и тканей на протяжении длительного времени за счет коагуляции белков и стабилизации липидов [5, 7, 10]. Однако виды фиксаторов и способы фиксации, используемые в научных и диагностических исследованиях, различны, и их выбор в том или ином случае зависит от области применения, типа отобранного материала, объектов исследования и техники окраски [10]. Помимо этого, обработка гистологического материала (в том числе фиксация) при доклинических исследованиях имеет свои особенности, связанные со спецификой лабораторных животных как биологических моделей, объемами исследуемых материалов, сроками их обработки и токсикологической направленностью большинства экспериментов. Кроме того, при проведении гистологического исследования материала, полученного от лабораторных животных, важную роль играет информативность и достоверность полученных данных, необходимых для адекватной оценки результатов эксперимента [5].

Ранее нами были определены изменения гистологической картины некоторых органов при фиксации в 10% формалине, 95% спирте и фиксаторе [1]. Однако сведений о сравнительной гистологической картине при фиксации органов животных с применением перфузии (для фиксации головного мозга), эндотрахеальной инстилляцией фиксирующего раствора (для ткани легких) и фиксации стандартного органоконплекса мелких лабораторных животных, подлежащего гистологическому анализу в доклинических исследованиях после эвтаназии животных в CO<sub>2</sub>-камере, не получено.

Цель данной работы – апробация известных методов фиксации, фиксирующих растворов и определение наиболее подходящих способов фиксации органов

и тканей лабораторных животных с учетом анатомо-физиологических особенностей и требований к качеству фиксированного материала с точки зрения гистологического и иммуногистохимического исследования.

### Материал и методы

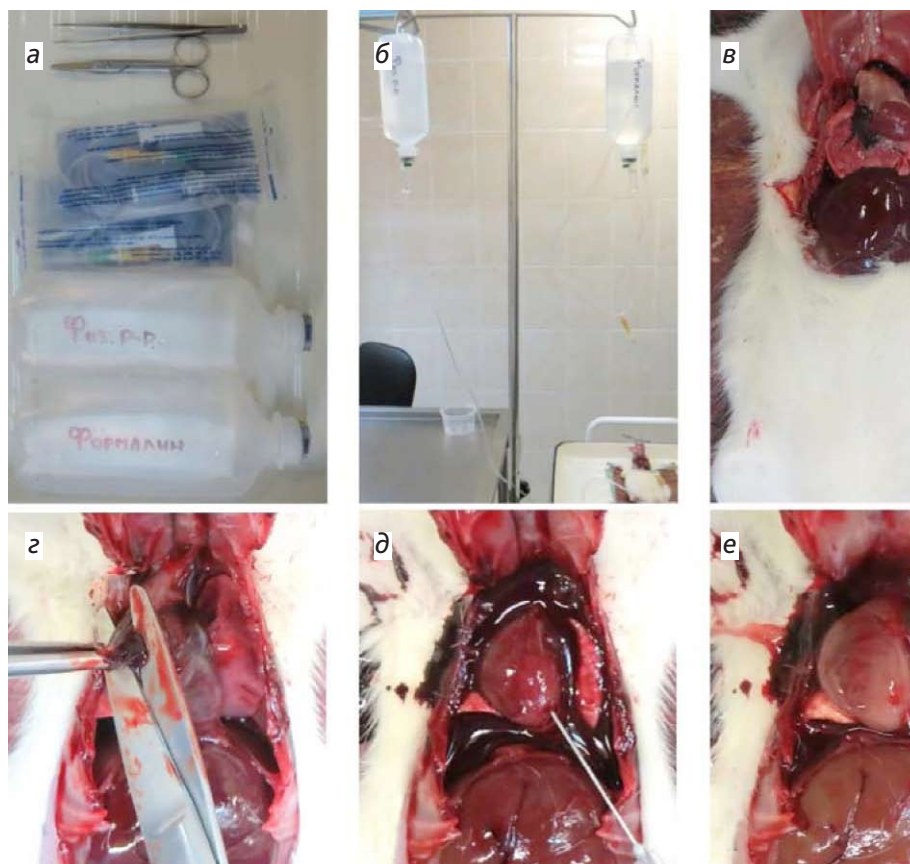
Исследование проводилось на самцах аутбредных крыс ( $n=10$ ), мышей ( $n=10$ ) и новозеландских кроликов ( $n=10$ ) из питомника НПО «Дом Фармации». Масса крыс составляла 250–300 г, мышей – 20–30 г, кроликов – 3,6–4,2 кг. Животные подлежали эвтаназии в ходе текущих экспериментов. Животных содержали в стандартных условиях, согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. об охране животных, используемых в научных целях [6].

Для проведения перфузии животных было необходимо ввести в глубокую анестезию. Перед наркотизацией животным ограничивали доступ к еде на 1 ч. Затем крысам и мышам внутривенно вводили смесь препаратов Ксила 2% (производитель Interchemie Werken «de Adelaar» BV) 10 мг/кг и Золетил (Вирбак, Франция) 60 мг/кг, кроликам – смесь препаратов Ксила 2% 5 мг/кг и Золетил 25 мг/кг. Ветеринарный врач проводил клинический осмотр с целью определения глубины наркоза и оценки рефлексов. По достижении глубокого (III) уровня хирургического наркоза животное фиксировалось на препаровочном столике.

Перфузию производили через систему кровообращения [8–10]. Для этого использовали физиологический раствор натрия хлорида и фиксатором (10% нейтральный забуференный формалин, флаконы объемом 200 мл; ООО «Лабико», Первая лабораторная компания, Россия), а также системы для капельного введения растворов в кровеносную систему. Емкости с растворами устанавливали на высоте 1 м над животным для обеспечения давления жидкостей, которое должно приближаться к нормальному кровяному давлению животного.

После наркотизации и фиксации животного в положении на спине вскрывали его грудную полость. На данном этапе при необходимости производился забор крови. Далее перерезали стенки правого предсердия или яремные вены для свободного истекания жидкости и вводили физиологический раствор натрия хлорида в левый желудочек для вымывания крови из сосудов. Обескровливание животного сопровождалось изменением цвета органов: по мере выхода крови из перерезанных яремных вен или отверстия в правом предсердии органы приобретали светлый оттенок. Затем при сохраненном сердцебиении животного проводили перфузию фиксирующего раствора в левый желудочек через ту же иглу. Основаниями для прекращения перфузии служили тремор мышц, окоченение животного, посветление и уплотнение органов, а также объем пропущенного через кровеносную систему фиксирующего раствора (рис. 1).

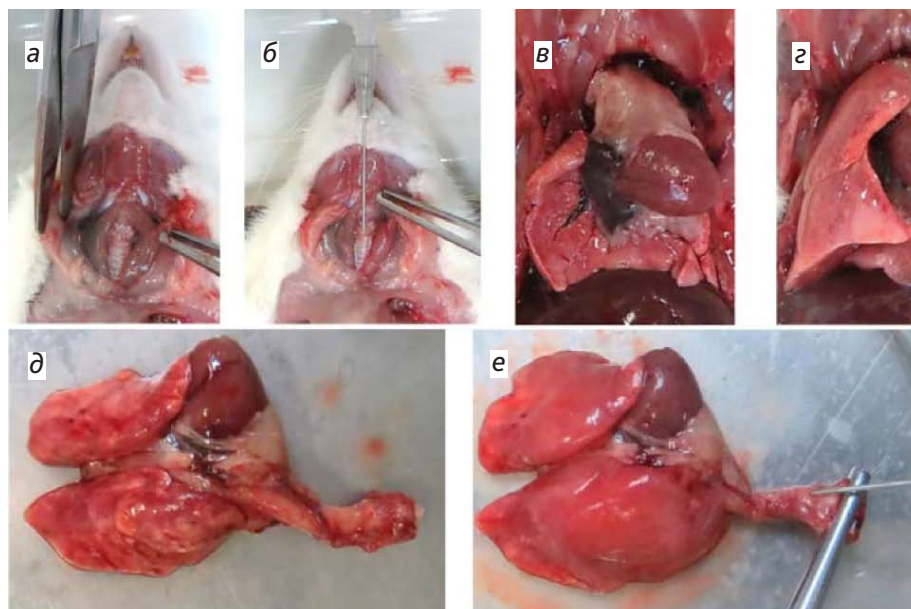
Для проведения эндотрахеальной инстилляцией фиксирующего раствора в легкие использовали шприц объемом 10 мл с 10% забуференным формалином. Фиксацию проводили как в теле животного, так и после эвисцерации легких.



**Рис. 1.** Проведение перфузии крысы: а – материалы для проведения манипуляции (сверху вниз): пинцет, ножницы, инфузионные системы, флаконы с физиологическим раствором и формалином; б – расположение емкостей с физиологическим раствором и фиксирующей жидкостью; в – фиксация наркотизированного животного и вскрытие грудной полости; г – иссечение стенки правого предсердия; д – введение иглы в левый желудочек для вымывания крови физиологическим раствором; е – введение фиксатора в кровеносную систему

Для осуществления инстилляций *in situ* сначала рассекали кожу и мышцы в области шеи, открывая трахею. Затем вводили иглу в область трахеи, ниже надгортанника, по направлению к бифуркации, фиксировали краниальный конец трахеи пинцетом для предотвращения обратного тока фиксирующего раствора и вводили фиксатор в легкие [8, 10]. В современных источниках нет конкретных данных об объемах фиксирующей жидкости для эндотрахеальной инстилляций у различных видов лабораторных животных, поэтому фиксатор вводили до равномерного увеличения спавшихся легких [8, 10]. В результате были установлены следующие объемы: легкие мышей – 1–2 мл (при массе мышей 20–30 г), легкие крыс – 5–6 мл (при массе крыс 250–300 г); легкие кроликов – 10–12 мл (при массе кроликов 3,6–4,2 кг). После этого извлекали легкие из грудной полости и помещали в фиксирующий раствор для дальнейшей фиксации.

При проведении инстилляций на эвисцерированных легких их извлекали и помещали в чашку Петри. Далее, зафиксировав краниальный край трахеи пинцетом, вводили иглу в трахею по направлению к бифуркации. Заполне-



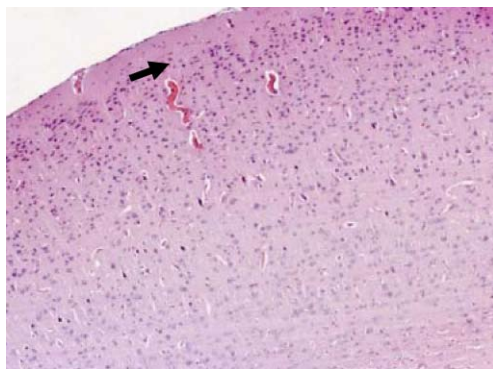
**Рис. 2.** Эндотрахеальная инсталляция легких крысы: а – рассечение кожи и мышц в области шеи для доступа к трахее; б – введение иглы в трахею и вливание фиксатора; в – спавшиеся легкие сразу после вскрытия грудной полости; г – легкие после введения фиксатора; д – эвисцерированные легкие сразу после извлечения; е – эвисцерированные легкие после введения фиксатора

ние фиксатором регистрировали так же, как и при инстилляции в теле (рис. 2).

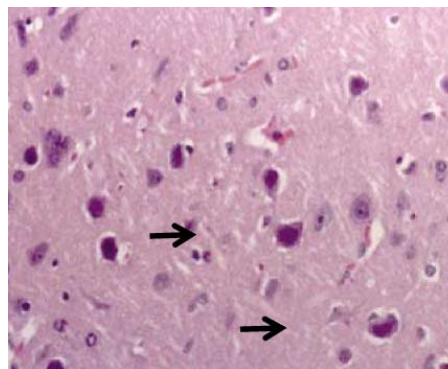
Для постмортальной фиксации животные были подвергнуты эвтаназии с помощью  $\text{CO}_2$ -камеры [6]. После наступления смерти животного осуществляли некропсию с извлечением его органов.

Для определения необходимых объемов фиксирующего раствора при фиксации органокомплекса рассчитывали удельный объем извлеченных органов путем погружения их в раствор фиксатора и дальнейшего измерения объема вытесненной ими жидкости. Далее, учитывая оптимальное соотношение объема фиксируемого материала к объему формалина (1:10), определяли минимальный необходимый объем фиксирующего раствора. Анализировали стандартный набор органов для токсикологического исследования: аорта, сердце, трахея, легкие с бронхами, тимус, пищевод, желудок, участок тонкой кишки, участок толстой кишки, поджелудочная железа, печень, селезенка, почки, мочевой пузырь, надпочечники, семенники, шейные лимфатические узлы, щитовидная железа, головной мозг.

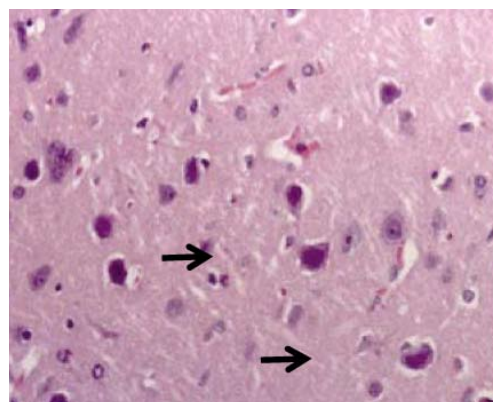
Отбор органов и дальнейшее помещение материала в фиксирующий раствор после перфузии, инстилляции и эвтаназии животных с помощью  $\text{CO}_2$ -камеры выполняли в соответствии со стандартным протоколом [6]. Материал, полученный от животных, во всех случаях был зафиксирован в 10% растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 ч и подвергнут стандартной гистологической обработке с этапами вырезки органов, промывки в проточной воде, дегидратации в изопропанолe возрастающей концентрации и заливки в парафин [5].



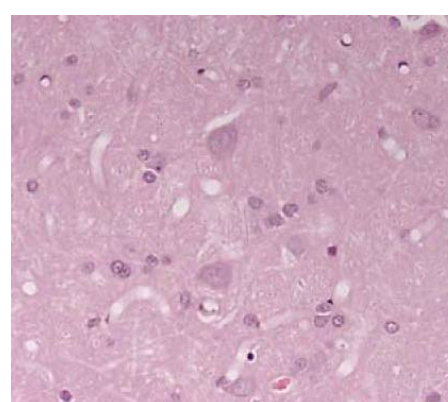
**Рис. 3.** Срез головного мозга крысы. Пост-мортальная фиксация формалином без перфузии. Видны полнокровные сосудов, перичеселлюлярный и периваскулярный отек (стрелка). Окр. гематоксилин-эозин.  $\times 50$



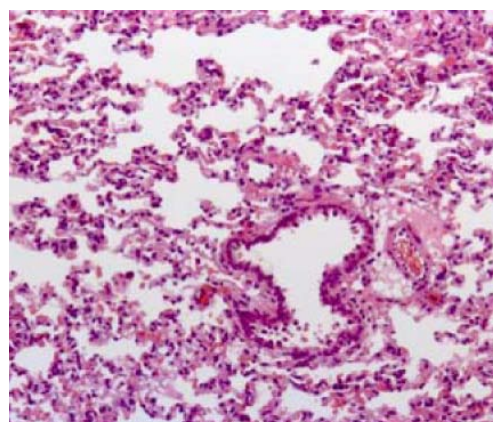
**Рис. 4.** Срез головного мозга крысы. Кардиальная перфузия формалином. Отсутствуют полнокровные сосудов, перичеселлюлярный и периваскулярный отек. Окр. гематоксилин-эозин.  $\times 50$



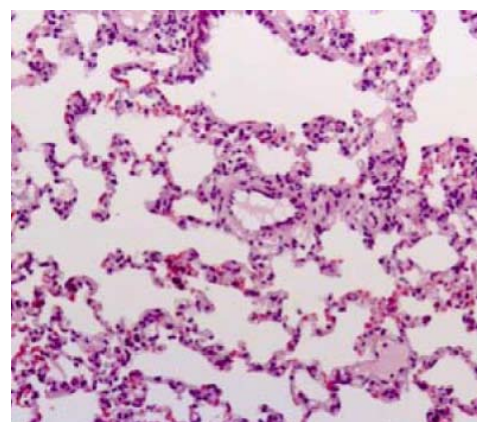
**Рис. 5.** Срез головного мозга крысы. Пост-мортальная фиксация формалином без перфузии. Отмечаются аутолитические повреждения нейронов в виде гиперхроматии и кариопикноза (стрелка). Окр. гематоксилин-эозин.  $\times 50$



**Рис. 6.** Срез головного мозга крысы. Кардиальная перфузия формалином. Сосуды малокровны. Нейроны и глиальные клетки без признаков аутолиза и искусственных повреждений. Окр. гематоксилин-эозин.  $\times 50$



**Рис. 7.** Срез легкого крысы. Постмортальная фиксация формалином. Отмечается спадение легочной ткани. Окр. гематоксилин-эозин.  $\times 50$



**Рис. 8.** Срез легкого крысы. Эндотрахеальная инстилляционная. Участки спадения легочной ткани отсутствуют. Окр. гематоксилин-эозин.  $\times 50$

Из парафиновых блоков были изготовлены срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином-эозином для обзорной микроскопии.

Морфологический анализ проводили при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss Axio Scope A1 (Германия) при увеличении 50, 100, 200, 400 и 1000. Микрофотографирование осуществляли при помощи цифровой фотокамеры Axio Cam ICc 1 и программного обеспечения Axio Vision Rel. 4.8 (Германия).

## Результаты и обсуждение

**Перфузия.** Метод перфузии при гистологическом исследовании ткани головного мозга крыс после фиксации получены положительные результаты с точки зрения качества фиксации органа и минимизации артефактов, связанных с процессами аутолиза и гистологической обработки материала. При изготовлении парафиновых срезов было отмечено, что головной мозг крыс профиксирован во всех участках, в отличие от рутинных методов фиксации. При анализе срезов отмечалось опустошение сосудов, отсутствие артериального пикноза нейронов и перипеллюлярного и периваскулярного отека, что часто наблюдается при постмортальной фиксации органа (рис. 3–6). Однако несмотря на очевидные плюсы метода, перфузия головного мозга не позволяет оценить степень полнокровия сосудов, а также наличие геморрагий, что может осложнить патоморфологическую диагностику органа при ряде токсикологических исследований.

**Эндотрахеальная инстилляция.** При гистологическом исследовании ткани легких крыс после фиксации методом эндотрахеальной инстилляцией не было очаговых ателектазов, которые часто выявляются после постмортальной фиксации органа и осложняют патоморфологическую диагностику. Отмечалось лучшее качество фиксации воздухоносных путей и альвеолярной ткани, так как отсутствовали участки спадания легочной ткани. Также в крупных и мелких бронхах не были выявлены признаки искусственной десквамации эпителия (рис. 7, 8). Сегодня данный метод фиксации усложняет гистологическую диагностику эмфизем, а также некоторых легочных патологий, связанных с определением локализации внутриорганных геморрагий и воспалительного экссудата в бронхах, которые вымываются фиксирующим раствором.

**Фиксация органокомплекса.** Для обеспечения надлежащего качества фиксации органов рекомендуется соотношение объема фиксируемого материала к фиксирующей жидкости (10% забуференный формалин) 1:10. В доклинических исследованиях патоморфологической диагностике подвергается обширный перечень органов от одного животного, которые зачастую фиксируются в одной емкости. Удельный объем органокомплексов крысы, мыши и кролика, а также оптимальное количество формалина, необходимого для фикс-

сации извлеченных органов животных без существенного нарушения их целостности (см. таблицу).

Оптимальные объемы фиксирующей жидкости (формалина)

Вид животного	Масса животного, г	Удельный объем органокомплекса, мл	Объем фиксирующей жидкости, мл
Крыса	250–300	20–25	200–250
Мышь	20–30	7–11	70–110
Кролик	3600–4200	160–190	1600–1900

Методика фиксации биологического материала подробно описана в зарубежной и отечественной литературе. Большинство исследований показывают, что погружение извлеченных органов и тканей в фиксирующий раствор должно проводиться как можно быстрее, сразу после окончания некропсии, не позднее 30 мин от момента смерти животного [9]. Задержка материала в окружающей среде может ускорить процесс аутолиза и привести к нарушению тканевой структуры, что, в свою очередь, грозит появлением артефактов и искажением результатов микроскопии. Согласно данным литературы [7, 10], перед помещением в контейнер с фиксирующим раствором крупные органы (легкие, печень, почки) необходимо нарезать небольшими кусочками для более тщательной фиксации. Однако по мнению некоторых авторов [5], даже крупные органы лабораторных животных, отбираемые во время секции, необходимо фиксировать целиком во избежание возможного травматического воздействия, сдавливания или заноса инородных частиц извне (например, волосков шерсти, осколков костей).

Фиксированный материал по истечении 24–48 ч необходимо извлечь из раствора и, не откладывая, подвергнуть дальнейшей вырезке и заливке в парафин [5, 7, 10]. Длительное хранение биологического материала в фиксирующем веществе допускается, но следует учитывать возможные изменения, происходящие в тканях во время постоянного взаимодействия с фиксатором [9, 10]. Однако неполная фиксация может иметь более серьезные последствия, нежели чересчур долгая задержка органов в фиксирующем растворе [10], следовательно, оптимальное время фиксации необходимо устанавливать в зависимости от поставленной цели. Например, архивация фиксированного биологического материала (влажный архив) имеет большое значение для доклинических исследований, если необходимо провести исследование повторно. Поэтому при фиксации в рамках рутинных исследований отдают предпочтение 10% забуференному формалину, который лучше всего сохраняет морфологическую структуру тканей.

Таким образом, можно сделать вывод, что наилучшее качество фиксации для рутинных исследований достигается при следующих условиях: фиксация проводится незамедлительно, в течение первых 30 мин после смерти животного; объем фиксирующего раствора превышает объем фиксируемого материала в 10 раз; экспозиция сохраняется более 24–48 ч.



Известно, что на практике не существует универсального фиксатора, который подходил бы для любого типа исследования. Наиболее распространенный 10% забуференный формалин имеет множество преимуществ (длительное сохранение структуры тканей, быстрое пропитывание материала, легкость в использовании, дешевизна). Тем не менее формалин нарушает третичную и четвертичную структуры белков, вымывает гликоген, поэтому в тех случаях, когда достижение определенной цели подразумевает специфическую обработку материала, применяются специальные фиксирующие растворы. Например, составной раствор Дэвидсона, включающий в себя, помимо формалина и спирта, уксусную кислоту, лучше подходит для фиксации глаз и семенников, так как он предотвращает отслоение сетчатки и отделение клеток, выстилающих семенные каналы семенников [5, 7]. При постановке иммуногистохимической реакции, в которой важную роль играет сохранность антигенов в первоначальном виде, к выбору фиксатора нужно подходить с особой тщательностью; 70% этанол и спиртосодержащие фиксирующие растворы предотвращают так называемое сшивание полимеров (в частности, белков, формирующих распознаваемые антителами эпитопы), которое происходит при длительной фиксации формалином [3, 10]. Тем не менее использование 10% забуференного формалина в данном случае допустимо, если будет соблюдена длительность экспозиции материала, а также проведена предварительная подготовка ткани, т.е. демаскировка антигена.

Помимо обычной фиксации с погружением органов или их кусочков в фиксирующий раствор существует также несколько модифицированных методов, одним из которых является перфузионная фиксация всего животного. В настоящее время существует несколько видов перфузионной фиксации, которые требуют различного количества необходимого оборудования. Представленная в статье техника наиболее проста и требует минимального оснащения. Эту методику можно применять не только для крыс, но и других лабораторных животных: в частности, при перфузионной фиксации мышей вместо инфузионных систем можно использовать 2 шприца по 10 мл: 1-й – с физиологическим раствором натрия хлорида, а 2-й – с выбранным фиксатором (обычно используют 10% нейтральный забуференный формалин). Дальнейшая последовательность манипуляций на мышах и других лабораторных животных аналогична описанной в данной работе. Перфузионная фиксация рекомендована при определенных показаниях (например, когда необходима немедленная фиксация головного мозга, печени, почек или других органов и тканей) и направлена на то, чтобы минимизировать аутолитические изменения, наиболее качественно сохранить морфологию исследуемых органов и удержать антигены в тканях. Решение о перфузии животного следует принимать с учетом затрат и выгод данной процедуры, так как перфузия занимает много времени, требует лучшего оснащения и в случае неаккуратного проведения или специалистом без должного опыта может привести к образованию большего количества артефактов, что необходимо предотвратить. Помимо этого, последовательность действий также должна строго соблюдаться, чтобы обеспечить завершение перфузии гуманным образом [9, 10].

Еще одним модифицированным методом фиксации органов является эндотрахеальная инстилляция фиксирующего раствора. Этот метод надежно сохраняет морфологию легких и используется в основном для более тщательного гистологического исследования архитектуры дыхательной системы мышей и крыс [7]. Преимущество данного метода фиксации – предотвращение возникновения артериальных изменений, которые часто возникают в легких во время эвтаназии (особенно – при использовании CO<sub>2</sub>-камеры) лабораторных животных [2]. Введение фиксирующего раствора через трахею в легкие может осуществляться как после удаления легких из грудной полости, так и непосредственно в теле животного, в процессе некропсии. Подобным методом можно фиксировать как легкие целиком, вводя фиксирующий раствор капельно, так и конкретную долю, используя при этом иглу и шприц.

### Заключение

В ходе проведенного исследования были выявлены преимущества и недостатки некоторых способов фиксации.

*Перфузионный метод фиксации* обеспечивает полную и моментальную фиксацию органов, отсутствие артериальных изменений, связанных с аутолитическими процессами в органах. Недостатки этого метода: невозможность определить кровенаполнение сосудов вследствие вымывания крови из них, а также исследовать ткань на наличие геморрагических изменений.

При *эндотрахеальной инстилляцией* легких отмечено лучшее качество фиксации органа и отсутствие артефактов, характерных для постмортальной фиксации (очаговый ателектаз, десквамация эпителия бронхов). Однако этот метод не позволяет определить наличие геморрагий, эмфизем и воспалительного экссудата в бронхах.

В эксперименте был определен оптимальный объем 10% нейтрального формалина для полной постмортальной фиксации стандартного органокомплекса некоторых видов лабораторных животных.

Таким образом, выбор метода фиксации в полной мере зависит от целей исследователя, поскольку избранная методика в определенной степени влияет на получаемые результаты.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### Литература

1. Гуцин Я.А., Мужикян А.А. Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных. СПб: Международный вестник ветеринарии. 2014, 3: 88–95.
2. Гуцин Я.И., Мужикян А.А. Влияние различных методов эвтаназии на гистологическую картину легких мелких лабораторных животных. СПб: Международный вестник ветеринарии. 2014, 4: 96–104.

3. Иммуногистохимические методы: руководство. Пер. с англ. Под ред. Г.Л. Кумара, Л. Рудбека, Г.А. Франка, П.Г. Малькова. М.: У Никитских ворот. 2011: 53–9.
4. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гуцин Я.А. Особенности патологоанатомического исследования группы экспериментальных животных. СПб: Международный вестник ветеринарии. 2014, 1: 75–80.
5. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гуцин Я.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных. СПб: Международный вестник ветеринарии. 2014, 2: 103–9.
6. Рыбакова А.В. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями. А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова. Международный вестник ветеринарии. 2015, 4: 81–9.
7. McInnes E. (Ed.). Pathology for Toxicologists: Principles and Practices of Laboratory Animal Pathology for Study Personnel. Chichester: John Wiley & Sons. 2017: 25–6.
8. Parkinson C. et al. Diagnostic necropsy and selected tissue and sample collection in rats and mice. Journal of Visualized Experiment. 2011, 54: 2–7. doi :10.3791/2966
9. Scudamore C.L. (Ed.). A Practical Guide to the Histology of the Mouse. Chichester: John Wiley & Sons. 2014: 17–20.
10. Suckow M.A., Stevens K.A., Wilson R.P. (Eds.). The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. London: Academic Press; Elsevier. 2012: 135–6.