Т.В. Николаева, Н.П. Сетко, В.С. Полякова, Л.Г. Воронина

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ КОЖИ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ВВЕДЕНИИ ХЕЛАТОРОВ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Пособие для врачей

Рекомендовано УМО РАЕ по классическому университетскому и техническому образованию в качестве пособия для специалистов, занимающихся вопросами токсикологии и морфологии кожи и для обучающихся по направлениям подготовки (специальности):

14.00.00 — «Медицинские науки»;

14.02.01 — «Гигиена»;

14.03.04 — «Токсикология»:

14.01.10 - «Кожные и венерические болезни»

Москва 2017 УДК 616.5:615.2(075.8) ББК 55.83я73 М60

Авторы:

Николаева Т.В. — кандидат медицинских наук, доцент кафедры дерматовенерологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Сетко Н.П. — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой гигиены и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Полякова В.С. – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Воронина Л.Г. – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой дерматовенерологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Рецензенты:

Сетко А.Г. – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой гигиены детей и подростков с гигиеной питания, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Зулькарнаев Т.Р. — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой общей гигиены с экологией с курсом гигиенических дисциплин МПФ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ

Морфофункциональная реорганизация кожи и ее производных м60 при интоксикации солями тяжелых металлов и введении хелаторов эссенциальных микроэлементов: пособие для врачей / Т.В. Николаева, Н.П. Сетко, В.С. Полякова, Л.Г. Воронина. — М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2017. — 38 с.

ISBN 978-5-91327-455-7

В пособии изложены методические подходы к исследованию влияния тяжелых металлов и хелаторов эссенциальных микроэлементов на структуру и функции кожи и ее производных. Представлены новые данные, основанные на экспериментальном исследовании воздействия перорально вводимых солей цинка, никеля, хрома и свинца и хелаторов цинка, меди и железа на кожу и ее придатки с описанием их структурной реорганизации и изменения пролиферативной и апоптотической активности кератиноцитов.

Сведения, изложенные в пособии, расширят представление о морфологии кожи и ее производных в норме и при воздействии тяжелых металлов и хелаторов эссенциальных микроэлементов.

Пособие предназначено для врачей-гигиенистов, токсикологов, дерматовенерологов, морфологов.

ISBN 978-5-91327-455-7

- © Николаева Т.В., Сетко Н.П., Полякова В.С., Воронина Л.Г., 2017
- © ИД «Академия Естествознания»
- © АНО «Академия Естествознания»

ОГЛАВЛЕНИЕ

BE	ЕДЕНИЕ	4
1.	МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ	
	БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ, ОКАЗЫВАЕМЫХ	
	РАСТВОРАМИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КОЖУ	
	И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫЕ В УСЛОВИЯХ	
	ПОДОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	5
	1.1. Характеристика мышей линии C57BL/6	
	в качестве животной модели для оценки воздействия	
	тяжелых металлов на кожу и ее производные	5
	1.2. Характеристика модельного эксперимента и методы	
	идентификации структурно-функциональных изменений	
	в коже и ее придатках	7
2.	ДИНАМИКА МАКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ	
	МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6 ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ АНАГЕНА	
	ПРИ ПОДОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	
	СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ1	1
3.	ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ	
	И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6	
	ПОД ВЛИЯНИЕМ ПОДОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	
	СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ1	3
4.	ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ	
	И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6	
	ПРИ ВВЕДЕНИИ ХЕЛАТОРОВ ЖЕЛЕЗА, МЕДИ И ЦИНКА2	1
5.	ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ И АПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	
	КЕРАТИНОЦИТОВ КОЖИ МЫШЕЙ C57BL/6	
	ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ	
	И ХЕЛАТОРОВ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ2	5
ЗА	КЛЮЧЕНИЕ29	
	IMCOK HATEDATVDII 2	

ВВЕДЕНИЕ

Одними из приоритетных загрязнителей окружающей среды являются тяжелые металлы [5, 25]. Их влияние на различные органы и системы и участие в этиопатогенезе ряда заболеваний сегодня широко обсуждается в научной литературе. Известны сентибилизирующие свойства никеля, хрома, кобальта и их роль в развитии аллергического контактного дерматита, при эпикутанном нанесении солей этих металлов на кожу [9, 26]. Олнако для токсичных металлов наиболее важными являются ингаляционный и энтеральный пути поступления [1]. Вместе с тем, экспериментальных сведений о влиянии тяжелых металлов на кожу и ее производные при энтеральном поступлении единичны. Имеются лишь отдельные работы, в которых дана оценка воздействия на кожу высоких доз перорально вводимого цинка сульфата [45, 46]. Поэтому значительный интерес представляет изучение влияния солей тяжелых металлов на морфологию кожи и ее производных при энтеральном пути поступления.

О морфологических изменениях, являющихся результатом дефицита эссенциальных микроэлементов, баланс которых является критических для морфогенеза кожи [30], на тканевом уровне, известно немного. В связи с этим, представляется актуальной оценка возникающих при этом морфологических изменений в коже. Установить характер влияния дефицита эссенциальных микроэлементов на тканевом уровне возможно в экспериментальных условиях при использовании хелаторов металлов [38].

Известно, что тканевой гомеостаз определяется балансом между процессами пролиферации и апоптоза [6]. Особую роль в их регуляции играют эссенциальные металлы, такие как цинк, железо и медь [43]. Экспериментальные работы, преимущественно выполненные

на модели грызунов, установили модулирующий эффект на пролиферацию и апоптоз клеток различных органов и других металлов, включая токсичные никель, хром и свинец [52, 53, 47]. Однако особенности пролиферативной активности и апоптоза эпителиальных клеток кожи и ее придатков при воздействии металлов, поступающих в живые организмы энтеральным путем, в доступной научной литературе не представлены.

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ, ОКАЗЫВАЕМЫХ РАСТВОРАМИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КОЖУ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫЕ В УСЛОВИЯХ ПОДОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

1.1. Характеристика мышей линии C57BL/6 в качестве животной модели для оценки воздействия тяжелых металлов на кожу и ее производные

Изучение структурной реорганизации кожи и ее производных под влиянием подострой интоксикации растворами солей тяжелых металлов проведено на примере мышей инбредной линии C57BL/6, самцах в возрасте 6-7 недель, массой 15-17 г.

Выбор мышей линии C57BL/6 обусловлен присущими этому виду животных строгой синхронизацией фаз развития волосяного фолликула [42] и ассоциацией анагена (фазы роста волос) с меланогенезом [51]. Волосяные фолликулы мышей инбредной линии C57BL/6 в возрасте 7-8 недель находятся в телогене (фазе покоя), не сопровождающемся синтезом меланина. Учитывая описанные выше особенности, представляется возможным макроскопическое определение стадии цикла фолликула волос по цвету кожи мышей. Так, однородный розовый цвет кожи свидетельствует о телогеновой стадии, характеризующейся отсутствием синтеза пигмента. Стадия анагена, напротив, сопровождается синтезом меланина, и кожа мышей приобретает сначала серый, а затем черный цвет [37]. При катаген-телогеновой трансформации происходит постепенная реверсия цвета кожи от черного, серого (в катагене) до розовой окраски кожи (в телогене). Особенностью мышей описываемой линии является возможность путем депиляции инициировать в фолликулах волос синхронизированный морфологически и функционально неотличимый от спонтанно развивающегося анагена [42]. Волосяной фолликул в стадии анагена характеризуется процессами пролиферации и дифференцировки кератиноцитов [37], в связи с чем, является высокочувствительным для различных воздействий мини-органом [37], что позволяет дать более полную характеристику изменениям кератиноцитов в эксперименте. Важно отметить, что синхронизированный анаген волосяных фолликулов мышей линии C57BL/6 ассоциирован с глубокими изменениями строения и толщины всех отделов кожи.

Непосредственно после депиляции волосяные фолликулы в зоне депиляции вступают в анаген. Хронологически первые макроскопические изменения кожи животных в зоне депиляции различимы на 4-5 сутки после индукции анагена. Это соответствует стадии III а-с анагена и характеризуется изменением цвета кожи, что обусловлено началом синтеза меланина в матриксной зоне волосяного фолликула. Кроме того, в течение 5-6 суток после депиляции происходит постепенное утолщение кожи. На 8-9 сутки после депиляции волосяные фолликулы вступают в анаген VI – завершающую стадию анагена. В этот период происходит переход от серого к черному цвету кожи, и над поверхностью кожного покрова в зоне депиляции появляются кончики пигментированных стержней волос. Регрессия волосяного фолликула в катаген происходит на 17-20 сутки после индукции анагена и ассоциирована со спонтанным прекращением меланогенеза, в этот период происходит реконверсия цвета от черного к серому цвету кожи в зоне депиляции. На 25-е сутки после индукции анагена волосяные фолликулы вступают в телоген, без последующей стадии экзогена, т.е. выпадения стержней волос, цвет кожи изменяется на розовый.

1.2. Характеристика модельного эксперимента и методы идентификации структурно-функциональных изменений в коже и ее придатках

Введенные в эксперимент 80 мышей составили одну контрольную и 7 опытные группы, по 10 животных в каждой. Животные были получены из Питомника лабораторных животных «Столбовая». Карантин продлился 14 дней, в течение которых животные содержались по 10 особей в клетке при постоянном доступе к полноценному питанию и питьевой воде с 12-часовым чередованием дня и ночи. На 15 день содержания животных был начат модельный эксперимент.

В первые 16 дней экспериментального исследования животные четырех опытных групп получали затравку растворами солей тяжелых

металлов, концентрации которых составили в пересчете на металл 10 ПДК (Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. СанПин 2.1.4.1074-01). Учитывая, что тяжелые металлы легче поступают в организм с водой, то последняя была заменена растворами солей тяжелых металлов. Экспериментальные животные І опытной группы в качестве питьевой воды получали водный раствор сульфата цинка 0,1238 г/л (50 мг/л в пересчёте на цинк), ІІ опытной группы — водный раствор сульфата никеля 0,0026 г/л (1 мг/л в пересчёте на никель); ІІІ опытной группы — водный раствор бихромата натрия двухосновного 0,001433 г/л (0,5 мг/л в пересчёте на хром); ІV опытной группы — водный раствор ацетата свинца (трехводный) 0,00054 г/л (3 мг/л в пересчёте на свинец). Выбор пути введения растворов солей тяжелых металлов определялся тем, что для токсичных металлов энтеральный путь поступления, наряду с ингаляционным, является одним из наиболее значимых [1].

Хелатор железа дефероксамин (Novartis Farma S.p.A., Италия) вводился животным V опытной группы ежедневно внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг [58]. Хелатор меди тетратиомолибдат аммония («Sigma», США) вводился мышам VI опытной группы перорально через зонд в дозе 30 мг/кг [56]. Хелатор цинка N,N,N',N'-тетракис (2-пиридилметил) этилендиамин (ТПЭН) («Sigma», США) инъецировался внутрибрюшинно животным VII опытной группы ежедневно в дозе 8 мг/кг, при этом в качестве растворителя выступала транспортная среда, состоящая из этанола, глицерина и воды, взятых в соотношении 1:3:6 [22]. Животные контрольной группы получали плацебо.

На 17-й день эксперимента животным всех групп под эфирным наркозом была проведена индукция анагена путем депиляции волос с кожи спины (Paus et al., 1994) восковыми мини-полосками WaxStrips «Beauty formulas» (Drammock International LTD., Великобритания), что привело к удалению всех стержней волос с телогеновыми волосяными фолликулами, обнажая кожу спины однотонного розового цвета.

После индукции анагена регистрировались макроскопические изменения цвета кожи мышей в зоне депиляции, который у используемого вида мышей указывает на стадию фолликула волоса [37].

Животные выводились из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом по 50% особей из каждой группы на 9-е и 19-е сутки после индукции анагена. На 9-е сутки после депиляции

50% животных из каждой группы выводились из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Общая длительность эксперимента составила 35 суток.

Материалом для гистологического исследования явились образцы кожи спины, ранее подвергнутой депиляции. Отбор исследуемого материала производился с межлопаточной области, паравертебрально, начиная от линии, соединяющей основания лопаток лабораторных животных. Размер образцов кожи составлял 10×15 мм. Для проведения световой микроскопии образцы кожи мышей после забора помещали в 10% нейтральный формалин и фиксировали при комнатной температуре в течение суток. После стандартной гистологической проводки материал заливали в парафин. Гистосрезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином и по Ван-Гизону. Морфологические изменения в образцах кожи экспериментальных животных выявлялись путем сравнения с материалом контрольной группы. Оценка признаков дистрофии волосяных фолликулов дана на основании предложенных М. Maurer (1997) изменений [35], среди которых учитывались внематриксные гранулы меланина (эктопированные в дермальный сосочек и/или перифолликулярную дерму) и аномально раздутые каналы волоса. Оценка пролиферативной активности кератиноцитов покровного эпителия и производных кожи основывалась на изучении характера экспрессии ядерного антигена Кі-67 [3]. Использование Кі-67 в качестве маркера пролиферации обусловлено его экспрессией только делящимися клетками и быстрым распадом, исключающим его накопление и обнаружение в покоящихся клетках [4]. Определение экспрессии белка Кі-67 проведено на 9-е сутки после депиляции во всех опытных и контрольной группе. Для этого использован иммуногистохимический метод с применением кроличьих моноклональных антител к Ki-67 (clone SP6) (Cell marque, США). Визуализацию Кі-67-позитивных клеток производили согласно протоколу фирмы-производителя (Cell marque, США). Кі-67-позитивные клетки определялись по окрашенному в коричневый цвет ядру. Подсчет Кі-67-позитивных клеток и общего количества клеток проводили в 15 полях зрения при увеличении ×600.

Апоптотические клетки выявлялись путем идентификации каспазы-3, являющейся ранним маркером апоптоза, который экспрессируется клетками всех тканей [7]. Выявление экспрессирующих каспазу-3 эпителиальных клеток выполнено с использованием первичных антител

Human CPP 32 (caspase-3) Clone JHM62 согласно протоколу фирмы-производителя (Spring BioScience, США). Подсчет клеток проводился не менее чем в 15 полях зрения при увеличении ×600. Каспаза-3-позитивные определялись по темно-коричневой зернистости в ядре и цитоплазме. Оценивались клетки покровного эпителия и эпителиальные клетки волосяных фолликулов — наружной и внутренней оболочек влагалища фолликула волоса, без учета зоны матрикса, где из-за скопления гранул меланина меченые ядра клеток трудно различимы. Для каждого поля зрения рассчитывали индекс пролиферации и индекс апоптоза, которые представляли собой долю позитивно окрашенных клеток к общему количеству клеток, выраженному в процентах [7]. Данные для каждой группы представлены в виде средней арифметической и стандартной ошибки средней $(M \pm m)$, и 95% доверительного интервала (95% ДИ). Сравнение данных каждой из опытных групп и контрольной, проводилось с помощью критерия Манна — Уитни (1947). В том случае, если доверительные интервалы для средних значений сравниваемых показателей имели трансгрессию, различия между ними считались статистически незначимыми.

На 19-е сутки после депиляции из эксперимента выводились оставшиеся 50% мышей из каждой группы. Забор образцов кожи проводился описанным выше способом с подготовкой гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином Майера и эозином и по Ван-Гизону, для изучения на светооптическом уровне. Иммуногистохимический метод в этой серии опытов и в эти сроки не использовался.

Сроки вывода животных из эксперимента обусловлены стадиями цикла волосяных фолликулов. На 9-е сутки после депиляции кожа мышей линии C57BL/6 содержит анагеновые (растущие) волосяные фолликулы, в которых происходят выраженные пролиферативные процессы [42]. На 19-е сутки после депиляции волосяные фолликулы находятся в стадии катагена (переходная фаза), характеризующаяся процессами инволюции волосяного фолликула [37, 42].

2. ДИНАМИКА МАКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ МЫШЕЙ ЛИНИИ С57BL/6 ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ АНАГЕНА ПРИ ПОДОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Наблюдение за экспериментальными животными показало, что макроскопических различий в динамике изменения окраски кожи мышей всех семи опытных и контрольной групп не было. Изменения цвета кожи в зоне депиляции во всех группах животных были свойственны использованной в исследовании инбредной линии мышей С57ВL/6 [37, 42, 51] (рис. 1). Так, непосредственно после индукции анагена цвет кожи животных в зоне депиляции имел однородный розовый цвет (рис. 1, Б), что соответствовало стадии телогена [37]. В последующие четверо суток после депиляции кожа имела восковидный цвет. Первые изменения окраски, ассоциированные с началом меланогенеза [51], были отмечены на 5-е сутки после депиляции, когда появился серый оттенок кожи (рис. 1, В), интенсивность которого постепенно усиливалась (рис. 1, Γ —E). К 9-м суткам после индукции анагена кожа приобрела черный цвет (рис. 1, Ж), а над уровнем кожи появились кончики анагеновых волос. К 19-м суткам длина отросших волос была равна длине шерсти на коже, не подвергавшейся депиляции, цвет кожи вновь сменился на бледно-серый, что соответствовало сталии катагена.



Рис. 1. Динамика макроскопических изменений цвета кожи мышей линии C57BL/6 после индукции анагена:

- А окраска шерсти мышей C57BL/6; Б розовый цвет кожи соответствующий, стадии телогена, непосредственно после депиляции;
- B-5-е сутки после депиляции появление серого оттенка кожи, совпадающего с началом меланогенеза; увеличение интенсивности серой окраски кожи, обусловленное активностью меланогенеза в последующие сутки:
 - $\Gamma-6$ -е сутки после депиляции; Д 7-е сутки после депиляции;
- E-8-е сутки после депиляции; K-9-е сутки после депиляции, черная окраска кожи, соответствующая анагену VI;
 - $\mathrm{U}-19$ -е сутки после депиляции, отрастание черной шерсти, соответствует стадии катагена

3. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ У МЫШЕЙ ЛИНИИ С57ВL/6 ПОД ВЛИЯНИЕМ ПОДОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

При подострой интоксикации, вызванной энтеральным поступлением в организм мышей сульфата цинка (І опытная группа), сульфата никеля (II опытная группа), бихромата натрия (III опытная группа) и ацетата свинца (IV опытная группа) был установлен ряд морфологических изменений в эпидермисе, дерме, сальных железах и волосяных фолликулах на 9-е и 19-е сутки после индукции анагена. Установлено, что введение перечисленных выше солей тяжелых металлов в указанные сроки не приводит к нарушению цикла фолликула волоса. Так, проведенный анализ соответствия светооптических признаков стадии фолликулов волос показал, что у животных всех групп фолликулы волос были синхронизированы в стадии позднего анагена (анагена VI), что соответствовало 9-м суткам после депиляции. Показано, что луковицы волос находились в подкожной клетчатке и доходили до подкожной мышцы (m. panniculus carnosus), дермальный сосочек фолликулов волос был узким, кончик стержня волоса выходил через эпидермис на поверхность кожи (рис. 2).

Введение раствора сульфата цинка не оказало влияния на морфологию кожи и ее придатков. В І опытной группе, получавшей раствор сульфата цинка, каких-либо выраженных структурно-функциональных изменений установлено не было.

Специфические морфологические изменения были выявлены в образцах кожи животных II, III и IV опытных групп. В коже мышей II опытной группы они характеризовались наличием гиперкератоза покровного эпителия и воронки волоса, обнаружением в дерме и подкожной клетчатке выраженной макрофагальной инфильтрации и очагового фиброза (рис. 3). Описанные гистологические изменения, возможно, объясняются активацией синтеза кератиноцитами провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8. Среди плейотропных эффектов, реализуемых IL-6 в коже, описано его профибротическое [34]

и пролиферативное действие [2], что является возможной причиной формирования очаговых фибротических изменений и гиперкератоза. IL-8 способствует хемотаксису способных к миграции иммунных клеток, участвуя в процессе воспалительного ответа [50], и вероятно, способствуя инфильтрации мононуклеарами дермы и подкожной клетчатки. Выявлено, что воздействие сульфата никеля приводит к повреждению волосяных фолликулов, что выражается в эктопии гранул меланина в дермальный сосочек и перифолликулярную ткань (рис. 4).

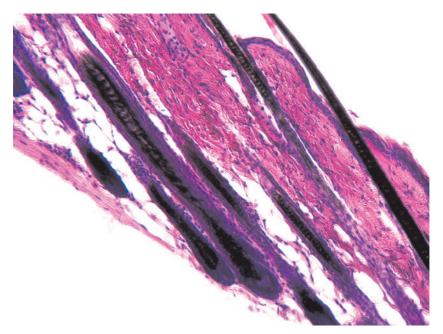


Рис. 2. Фрагмент кожи спины мыши. Морфологические признаки позднего анагена. Контрольная группа, 9-е сутки после депиляции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×150

Внематриксное расположение гранул меланина может указывать на нарушение процессов взаимодействия между меланоцитами и кератиноцитами волосяного фолликула [55].

Основными отличиями морфологической картины кожи мышей III опытной группы явились изменения сально-волосяного комплекса. При интоксикации животных бихроматом натрия сальные железы характеризовались многоклеточностью и гипертрофией. В волосяных фолликулах отмечены выраженный отек дермального сосочка, вакуолизированные клетки в ростковой зоне (рис. 5). По мнению Cullen J.M. et al. (2016), обнаруживших вакуолярную дегенерацию эпителиоцитов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при энтеральном поступлении солей шестивалентного хрома, она объясняется активацией апоптоза [17].

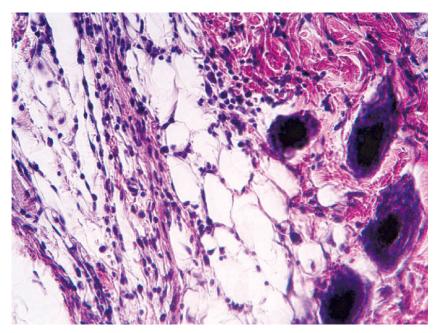


Рис. 3. Фрагмент кожи спины мыши. Макрофагальная инфильтрация дермы и гиподермы. II опытная группа, 9-е сутки после депиляции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×300

В коже животных III опытной группы в отдельных волосяных фолликулах отмечена эктопия немногочисленных гранул меланина в полость дермального сосочка (рис. 5).

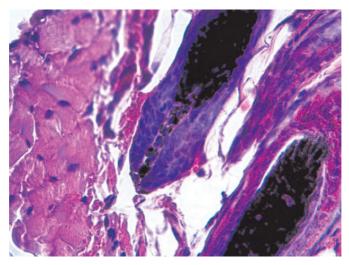


Рис. 4. Фрагмент кожи спины мыши. Эктопия гранул меланина в дермальный сосочек и периферическую часть фолликула волоса. II опытная группа, 9-е сутки после депиляции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×600



Рис. 5. Фрагмент кожи спины мыши. Отек дермального сосочка, эктопия гранул меланина. III опытная группа, 9-е сутки после депиляции.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×600

Морфологические изменения в IV опытной группе характеризовались уменьшением рядов клеток внутреннего корневого влагалища, ограничивающего раздутые каналы волоса, в которых свободно располагались стержни волос. Раздутые каналы волоса рассматриваются в качестве одного из признаков повреждения волосяного фолликула [37].

В коже мышей, получавших ацетат свинца было выявлено полнокровие сосудов микроциркуляторного русла дермы (рис. 6). Возможным объяснением описанного является то, что ионные радиусы свинца и кальция равны [13], что создает возможность для замещения ионов кальция ионами свинца в кальциевых транспортерах [13], изменения активности кальций-зависимой протеинкиназы С, участвующей в передаче широкого набора внешних сигналов клетке [21] и способствует увеличению экскреции кальция при свинцовой интоксикации [39], это может приводить к нарушению сократительной функции миоцитов стенок сосудов дермы и паретическому их расширению.

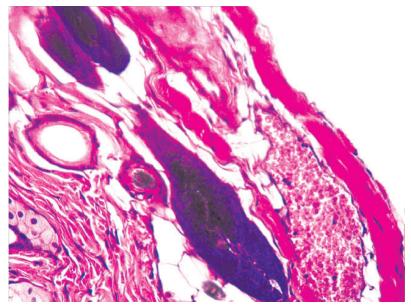


Рис. 6. Фрагмент кожи спины мыши. Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла дермы. III опытная группа, 9-е сутки после депиляции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×300

На 19-е сутки после депиляции во всех экспериментальных группах были установлены характерные для позднего катагена светооптические признаки: наличие полностью кератинизированного булавовидного волоса, капсулы зародыша волоса, компактного шаровидного
дермального сосочка, эпителиального тяжа, ниже которого располагалась спавшаяся соединительнотканная оболочка фолликула волоса
в виде «хвоста» [37]. В отличие от данных, полученных при анализе
образцов кожи мышей ІІ, ІІІ и ІV опытных групп, имевших характерные структурно-функциональные изменения, в коже животных
І опытной группы, получавшей раствор сульфата цинка, специфических структурных изменений выявлено не было.

При интоксикации раствором сульфата никеля (II опытная группа) на 19-е сутки после депиляции установлено уменьшение рядов клеток покровного эпителия, который на большем протяжении представлен 1—2 рядами эпителиоцитов (в образцах кожи животных контрольной группы 2—3 клеточных ряда), частично с явлениями гидропической дистрофии.

В коже животных II опытной группы, получавших раствор сульфата никеля, обнаружены характерные признаки позднего катагена. На рис. 7 виден фолликул волоса в стадии позднего катагена (стадии V–VII катагена). Он располагается на границе дермы и подкожной клетчатки, в его составе определяются полностью кератинизированный булавовидный волос (а), вокруг его проксимального конца видна капсула вторичного зародыша волоса (b) и шарообразный компактный дермальный сосочек (d), разделенные тяжем эпителиальных клеток (c), ниже дермального сосочка определяется «хвост» фибробластов соединительнотканной оболочки волосяного фолликула (e). Вместе с тем, обнаруживаются немногочисленные волосяные фолликулы с сохраняющимися гранулами меланина в матриксе волоса, что более соответствует начальным стадиям катагена, кроме того, отмечена сохраняющаяся преимущественно макрофагальная инфильтрация дермы и гиподермы, выявленная на 9-е сутки после депиляции.

В коже мышей III опытной группы, получавших раствор бихромата натрия, отмечено уменьшение рядов клеток покровного эпителия: на большем его протяжении он представляется однорядным. Сосочковый слой дермы характеризовался наличием фибротических изменений. Фолликулы волос находились в стадии позднего катагена, более

соответствовали VII стадии катагена, на что указывала длина тяжа эпителиальных клеток, превышающая диаметр дермального сосочка [37]. Сальные железы выглядели многоклеточными и гипертрофированными, что было установлено и на 9-е сутки после индукции анагена. Отмечено, что в коже животных III опытной группы преобладала гиподерма, на долю которой приходилось 30—50 % всей ее толщи.

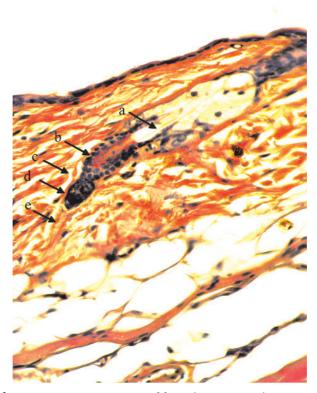


Рис. 7. Фрагмент кожи спины мыши. Макрофагальная инфильтрация дермы и гиподермы. Полностью ороговевший булавовидный волос (а), капсула зародыша волоса (b), тяж эпителиальных клеток (c), шаровидный компактный сосочек (d), «хвост» фибробластов соединительнотканной оболочки (e) І опытная группа, 19-е сутки после депиляции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×300

В коже мышей IV опытной группы, которым вводился ацетат свинца, установлена умеренная лимфо-макрофагальная инфильтрация в дерме и гиподерме, расширенные сосуды микроциркуляторного русла, диапедез эритроцитов и скопление сидерофагов в дерме (рис. 8).

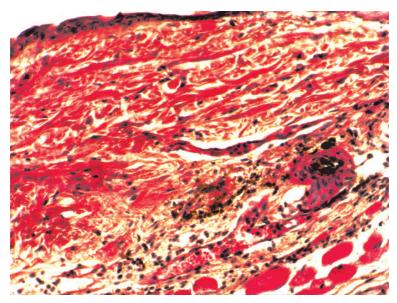


Рис. 8. Фрагмент кожи спины мыши. Инфильтрация дермы и гиподермы. Расширенный сосуд микроциркуляторного русла дермы, диапедез эритроцитов, сидерофаги. IV опытная группа, 19-е сутки после депиляции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×300

Структура фолликулов волос в IV опытной группе соответствовала позднему катагену. На это указывали свойственные V–VII стадиям катагена описанные ранее признаки.

4. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ У МЫШЕЙ ЛИНИИ С57ВL/6 ПРИ ВВЕДЕНИИ ХЕЛАТОРОВ ЖЕЛЕЗА, МЕДИ И ЦИНКА

Анализ гистологических изменений кожи мышей при введении хелатора железа, дефероксамина, животным V опытной группы; хелатора меди, тетратиомолибдата аммония (TTM), мышам VI опытной группы; хелатора цинка, N,N,N',N'-тетракис (2-пиридилметил) этилендиамина (TPEN), животным VII опытной группы выявило специфические структурно-функциональные перестройки в коже и ее производных у мышей VI и VII опытных групп.

Введение хелатора железа животным V опытной группы на 9-е сутки после индукции анагена к выраженным морфологическим изменениям в коже и ее придатках не привело. Установлено соответствие гистологической картины, характерной для контрольной группы. Так, эпидермис на большем протяжении был 2—3-слойный, в сосочковом слое дермы и между пучками плотной соединительной ткани наблюдалась рыхлая волокнистая соединительная ткань, волосяные фолликулы располагались в подкожной клетчатке и достигали подкожной мышцы (т. panniculus carnosus), дистрофических изменений в них выявлено не было, — имелся узкий дермальный сосочек, гранулы меланина располагались в пределах зоны матрикса фолликула волоса.

В коже мышей VI опытной группы, получавших хелатор меди, на 9-е сутки после индукции анагена были отмечены гиперкератоз, уменьшение размеров сальных желез. Структурных изменений в волосяных фолликулах животных VI опытной группы не отмечено, — выявлены узкие дермальные сосочки, гранул меланина, расположенных вне зоны матрикса не было.

Проведенный модельный эксперимент показал, что в коже животных VII опытной группы, получавших хелатор цинка (TPEN), на 9-е сутки после индукции анагена наблюдалось неравномерное увеличение клеточных слоев покровного эпителия, достигающего 4—5 рядов против 1—3-слойного эпителия в контрольной группе, гиперкератоз покровного эпителия и волосяных воронок. Отмечено, что сальные железы были

многочисленны, крупными и многоклеточными, определялись расширенные протоки сальных желез (рис. 9). Волосяные фолликулы, соответствующие позднему анагену, в коже животных VII опытной группы имели признаки дистрофических изменений: их дермальные сосочки были отечны, содержали эктопированные гранулы меланина.

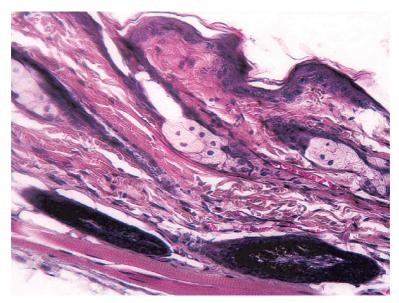


Рис. 9. Кожа спины мыши. Многослойный покровный эпителий. Гиперкератоз, гиперплазия сальных желез, расширение протоков сальных желез. VII опытная группа, 9-е сутки после индукции анагена. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×300

Проведенное исследование позволило выявить характерные для каждого из хелатирующих агентов изменения в коже животных на 19-е сутки после депиляции. Так, в коже мышей V опытной группы, получавших дефероксамин, обращает на себя внимание немногочисленность сальных желез и фибротические изменения в дерме. При оценке соответствия светооптических признаков стадии цикла фолликула волоса установлены признаки, свидетельствующие о стадии позднего катагена, об этом свидетельствуют наличие капсулы зародыша волоса, тяжа эпителиальных клеток и компактного шаровидного дермального сосочка.

В коже мышей VI опытной группы, получавших хелатор меди (TTM), структура покровного эпителия не отличалась от таковой у мышей контрольной группы. В дерме наблюдались мелкие сальные железы, кроме того, обратило на себя внимание то, что объем подкожной клетчатки был значительно снижен (рис. 10) и представлен лишь небольшими скоплениями адипоцитов.



Рис. 10. Кожа спины мыши. Отсутствие подкожной жировой клетчатки. VI опытная группа, 19-е сутки после индукции анагена. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×300

Известно, что медь обладает адипогенным эффектом [54]. Поэтому возможным объяснением уменьшения толщины подкожной жировой клетчатки у животных VI опытной группы, является дефицит меди, приводящий к нарушению структурной организации жировой ткани. Отмечено также, что в коже мышей, получавших хелатор меди имелись увеличенные волосяные фолликулы, в которых сохранялся меланогенез, что, вероятно, объясняется задержкой развития катагена. На 19-е сутки после индукции анагена в коже животных VII опытной группы, которым вводился хелатор цинка, отмечено уменьшение слоев клеток покровного эпителия до 1—3-слойного, сглаженная эпидермо-дермальная граница, уменьшение клеточного состава сальных желез и количества сальных желез, в дерме выявлен фиброз. Стадия развития волосяных фолликулов на 19-е сутки после депиляции у животных, получавших хелатор цинка (TPEN), соответствовала позднему анагену.

5. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ И АПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КЕРАТИНОЦИТОВ КОЖИ МЫШЕЙ С57ВL/6 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ХЕЛАТОРОВ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Установлено, что введение экспериментальным животным I опытной группы сульфата цинка привело к увеличению ИП эпителиальных клеток кожи в 1,8 раза по сравнению с показателем контрольной группы (p=0,002) (табл. 1). Полученные результаты, свидетельствующие об увеличении пролиферативной активности кератиноцитов у экспериментальных животных, получавших сульфат цинка, согласуются с результатами, полученными Kang X. et al. (2008) [29]. Они объясняются тем, что цинк является структурным и функциональным компонентом факторов транскрипции и внутриклеточного сигнального пути, связанного с регулированием клеточной пролиферации [11]. При этом оптимальный рост и функции клеток возможны в пределах узкого диапазона концентраций внутриклеточного свободного цинка [16].

Аналогичный результат получен у экспериментальных животных VII опытной группы, получавших TPEN. Показатель ИП кератиноцитов у мышей этой группы в 1,3 раза выше, чем показатель контрольной группы (p=0,002). Полученный результат противоречит имеющимся в литературе сведениям, показывающим, что обработка клеточных культур TPEN ингибирует клеточную пролиферативную активность [28, 49]. Выявленные различия по данным, полученным в модельном эксперименте на животных и на примере культуры клеток, вероятно, объясняются возникающими в организме адаптивными реакциями в ответ на изменение внутриклеточной концентрации цинка, которые невозможны в клеточных культурах. Предполагается, что цинк и медь при дефицитных состояниях могут стать функциональной заменой друг друга [23].

Возможным механизмом стимуляции пролиферации эпителиальных клеток кожи при введении мышам TPEN является компенсаторное поступление меди в эпителиоциты кожи в ответ на внутриклеточный дефицит цинка, формирующийся при введении хелатора этого металла. При этом, вероятно, медь стимулирует пролиферацию клеток, активируя медь-зависимые транскрипционные факторы [43], в частности, Atox-1 [24, 36].

Таблица 1 Индексы пролиферации и апоптоза эпителиальных клеток кожи мышей контрольной и опытных групп

	Индексы пролиферации (%)			Индексы апопотоза (%)		
Группы	M ± m	95% ДИ	р-уро- вень	M ± m	95% ДИ	р-уро- вень
Контрольная	$10,1 \pm 0,33$	9,39-10,95	_	$3,2 \pm 0,22$	2,67-3,73	_
I опытная	$18,57 \pm 0,34$	17,68-19,4	0,002*	$4,4 \pm 0,32$	3,56-5,24	0,03
II опытная	$11,48 \pm 0,25$	10,82-12,1	0,02	$5,3 \pm 0,21$	4,79-5,87	0,002*
III опытная	$12,65 \pm 0,29$	11,89-13,4	0,002*	$5,5 \pm 0,22$	4,92-6,07	0,002*
IV опытная	$7,14 \pm 0,21$	6,55-7,72	0,004*	$5,2 \pm 0,37$	4,16-6,23	0,006*
V опытная	$8,7 \pm 0,29$	8,02-9,54	0,03	$2,5 \pm 0,22$	1,92-3,07	0,04
VI опытная	$6,11 \pm 0,14$	5,74-6,48	0,002*	$4,5 \pm 0,22$	3,92-5,07	0,008*
VII опытная	$13,51 \pm 0,15$	13,23-13,7	0,002*	$4,66 \pm 0,3$	3,8-5,52	0,008*

Примечание. * — p < 0.01.

Введение экспериментальным животным VI опытной группы ТТМ привело к снижению ИП, который в 1,6 раза ниже, по сравнению с по-казателем контрольной группы (p = 0,002). Известно, что низкие внутриклеточные концентрации меди приводят к удлинению периода пролиферации клеток, и в ряде случаев несовместимы с пролиферативным процессом [43].

Значимое влияние на пролиферативную активность кератиноцитов оказал вводимый мышам III опытной группы бихромат натрия. У экспериментальных животных этой группы отмечено увеличение ИП эпителиальных клеток в исследуемом материале в 1,26 раза по сравнению с показателем контрольной группы (0,002). Это согласуется с имеющимися в литературе сведениями об увеличении пролиферативного ответа эпителиальных клеток, выстилающих дыхательные пути мышей,

подвергшихся воздействию раствора хромата цинка [12]. Известно, что соединения шестивалентного хрома приводят к оксидативному стрессу, повреждению ДНК, нарушению клеточного цикла и метаболизма клетки [33], что, возможно, является причиной компенсаторного увеличения пролиферативной активности.

При введении ацетата свинца наблюдался противоположный эффект, так, в IV опытной группе, животные которой получали раствор этого соединения, выявлено снижение показателя ИП эпителиоцитов кожи в 1,4 раза по сравнению с показателем контрольной группы (p=0,004). Результаты отдельных исследований, выполненных на примере культуры клеток, обрабатываемых соединениями свинца [20], также свидетельствуют об ингибировании клеточной пролиферации.

Введение мышам II опытной группы сульфата никеля и хелатора железа (дефероксамина) мышам V опытной группы значимого влияния на пролиферативную активность эпителиоцитов кожи не оказало. Это возможно как вследствие недостаточной кумулятивной дозы вводимых веществ, так и по причине отсутствия их влияния на клеточную пролиферацию.

В настоящем исследовании установлено, что воздействие солей тяжелых металлов и хелаторов эссенциальных металлов приводят к изменению апоптотической активности эпителиальных клеток кожи экспериментальных животных всех опытных групп за исключением I и V опытных групп. У мышей, получавших соответственно раствор сульфата цинка и дефероксамин, показатели ИА не отличались от таковых в контрольной группе (табл. 1).

Показано, что результатом введения мышам III опытной группы бихромата натрия явилось увеличение ИА кератиноцитов в 1,7 раза по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы (p = 0,002).

При интоксикации животных II опытной группы сульфатом никеля выявлено, что показатель ИА эпителиальных клеток кожи в этой группе в 1,65 раза превышает показатель в контрольной группе (p = 0,002). Введение животным IV опытной группы ацетата свинца привело к увеличению показателя ИА кератиноцитов в 1,6 раза по сравнению с показателем контрольной группой (p = 0,006). Соединения хрома, никеля, свинца являются цитотоксическими и генотоксичными [12], что опосредовано разнообразными механизмами, среди которых активация производства активных форм кислорода, оксидативный стресс и повреждение

ДНК [8, 32]. Возможно, апоптоз является способом устранения клеток с поврежденной соединениями токсичных металлов ДНК [6, 18].

Введение экспериментальным животным VI опытной группы хелатора меди (ТТМ) привело к увеличению показателя ИА в 1,4 раза по сравнению с показателем в контрольной группе (p=0,008). Это противоречит результатам исследования Bustos R.I. et al. (2013), которые сообщают об отсутствии влияния дефицита меди на запрограммированную клеточную гибель [14]. Однако у мышей линии C57BL/6 анаген ассоциирован с меланогенезом, который сопровождается клеточным окислительным стрессом [27], и, вероятно, увеличивает потребности меланоцитов в синтезе антиоксидантов, таких как Cu/Zn-супероксиддисмутаза, где основным кофактором, обусловливающим ее антиоксидантную роль является медь [40]. При дефиците меди активность Cu/Zn-супероксиддисмутазы снижается, приводя к окислительному стрессу, вызывающему повреждение клеточных мембран [10]. Известно, что ионы меди активируют антиапоптотические пути, защищая клетки от апоптоза, вызванного окислительным стрессом [41].

Воздействие хелатора цинка (TPEN) на мышей VII опытной группы, привело к увеличению показателя ИА в эпителиальных клетках их кожи в 1,46 раза по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы (p=0,008). Полученные данные согласуются с результатами исследования Chai F. et al. (2000) [15] и объясняются тем, что снижение внутриклеточной концентрации цинка приводит к повреждению митохондрий, активации каспаз, в первую очередь, каспазы-3, и апоптозу [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный модельный эксперимент показал, что поступающие в организм тяжелые металлы приводят к характерным морфофункциональным изменениям в коже. Вместе с тем, подострая интоксикация солями никеля, хрома, свинца и цинка и введение хелаторов железа, меди и цинка не приводит к изменению длительности стадии анагена волосяного фолликула. Введение раствора сульфата цинка не приводит к морфологическим изменениям на светооптическом уровне на 9-е и 19-е сутки после индукции анагена. Однако кератиноциты мышей, получавших сульфат цинка, характеризуются максимальным индексом пролиферации, который на 9-е сутки после депиляции был статистически значимо выше, чем аналогичный показатель у мышей контрольной группы, при этом значимых различий по индексу апоптоза между животными этой опытной группы и контролем не было. Энтеральное поступление раствора сульфата никеля на 9-е сутки после депиляции приводит к гиперкератозу покровного эпителия, очаговым фибротическим изменениям в дерме, инфильтрации дермы и подкожной клетчатки мононуклеарами, дистрофическим изменениям фолликула волоса, выражающимся в эктопии гранул меланина в дермальный сосочек и перифолликулярную ткань. На 19-е сутки после депиляции на светооптическом уровне выявлено уменьшение рядов клеток покровного эпителия, явления гидропической дистрофии эпителиоцитов. При введении сульфата никеля статистически значимо по сравнению с показателем мышей контрольной группы увеличивается индекс апоптоза, при отсутствии влияния на пролиферативный процесс. Морфологические изменения у животных, получавших раствор бихромата натрия, на 9-е сутки после депиляции характеризовались гипертрофией сальных желез, вакуольной дегенерацией клеток ростковой зоны волосяного фолликула, отеком дермального сосочка и эктопией в него гранул меланина; на 19-е сутки были отмечены уменьшение клеточных рядов покровного эпителия, фиброз в дерме, относительное увеличение подкожной клетчатки. Введение мышам бихромата натрия статистически значимо по сравнению

с показателями животных контрольной группы увеличивает как индекс пролиферации, так и индекс апоптоза. Следствием поступления в организм мышей раствора ацетата свинца явилось уменьшение клеточных рядов внутреннего корневого влагалища волоса, формирование раздутых каналов волоса, полнокровие сосудов микроциркуляторного русла дермы, выявляемые на 9-е сутки после индукции анагена с сохранением на 19-е сутки после депиляции полнокровия сосудов микропиркуляторного русла, появлением диапедеза эритроцитов, скопления сидерофагов в дерме и умеренной лимфо-макрофагальной инфильтрации дермы и подкожной клетчатки. Введение ацетата свинца мышам приводит к угнетению пролиферации кератиноцитов и активации их апоптотической гибели. Введение хелатора железа (дефероксамина) на 9-е сутки после индукции анагена не привело к морфологическим изменениям, выявляемым на светооптическом уровне. На 19-е сутки после депиляции были отмечены фиброз в дерме и немногочисленность сальных желез. Дефероксамин не повлиял на процессы клеточной пролиферации и апоптотической гибели. При введении мышам хелатора меди (тетратиомолибдата аммония) на 9-е сутки после депиляции был выявлен гиперкератоз и уменьшение размеров сальных желез, к 19-м суткам после индукции анагена была установлена редукция подкожной клетчатки с сохранением отдельных скоплений адипоцитов. Следствием введения хелатора меди явилось статистически значимое по сравнению с показателями контрольной группы уменьшение индекса пролиферации и увеличение индекса апоптоза. Поступление в организм животных хелатора цинка (N,N,N',N'-тетракис (2-пиридилметил) этилендиамина) привело на 9-е сутки после депиляции к неравномерному гиперкератозу покровного эпителия и волосяных воронок, гипертрофии сальных желез, расширению их протоков, отеку дермальных сосочков и эктопии гранул меланина в дермальный сосочек. На 19-е сутки после депиляции введение хелатора цинка привело к фиброзу в дерме и гипотрофии сальных желез. При введении хелатора цинка была установлена активация пролиферации кератиноцитов и их апоптоза. Пролиферативный ответ, вероятно, является компенсаторной реакцией в ответ на активацию апоптоза, индуцируемую введением растворов сульфата цинка, сульфата никеля, бихромата натрия и хелатора цинка (N,N,N',N'-тетракис (2-пиридилметил) этилендиамин). Среди ряда описанных последствий введения используемых в эксперименте действующих веществ самым значимым является индуция апоптоза. указанные действующие вещества могут участвовать в этиопатогенезе аутоиммунных заболеваний. Известно, что в процессе апоптотической гибели клеточные аутоантигены перемещаются на поверхность апоптотических клеток [57]. Предполагается, что экстернализация аутоантигенов в условиях активации апоптоза приводит к перегруженности фагоцитарной системы и невозможности эффективного удаления апоптотического материала, что способствует разрушению аутотолерантности [48]. Исследования отдельных авторов свидетельствуют о взаимосвязи между апоптозом и возникновением аутоиммунного ответа посредством дисрегуляции апоптоза [44] или неэффективного удаления апоптотических клеток [31].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Бурак Ж.М., Сукало А.В., Терехова Т.Н. Воздействие свинцовой интоксикации на человека и животных, влияние на развитие и функции зубо-челюстной системы (обзор литературы) // Медицинский журнал. $2005. \mathbb{N} \cdot 4. \mathbb{C}$. 10-13.
- 2. Дерматология Фицпатрика в клинической практике: В 3 т. / Л.А. Голдсмит, С.И. Кац, Б.А. Джилкрест, Э.С. Паллер, Д.Д. Леффель, К. Вольф; пер. с англ.; общ. ред. Н.Н. Потекаева, А.Н. Львова. Изд. 2-е, исп., перер., доп. М.: Издательство Панфилова, 2015. Т. 1. 2015.
- 3. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста: Учебное пособие / Бабиченко И.И., Ковязин В.А. М.: РУДН, 2008.-109 с.
- 4. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. 3-е изд. доп. и перераб. Казань: Титул, 2004. 456 с.
- 5. Теплая Г.А. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (обзор литературы) // Астраханский вестник экологического образования. 2013. T. 1. № 23. C. 182-192.
- 6. Ярилин, А.А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. -1998. -№ 2. C. 38-48.
- 7. Яровая Г.А., Нешкова Е.А., Мартынова Е.А., Блохина Т.Б. Роль протеолитических ферментов в контроле различных стадий апоптоза // Лабораторная медицина. -2011. -№ 11. -C. 39-53.
- 8. Alcaraz-Contreras Y., Mendoza-Lozano R.P., Martínez-Alcaraz E.R., Martínez-Alfaro M., Gallegos-Corona M.A., Ramírez-Morales M.A., V zquez-Guevara M.A. Silymarin and dimercaptosuccinic acid ameliorate lead-induced nephrotoxicity and genotoxicity in rats // Hum. Exp. Toxicol. -2016.-Vol. 35.-Nol. 4.-P. 398-403.
- 9. Anderson S.E., Meade B.J. Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals // Environ. Health Insights. -2014. Vol. 17. N 2. P. 51-62.

- 10. Araya M., Pizarro F., Olivares M., Arredondo M., Gonz lez M., Méndez M. Understanding copper homeostasis in humans and copper effects on health // Biol. Res. -2006. Vol. 39. № 1. P. 183-187.
- 11. Azman M.S., Wan Saudi W.S., Ilhami M., Mutalib M.S., Rahman M.T. Zinc intake during pregnancy increases the proliferation at ventricular zone of the newborn brain // Nutr. Neurosci. -2009. Vol. 12. No 1. P. 9-12.
- 12. Beaver L.M., Stemmy E.J., Schwartz A.M., Damsker J.M., Constant S.L., Ceryak S.M., et al. Lung inflammation, injury, and proliferative response after repetitive particulate hexavalent chromium exposure // Environ. Health Perspect. − 2009. − Vol. 117. № 12. − P. 1896-1902.
- 13. Bridges C.C., Zalups R.K. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals // Toxicol. Appl. Pharmacol. -2005. Vol. 204. No 3. P. 274-308.
- 14. Bustos R.I., Jensen E.L., Ruiz L.M., Rivera S., Ruiz S., Simon F., et al. Copper deficiency alters cell bioenergetics and induces mitochondrial fusion through up-regulation of MFN2 and OPA1 in erythropoietic cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. -2013. Vol. 437. No 3. P. 426-432.
- 15. Chai F., Truong-Tran A.Q., Evdokiou A., Young G.P., Zalewski P.D. Intracellular zinc depletion induces caspase activation and p21 Waf1/Cip1 cleavage in human epithelial cell lines // J. Infect. Dis. -2000. Vol. 182. \mathbb{N}° 1. P. S85-S92.
- 16. Colvin R.A., Fontaine C.P., Laskowski M., Thomas D. Zn^{2+} transporters and Zn^{2+} homeostasis in neurons // Eur. J. Pharmacol. 2003. Vol. 479. $Nolemath{0}$ 1-3). P. 171-185.
- 17. Cullen J.M., Ward J.M., Thompson C.M. Reevaluation and Classification of Duodenal Lesions in B6C3F1 Mice and F344 Rats from 4 Studies of Hexavalent Chromium in Drinking Water // Toxicol. Pathol. $-2016. \text{Vol.} 44. \text{N}_{2} 2. \text{P.} 279-289.$
- 18. Ding M., Shi X. Molecular mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis // Mol. Cell. Biochem. -2002. Vol. 234-235. № 1-2. P. 293-300.
- 19. Donadelli M., Dalla Pozza E., Costanzo C., Scupoli M.T., Scarpa A., Palmieri M. Zinc depletion efficiently inhibits pancreatic cancer cell growth by increasing the ratio of antiproliferative/proliferative genes // J. Cell. Biochem. -2008. Vol. 104. 1

- 20. Engstrom A., Wang H., Xia Z. Lead decreases cell survival, proliferation, and neuronal differentiation of primary cultured adult neural precursor cells through activation of the JNK and p38 MAP kinases // Toxicol. In Vitro. -2015. -Vol. 29. -No. 5. -P. 1146-1155.
- 21. Flora S.J.S., Mittal M., Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy // Indian. J. Med. Res. $-2008.-Vol.\ 128.-N_{\odot}\ 4.-P.\ 501-523.$
- 22. Fukuyama S., Matsunaga Y., Zhanghui W., Noda N., Asai Y., Moriwaki A., et al. A zinc chelator TPEN attenuates airway hyperresponsiveness and airway inflammation in mice in vivo // Allergol. Int. $-2011. Vol. 60. N_{\odot} 3. P. 259-266.$
- 23. Hashemi M., Ghavami S., Eshraghi M., Booy E.P., Los M. Cytotoxic effects of intra and extracellular zinc chelation on human breast cancer cells // Eur. J. Pharmacol. -2007. Vol. 557. № 1. P. 9-19.
- 24. Itoh S., Kim H.W., Nakagawa O., Ozumi K., Lessner S.M., Aoki H., Akram K., McKinney R.D., Ushio-Fukai M., Fukai T. Novel role of antioxidant-1 (Atox1) as a copper-dependent transcription factor involved in cell proliferation // J. Biol. Chem. -2008. Vol. 283. No 14. P. 9157-9167.
- 25. Jan A.T., Azam M., Siddiqui K., Ali A., Choi I., Haq Q.M. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants // Int. J. Mol. Sci. -2015. Vol. 16. No 12. P. 29592-29630.
- 26. Jenerowicz D., Silny W., Dańczak-Pazdrowska A., Polańska A., Osmola-Mańkowska A., Olek-Hrab K. Environmental factors and allergic diseases // Ann. Agric. Environ. Med. 2012. Vol. 19. № 3. P. 475-481.
- 27. Jimenez-Cervantes C., Martinez-Esparza M., Perez C., Daum N., Solano F., Garcia-Borron J. C. Inhibition of melanogenesis in response to oxidative stress: transient downregulation of melanocyte differentiation markers and possible involvement of microphthalmia transcription factor // J. Cell. Sci. -2001. Vol. 114. No 12. P. 2335-2344.
- 28. Kang M., Zhao L., Ren M., Deng M., Li C. Reduced metallothionein expression induced by Zinc deficiency results in apoptosis in hepatic stellate cell line LX-2 // Int. J. Clin. Exp. Med. -2015. Vol. 8. No 11. P. 20603-20609.
- 29. Kang X., Song Z., McClain C.J., Kang Y.J., Zhou Z. Zinc supplementation enhances hepatic regeneration by preserving hepatocyte

nuclear factor-4alpha in mice subjected to long-term ethanol administration // Am. J. Pathol. -2008. - Vol. 172. - No 4. - P. 916-925.

- 30. Lansdown A.B. Metal ions affecting the skin and eyes // Met. Ions Life Sci. 2011. Vol. 8. P. 187-246.
- 31. Leventhal J.S., Ross M.J. LAPping up dead cells to prevent lupus nephritis: a novel role for noncanonical autophagy in autoimmunity // Kidney Int. -2016. Vol. 90. No 2. P. 238-239.
- 32. Macfie A., Hagan E., Zhitkovich A. Mechanism of DNA-protein cross-linking by chromium // Chem. Res. Toxicol. -2010. Vol. 15. No 23. P. 341-347.
- 33. Madejczyk M.S., Baer C.E., Dennis W.E., Minarchick V.C., Leonard S.S., Jackson D.A., Stallings J.D., Lewis J.A. Temporal changes in rat liver gene expression after acute cadmium and chromium exposure // PLoS One. -2015. Vol. 10. No 5. P. e0127327.
- 34. Mastrofrancesco A., Alfè M., Rosato E., Gargiulo V., Beatrice C., Di Blasio G., Zhang B., Su D. S., Picardo M., Fiorito S. Proinflammatory Effects of Diesel Exhaust Nanoparticles on Scleroderma Skin Cells [Electronic resource] // J. Immunol. Res. 2014. Vol. 2014. Article ID 138751. P. 9. Available at: http://dx.doi.org/10.1155/2014/138751 (Accessed 15.10.2014).
- 35. Maurer M., Handjiski B., Paus R. Hair growth modulation by topical immunophilin ligands: induction of anagen, inhibition of massive catagen development, and relative protection from chemotherapy-induced alopecia // Am. J. Pathol. -1997. Vol. 150. No 4. P. 1433-1441.
- 36. Muller P.A., Klomp L.W. ATOX1: a novel copper-responsive transcription factor in mammals? // Int. J. Biochem. Cell. Biol. -2009. Vol. 41. No 6. P. 1233-1236.
- 37. Müller-Röver S., Handjiski B., van der Veen C., Eichmüller S., Foitzik K., McKay I.A., et al. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages // J. Invest. Dermatol. $-2001.-Vol.\ 117.-No.\ 1.-P.\ 3-15.$
- 38. Nydegger I. Explorations of hippocampal zinc using zinc-selective fluorescent dyes: PhD (Doctor of Philosophy) thesis [Electronic resource]. University of Iowa, 2009. Available at: http://ir.uiowa.edu/cgi/viewcontent.cgi?article = 1599 &context = etd (Accessed 20.10.2014).
- 39. Oliveira da Costa Mattos R de C., Xavier E.C. Jr., Domingos Mainenti H.R., Mitri Nogueira S., Ribeiro de Carvalho M.A., Ramos Moreira M. de F., Vargas de Carvalho L.B., Tabalipa M., Borges R., Malizia

- Alves Mde F. Evaluation of calcium excretion in Brazilian infantile and young population environmentally exposed to lead // Hum. Exp. Toxicol. -2009. Vol. 28. No 9. P. 567-575.
- 40. Osredkar J., Sustar N. Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance [Electronic resource] // J. Clin. Toxicol. 2011. P. S3. Available at: http://dx.doi.org/10.4172/2161-0495. S3—001 (Accessed 21.10.2014).
- 41. Ostrakhovitch, E. A., Lordnejad, M. D., Schliess, F., Sies, H. & Klotz, L. O. Copper ions strongly activate the phosphoinositide-3-kinase/Akt pathway independent of the generation of reactive oxygen species // Arch. Biochem. Biophys. -2002. Vol. 397. No 2. P. 232-239.
- 42. Paus R., Handjiski B., Eichmüller S., Czarnetzki B.M. Chemotherapyinduced alopecia in mice. Induction by cyclophosphamide, inhibition by cyclosporine A, and modulation by dexamethasone // Am. J. Pathol. -1994.- Vol. 144.-N 0.000
- 43. Peled T., Landau E., Prus E., Treves A.J., Nagler A., Fibach E. Cellular copper content modulates differentiation and self-renewal in cultures of cord blood-derived CD34 + cells // Br. J. Haematol. -2002. Vol. 116. No 3. P. 655-661.
- 44. Peng Y., Martin D.A., Kenkel J., Zhang K., Ogden C.A., Elkon K.B. Innate and adaptive immune response to apoptotic cells // J. Autoimmun. 2007. Vol. 29. P. 303-309.
- 45. Plonka P.M., Handjiski B., Popik M., Michalczyk D., Paus R. Zinc as an ambivalent but potent modulator of murine hair growth in vivo- preliminary observations // Exp. Dermatol. -2005. Vol. 14. № 11. P. 844-853.
- 46. Plonka P.M., Handjiski B., Michalczyk D., Popik M., Paus R. Oral zinc sulphate causes murine hair hypopigmentation and is a potent inhibitor of eumelanogenesis in vivo // Br. J. Dermatol. -2006. Vol. 155. № 1. P. 39-49.
- 47. Quan F.S., Yu X.F., Gao Y., Ren W.Z. Protective effects of folic acid against central nervous system neurotoxicity induced by lead exposure in rat pups // Genet. Mol. Res. -2015. Vol. 14. No 2. P. 12466-12471.
- 48. Ramírez-Sandoval R., Luévano-Rodríguez N., Rodríguez-Rodríguez M., Pérez-Pérez M.E., Saldívar-Elias S., Gurrola-Carlos R., Avalos-Díaz E., Bollain-y-Goytia J.J., Herrera-Esparza R. An Animal Model Using Metallic Ions to Produce Autoimmune Nephritis [Electronic resource] // J. Immunol.

- Res. 2015. Vol. 2015. Article ID 269610. P. 11. Available at: http://dx.doi.org/10.1155/2015/269610 (Accessed 15.09.2014).
- 49. Shen H., Qin H., Guo J. Cooperation of metallothionein and zinc transporters for regulating zinc homeostasis in human intestinal Caco-2 cells // Nutr. Res. -2008. Vol. 28. \cancel{N} 6. P. 406-413.
- 50. Sidhom E., Pilmane M., Kisis J. Local antimicrobial, protease and cytokine defense systems in psoriatic skin // Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. -2016. Vol. 82. No 20. 284-291.
- 51. Slominski A., Paus R., Costantino R. Differential expression and activity of melanogenesis-related proteins during induced hair growth in mice // J. Invest. Dermatol. -1991. Vol. 96. No. 2. P. 172-179.
- 52. Su L., Deng Y., Zhang Y., Li C., Zhang R., Sun Y., et al. Protective effects of grape seed procyanidin extract against nickel sulfate-induced apoptosis and oxidative stress in rat testes // Toxicol. Mech. Methods. $-2011.-Vol.\ 21.-N_{\odot}\ 6.-P.\ 487-494.$
- 53. Tang K., Guo H., Deng J., Cui H., Peng X., Fang J., et al. Inhibitive effects of nickel chloride (NiCl2) on thymocytes // Biol. Trace Elem. Res. -2015. Vol. 164. No 2. P. 242-252.
- 54. Tinkov A.A., Polyakova V.S., Nikonorov A.A.Chronic administration of iron and copper potentiates adipogenic effect of high fat diet in Wistar rats // Biometals. -2013. Vol. 26. No. 26. No.
- 55. Tobin D.J. Aging of the hair follicle pigmentation system // Int J Trichology. -2009. Vol. 1. No 2. P. 83-93.
- 56. Wei H., Frei B., Beckman J.S., Zhang W.J. Copper chelation by tetrathiomolybdate inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in vivo // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. $-2011. \text{Vol. } 301. \text{N}_{2} \text{ 3.} \text{P. } \text{H}712- \text{H}720.$
- 57. Yu C., Chang C., Zhang J. Immunologic and genetic considerations of cutaneous lupus erythematosus: a comprehensive review // J. Autoimmun. 2013. Vol. 4. P. 34 45.
- 58. Zhang Y., Zhang Y., Xie Y., Gao Y., Ma J., Yuan J., et al. Multitargeted inhibition of hepatic fibrosis in chronic iron-overloaded mice by Salvia miltiorrhiza // J. Ethnopharmacol. − 2013. − Vol. 148. − № 2. − P. 671-681.

Учебное издание

Николаева Татьяна Владимировна Сетко Нина Павловна Полякова Валентина Сергеевна Воронина Людмила Григорьевна

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ КОЖИ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ВВЕДЕНИИ ХЕЛАТОРОВ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Пособие для врачей



Компьютерный набор, корректура и форматирование авторов Технический редактор Кулакова Г.А. Подписано в печать 27.02.2017 Бумага офсетная. Гарнитура NewtonC Формат 60×84 1/16 Печать трафаретная. Печ. л. 2,38. Тираж 500 экз. Заказ № 017-17.

Отпечатано в типографии ИД «Академия Естествознания», 440026, г. Пенза, ул. Лермонтова, 3