

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ПРОФЕССОРА В. Ф. ВОЙНО-ЯСЕНЕЦКОГО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Казанбаев Ринат Тагирович

**ОПТИМАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОЕДИНЕНИЙ
ХИТОЗАНА В ЛЕЧЕНИИ КОНТАКТНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО
ДЕРМАТИТА, ВЫЗВАННОГО ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Карачева Юлия Викторовна

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Большаков Игорь Николаевич

Красноярск – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	12
1.1 Аллергические дерматозы, вызванные соединениями тяжелых металлов.	12
1.1.1 Контактный аллергический дерматит, вызванный соединениями тяжелых металлов, в современной промышленности и в быту.	12
1.1.2 Проницаемость кожи для соединений металлов тяжелой группы.	16
1.1.3 Иммунологические механизмы развития аллергических дерматозов.	20
1.1.4 Аппаратная физиотерапия аллергических дерматозов.	24
1.2 Хитозан – природный биополимер многоцелевого назначения.	26
1.2.1 Механизмы действия хитозана и его химических производных на кожные покровы.	26
1.2.2 Связывание хитозана с молекулами тяжелых металлов и их солями.	30
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	34
2.1 Метод изучения контактной гиперчувствительности у лабораторных животных при моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома.	34
2.2 Метод люминесцентной микроскопии при изучении кинетики хитозана в коже экспериментальных животных.	37
2.3 Определение концентрации тяжелых металлов в коже экспериментальных животных методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.	38
2.4 Определение абсорбционных свойств водорастворимого хитозана под воздействием аппаратного ИК-излучения и ультразвука.	39
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	42
3.1 Клинические и патоморфологические изменения кожи экспериментальных животных при моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома.	42
3.2 Кинетика водного раствора хитозана в коже лабораторных животных.	47

3.3 Клинические и патоморфологические изменения кожи экспериментальных животных на модели контактного аллергического дерматита при использовании соединений хитозана различными методами. .	51
3.4 Патоморфологические изменения структурных элементов дермы экспериментальных животных при моделировании контактного аллергического дерматита с использованием соединений хитозана.	57
3.5 Результаты определения концентрации тяжелых металлов в коже экспериментальных животных методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.	62
3.5.1 Концентрация тяжелых металлов в коже экспериментальных животных контрольных групп.	62
3.5.2 Концентрации тяжелых металлов в коже опытных групп животных при различных методиках использования соединений хитозана.	64
3.5.3 Сравнительная оценка методов доставки 1 % водорастворимого хитозана в дерму, в зависимости от раздражающего агента.	68
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	73
ВЫВОДЫ.	91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	92
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	94
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	114

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Во всем мире контактный аллергический дерматит (КАД) – одно из распространенных заболеваний в дерматологической практике. По данным разных авторов, этот вид патологии встречается у 2–2,5 % населения Земного шара [5, 27, 64, 106, 133]. За последнее десятилетие первичная и общая заболеваемость контактным аллергическим дерматитом среди взрослого населения выросла в 1,3 и 1,4 раза соответственно, среди подросткового населения – в 1,1 раз [14, 21, 32]. На территории Красноярского края за период с 2011 по 2015 гг. в структуре дерматологической заболеваемости контактный аллергический дерматит составил 14,7 % от всей кожной патологии [46]. Показатели первичной заболеваемости контактным аллергическим дерматитом увеличились от $8,1 \pm 0,05$ до $9,1 \pm 0,06$ на 1 000 населения, прирост показателя составил 12,3 % (среднегодовой прирост 1,2 %). Общая заболеваемость контактным аллергическим дерматитом за исследуемый период увеличилась на 20,2 %, что связано с большим количеством химических веществ, используемых в быту и на производстве (среднегодовой темп прироста составил 2,1 %) – от $(9,4 \pm 0,06)$ до $(11,3 \pm 0,06)$ случаев на 1 000 человек. У 18 % больных контактным аллергическим дерматитом клинические проявления трансформируются в истинную экзему. Наиболее часто встречающимися этиологическими факторами контактного аллергического дерматита и контактной экземы являются такие соли тяжелых металлов как никеля сульфат (41,4 %), кобальта хлорид (20,3 %), калия дихромат (10,0 %), смесь ароматизирующих веществ и тиомерсал (6,8 %), ланолин (5,6 %), производные тиурама (5,2 %), смесь карбоматов (4,4 %) [43, 46, 77, 88, 115, 116, 157, 176].

Исследования проницаемости кожи для химических соединений, особенно содержащих металлы, пути проникновения веществ через эпидермальный и дермальный слои, особенности распределения металлов в этих слоях, пути и механизмы эвакуации металлов являются актуальным для дерматологии.

Большинство авторов указывает на недостаточность разработок этих задач, несмотря на публикации обобщающих работ [7, 13, 28, 41, 43, 51].

Время кумулирования и полувыведения металлов играет важную роль в развитии реакции гиперчувствительности замедленного типа, прижизненный контроль этих характеристик в коже дает в руки исследователей возможности регуляции этих процессов и сокращения времени выведения [28]. В настоящий момент достоверно установлено, что скорость эвакуации металлов из кожи различна и зависит, главным образом, не от атомной массы и радиуса электронной оболочки металла, величины потенциала электроотрицательности, а от способности вступать в связь с белковыми коллоидами [29, 46, 49].

В последнее время широко стали изучаться свойства и перспективы применения природных биополимеров хитина и хитозана [23, 52, 62, 66, 70, 81, 117, 134, 141, 186].

Хитозан, хитин и их производные образуют прочные хелатные связи с металлами, вследствие чего способны селективно извлекать ионы ртути, кобальта, хрома, никеля, золота, серебра, иридия, палладия, свинца, кадмия, железа и других металлов из сточных вод, солевых растворов и морской воды [46, 65, 78, 86, 112].

Уровень и динамика заболеваемости контактным аллергическим дерматитом позволяют определить высокую востребованность практического здравоохранения в разработке новых средств лечения этого заболевания. Разработка и создание новых препаратов, способных эффективно инактивировать действие химических аллергенов, по-прежнему является актуальной задачей и имеет важное значение.

Дальнейшее изучение свойств хитозана и применение химических производных этого полимера представляет значительный интерес и является перспективным в разработке эффективных методов лечения контактного аллергического дерматита.

Степень разработанности темы диссертации

В последнее время широко стали изучаться свойства и перспективы применения природных биополимеров хитина и хитозана [46, 87, 106].

Хитозан, хитин и их производные образуют прочные хелатные связи с металлами, вследствие чего селективно извлекают ионы ртути, кобальта, хрома, никеля, золота, серебра, иридия, палладия, свинца, кадмия, железа и других металлов из сточных вод, солевых растворов и морской воды [46, 49, 78]. Низкая токсичность хитина и хитозана позволяет использовать их в медицине для получения различных медицинских препаратов с пролонгированным действием [66, 69, 172].

Дальнейшее изучение свойств хитозана представляет значительный интерес и является перспективным в разработке эффективных методов лечения контактного аллергического дерматита путем применения соединений хитозана.

Цель исследования

Установить влияние соединений хитозана на элиминацию никеля, кобальта и хрома из кожи лабораторных животных на экспериментальной модели аллергического дерматита при воздействии аппаратного инфракрасного излучения и ультразвука.

Задачи исследования

1. Исследовать формирование контактной гиперчувствительности у экспериментальных животных при моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома. Провести сравнительную оценку клинических и патоморфологических изменений кожи у лабораторных животных.
2. Установить кинетику водорастворимого хитозана в коже экспериментальных животных методом люминесцентной микроскопии.
3. Определить методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии концентрацию тяжелых металлов в коже лабораторных животных при

использовании различных методик применения соединений хитозана.

4. Оценить абсорбционные свойства водорастворимого хитозана под воздействием аппаратного инфракрасного излучения и ультразвука у лабораторных животных. Провести сравнительную характеристику элиминации соединений никеля, кобальта и хрома из кожи экспериментальных животных при использовании фонофореза и фотофореза хитозана на фоне контактного аллергического дерматита.

Научная новизна

1. Впервые на экспериментальных животных смоделирован контактный аллергический дерматит вызванный соединениями никеля, кобальта и хрома. Проведен сравнительный анализ клинических и патоморфологических изменений дермы у экспериментальных животных.

2. Впервые исследованы абсорбционные свойства водорастворимого хитозана под воздействием аппаратного инфракрасного излучения, ультразвука у лабораторных животных.

3. Впервые проведена сравнительная оценка элиминации соединений никеля, кобальта и хрома из кожи экспериментальных животных при использовании фонофореза и фотофореза хитозана на фоне контактного аллергического дерматита.

4. Предложено патогенетическое обоснование применения фонофореза и фотофореза хитозана при экспериментальных аллергических дерматитах, вызванных соединениями никеля, кобальта и хрома.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате работы проведена сравнительная оценка клинических и патоморфологических изменений кожи у лабораторных животных при моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома. Получены данные кинетики водорастворимого хитозана в коже экспериментальных животных методом люминесцентной

микроскопии. Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии определена концентрация тяжелых металлов в коже лабораторных животных при использовании различных методик применения соединений хитозана.

Проведенные исследования показали особенности абсорбционных свойств водорастворимого хитозана под воздействием аппаратного ИК-излучения, ультразвука у лабораторных животных и подтвердили эффективность применения фонофореза и фотофореза хитозана при экспериментальных аллергических дерматитах, вызванных солями никеля, кобальта и хрома.

Данные исследования могут служить предпосылкой для проведения клинических исследований по изучению эффективности фонофореза и фотофореза хитозана в лечении контактных аллергических дерматитов, вызванных тяжелыми металлами.

Методология и методы диссертационного исследования

Настоящая работа выполнена согласно принципам доказательной медицины в дизайне динамического клинического наблюдения и лабораторно-инструментальных исследований. Основой методологии диссертационного исследования явилось последовательное применение методов научного познания, а также данные ранее проведенных исследований в России и за рубежом по этиопатогенезу и эффективности терапии КАД. В исследовании использованы клинические, инструментальные, лабораторные и статистические методы. Объектом исследования явились экспериментальные животные, на которых был смоделирован КАД на никель, кобальт и хром; предметом исследования – эффективность лечения и элиминация соединений тяжелых металлов из дермы экспериментальных животных под действием 1 % водорастворимого хитозана нанесенного различными методиками.

Положения, выносимые на защиту

1. Сравнительная оценка клинических и патоморфологических изменений кожи у лабораторных животных при моделировании контактного

аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома, свидетельствует о выраженном раздражающем и сенсибилизирующем действии двуххромовокислого калия на кожу экспериментальных животных.

2. Результаты исследования проницаемости хитозана в кожу экспериментальных животных методом люминесцентной микроскопии показали, что водорастворимый хитозан свободно проникает через неповрежденную кожу преимущественно трансфолликулярно, трансгландулярно в первые 1–2 часа после его нанесения, через 24 часа определяется проникновение и равномерное распределение хитозана во всех слоях кожи.

3. Показана высокая диагностическая ценность метода атомно-абсорбционной спектрофотометрии при проведении сравнительной оценки элиминации соединений никеля, кобальта и хрома из кожи лабораторных животных при экспериментальном аллергическом дерматите.

4. Применение фонофореза и фотофореза 1 % раствора водорастворимого хитозана при экспериментальных аллергических дерматитах ускоряет элиминацию соединений никеля, кобальта и хрома из кожи и устраняет проявления патологического процесса.

Степень достоверности

Для решения поставленных задач проводились экспериментальные исследования на крысах: 128 половозрелых самца в возрасте от 2 до 2,5 месяцев. Количество животных было минимальным, но достаточным для решения поставленных задач. Оценка динамических изменений клеточных структур дермы и концентрация соединений тяжелых металлов в дерме экспериментальных животных подтверждена статистическим анализом. Проверка подчинения закону нормального распределения количественных данных осуществлялась с применением критерия Шапиро – Уилка. В связи с тем, что все количественные данные не подчинялись закону нормального распределения, то их описание осуществлялось с помощью медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q₁; Q₃]). Для оценки статистической значимости различий между группами использовался

критерии Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Апробация работы

Основные положения работы доложены и обсуждены на: заседании проблемной комиссии «Инфекционные болезни и дерматовенерология», на Красноярском краевом обществе дерматовенерологов (Красноярск, 2013, 2016); на 24-й научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии» (Красноярск, 2014), на 3-й Ежегодной научно-практической конференции по антивозрастной и эстетической медицине (Красноярск, 2018).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Инфекционные болезни, дерматовенерология, туберкулез» ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (Красноярск, 2019).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, номер государственной регистрации 01201258925.

Внедрение результатов исследования

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, внедрены в учебный процесс кафедры дерматовенерологии с курсом косметологии и ПО им. проф. В. И. Прохоренкова и в научно-исследовательскую работу Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 статьи в

научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 117 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 190 источниками, из которых 129 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 11 таблиц и 22 рисунков.

Личный вклад автора

Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором. Исследование одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (протокол № 30/2011 от 25.02.2011).

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Аллергические дерматозы, вызванные соединениями тяжелых металлов

1.1.1 Контактный аллергический дерматит, вызванный соединениями тяжелых металлов, в современной промышленности и в быту

В настоящее время известно достаточно большое количество этиологических факторов, которые способны вызывать развитие контактного аллергического дерматита (КАД) и экземы. Наиболее часто встречающимися этиологическими факторами контактного аллергического дерматита и контактной экземы являются: никеля сульфат (41,4 %), кобальта хлорид (20,3 %), калия дихромат (10,0 %), смесь ароматизирующих веществ и тиомерсал (6,8 %), ланолин (5,6 %), производные тиурама (5,2 %), смесь карбоматов (4,4 %) [21, 43, 77, 88, 116, 176]. У 18 % больных клинические проявления КАД трансформируются в экзему. В США причиной развития сенсibilизации у больных аллергическим дерматитом чаще всего оказывались никеля сульфат, глютаральдегид и смесь тиурамов [21, 75, 115, 121, 181]. В Великобритании аллергический дерматит чаще всего вызывали резина (23,4 %), никель (18,2 %), эпоксидные и другие смолы (15,6 %), хром и хроматы (10,2 %) [21, 98, 110]. В Германии – эпоксидная смола (62 %), свободное основание парафенилендиамина (59 %), формальдегид (38 %), хлорометили-зотиазолинон/метилизотиазолинон (37 %), никеля сульфат (31 %) [21, 102]. В Сингапуре основными агентами, вызывающими аллергические дерматозы, стали хроматы, никель, химикаты резины [21, 140]. В Финляндии при анализе состава больных аллергическими дерматозами от воздействия металлов-аллергенов выяснилось, что наиболее часто сенсibilизация к хрому оказалась причиной аллергодерматозов у дубильщиков, кожевников, меховщиков, бетонщиков, каменщиков; к никелю – у обувщиков, сборщиков металлоизделий, монтажников радиоэлектронной аппаратуры [21, 98,

138]. При изучении группы больных аллергическим дерматитом от воздействия металлов-аллергенов показано, что женщины чаще болели аллергическим дерматитом от воздействия никеля, а мужчины – хрома и кобальта [21, 45].

В России хром, никель и кобальт являются наиболее частыми причинами аллергических дерматозов [4, 31, 40]. Очень незначительных количеств хрома при вполне длительном времени его контакта с кожей бывает достаточно для сенсibilизации [36, 132, 140]. Возникновение заболевания может быть обусловлено не только контактом соединений хрома с кожей, но и проникновением их в организм ингаляционным путем, с поражением дыхательной и пищеварительной систем. В редких случаях поражаются почки и печень [29, 36, 42]. Бихроматы обладают свойствами угнетать ферментные системы энергетического тканевого обмена, нарушая тем самым тканевое дыхание, понижают иммунологическую реактивность организма [35]. Соединения хрома также обладают канцерогенными свойствами [152]. Опасность воздействия хрома из окружающей среды на организм человека нередко с самого начала не представляется во всей своей полноте вследствие обширной области его применения [5, 9, 19, 28, 31, 39, 89, 146, 178]. Соединения хрома весьма широко применяются в современном производстве, например, в металлургии с целью хромирования стали и чугуна, так как при добавлении 12–18 % хрома сталь становится нержавеющей [4]. Соли хрома входят в состав пигментов различных красок. В художественные, школьные, печатные краски частично включен хром. Хромосодержащие очистительные пасты, средства для удаления ржавчины и препараты для облагораживания поверхности металлов изготовлены с использованием хромовой кислоты или бихромата калия [4, 36, 43]. В фотографии широко применяются хромовые квасцы, бихромат калия. Экзема может возникнуть у лиц, проявляющих кино- и телеплемки, при проверке качества снимков вследствие контакта с закрепленной пленкой [4]. В офсетной печати сенсibilизация хромом печатников и подсобных рабочих развивается в процессе зеленого травления или травления цинком. Сенсibilизация хромом возможна при выполнении копировальных работ, приготовлении печатных пластин [28].

Соли хрома используются для протравы древесины и полировки мебели. Могут вызывать экзему хромовые добавки к желтым и зеленым краскам, которые входят в состав защитных средств древесины [31]. Бихромат калия применяется в пробах для определения качества молока, поэтому у работников молочных пунктов может возникнуть экзема. Экзему от воздействия солей хрома можно наблюдать у пекарей, так как некоторые низкие сорта муки содержат незначительное их количество [4, 36]. Хром, содержащийся в одежде, может быть причиной развития контактной экземы. Потливость, как разрешающий фактор, при этом играет главную роль. Молочная кислота, входящая в состав пота, способствуют выделению солей хрома из кожаных изделий [43].

После хрома среди металлов никель чаще всего вызывает аллергию. Чистый никель редко является сенсибилизатором кожи, эти свойства присущи его солям, главным образом серноокислым [4, 10, 56]. Непрофессиональный контакт с никелем может приводить к развитию аллергических дерматозов (использование принадлежностей одежды, украшений, некоторых бытовых предметов – подвязок, браслетов, ручных часов, булавок, цепочек, оправ от очков, авторучек, дверных ручек, вязальных спиц, ножниц, металлической посуды, режущих – металлических монет) [36, 47, 61, 100]. Иногда наблюдаются поражения волосистой части головы (контакт со шпильками для волос), подошв (наличие соединений никеля в обуви), а также слизистых оболочек – стоматиты и глосситы (воздействие никелированных зубных протезов), хейлит (вследствие привычки брать в рот никелированные булавки) [58]. Никель находит широкое применение в различных отраслях промышленности. Контакт с никелем возможен в электропромышленности, на часовых фабриках, в производстве искусственных украшений. Профессии, опасные по возможности развития «никелевой экземы»: парикмахеры (контакт с никелированными ножницами и щипцами), официанты (контакт с никелированными столовыми приборами), портные (контакт с никелированными частями швейных машин и швейными иглами), кассиры (контакт с никелированными монетами), врачи и медицинские сестры (контакт с никелированными медицинскими инструментами) [15, 47, 57, 61]. У рабочих

гальванических цехов под влиянием солей никеля нередко развиваются контактный аллергический дерматит и экзема [47]. Никелевый дерматит может быть начальным симптомом общей сенсибилизации к никелю. Следует иметь в виду ингаляционный путь поступления никеля в организм при курении, так как табак и табачные изделия содержат этот металл [33, 179].

Как и у больных с аллергией к никелю, кобальтовые дерматозы чаще встречаются в последние десятилетия. Среди больных экземой обнаружены положительные эпикутанные тесты к этому металлу у 4,5–9,5 % обследованных лиц [47, 61, 76, 129]. Поражения кожи от воздействия кобальта развиваются в основном у лиц, работающих с соединениями кобальта в течение 1–5 лет. Чаще всего развивается экзема и реже – аллергический дерматит с локализацией поражений на кистях и предплечьях, иногда на лице, голенях и туловище [16, 48, 163]. По действию на кожу кобальт близок к никелю, так как никелевые руды имеют в своем составе кобальт. Поэтому, в некоторых профессиональных группах отмечают комбинированную сенсибилизацию никелем и кобальтом [36, 67]. Кобальтовая аллергия у мужчин чаще сочетается с аллергией к хрому, тогда как у женщин она сочетается с аллергией к никелю [88, 139]. Мелкодисперсный металлический кобальт и его соли оказывают резорбтивно-токсическое, раздражающее и сенсибилизирующее действие с развитием хронических воспалительных процессов верхних дыхательных путей, функциональных нарушений органов пищеварения и центральной нервной системы, изменений в крови [155, 177]. Соли и окиси кобальта имеют красивую окраску (голубую, красную, зеленую, коричневую, черную), и используются уже давно в качестве красителей стекла и эмали. Примеси кобальта определяются в окружающей среде при производстве красящих средств (пигменты, сиккативы), химической продукции (лабораторные реактивы, катализаторы), удобрений (прудное хозяйство), эмалей (глазури), твердых сплавов (легирование, спекание), керамики (краски, глазури, осветление тонов), вспомогательных веществ (при изготовлении сталей), никеля (как составная часть кобальта благодаря минералогической ассоциации) [28, 36, 40]. Большое количество кобальта содержится в цементе,

минеральных маслах. Кобальтсодержащие кормовые смеси для животных (жвачных) явились причиной возникновения экземы у работников, ухаживающих за скотом. Цемент, металлический и кобальтовый ускоритель являются самой частой причиной аллергических дерматитов от кобальта [158]. Сплавы металлов для инструментов, применяющихся в стоматологии, хирургии и ортопедии (костный гвоздь, суставные шарики, костные пластинки и винты), могут содержать большое количество кобальта. Известны случаи аллергических поражений кожи от цветной татуировки, в состав которой входили соли кобальта [7, 34, 154]. Некоторые лекарственные средства (цианокобаламин, коамид и др.) имеют в своем составе соединения кобальта. Части зубных протезов и металлические зубы включают значительные количества кобальта. Специалистам-мойщикам с аллергией к кобальту следует избегать моющих и очистительных средств [54, 104, 156].

Кобальтовые дерматозы возникают у рабочих керамического и фарфорового производства, гончарной, стекольной, химической, электрической, вольфрамо-карбидной промышленности, при позолоте металлов, добыче и очистке кобальтовой руды [47].

1.1.2 Проницаемость кожи для соединений металлов тяжелой группы

Причины контактных аллергических дерматозов достаточно ясны и могут быть подтверждены специальной провокацией соединениями металлов с помощью скарификационных и аппликационных кожных проб, а также с помощью лейкоцитарных и лимфоцитарных реакций в ответ на введение антигена. Наиболее точными тестами могут служить иммунные реакции, где в качестве провокационной пробы используются специфические антитела к металло-белковым комплексам кожи [71, 93]. Справедливо считают, что пусковым моментом сенсibilизации кожи является факт нарушения ее барьерной функции [28, 122, 166]. Нарушение барьерной функции кожи первоначально создается за счет ошелачивания эпидермиса смесью пыли, пота, кожного сала

[128, 138]. С помощью радиоактивных изотопов (Cr^{54}) определено, что скорость проникновения в кожу шестивалентного хрома составляет около 5×10^{-7} см/сек, но она изменяется в зависимости от концентрации и pH среды [28].

Тяжесть развития аллергических дерматозов тесно связана с периодом прямого контакта человека с частицами металлов. Чем больше этот период, тем выше частота тяжелых форм дерматозов. Исследования проницаемости кожи для химических соединений, особенно содержащих металлы, пути проникновения веществ через эпидермальный и дермальный слой, особенности распределения в этих слоях, пути и механизмы эвакуации металлов являются предметом первоочередных задач в дерматологии. Большинство авторов указывает на недостаточность разработок этих задач, несмотря на публикации обобщающих работ [28, 29, 64, 68]. Установлено, что химические соединения металлов способны проникать в глубокие слои кожи через каналы волосяных фолликулов, выводные протоки сальных и потовых желез, а также трансэпидермально (через межклеточный матрикс или через цитозол клеток) [38, 72]. Ряд соединений металлов способны проникать в глубокие слои кожи через межклеточные щели величиной 100–200Å. Для соединений металлов, хорошо и быстро проникающих через кожу, прямой зависимости между величиной молекулярной массы и скоростью проникновения не обнаруживается. Общая закономерность транслокации вещества заключается в том, что в течение первых 5 минут после попадания ингредиента на кожу происходит его преимущественное проникновение в эпидермис через придатки кожи. В последующий период в течение суток трансляция вещества происходит трансцеллюлярно и интерцеллюлярно [47, 55, 114]. В ходе пенетрации химических соединений в коже большая часть их быстро эвакуируется либо обратно через роговой слой, либо через сосуды сосочкового слоя дермы в общий кровоток. Меньшая часть элементов соединения становится резидентной и обеспечивает процесс сенсибилизации в течение нескольких суток. Определенная доля попавшего ксенобиотика вступает в прочные химические связи со структурами кожи, становится его постоянной частью [27, 91]. Транслокация

ионов металлов в глубокие слои собственно дермы может происходить не только через роговой слой, но и сосудистую сеть сосочкового слоя кожи [130].

Установлено, что скорость проникновения в кожу шестивалентного хрома составляет около 5×10^{-7} см/сек. Установлена также зависимость количества проникшего через кожу хрома от концентрации и экспозиции. При нанесении на эпидермальную поверхность кожи брюшной стенки лабораторной крысы 10 %-ного раствора хромового ангидрида на 3 часа среднее количество проникшего через кожу хрома составляет $(0,11 \pm 0,02)$ единицы. При снижении концентрации в 20 раз (до 0,5 %) и увеличении экспозиции в 6 раз (с 3 до 18 часов) среднее количество проникшего через кожу хрома достигает $(0,18 \pm 0,04)$ единицы [29].

Процессы поэтапного проникновения некоторых металлов через все слои кожи от живых клеток эпидермального слоя до капилляров сосочкового слоя может представлять собой и активный перенос. Задержка транспорта металлов может быть объяснена образованием новых биомолекул в белковых или липидных структурах кожи, захватом резидентными клетками [36, 184].

Однонаправленность транспорта солей никеля, хрома, кобальта от дермы в эпидермис была установлена исследованиями Ф. И. Колпакова и соавт. и связывалась с функцией рогового слоя (кожный барьер). Изнутри наружу хрома проникает в 3,6 раза больше, чем снаружи внутрь. Через внутреннюю поверхность изолированного эпидермиса свода стопы соединения хрома проникают в 7 раз меньше, чем через кожу живота. Тогда как проницаемость ногтевых пластинок и изолированного эпидермиса свода стопы для шестивалентного хрома одинакова [28, 87]. Предполагается, что однонаправленность транспорта антигенов-ксенобиотиков может быть связана с активным переносом одновалентных ионов в клетке с помощью Na^+ -, K^- -, АТФ-азы от апикальной поверхности в сторону базальной мембраны [46].

Важными исследованиями следует считать прижизненное изучение распределения и эвакуации металлов в коже. Поскольку время кумулирования и

периода полувыведения металлов играют важную роль в развитии реакции гиперчувствительности замедленного типа, прижизненный контроль этих характеристик в коже дает в руки исследователей возможности регуляции этих процессов и попыток сокращения времени выведения [24, 45, 59, 74, 119, 187].

На сегодняшний день достоверно установлено, что скорость эвакуации металлов из кожи различна и зависит, главным образом, не от их атомной массы и радиуса электронной оболочки, величины потенциала электроотрицательности, а от способности вступать в связь с белковыми коллоидами [47, 168].

Определение проницаемости кожи человека проводилось на здоровых людях, которым ставились по особой методике кожные пробы с никелем. Гистохимическое исследование кожи показало, что никель обнаруживается в верхней его части в виде вишнево-красной полоски, а также проникает в отдельные волосяные фолликулы и волосы [38, 40, 153].

Сенсибилизация кожи меняет в ней направленность и интенсивность эвакуации металлов. В случае развития экзематозного процесса, когда формируются секвестры межтканевых потоков и блок сброса жидкости в лимфатическое русло, перераспределение металлов в эпидермальном слое происходит от внеклеточного пространства в клеточное, то есть в кератиноциты. Таким образом, конвекционный путь выведения металлов сменяется медленным диффузионным процессом [20, 47, 190].

Установлено, что с ростом степени сенсибилизации кожи растет и величина проницаемости рогового слоя. При глубоком проникновении в кожу соединений металлов формируется реакция немедленного типа, проявляющаяся в быстрой дегрануляции базофильных лейкоцитов. Степень выброса ферментативных гранул из клеток зависит от степени сенсибилизации кожи, а также от вида металла. При нанесении на кожу хлорида хрома количество сильно дегранулированных клеток резко возрастает и составляет более 67 %, против 24 % в контроле [41, 53]. Однако, механизмы трансэпидермального поступления химических ингредиентов, а также механизмы утилизации и эвакуации металлов

из глубоких слоев дермы изучены в неполном объеме и требуют дальнейших исследований в этой области [8].

1.1.3 Иммунологические механизмы развития аллергических дерматозов

Патогенез контактных аллергических дерматозов (дерматита, экземы) определяется механизмом неадекватной иммунной реактивности в результате развития реакций гиперчувствительности немедленного и замедленного типа и иммунологической толерантности. Независимо от пути попадания в организм металлы (бихромат аммония, бихромат калия, сульфит и хлорид никеля, соли и окиси кобальта и др.) выступают в качестве гаптенов, соединяются с сывороточными и тканевыми белками и вызывают активацию клеточного и гуморального иммунитета [1, 4, 9, 32, 55, 95, 159].

При кумулировании элементов металлов в коже и их элиминации возникает индукция иммунного ответа. Длительность проникновения и дозы попадающих в кожу гаптенов и антигенов имеют важное значение в формировании направленности иммунной реакции [97].

Не меньшее значение имеет характер химических связей аллергенов с тканями-лигандами. С точки зрения профессиональных дерматозов привлекают внимание такие типы иммунных реакций как гиперчувствительность замедленного типа и иммунологическая толерантность. При контакте с металлами может формироваться длительная толерантность [9, 138, 159]. Такой тип реакции возможен при проникновении химических соединений, как в больших дозах, так и в малых. Предполагается, что длительное поступление в кожу больших доз антигенов или формирование в коже антигенных комплексов с долгоживущими белками или полипептидами приводит к блокированию рецепторного аппарата клеток, заинтересованных в иммунологической кооперации – лимфоцитов, клеток Лангерганса, нейтрофильных лейкоцитов, базофилов, моноцитов периферической крови [111, 126]. Блокирование заключается не только в нарушении метаболизма

в клетках, но и в прямом стехиометрическом экранировании на клеточных мембранах продуктов генов иммунного ответа и гистосовместимости. Прямая сорбция поверхности заблокированных мембран клеток через аффинные сорбенты способна тотчас восстановить нормальные взаимодействия лигандов с рецепторами клетки [173].

Полностью доказан феномен утилизации соединений металлов клетками Лангерганса [41]. Установлено избирательное накопление металлов в КЛ [24, 92, 102]. Инкубация эпидермиса в растворах хлористого никеля, кобальта, ртути или золота приводит к избирательному накоплению металлов в цитоплазме КЛ. Характер эвакуации этих металлов из кожи соответствует динамике убывания металлов из клеток Лангерганса [46]. Соответственно разной скорости элиминирования металлов из КЛ соответствует и различная степень сенсibilизации кожи. Чем дольше находится соединение металла в КЛ, в эпидермоцитах или межклеточном матриксе, тем выше степень сенсibilизации ткани, тем разрушительнее протекают иммунные реакции между клетками и в межклеточном коллоиде. Принято считать, что, если внедренное в кожу соединение не попадает в резидентные макрофаги, то такое соединение является инертным или обладает высокой степенью биосовместимости [28, 107, 160]. Считается, что дальнейший путь продвижения металлов в коже заключается в их доставке в лимфатические узлы, в определенной степени он связан с миграцией клеток Лангерганса (вуалевидные клетки) в региональные лимфатические узлы. Такая доставка провоцируется массивным выходом резидуальных макрофагов и нейтрофилов в очаг воспаления через эндотелий сосудов и межэндотелиальные щели [24, 92, 147]. Такая возможность создается благодаря каскадной реакции в результате массового иммунного разрушения клеток Лангерганса, макрофагов, нейтрофилов с выходом фракций вазоактивных ферментов, простагландинов в межклеточное пространство. При исследовании взаимоотношений активности клеток Лангерганса и скорости развития сенсibilизации представляет интерес разработка методов регулирования сорбционной активности клеток, а также создание условий, при которых комплексы металлов в коже становятся

недоступными в качестве субстрата для клеток адгезии [1, 41, 131].

Очень низкие дозы гаптенных или антигенных формируют особый пул лимфоцитов, способный подавлять вторичный иммунный ответ [169]. Прекращение поступления антигенов или гаптенных трансэпидермально или другими парентеральными путями снимает феномен толерантности. Отмена толерантности может происходить на всех этапах формирования первичного и вторичного иммунных ответов [30, 42].

Антигены или гаптены, глубоко проникшие в кожу и прочно связавшиеся с ее структурами, длительно элиминируются. Попытки ускорить эвакуацию металлов из глубоких слоев эпидермального и дермального компонентов встречают известные трудности. На результаты клиренса значительное влияние оказывают физико-химические свойства рогового слоя, pH межклеточного матрикса [13, 73]. Активность гаптенных придает их химические группировки с высоким положительным или отрицательным зарядом. Известны попытки добиться диссоциации комплексов «тканевый белок – металл». В тех случаях, когда вновь образованные комплексы малоустойчивы и быстро транслируются из кожи в общий кровоток, характерен выраженный токсический эффект (возможно развитие токсидермии). Металлы, способные в глубоких слоях дермы прочно связываться с долгоживущими белковыми структурами (например, коллагенами), формируют реакцию гиперчувствительности замедленного типа. Токсический эффект соединений металлов проявляется и иммуносупрессией [35, 101, 162]. В зависимости от длительности и дозы попадающих в кожу соединений, последние способны блокировать функцию клеток адгезии, выработку лимфоцитами и резидуальными макрофагами регуляторных цитокинов, подавление пролиферации, дифференцировки и трансляции хелперного пула Т-клеток, активацию природных и примированных киллерных клеток, подавление стадий продуктивного иммунного ответа [35, 172].

При сравнительном изучении количества КЛ и плотности экспрессии HLA-DR-антигенов на их поверхности при контактном аллергическом дерматите было установлено, что плотность экспрессии HLA-DR-молекул прямо

пропорциональна количеству КЛ и их распределению в эпидермисе. Было также установлено, что у больных контактным аллергическим дерматитом количество КЛ и экспрессия HLA-DR-антигенов достоверно превышала аналогичные показатели у здоровых обследуемых. В случае же больных контактной экземой эти показатели, напротив, были снижены по сравнению с контрольной группой [24, 77, 97]. Образовавшийся комплекс стимулирует КЛ, которые начинают выделять различные медиаторы воспаления: интерлейкин-1,-2,-3, гранулоцито-моноцитарный стимулирующий фактор, оказывать стимулирующее действие на Т-супрессоры и киллеры [29, 140]. Происходит сложное взаимодействие антиген-представляющих КЛ, субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, кератиноцитов посредством медиаторов воспаления (лимфокинов, интерлейкинов). Выделение лимфокинов усиливает афферентные воспалительные реакции, вызывая миграцию в очаг полиморфно-ядерных лимфоцитов. Эти неспецифические и защитные иммунные реакции в конце концов приводят к тотальному угнетению звеньев Т- и В-клеточного иммунитета, угнетению синтеза IgA, IgM, IgG. Содержание IgE и циркулирующих иммунных комплексов значительно превышает таковые показатели в контроле [24, 58, 113].

Положительным исходом контактного аллергического дерматита является элиминация антигена и прекращение аллергической реакции. При вторичных изменениях иммунитета в ответ на внедрение химических аллергенов развивается слабый иммунный ответ. Это приводит к персистенции аллергенов и еще большей дефицитарности иммунной системы. Клиническим вариантом этого этапа нарушения адаптационных реакций является развитие контактной экземы при внедрении химических аллергенов. У больных экземой в стадии ремиссии не наблюдается полного устранения иммунных изменений, а отмечаются лишь временные улучшения регуляторных и неспецифических иммунных реакций кожи. Это объясняется развившейся аутосенсibilизацией с увеличением популяции Т-лимфоцитов-эффекторов и, в меньшей степени, титра аутоантител к белкам собственной кожи [20, 46, 106].

Таким образом, литературные данные, приведенные в данном разделе,

позволяют сделать следующие выводы:

- 1) в России в последние десятилетия наиболее частой причиной сенсибилизации у больных контактным аллергическим дерматитом являются соли кобальта, никеля и хрома, которые встречаются в древесной, металлургической, медицинской промышленности;
- 2) соли тяжелых металлов проникают глубоко в кожу, формируют антигенные комплексы с белками и длительно элиминируются;
- 3) поиски новых методов воздействия на элиминацию солей тяжелых металлов является перспективным в лечении контактных аллергических дерматозов, вызванных данными антигенами.

1.1.4 Аппаратная физиотерапия больных аллергическими дерматозами

В комплексном лечении больных аллергическими дерматозами наряду с диетотерапией и медикаментозными средствами широко используется аппаратная физиотерапия: электрофорез лекарственных веществ, ультразвуковая терапия, лечение с помощью лазера.

Ультразвук – слышимые человеческим ухом высокочастотные (выше 20кГц) механические колебания упругой среды, распространяющиеся в ней в виде чередующихся переменных сжатий (уплотнений) и разрежений веществ (так называемых продольных волн). В связи с тем, что ультразвуковые волны высокой частоты интенсивно поглощаются воздушной средой и отражаются от границы воздуха с биологическими тканями, лечебное воздействие ультразвуком на кожу проводится через контактные среды: дегазированную воду, парафиновое, ланолиновое или вазелиновое масло. В физиотерапевтической практике обычно применяется ультразвук с частотой 800–900 кГц, который проникает в ткани человеческого организма, в среднем до 5 см. Механизм физиологического действия состоит из трех основных факторов: механического, теплового и физико-химического. Механическое действие определяется переменным акустическим давлением и заключается в вибрационном микромассаже тканей на

клеточном и субклеточном уровнях, повышении проницаемости клеточных, внутриклеточных и тканевых мембран. Тепловой эффект возникает вследствие трансформации механической энергии в тепловую [6, 11, 37, 60, 142].

Ультразвуковая терапия оказывает сосудорасширяющее действие, нормализует тонус сосудов, улучшает местное кровообращение, микроциркуляцию, усиливая кровотоки и лимфоток, раскрывая резервы капилляров, уменьшая их спазм и венозный застой. При воздействии ультразвука на кожу усиливаются репаративная и физиологическая регенерация в коже, повышается ее проницаемость, изменяется окислительно-восстановительный потенциал и активная реакция (рН) кожи, увеличивается интенсивность гликолитических процессов, биосинтез нуклеиновых кислот, стимулируются процессы тканевого дыхания, активизируется экскреторная функция кожи (увеличивается количество функционирующих сальных и потовых желез) – возрастает экскреция липидов и хлоридов, повышаются бактерицидные свойства, барьерно-защитная функция кожи, нормализуется ее реактивность [2, 8, 12, 37, 183].

Инфракрасные лучи излучают при вращательных и колебательных движениях внешние электроны атомов и молекул. Это движение усиливается при нагревании. Источником ИК-лучей служит любое нагретое тело, и чем сильнее оно нагрето, тем короче длина волн и больше интенсивность излучения. В физиотерапии кожных болезней используют ИК-излучение с длиной волны 780–1400 нм. Большинство лучей данного спектра проникает в ткани организма на глубину 3–4 мм и только четвертая часть их проходит глубже (до 4 см). ИК-лучи называют тепловыми, так как поглощаясь тканями организма, они трансформируются в тепловую энергию, возбуждают терморепцепторы кожи, импульсы от которых поступают в терморегуляционные центры и вызывают терморегуляционные реакции [17, 22, 99]. Сосудистая реакция характеризуется фазностью. Кратковременная, нередко выраженная фаза спазма, вскоре сменяется фазой активной гиперемии. При этом повышается местная васкуляризация тканей, во много раз возрастает количество циркулирующей в них крови. Тепло, являясь катализатором, активизирует биохимические процессы в тканях. Под

влиянием ИК-излучения улучшается обмен веществ, трофика, ускоряются окислительные процессы [8, 17, 151, 154]. Коротковолновые ИК-излучения вызывают также слабый фотохимический эффект, изменяют чувствительность кожи – повышают тактильное и снижают болевое чувство. Анальгезирующее их действие обусловлено снижением чувствительности рецепторов, удалением продуктов метаболизма, понижением мышечного тонуса, снятием спазмов. Повышение местного лейкоцитоза и фагоцитоза, стимуляция иммунологических процессов, болеутоляющее действие, усиление проницаемости сосудов, рассасывание и удаление продуктов метаболизма обуславливают противовоспалительный эффект [8, 25, 50].

1.2 Хитозан – природный биополимер многоцелевого назначения

1.2.1 Механизмы действия хитозана и его химических производных на кожные покровы

В последнее время широко стали изучаться свойства и перспективы применения природных биополимеров хитина и хитозана [42, 46, 69, 109]. Хитин является основным компонентом панцирей крабовых и структурным полимером клеточной стенки некоторых грибов.

Биополимер хитин, обладает высокими сорбционными свойствами. Эти свойства обусловлены особенностями строения его молекул. Структурным звеном хитина является ацетилгликозамин, аминная группа которого расположена в положении С2. Структурные единицы биополимера соединены между собой кислородным мостиком β -гликозидной 1,4-связью и поочередно развернуты на 180° , образуя жесткую цепочку с периодом идентичности $10,4\text{\AA}$. Таким образом, хитин построен аналогично целлюлозе, но отличается от нее тем, что в положении С2 вместо ОН-группы имеется ацетильная (NHCOCH_3) группа (рисунок 1).

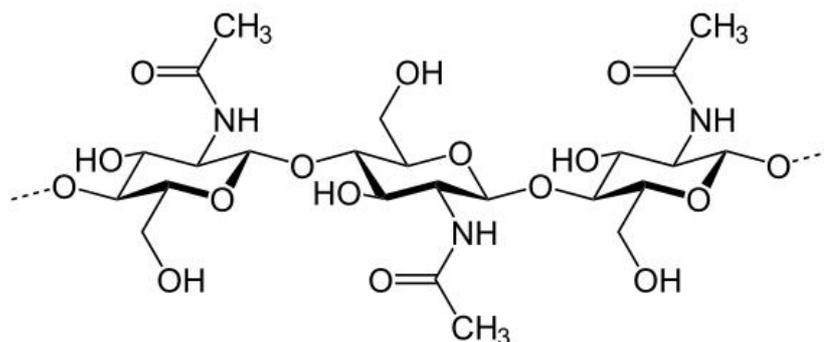


Рисунок 1 – Строение молекулы хитина

Хитозан является продуктом деацетилирования хитина и имеет ту же кристаллическую решетку, что и хитин, но меньшую упорядоченность макромолекул, а также активные аминогруппы, благодаря которым хитозан может прочно связываться с различными веществами [49, 80, 85, 118, 135].

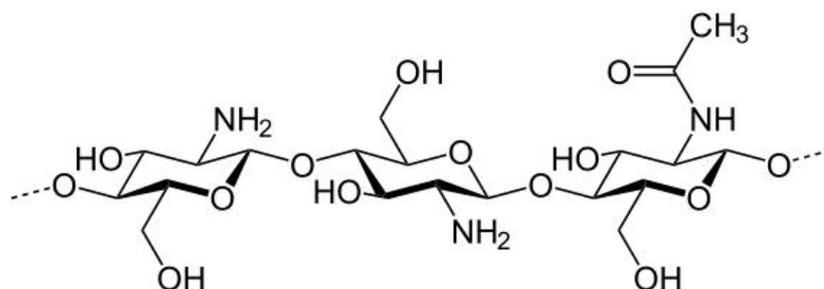


Рисунок 2 – Строение молекулы хитозана

Низкая токсичность хитина и хитозана позволяет использовать их в медицине для получения различных медицинских препаратов и изделий с пролонгированным действием. Волокна на основе хитина применяются в качестве хирургических нитей, ускоряют заживление ран, деградируют в организме, не оказывают аллергического действия, заменяют большие по площади ожоговые раны, входят в состав других биополимеров в качестве искусственной кожи [44, 149, 167]. В эксперименте длительное вскармливание

хитозаном животным в течение 12 месяцев не изменяло их внешний вид: животные были активны, шерстный покров оставался нормальным, состояние зубов и глаз не выходило за рамки обычного их состояния. Гематологические показатели не имели существенных отклонений от контроля и нормы. Это указывает на интактность крови к потреблению хитозана в составе диеты [84, 96, 174]. При изучении кинетики водорастворимого меченого ^{125}I -хитозана при условии введения его в циркуляторное русло (внутривенно) было установлено, что высокоочищенные низкомолекулярные полимеры с молекулярной массой меньше 5 кДа обнаруживают быстрый клиренс в крови уже через 1 час после введения. Уровень в плазме через 1 час после введения составлял для хитозана с Мм меньше 5 кДа – $(32,2 \pm 10,5) \%$, с Мм больше 10 кДа – $(26,0 \pm 0,5) \%$. Кумуляция в печени значительно зависела от молекулярной массы: $(26,5 \pm 4,9) \%$ от введенной дозы составлял хитозан с Мм меньше 5 кДа и $(82,7 \pm 1,9) \%$ – для хитозана с Мм больше 10 кДа. Подтверждено, что низкомолекулярные водорастворимые хитозаны не кумулируются в печени [46, 79, 136].

Введение экспериментальным мышам внутрибрюшинно водорастворимого меченого хитозана показало, что полимер быстро выводился почками, его следы обнаруживались в печени, селезенке, плазме крови и жидкости полости брюшины. Максимальное выведение хитозана с мочой констатировалось через 14 часов от момента инъекции. Эти результаты характерны только при условии применения низкомолекулярных образцов полимера [94, 108, 143].

Кроме выраженных сорбционных свойств, хитозан обладает противовоспалительными, регенерирующими, антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами [83, 123, 161].

При изучении распределения полимеров в клеточных взвесах отмечается, что гранулоциты и макрофаги способны аккумулировать хитин и его продукты на своей клеточной поверхности. Активируется большинство функций макрофагов, включая супероксидную продукцию и синтез цитокинов (интерфероны, интерлейкин-1, колониестимулирующий фактор). Хитозан может быть использован как важный иммунопотенциатор для предупреждения

иммуносупрессии [180]. Модулирующий эффект распространяется на фибробласты (пролиферация и синтез коллагена), клетки эндотелия, полиморфноядерные лейкоциты (фагоцитоз) и Т-клетки (хелперная и цитотоксическая функции). Хитин и его дериваты, как правило, не увеличивают пролиферацию культуры фибробластов [174, 182]. Было выявлено, что супернатант культуры дермальных фибробластов, стимулированных хитином и его дериватами, индуцировал образование ИЛ-8. Однако хитин и его дериваты не стимулировали индукцию ИЛ-6 мышинными фибробластами из первичной культуры дермальных клеток. ИЛ-1-альфа, ИЛ-1-бета и ФНО-альфа не определялись в супернатате фибробластов. Результаты показали, что усиление пролиферации фибробластов может быть вызвано *in vivo* непрямым воздействием полимера. Было обнаружено *in vivo*, что образование эндотелия сосудов и миграция нейтрофилов происходит благодаря усилению выделения ИЛ-8 из фибробластов [82, 105, 122, 175]. Иммунопотенцирующий результат действия хитозана обуславливает высокую резистентность к золотистому стафилококку и кишечной палочке. Очень важно, что эффект иммуностимуляции на порядок выше при использовании водорастворимых продуктов хитина, чем водонерастворимых [105, 145]. В настоящее время выпускается хитозан в форме гелевого раствора и водорастворимого порошка [124]. Получение водорастворимых форм хитозана привело к широкому использованию их в косметике в качестве гелеобразователя, увлажнителя, пленкообразующего и противовоспалительного средства. Хитозан используется в составе кремов, шампуней, гелей для душа, жидкого мыла, гелевых зубных паст, средств для укладки, завивки, а также лосьонов для волос. Учитывая интерес косметологов к водорастворимым формам хитозана, ВНИРО совместно с институтом тонкой химической технологии разработал лабораторный регламент и создал технологию получения водорастворимой формы хитозана, на которую зарегистрирован гигиенический сертификат использования в составе косметических средств. Эмульсии с содержанием сукцината хитозана до 0,7 % и объема масляной фазы от 18 % при pH $4,0 \pm 0,1$, в условиях микроэмульгирования являются стабильными в

течение предусмотренного ГОСТ 29-189-91 срока хранения. Степень проявления сукцинатом хитозана свойств эмульгатора и загустителя связана с качеством исходного сукцината хитозана. Результаты косметологических исследований показали, что сукцинат хитозана не обладает раздражающим, аллергическим действием и рекомендован для использования в составе косметических средств, предназначенных для ухода за сухой, увядающей кожей лица, а также в составе средств, оказывающих ранозаживляющее и противовоспалительное действие (гигиенический сертификат № 2-809 от 08.09.1993). Разработаны и утверждены технические условия и технологический регламент на сукцинат хитозана. Привлекательность эмульсии с точки зрения комфорта для кожи заключается в отсутствии липкости, наличии эластичности продукта. В отличие от ланолина он хорошо впитывается, не оставляет жирного блеска, позволяет оптимизировать соотношение между жирностью и влажностью кожи, что является явным преимуществом применения сукцината хитозана в косметических препаратах [120, 125, 170, 185].

1.2.2 Связывание хитозана с молекулами тяжелых металлов и их солями

Хитозан, хитин и их производные образуют прочные хелатные связи с металлами, вследствие чего селективно извлекают ионы ртути, кобальта, хрома, никеля, золота, серебра, иридия, палладия, свинца, кадмия, железа и других металлов из сточных вод, солевых растворов и морской воды [49, 63, 137]. Биосорбенты на основе этих полимеров обладают высокой степенью извлечения ионов металла из разбавленных растворов с концентрацией менее 1 мг/л [150]. Установлено, что атомы углерода, содержащие аминогруппы в линейном полимере, являются не единственными точками реакции с молекулами металла. В процессе сорбции участвуют и не реактогенные группировки глутаральдегида [171]. Ряд авторов получал конъюгат хитозана с аминокислотными остатками, соединяя его с карбоксильной группой глиоксиликовой кислотосодержащей

единицей. При этом степень извлечения тяжелых металлов возрастала [49].

На основе хитина и хитозана получены ионообменники, обладающие высокой обменной емкостью. Хитозан образует с медью комплекс, который используется в качестве инициатора винильной полимеризации метилметакрилата и акрилонитрила. Хитин и хитозан представляют перспективы для создания новых технологических процессов по выделению актиноидов [3, 65, 74].

Хитин, получаемый обычным способом из большинства грибов, представляет собой не индивидуальное вещество, а комплекс хитина с β -1,3-глюканом, который называют хитин-глюкановым комплексом. Было обнаружено, что грибная масса некоторых простейших грибов извлекала из раствора в течение первых 5 минут до 72,75 % кадмия. Особенно активное извлечение тяжелого металла наблюдалось при низких значениях pH (3,0–5,0) [84, 188].

Изучена сорбция меди и урана на аллилхитозане в зависимости от поглощенной дозы. После облучения емкость аллилхитозана к обоим катионам увеличивается, что связано с его радиационно-химическими превращениями, в результате которых возникают дополнительные центры сорбции – карбоксильные группы. Облучение изменяет и кинетику сорбции: скорость сорбции уменьшается, и тем существеннее, чем выше степень замещения. Это может быть связано с уплотнением надмолекулярной структуры аллилхитозана [3, 66]. Ряд авторов получали конъюгат хитозана с аминокислотными остатками, соединяя его с карбоксильной группой глиоксиликовой кислотосодержащей единицей хитозана. В результате такой реакции конъюгат удалял из растворов тяжелые металлы: медь, никель, кобальт, марганец. При присоединении к хитозану аминокислоты, извлечение тяжелых металлов возрастало [3, 164].

При изучении механизмов сорбции ионов тяжелых металлов на хитине и хитозане авторы отталкиваются от концепции центральной роли атома азота первичной аминогруппы полимера. Азот несет свободную электронную пару, способную к координации с атомами металлов. В растворе аминогруппы полисахаридов ведут себя как сильные основания Льюиса [7, 18].

Образовавшаяся связь иона металла с азотом в дальнейшем усиливается взаимодействием с гидроксильными и другими функциональными группами с образованием хелатов. При этом взаимодействии принимает участие и атом кислорода от гидроксильной группы, вступающей во взаимосвязь с ионами металлов [10, 68].

Хитозан, по сравнению с хитином, обладает более высокой селективностью и сорбционной емкостью, что объясняется его значительной гидрофильностью за счет большего количества ОН-групп. Сорбции способствует и высокий уровень активных первичных аминогрупп и гибкая структура полимерных цепей хитозана. Это создает благоприятную конфигурацию для комплексообразования с ионами металлов. Степень деацетилирования хитина является важным фактором при сорбции ионов металлов [36, 191]. Кристалличность микрофибрилл может быть снижена деацетилированием. Оптимальный уровень деацетилирования для оптимальной сорбции металлов является 40–60 % [46, 144]. При увеличении числа первичных аминогрупп в молекуле хитина увеличивается число доступных сорбционных центров для металлов. При увеличении степени деацетилирования больше 60 % появляется новая кристаллическая решетка в микрофибриллах хитина, и это снижает сорбционную активность полимера по отношению к металлам.

Известны 4 механизма, обеспечивающие сорбцию металлов на примере структуры грибной клеточной стенки:

1) хелатный механизм наиболее характерен для хитиновых и хитозановых макромолекул, реакционные группы которых формируют с тяжелыми металлами прочные ковалентные и комплексные связи;

2) адсорбционное осаждение нерастворимых солей металлов на поверхности структур клеточной стенки. Это результат электростатического притяжения;

3) ионообменный механизм характерен для связывания щелочных и щелочноземельных металлов. Хитинсодержащие комплексы не сорбируют щелочные и щелочноземельные металлы. Данный механизм не имеет большого

значения;

4) слабое связывание незаряженных атомов или молекул за счет электростатического притяжения (Ван-дер-ваальсовы силы). Вклад этого механизма в сорбцию металлов незначителен.

Таким образом, производные хитозана обладают высокой сорбционной активностью в отношении металлов, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами при его низкой токсичности и способности биodeградировать [3, 10, 85, 127]. Дальнейшее изучение свойств хитозана представляет значительный интерес и является перспективным в лечении контактных аллергических дерматозов, вызванных тяжелыми металлами.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Метод изучения контактной гиперчувствительности у лабораторных животных при моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома.

Исследования проведены на кафедре дерматовенерологии с курсом косметологии и ПО им. проф. В. И. Прохоренкова (заведующий – д-р мед. наук, доцент Ю. В. Карачева) ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, КГБУЗ «Краевой кожно-венерологический диспансер № 1» и КГКУ «Краевая ветеринарная лаборатория».

Исследования проводились с соблюдением требований приказа МЗ СССР от 12.08.1977 № 775 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и правил Европейской конвенции по защите животных (Страсбург, 1986) и были одобрены комитетом по этике ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (протокол №30/2011 от 25.02.2011). Содержание животных было организовано в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 06.04.1973 № 1045-73.

Для решения поставленных задач проводились экспериментальные исследования на крысах: 128 половозрелых самца в возрасте от 2 до 2,5 месяцев и массой от 200 до 250 граммов. Количество животных было минимальным, но достаточным для решения поставленных задач. Животные были распределены на 16 экспериментальных групп (таблица 1). Исследование влияния соединений хитозана на концентрацию металлов в коже экспериментальных животных в условиях экспериментального дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома, проводилось на 9 группах экспериментальных животных (8-я, 9-я, 10-я,

11-я, 12-я, 13-я, 14-я, 15-я, 16-я группы), по 8 животных в каждой группе [20, 28, 38, 148, 189].

Таблица 1 – Распределение животных по экспериментальным группам

Номера групп	Нанесение препарата в течение 10 дней на опытный участок кожи
1-я	Нанесение 1,0 мл 5 % раствора NiCl_2 каждые 24 часа (контрольная группа)
2-я	Нанесение 1,0 мл 5 % раствора CoCl_2 каждые 24 часа (контрольная группа)
3-я	Нанесение 1,0 мл 5 % раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ каждые 24 часа (контрольная группа)
4-я	Экспозиция 1 % водорастворимого хитозана, меченного ФИГЦ в концентрации $5 \times 10^{-4}\text{M}$ в течение 1 часа
5-я	Экспозиция 1 % водорастворимого хитозана, меченного ФИГЦ в концентрации $5 \times 10^{-4}\text{M}$ в течение 2 часов
6-я	Экспозиция 1 % водорастворимого хитозана, меченного ФИГЦ в концентрации $5 \times 10^{-4}\text{M}$ в течение 24 часов
7-я	Контрольная группа – исследование естественной флюоресценции.
8-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана на кожу каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором NiCl_2
9-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана на кожу каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором CoCl_2
10-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана на кожу каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
11-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана методом фонофореза каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором NiCl_2
12-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана методом фонофореза каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором CoCl_2
13-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана методом фонофореза каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
14-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана методом фотофореза каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором NiCl_2
15-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана методом фотофореза каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором CoCl_2
16-я	Нанесение 1,0 мл 1 % водорастворимого хитозана методом фотофореза каждые 24 часа на фоне модели КАД, вызванного 5 % раствором $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Животные 1-й, 2-й и 3-й групп являлись контрольными. Для инициации контактного аллергического дерматита применяли водный раствор 5 % хлористого никеля (группа 1-я), водный раствор 5 % хлористого кобальта (группа 2-я), водный раствор 5 % двуххромовокислого калия (группа 3-я). С этой целью у всех лабораторных животных в межлопаточной области тщательно выбривался участок кожи размером $2,5 \times 2,5$ см, подготовленная поверхность кожи условно делилась на две области – левую и правую. Животным 1-й, 2-й и 3-й групп левую (опытную) область 1 раз в сутки обрабатывали растворами 5 % хлористого никеля, 5 % хлористого кобальта и 5 % двуххромовокислого калия. Для определения степени сенсибилизации организма солями никеля, кобальта и хрома на 12-е сутки эксперимента животным наносилась разрешающая доза препарата на правую (интактную) область подготовленной кожной поверхности. При получении модели контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома, проводилась сравнительная оценка клинических и патоморфологических изменений кожи лабораторных животных.

Материал из опытных и интактных участков кожи для патоморфологического исследования проводился путем фиксации биоптатов в 10 % нейтральном формалине, затем приготавливались срезы кожи. Оценка гистологических препаратов проводилась с помощью светового микроскопа OlympusBX 45 (объективом 10,40) с использованием телевизионной установки DP 25 Olympus. Морфологические исследования анализировались на гистологических препаратах, оцифрованных в редакторе AdobePhotoshopCS3. Изменения оценивали методом точечного счета. В материале определяли объемную долю гистологических элементов дермы, используя морфометрическую сетку Салтыкова с 60 равноудаленными тестовыми точками. За 100 % принимали общую площадь сканированных участков образца.

2.2 Метод люминесцентной микроскопии при изучении кинетики водного раствора хитозана в коже лабораторных животных

Для изучения кинетики 1 % водорастворимого хитозана в коже использовался метод люминесцентной микроскопии препаратами хитозана, меченного флюорохромом – флюоресцеином изотиоцианатом (ФИТЦ). Исследовался раствор 1 % водорастворимого хитозана с молекулярной массой 20 кДа, степенью деацетилирования 87 %, с ковалентной меткой – ФИТЦ в каждом десятом звене линейного полимера (ВХз-ФИТЦ). Для исключения влияния флюоресцеина изотиоцианата на кинетику хитозана проводилось изучение кинетики раствора ФИТЦ в концентрации 5×10^{-4} М.

Исследования проводились на 4 группах лабораторных крыс серии Вистар по 8 животных в каждой. Распределение в группах соответствовало времени экспозиции препаратов на коже, т. е. в 4-й группе экспозиция составляла 1 час, в 5-й группе – 2 часа, в 6-й группе – 24 часа, 7-я группа – контрольная. У всех животных область спины освобождалась от волосяного покрова и разделялась на 2 участка. На левый участок наносился ВХз-ФИТЦ, на правый – ФИТЦ. Экспериментальная область закрывалась марлевыми компрессными салфетками и фиксировалась.

Через определенный интервал времени: 1, 2 и 24 часа проводилась биопсия кожи в соответствующих группах. Изучение естественной флюоресценции проводилось на коже животных контрольной группы. Биоптаты фиксировались в нейтральном 10 % растворе формалина. Для приготовления срезов из биоптатов использовался микротом-криостат «МК-25». Микроскопия и микрофотографирование проводились с помощью люминесцентного микроскопа марки «ЛЮМАМ И-3» и устройства «ФМН-11А» непосредственно после приготовления препарата.

2.3 Определение концентрации тяжелых металлов в коже экспериментальных животных методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии

Содержание тяжелых металлов в образцах кожи определялось на атомно-абсорбционном спектрофотометре SOLAAR серии S (ThermoElectron, США).

Метод атомно-сорбционной хроматографии включал подготовку проб и непосредственное определение количественного содержания металла в пробе. Пробу минерализовали в течение 10–15 часов до получения серой золы. При приготовлении раствора для анализа в чашку с озоленной пробой добавляли азотную кислоту и нагревали на электроплите с асбестом до растворения золы.

Метод атомно-абсорбционных измерений основан на распылении раствора минерализата испытуемой пробы в воздушно-ацетиленовом пламени. Величина абсорбции света с длиной волны с соответствующей резонансной линией пропорциональна значению концентрации металла в испытуемой пробе. Для хрома длина волны составляла 357,9 нм (или 359,4 нм), для никеля 232,5 нм, а для кобальта 228,8 нм.

Определение содержания элементов в испытуемых растворах проводилось методом градуировочных графиков, которые строились по значениям сигналов абсорбции растворов сравнения.

Концентрацию определяемого элемента в каждой из двух проб проводили по формуле:

$$C = \frac{a \times v \times m}{M} \text{ мкг/г,}$$

где a – концентрация элементов в растворе, мкг/см³;

v – объём раствора пробы, см³;

M – навеска (объём) биоматериала, г (см³);

m – кратность разведения или концентрирования по отношению к первоначальному объёму.

Вычисление среднего значения концентрации определяемого элемента проводилось по формуле:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n},$$

где \bar{X} – средняя концентрация определяемого элемента;

X_i – величина определяемого результата;

n – число измерений;

$\sum X_i$ – сумма всех измерений.

2.4 Определение абсорбционных свойств водорастворимого хитозана под воздействием аппаратного ИК-излучения и ультразвука

Исследование влияния соединений хитозана на концентрацию металлов в коже экспериментальных животных в условиях экспериментального дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома, проводилось на 9 группах экспериментальных животных (№ 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 группы), по 8 животных в каждой группе.

На 20-е сутки эксперимента методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии определялась концентрация никеля, кобальта и хрома в биоптатах кожи экспериментальных животных.

Исследование влияния 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию солей никеля, кобальта и хрома в коже лабораторных животных изучалось на модели контактного аллергического дерматита у животных 8-й, 9-й и 10-й групп. Для этой цели на опытную область подготовленной поверхности кожи путем легкого втирания в течение 10 дней 1 раз в сутки наносился 0,1 мл 1 % водорастворимого хитозана (Мм 15–20 кДа, СД 87 %). У всех животных также на 20-е сутки проводилась сравнительная оценка клинических и

патоморфологических изменений кожи.

Исследование влияния фонофореза 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию металлов в коже проводилось на модели контактного аллергического дерматита у экспериментальных животных 11-й, 12-й и 13-й групп в течение 10 дней. Для этой цели использовался аппарат для ультразвуковой терапии SoleoSonoStim с возможностью подключения вакуумного модуля фирмы Zimmer (MedizinSysteme) в непрерывном режиме, частота 0,5 МГц, интенсивность $0,6 \text{ Вт/см}^2$, время воздействия 10 минут. Для приготовления контактного вещества использовался 1 мл вазелинового масла, который перемешивался с 1 % водорастворимым хитозаном (ВХз) в соотношении 1 : 1. Ультразвуковой излучатель перемещался по поверхности кожи медленными круговыми движениями со скоростью 1–1,5 см/сек. На 20-е сутки исследования проводилась сравнительная оценка клинических и патоморфологических изменений кожи лабораторных животных.

На экспериментальных животных 14-й, 15-й и 16-й групп на фоне полученного контактного аллергического дерматита в течение 10 дней проводилось исследование влияния соединений хитозана на элиминацию металлов из кожи путем применения аппаратного ИК-излучения. Использовался аппарат УЛФ–01 по контактной, лабильной методике, $\lambda - 630 \text{ нм}$, время воздействия 10 минут, мощность 10 Вт. На 20-е сутки проводилась сравнительная оценка клинических и патоморфологических изменений кожи лабораторных животных.

Материал из опытных участков кожи для патоморфологических и спектрального методов исследования проводился путем фиксации биоптатов в 10 % растворе нейтрального формалина, затем приготавливались срезы кожи. Оценка гистологических препаратов выполнялась с помощью светового микроскопа OlympusBX 45 (объектив 10,40) с использованием телевизионной установки DP 25 Olympus. Морфологический анализ проводился на гистологических препаратах, оцифрованных в редакторе AdobePhotoshopCS3.

Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований

проводилась с использованием программы Statistica версия 6.0 (StatSoft, 2003). Проверка подчинения закону нормального распределения количественных данных осуществлялась с применением критерия Шапиро – Уилка. В связи с тем, что все количественные данные не подчинялись закону нормального распределения, то их описание осуществлялось с помощью медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q₁; Q₃]). Для оценки статистической значимости различий между группами использовался критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Графические иллюстрации построены с помощью компьютерных программ MicrosoftOffice 2007, SPSS 17. Все иллюстрации созданы самостоятельно.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клинические и патоморфологические изменения кожи экспериментальных животных при моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома

У лабораторных животных 1-й группы, подвергшихся воздействию 5 % раствора никеля хлористого, на 3–4-й день эксперимента на коже на месте нанесения металла появлялась эритема. Животные проявляли беспокойство, наблюдался зуд. В последующие дни эритема усиливалась. На 9–10-е сутки эксперимента высыпания были представлены эритемой, везикулами, папулами и мелкопластинчатым шелушением (рисунок 3). При патоморфологическом исследовании образцов, взятых из опытных участков кожи животных, выявлялись: значительный отек эпидермиса, умеренный равномерный акантоз, усиленная десквамация рогового слоя, очаговый паракератоз. В сосочковом слое дермы – отек, разрыхление коллагеновых волокон, выраженная диффузная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы, представленная лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов, очаговые инфильтраты располагались преимущественно периваскулярно с экзоцитозом клеток инфильтрата в стенку сосудов. Макрофаги крупные, с обильными включениями темного цвета в цитоплазме (состояние активного фагоцитоза). Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, эндотелий набухший, в сосудах стаз (рисунок 4).

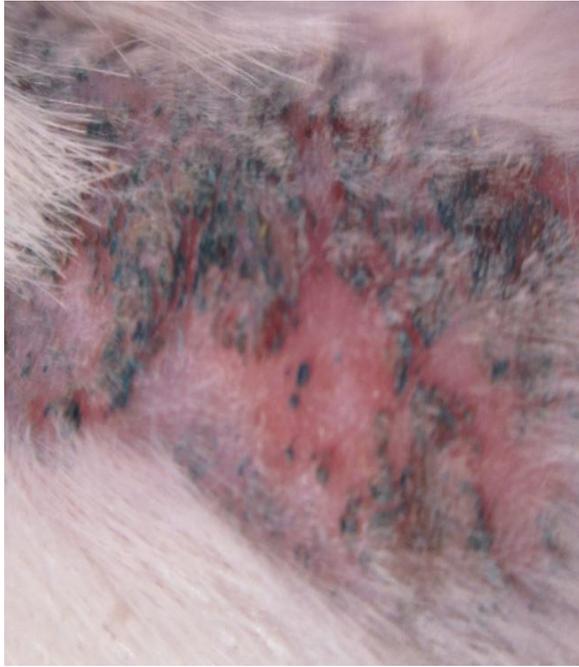


Рисунок 3 – Проявления контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля. На эритематозном фоне, единичные везикулы, мелкопластинчатое шелушение

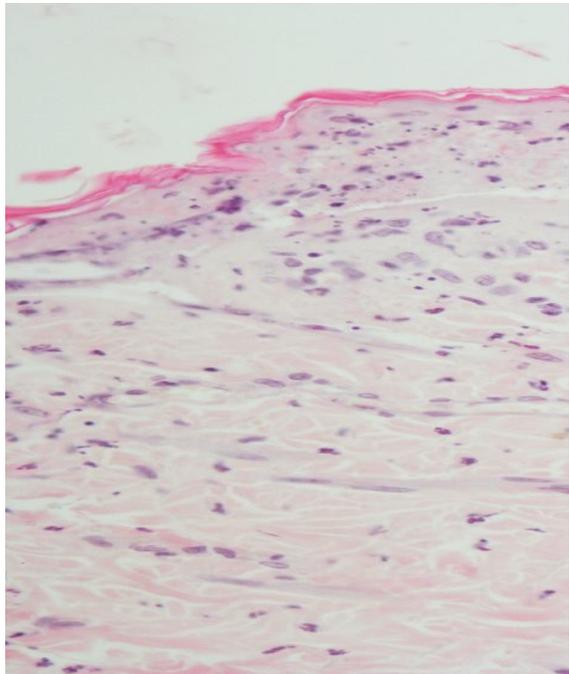


Рисунок 4 – Контактный аллергический дерматит, вызванный солями никеля. Гиперкератоз с паракератозом в эпидермисе, лимфоцитарно-лейкоцитарная инфильтрация в сосочковом слое. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

У животных 2-й группы контактный аллергический дерматит, вызванный солями кобальта, был представлен эритемой и фолликулярными папулами, которые появились на 4-й день эксперимента. На 9–10-е сутки высыпания, представленные папулами, везикулами и серозными корочками, локализовались вокруг сально – волосяных фолликулов (рисунок 5). Патоморфологическая картина у животных выявляет значительное утолщение эпидермиса, выраженный акантоз, вакуольную дистрофию в шиповатом и базальном слоях, клетки базального и шиповатого слоев – с пикнотичными ядрами, явления спонгиоза. В сосочковом слое дермы – выраженный интерстициальный отек, диффузные воспалительные инфильтраты представлены преимущественно лимфоцитами, макрофагами и полиморфно-ядерными лейкоцитами. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз крови. Выраженный перифолликулярный отек и макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация (рисунок 6).



Рисунок 5 – Проявления контактного аллергического дерматита, вызванного солями кобальта. На эритематозном фоне слившиеся папулы, везикулы, серозные корочки

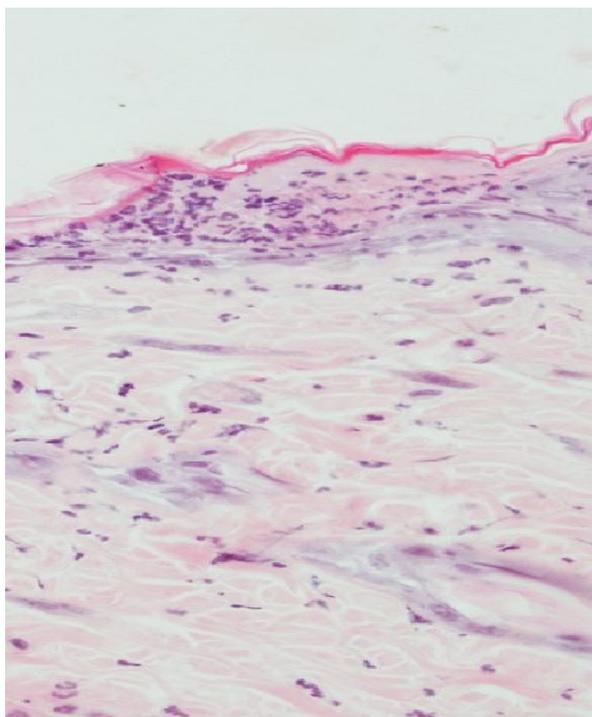


Рисунок 6 – Контактный аллергический дерматит, вызванный солями кобальта.

Выраженный акантоз, диффузный спонгиоз,
диффузные лимфоцитарно-лейкоцитарные инфильтраты в дерме.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

На гладкой коже животных 3-й группы, подвергшихся воздействию 5 % калия бихромата, на 3-й день эксперимента появилась разлитая эритема и единичные милиарные папулы. На 4–6-й день у животных на фоне эритемы наблюдались милиарные папулы розовато-красного цвета, округлой формы и единичные воспалительные папулы; на 7–8-й день эксперимента – преобладали эрозии, единичные серозные корочки. На 9–10-е сутки эксперимента высыпания, представленные эрозиями, папулами, распространились на прилегающие участки кожи. Животные стали малоподвижными и вялыми (рисунок 7). Патоморфологические изменения были наиболее выражены вокруг волосяных фолликулов, в том числе и корневой части волос, выводных протоков сальных и потовых желез, наблюдались диффузные воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы, представленные преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов,

равномерный акантоз, усиленная десквамация рогового слоя, экзоцитоз клеток инфильтрата в роговой слой с формированием корок, чешуе-корок. Воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы располагались диффузно и были представлены преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз форменных элементов крови (рисунок 8). Эти результаты свидетельствуют о выраженном раздражающем и сенсибилизирующем действии двуххромовокислого калия на кожу экспериментальных животных.



Рисунок 7 – Проявления контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома. Эрозии, язвы распространились на прилегающие участки кожи

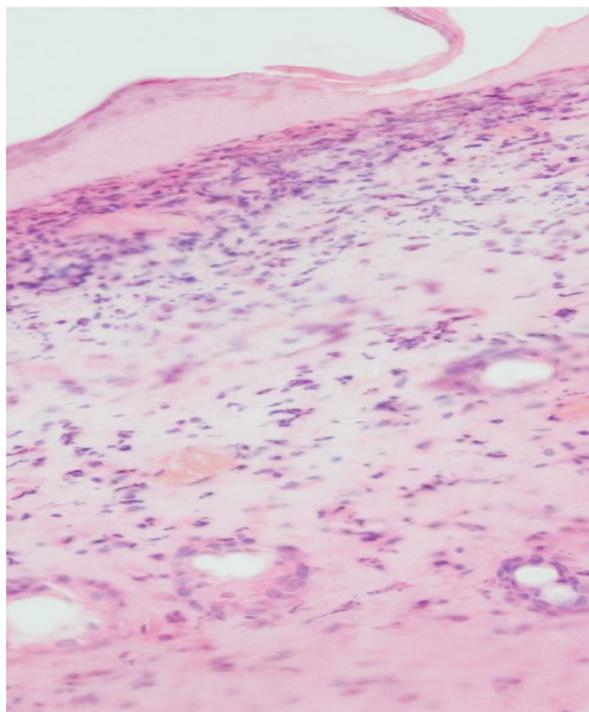


Рисунок 8 – Контактный аллергический дерматит, вызванный солями хрома. В верхних слоях эпидермиса – тканевой детрит с нитями фибрина и лейкоцитами, в дерме диффузные инфильтраты из лимфоцитов, лейкоцитов и макрофагов.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

При нанесении солей металлов на интактные участки кожи у лабораторных животных на 12-е сутки эксперимента наблюдались проявления контактной гиперчувствительности в виде эритемы.

Таким образом, на моделях контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома у лабораторных животных, можно наблюдать все стадии клинических и патоморфологических изменений кожи свойственных контактному аллергическому дерматиту.

3.2 Кинетика водного раствора хитозана в коже лабораторных животных

Исследование срезов кожи с помощью люминесцентной микроскопии

позволило определить особенности распределения 1 % водорастворимого раствора хитозана, меченного ФИТЦ, в различных слоях кожи в течение первых суток. Учитывалась естественная люминесценция кожи крысы, с которой сравнивались все исследуемые препараты (рисунок 9).

Результаты исследования проницаемости хитозана в кожу экспериментальных животных 4-й, 5-й, и 6-й групп показали, что водорастворимый хитозан свободно проникает через неповрежденную кожу преимущественно трансфолликулярно, трансгландулярно впервые 1–2 часа после его нанесения (рисунок 10). Во всех случаях через 24 часа после нанесения 1 % водорастворимого хитозана определялось его проникновение и равномерное распределение во всех слоях кожи (рисунок 11).

Распределение раствора флюоресцеина изотиоцианата (ФИТЦ) при нанесении его на интактную область носило равномерный трансэпидермальный характер. Уже в первые часы после аппликации раствор ФИТЦ накапливался в эпидермисе, далее проникая в дерму и распределяясь в ней равномерно. Через 24 часа краситель почти полностью выводился из дермы, но максимально сохранялся в клетках Лангерганса (рисунок 12.). В ультрафиолетовых лучах клетки Лангерганса в обработанных ФИТЦ срезах кожи имели слабое зеленовато-желтое свечение. Они были ясно видны на фоне нефлюоресцирующего эпидермиса в виде отростчатых флюоресцирующих клеток.

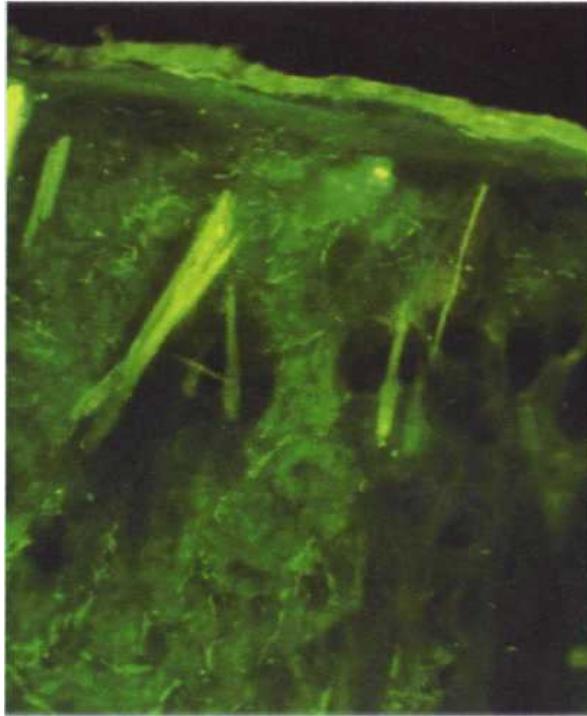


Рисунок 9 – Кожа интактного животного. Естественная люминесценция. Ув. $\times 400$

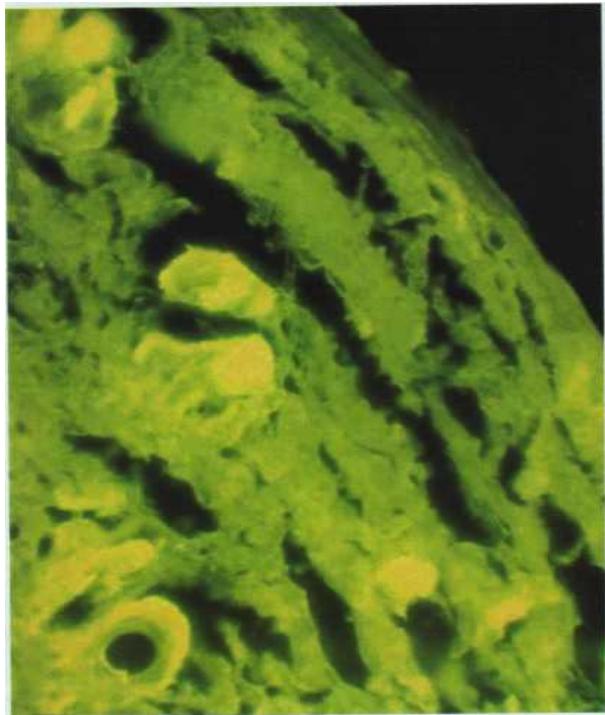


Рисунок 10 – Неповрежденная кожа экспериментального животного через 2 часа после нанесения водорастворимого хитозана, меченного ФИТЦ. Ув. $\times 400$

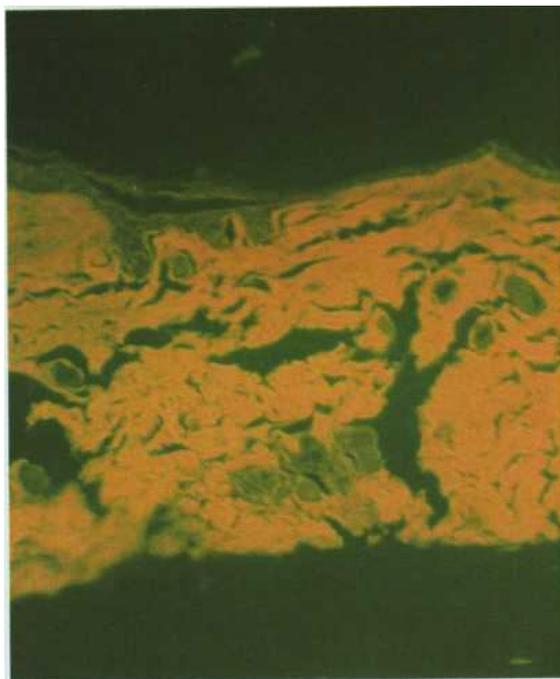


Рисунок 11 – Неповрежденная кожа экспериментального животного через 24 часа после нанесения водорастворимого хитозана, меченного ФИТЦ. Признаков воспаления, отека, стаза крови не наблюдается. Ув. $\times 400$

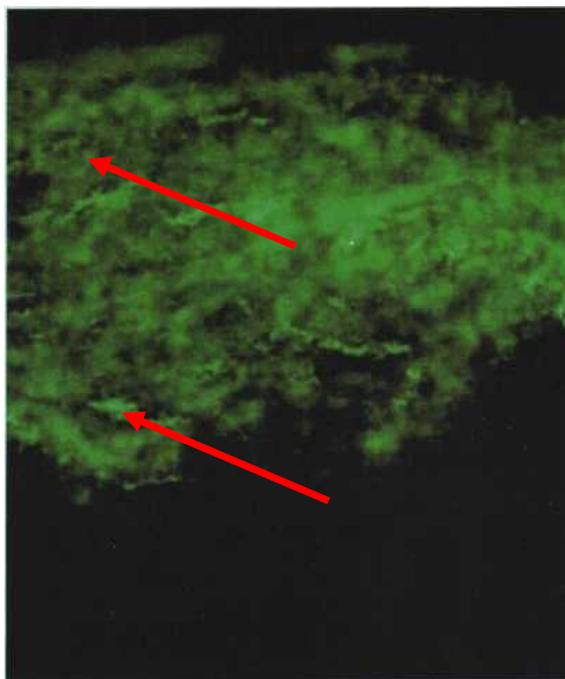


Рисунок 12 – Клетки Лангерганса эпидермиса через 24 часа после обработки кожи раствором ФИТЦ флюоресцируют и имеют вид отростчатых клеток. За одни сутки ФИТЦ выводится из дермы почти полностью. Ув. $\times 800$

Таким образом, с помощью люминесцентной микроскопии удалось выявить особенности кинетики меченого ФИТЦ 1 % водорастворимого хитозана и собственно флюоресцеина изотиоцианата в коже экспериментальных животных в течение 24 часов. Проведенные исследования показали, что водорастворимый хитозан способен проникать в неповрежденную кожу в первые 1–2 часа трансфолликулярно, трансгландулярно, трансэпидермально. Раствор ФИТЦ, применявшийся в качестве метки для хитозана, не влияет на пути, время проникновения биополимеров и характер распределения его в коже.

3.3 Клинические и патоморфологические изменения кожи экспериментальных животных на модели контактного аллергического дерматита при использовании соединений хитозана различными методами

Изучение влияния хитозана на элиминацию солей никеля, кобальта и хрома у лабораторных животных 8-й, 9-й и 10-й групп проводилось на фоне полученного контактного аллергического дерматита путем нанесения 1 % водорастворимого хитозана на опытную область кожного покрова в течение 10 дней. На 8-й день применения водорастворимого хитозана у лабораторных животных 8-й и 9-й групп патологический кожный процесс перешел в подострую стадию, степень эритемы уменьшилась, очаги мокнутия начали подсыхать, инфильтрация кожи сохранялась. У животных 10-й группы на фоне модели контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома, острые воспалительные явления на коже сохранялись в течение 10 дней. Патоморфологические изменения биоптатов кожи лабораторных животных 8-й и 9-й групп показали наличие менее выраженных признаков контактного аллергического дерматита по сравнению с контрольными группами 1-й, 2-й и 3-й. В исследуемых биоптатах определялся отек эпидермиса, умеренная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы. Очаговая периваскулярная инфильтрация дермы. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, перифолликулярная инфильтрация, эндотелий набухший, в сосудах стаз

(рисунок 13). У лабораторных животных 10-й группы выявлялись: воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы располагались диффузно и были представлены преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз структурных элементов крови (рисунок 14).

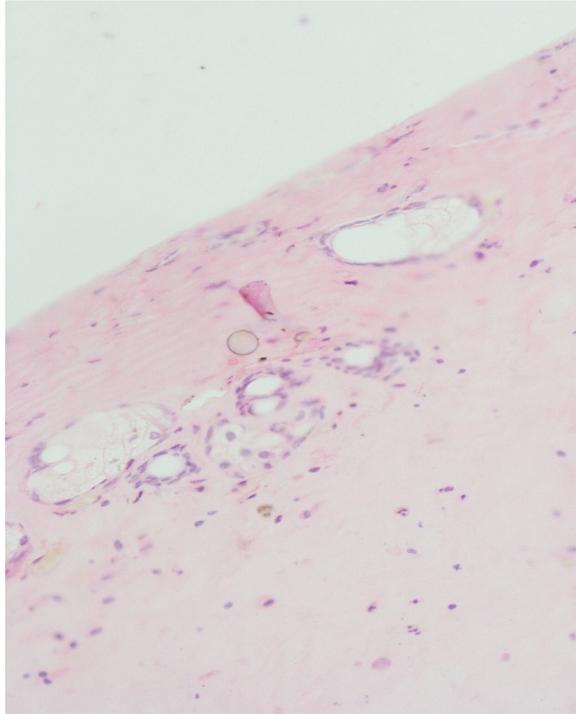


Рисунок 13 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля у экспериментальных животных после аппликационного нанесения хитозана.

Умеренная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы, в сосудах стаз форменных элементов крови. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

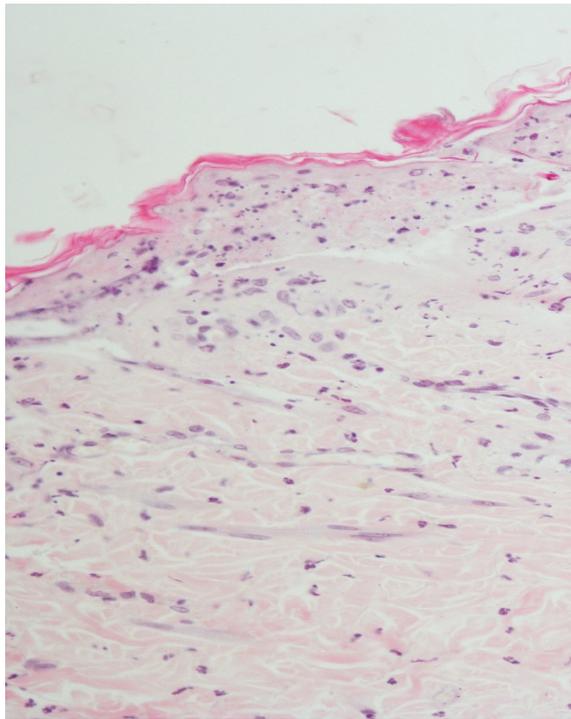


Рисунок 14 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома у экспериментальных животных после аппликационного нанесения хитозана. Воспалительная лимфоцитарная инфильтрация сосочкового слоя дермы. Сосуды расширены, стенки отечны. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

Исследования влияния фонофореза 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию металлов в коже проводили на модели КАД у экспериментальных животных 11-й, 12-й и 13-й групп в течение 10 дней.

На 6-й день применения фонофореза водорастворимого хитозана у лабораторных животных 11-й и 12-й групп на коже наблюдалось снижение степени контактного аллергического дерматита. Отмечалась умеренно выраженная эритема, сохранялись единичные папулезные и везикулезные элементы сыпи. У лабораторных животных 13-й группы клинические проявления дерматита сохранялись до 10 дня эксперимента. Патоморфологические изменения наиболее выражены были у лабораторных животных 13-й группы, подвергшихся воздействию 5 % двуххромовокислого калия. Отмечались диффузные воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы, представленные

лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов, экзоцитоз клеток инфильтрата в роговой слой с формированием корок, чешуе-корок. Воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы располагались диффузно и были представлены преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз форменных элементов крови (рисунок 15).

Исследования влияния фотофореза 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию металлов в коже проводили на модели КАД у экспериментальных животных 14-й, 15-й и 16-й групп в течение 10 дней. У экспериментальных животных 14-й и 15-й групп на 5-й день применения водорастворимого хитозана наблюдалось существенное снижение острых воспалительных явлений на коже, сохранялась эритема, единичные папулезные элементы сыпи. На 10 сутки сочетанного применения хитозана методом фотофореза клиническая картина КАД у экспериментальных животных значительно улучшилась. Нивелировались острые симптомы заболевания. На легком эритематозном фоне определялись единичные папулы, корочки и мелкопластинчатое шелушение. При патоморфологическом исследовании образцов, взятых из опытных участков кожи лабораторных животных 14-й и 15-й групп, отмечалось снижение проявлений КАД в сравнении с контрольными группами. Незначительный отек, разрыхление коллагеновых волокон, скудная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, эндотелий набухший (рисунок 16).

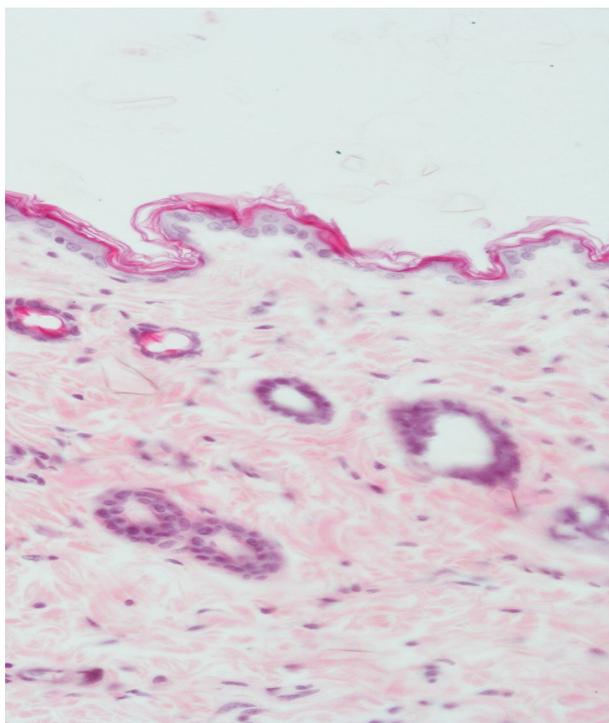


Рисунок 15 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома у экспериментальных животных после нанесения хитозана методом фонофореза.

Лимфоцитарно-лейкоцитарная воспалительная инфильтрация сосочкового слоя дермы. Сосуды расширены, стаз форменных элементов крови.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

У лабораторных животных 16-й группы, подвергшихся воздействию 5 % двуххромовокислого калия, острый период КАД начал переходить в подострый только к 16-м суткам эксперимента. У животных 16-й группы на 6–7 день использования 1 % водорастворимого хитозана методом фотофореза отмечалось снижение степени проявлений контактного аллергического дерматита. Клинические проявления на 20 день эксперимента: умеренно выраженная эритема и инфильтрация, незначительные, локализованные очаги мокнутия, бляшки с серозными корочками, незначительное мелкопластинчатое шелушение. Патоморфологические изменения кожи в 16-й группе животных на 20-й день эксперимента были представлены равномерным незначительно-выраженным акантозом эпидермиса, скудными очаговыми воспалительными инфильтратами в

сосочковом слое дермы (рисунок 17). На гистологических срезах сохранялись диффузные лимфоцитарные и макрофагальные умеренные воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы, наличие лимфоцитов, макрофагов и эозинофилов, расширение сосудов дермы (см. рисунок 17).

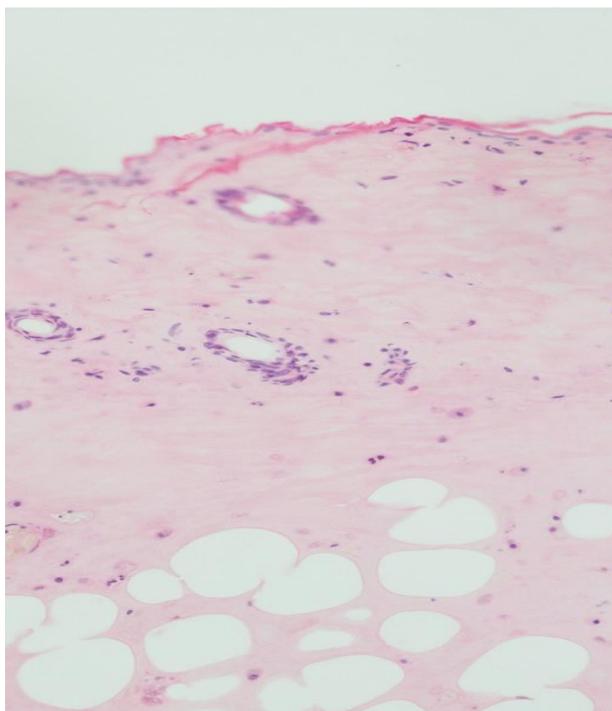


Рисунок 16 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля у экспериментальных животных после нанесения хитозана методом фотофореза.

Скудная инфильтрация сосочкового слоя дермы лимфоцитами.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

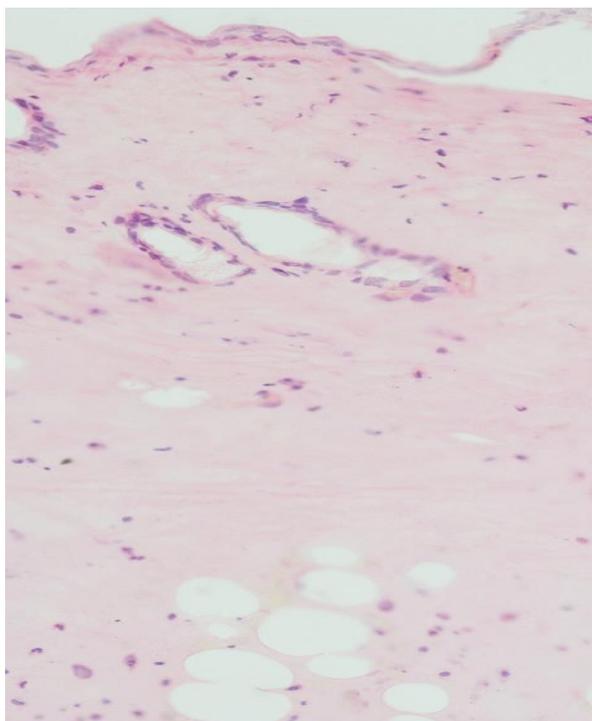


Рисунок 17 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома у экспериментальных животных после нанесения хитозана методом фотофореза.

Умеренная инфильтрация сосочкового слоя дермы лимфоцитами, лейкоцитами.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

3.4 Патоморфологические изменения структурных элементов дермы экспериментальных животных при моделировании контактного аллергического дерматита с использованием соединений хитозана

Морфометрические исследования проводили на гистологических препаратах, оцифрованных в редакторе Adobe Photoshop CS3. Изменения оценивали методом точечного счета. В материале определяли объемную долю гистологических элементов дермы, используя морфометрическую сетку Салтыкова с 60 равноудаленными тестовыми точками. За 100 % принимали общую площадь сканированных участков образца.

При патоморфологическом исследовании образцов, взятых из опытных участков кожи животных I группы (модель КАД вызванного 5 % раствором

хлорида никеля), выявлялись: значительный отек эпидермиса, умеренный равномерный акантоз, усиленная десквамация рогового слоя, очаговый паракератоз. В сосочковом слое дермы – отек, разрыхление коллагеновых волокон, выраженная диффузная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы, представленная лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов, очаговые инфильтраты располагались преимущественно периваскулярно с экзоцитозом клеток инфильтрата в стенку сосудов. Макрофаги крупные, с обильными включениями темного цвета в цитоплазме (состояние активного фагоцитоза). Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, эндотелий набухший, в сосудах стаз форменных элементов крови.

При использовании 1 % водорастворимого хитозана в условиях КАД вызванного 5 % раствором хлорида никеля, отмечалось значительное снижение выраженности диффузной макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации в дерме (лимфоцитов с 3,0 [2,3; 4,0] до 1,0 [1,0; 1,8], нейтрофилов с 2,0 [1,3; 2,0] до 1,0 [0,0; 1,0] в зависимости от метода использования 1 % водорастворимого хитозана), снижение выраженности отека и стаза форменных элементов крови (таблица 2).

Таблица 2 – Относительный объем гистологических элементов дермы лабораторных крыс при комбинированном воздействии 1 % водорастворимого хитозана и 5 % раствора хлорида никеля

Экспериментальные группы	Единицы измерения	
	лимфоциты	нейтрофилы
1-я группа Модель КАД, вызванная NiCr ₂	3,0 [2,3; 4,0]	2,0 [1,3; 2,0]
8-я группа NiCr ₂ + хитозан наружная аппликация	3,0 [2,0; 3,8]	1,5 [1,0; 2,0]
11-я группа NiCr ₂ + фонофорез хитозана	2,5 [2,0; 3,0]	1,0 [1,0; 2,0]
14-я группа NiCr ₂ + фотофорез хитозана	1,0 [1,0; 1,8]	1,0 [0,0; 1,0]
Уровень значимости	p = 0,001 p ₁₋₈ = 0,540 p ₁₋₁₁ = 0,113 p ₁₋₁₄ = 0,001	p = 0,018 p ₁₋₈ = 0,480 p ₁₋₁₁ = 0,120 p ₁₋₁₄ = 0,002

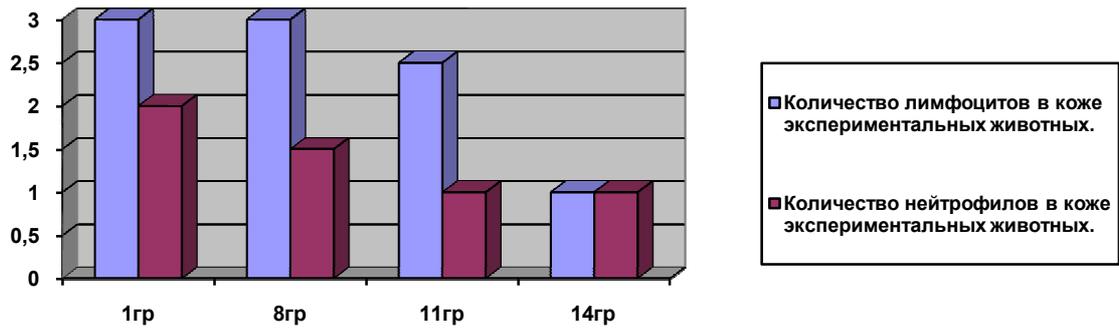


Рисунок 18 – Сравнительный анализ клеточных элементов дермы на фоне КАД NiCr_2 и в зависимости от метода нанесения раствора хитозана

При патоморфологическом исследовании образцов, взятых из опытных участков кожи животных II группы (модель КАД вызванного 5 % раствором хлорида кобальта), выявляется значительное утолщение эпидермиса, выраженный акантоз, вакуольную дистрофию в шиповатом и базальном слоях, клетки базального и шиповатого слоев – с пикнотичными ядрами, явления спонгиоза. В сосочковом слое дермы – выраженный интерстициальный отек, диффузные воспалительные инфильтраты представлены преимущественно лимфоцитами, макрофагами и полиморфно-ядерными лейкоцитами. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз форменных элементов крови.

При использовании 1 % водорастворимого хитозана в условиях КАД, вызванного 5 % раствором хлорида кобальта, отмечалось снижение выраженности диффузной макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации в дерме (лимфоцитов с 3,5 [3,0; 4,0] до 2,0 [1,0; 2,0] нейтрофилов с 2,0 [1,3; 2,0] до 1,0 [0,0; 1,0] в зависимости от метода использования 1 % водорастворимого хитозана), снижение выраженности отека и стаза форменных элементов крови (таблица 3).

Таблица 3 – Относительный объем гистологических элементов дермы лабораторных крыс при комбинированном воздействии 1 % водорастворимого хитозана и 5 % раствора хлорида кобальта

Экспериментальные группы	Единицы измерения	
	лимфоциты	нейтрофилы
2-я группа Модель КАД, вызванная CoCr_2	3,5 [3,0; 4,0]	2,0 [1,3; 2,0]
9-я группа CoCr_2 + хитозан наружная аппликация	3,0 [2,3; 3,8]	1,0 [1,0; 2,8]
12-я группа CoCr_2 + фонофорез хитозана	3,0 [2,0; 3,0]	1,5 [1,0; 2,0]
15-я группа CoCr_2 + фотофорез хитозана	2,0 [1,0; 2,0]	1,0 [0,0; 1,0]
Уровень значимости	$p = 0,001$ $p_{2-9} = 0,165$ $p_{2-12} = 0,039$ $p_{2-15} = 0,001$	$p = 0,027$ $p_{2-9} = 0,429$ $p_{2-12} = 0,268$ $p_{2-15} = 0,002$

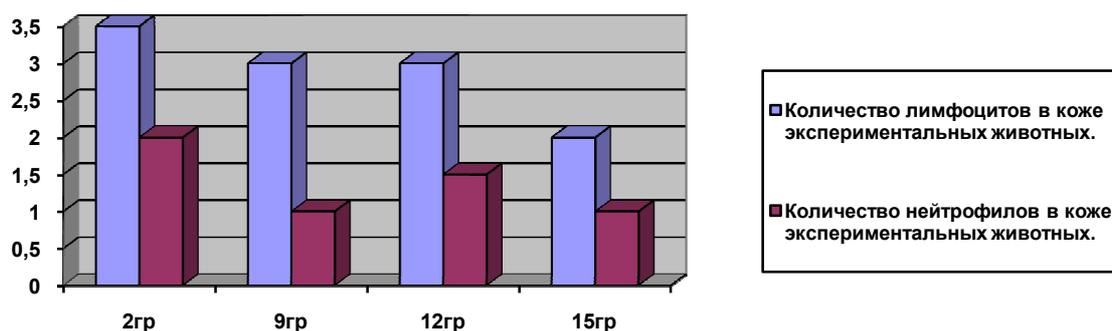


Рисунок 19 – Сравнительный анализ клеточных элементов дермы на фоне КАД CoCr_2 и в зависимости от метода нанесения раствора хитозана

При патоморфологическом исследовании образцов, взятых из опытных участков кожи животных III группы (модель КАД вызванного 5 % раствором двухромовокислого калия), патоморфологические изменения были наиболее выражены вокруг волосяных фолликулов, в том числе и корневой части волос, выводных протоков сальных и потовых желез, наблюдались равномерный умеренный акантоз, усиленная десквамация рогового слоя, экзоцитоз клеток инфильтрата в роговой слой с формированием корок, чешуе-корок.

Воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы располагались диффузно и были представлены преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз.

При использовании 1 % водорастворимого хитозана в условиях КАД, вызванного 5 % раствором двуххромовокислого калия, отмечалось незначительное снижение выраженности диффузной макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации в дерме (лимфоцитов с 5,0 [4,0; 5,8] до 2,0 [2,0; 3,0] нейтрофилов с 3,0 [2,3; 3,8] до 1,0 [1,0; 1,8] в зависимости от метода использования 1 % водорастворимого хитозана), сохранялся умеренно-выраженный отек и стаз элементов крови (таблица 4).

Таблица 4 – Относительный объем гистологических элементов дермы лабораторных крыс при комбинированном воздействии 1 % водорастворимого хитозана и 5 % раствора двуххромовокислого калия

Экспериментальные группы	Единицы измерения	
	лимфоциты	нейтрофилы
3-я группа Модель КАД, вызванная $K_2Cr_2O_7$	5,0 [4,0; 5,8]	3,0 [2,3; 3,8]
10-я группа $K_2Cr_2O_7$ + хитозан наружная аппликация	4,5 [4,0; 5,0]	3,0 [2,3; 3,8]
13-я группа $K_2Cr_2O_7$ + фонофорез хитозана	4,5 [4,0; 5,0]	2,5 [2,0; 3,0]
16-я группа $K_2Cr_2O_7$ + фотофорез хитозана	2,0 [2,0; 3,0]	1,0 [1,0; 1,8]
Уровень значимости	$p < 0,001$ $p_{3-10} = 0,140$ $p_{3-13} = 0,283$ $p_{3-16} = 0,001$	$p = 0,001$ $p_{3-10} = 0,308$ $p_{3-13} = 0,165$ $p_{3-16} = 0,001$

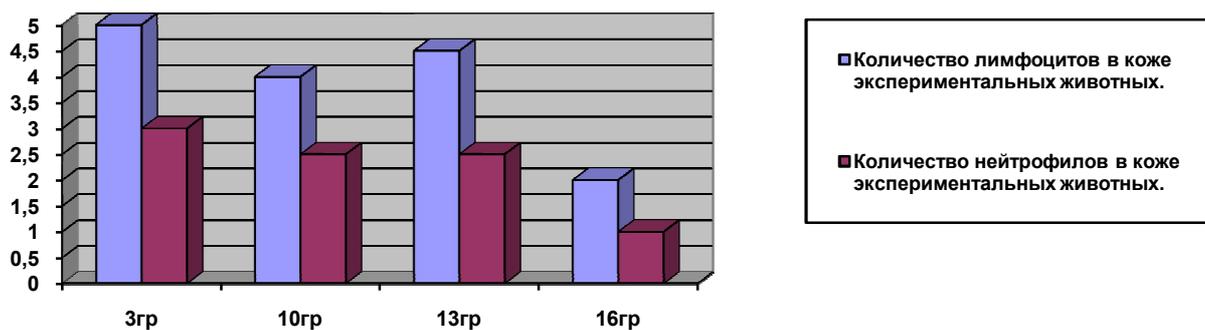


Рисунок 20 – Сравнительный анализ клеточных элементов дермы на фоне КАД $K_2Cr_2O_7$ и в зависимости от метода нанесения раствора хитозана

3.5 Результаты определения концентрации тяжелых металлов в коже экспериментальных животных методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии

3.5.1 Концентрация тяжелых металлов в коже экспериментальных животных контрольных групп

Модель контактного аллергического дерматита была смоделирована в 1-й, 2-й и 3-й группах лабораторных животных. Группы подразделялись по раздражающему агенту. На 20-е сутки лабораторные животные выводились из эксперимента. Биопсийный материал подвергался предварительной подготовке с последующим определением концентрации тяжелых металлов. Определение содержания элементов в испытуемых растворах проводилось методом градуировочных графиков, которые строились по значениям сигналов абсорбции растворов сравнения. Содержание тяжелых металлов в образцах кожи определялось на атомно-абсорбционной спектрофотометре SOLAAR серии S (ThermoElectron, США).

Результаты определения концентраций солей никеля, кобальта и хрома в коже животных контрольной группы представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных контрольных групп

Контроль	Содержание тяжелых металлов у отдельных особей (мг/кг)								Me [Q ₁ ; Q ₃]
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым никелем)	308,6	306,2	309,3	307,0	305,5	306,7	305,8	306,4	306,6 [305,9; 308,2]
2-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым кобальтом)	283,1	283,5	289,5	281,4	284,2	286,2	284,0	287,9	284,1 [283,2; 287,5]
3-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	352,6	350,1	352,1	358,0	353,7	350,4	354,3	349,8	352,4 [350,2; 354,2]
Уровень значимости								$p < 0,001$ $p_{1-8} < 0,001$ $p_{1-11} < 0,001$ $p_{1-14} < 0,001$	

По данным атомно-абсорбционной спектрофотометрии у животных 1-й группы концентрация никеля в коже составила в среднем 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг, в коже животных 2-й группы концентрация кобальта – 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг, у животных 3-й группы концентрация хрома – 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг. Полученные результаты свидетельствуют о высокой проникающей способности всех исследуемых солей тяжелых металлов. Из исследуемых растворов 5 % двуххромовокислый калий обладает самой высокой проникающей способностью в кожу экспериментальных животных по сравнению с солями никеля и кобальта.

3.5.2 Концентрации тяжелых металлов в коже опытных групп животных при различных методиках использования соединений хитозана

Исследование влияния 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию солей никеля, кобальта и хрома в коже лабораторных животных изучали на модели контактного аллергического дерматита у животных 8-й, 9-й и 10-й групп. Для этой цели на опытную область подготовленной поверхности кожи путем легкого втирания в течение 10 дней с частотой 1 раз в сутки наносился 0,1 мл 1 % водорастворимый хитозан (Мм 15–20 кДа, СД 87 %).

Результаты влияния хитозана на концентрацию солей никеля, кобальта и хрома в коже лабораторных животных 8-й, 9-й и 10-й групп приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных после применения 1 % водорастворимого хитозана

Группы животных	Содержание тяжелых металлов у отдельных особей (мг/кг)								Me [Q ₁ ; Q ₃]
	1	2	3	4	5	6	7	8	
8-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым никелем)	231,2	235,1	229,6	233,4	235,2	230,5	232,1	230,2	231,7 [230,3; 234,7]
9-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым кобальтом)	212,3	214,2	215,4	211,5	209,8	211,2	210,6	213,4	211,9 [210,8; 214,0]
10-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	297,8	295,5	296,3	300,9	299,7	297,2	298,2	299,1	298,0 [296,5; 299,6]
Уровень значимости									p < 0,001 p ₁₋₈ < 0,001 p ₁₋₁₁ < 0,001 p ₁₋₁₄ < 0,001

Полученные результаты свидетельствуют о статистически значимом сокращении концентрации металлов в коже экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой: никеля в коже с 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг до 231,7 [230,3; 234,7] мг/кг, кобальта с 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг до 211,9 [210,8; 214,0] мг/кг, хрома с 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг до 298,0 [296,5; 299,6] мг/кг, что в процентном выражении составило 24,5 %, 25,5 % и 15,5 % соответственно.

Анализ влияния фонофореза 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию металлов в коже проводился на модели контактного аллергического дерматита у экспериментальных животных 11-й, 12-й и 13-й групп в течение 10 дней. Для приготовления контактного вещества использовался 1 мл вазелинового масла, который перемешивался с 1 % водорастворимым хитозаном в соотношении 1 : 1. Ультразвуковой излучатель перемещался по поверхности кожи медленными круговыми движениями со скоростью 1–1,5 см/сек.

Результаты исследования концентрации металлов в коже у экспериментальных животных 11-й, 12-й и 13-й групп приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных после использования фонофореза 1 % водорастворимого хитозана

Группы животных	Содержание тяжелых металлов у отдельных особей (мг/кг)								Me [Q ₁ ; Q ₃]
	1	2	3	4	5	6	7	8	
11-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым никелем)	183,2	186,7	185,3	187,6	182,6	184,4	182,9	186,5	184,9 [183,0; 186,7]
12-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым кобальтом)	173,0	172,7	175,4	171,0	174,1	173,5	176,8	177,0	173,8 [172,8; 176,5]
13-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	255,8	260,7	262,7	261,4	259,1	260,2	256,1	259,8	260,0 [256,9; 261,2]

Продолжение таблицы 7

Группы животных	Содержание тяжелых металлов у отдельных особей (мг/кг)								Me [Q ₁ ; Q ₃]
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Уровень значимости									$p < 0,001$ $p_{1-8} < 0,001$ $p_{1-11} < 0,001$ $p_{1-14} < 0,001$

У животных 11-й, 12-й и 13-й групп при применении флуоресценции хитозана концентрация никеля в коже, в среднем составила 184,9 [183,0; 186,7] мг/кг (в контрольной группе – 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг), кобальта – 173,8 [172,8; 176,5] мг/кг (контрольная группа – 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг), хрома – 260,0 [256,9; 261,2] мг/кг (контрольная группа – 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг, что статистически значимо показало снижение концентрации металлов в коже по сравнению с контрольной группой на 39,7 %, 38,9 % и 26,3 % соответственно.

На экспериментальных животных 14-й, 15-й и 16-й групп на фоне полученного контактного аллергического дерматита в течение 10 дней проводилось исследование влияния соединений хитозана на элиминацию металлов из кожи путем применения аппаратного ИК-излучения. Использовался аппарат УЛФ–01 по контактной, лабильной методике, λ – 630 нм, время воздействия 10 минут, мощность 10 Вт. На 20-е сутки лабораторные животные выводились из эксперимента с последующим определением концентрации тяжелых металлов.

Результаты исследования эффективности применения флуоресценции 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию металлов в коже лабораторных животных на фоне полученного контактного аллергического дерматита приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных после использования фотофореза 1 % водорастворимого хитозана

Группы животных	Содержание тяжелых металлов у отдельных особей (мг/кг)								Me [Q ₁ ; Q ₃]
	1	2	3	4	5	6	7	8	
14-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым никелем)	70,2	73,4	73,3	71,5	69,4	70,2	70,8	68,9	70,5 [69,6; 72,9]
15-я группа (КАД моделированный 5 % хлористым кобальтом)	53,7	52,0	50,8	53,1	53,4	49,2	48,7	49,7	51,4 [49,3; 53,3]
16-я группа (КАД моделированный 5 % двухромовокислым калием)	186,2	185,2	181,6	182,2	183,4	181,7	185,6	184,4	183,9 [181,8; 185,5]
Уровень значимости									$p < 0,001$ $p_{1-8} < 0,001$ $p_{1-11} < 0,001$ $p_{1-14} < 0,001$

Концентрация никеля в коже в среднем составила 70,5 [69,6; 72,9] мг/кг, кобальта – 51,4 [49,3; 53,3] мг/кг, хрома – 183,9 [181,8; 185,5] мг/кг, что статистически значимо меньше показателей у лабораторных животных контрольной группы (306,6 [305,9; 308,2] мг/кг (–77,1 %), 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг (–82 %), 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг (–48 %) соответственно).

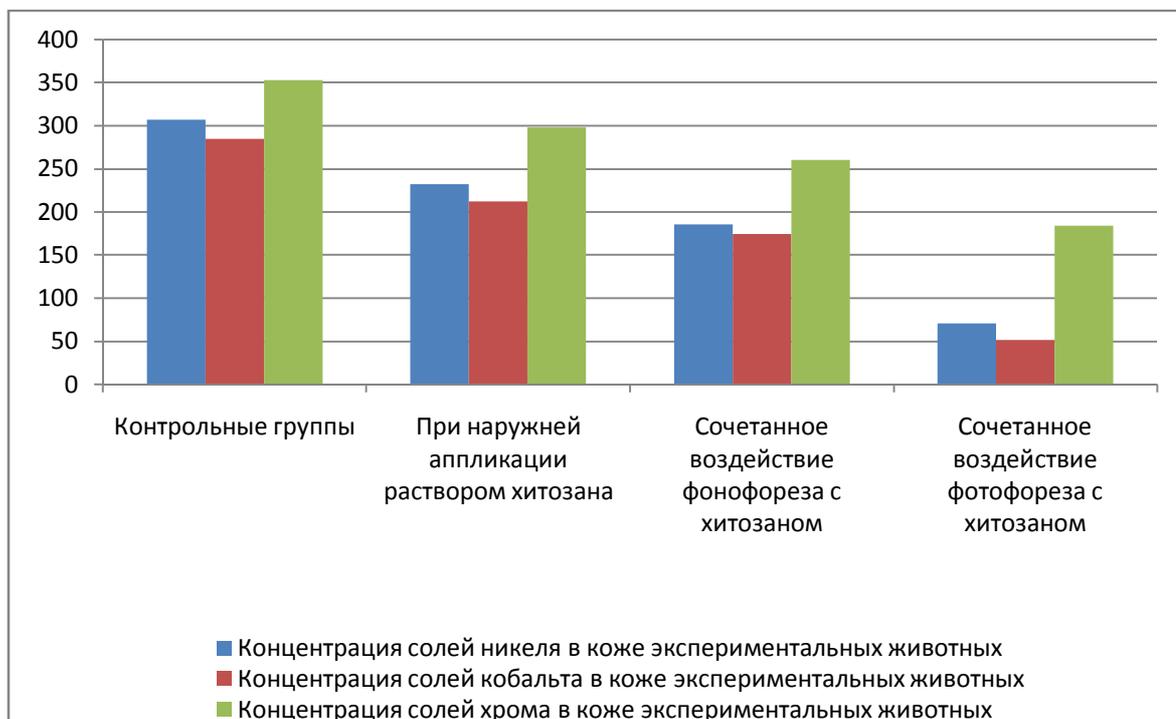


Рисунок 21 – Сравнительный анализ концентраций металлов в коже экспериментальных животных при различных методах нанесения 1 % раствора хитозана

3.5.3 Сравнительная оценка методов доставки 1 % водорастворимого хитозана в дерму, в зависимости от раздражающего агента

Для повышения проникающих свойств 1 % водорастворимого хитозана в дерму и улучшения его сорбционных и элиминирующих свойств использовались методики аппликации, фонофореза и фотофореза. При сравнительной оценке эффективности методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана на кожу, полученные данные были сформированы в таблице по раздражающему агенту.

На лабораторных животных 1-й, 8-й, 11-й и 14-й групп моделировался КАД 5 % раствором хлористого никеля (таблица 9).

Таблица 9 – Концентрация солей никеля в коже экспериментальных животных после различных методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана

Экспериментальные группы КАД моделированный 5 % хлористым никелем	Содержание солей никеля, Me [Q ₁ ; Q ₃], мг/кг
1-я группа (контрольная группа)	306,6 [305,9; 308,2]
8-я группа (наружная аппликация 1 % водорастворимого хитозана)	231,7 [230,3; 234,7]
11-я группа (фонофорез 1 % водорастворимого хитозана)	184,9 [183,0; 186,7]
14-я группа (фотофорез 1 % водорастворимого хитозана)	70,5 [69,6; 72,9]
Уровень значимости	$p < 0,001$ $p_{1-8} < 0,001$ $p_{1-11} < 0,001$ $p_{1-14} < 0,001$

Полученные данные свидетельствуют о высокой абсорбционной способности 1 % водорастворимого хитозана в отношении солей никеля. Повысить сорбирующие свойства 1 % водорастворимого хитозана способны методы, улучшающие или ускоряющие проникновение его в дерму. К таким методам относятся наружная аппликация, фонофорез и фотофорез. При сравнительной оценке физических методом выяснилось, что использование ИК – излучения с 1 % водорастворимым хитозаном способно максимально повысить сорбирующие и эвакуирующие свойства последнего. Экспериментальным путем доказано, что концентрация солей никеля в тканях снижается до 77,1 % по сравнению с контрольной группой.

На лабораторных животных 2-й, 9-й, 12-й и 15-й групп моделировался КАД 5 % раствором хлористого кобальта (таблица 10).

Таблица 10 – Концентрация солей кобальта в коже экспериментальных животных после различных методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана

Экспериментальные группы КАД моделированный 5 % хлористым кобальтом	Содержание солей кобальта, Me [Q ₁ ; Q ₃], мг/кг
2-я группа (контрольная группа)	284,1 [283,2; 287,5]
9-я группа (наружная аппликация 1 % водорастворимого хитозана)	211,9 [210,8; 214,0]
12-я группа (фонофорез 1 % водорастворимого хитозана)	173,8 [172,8; 176,5]
15-я группа (фотофорез 1 % водорастворимого хитозана)	51,4 [49,3; 53,3]
Уровень значимости	$p < 0,001$ $p_{2-9} < 0,001$ $p_{2-12} < 0,001$ $p_{2-15} < 0,001$

При моделировании КАД 5 % раствором хлористого кобальта концентрация металлов в коже была приблизительно такой же как и при КАД на 5 % раствор хлористого никеля. При приблизительно равной динамике проникновения солей никеля и кобальта в ткани; экспериментальным путем получена и похожая элиминация солей металлов под воздействие физических факторов из дермы экспериментальных животных. Необходимо отметить методику фотофореза 1 % водорастворимого хитозана, которая способна повысить сорбирующие и элиминирующие свойства хитозана. При использовании данной методики содержание солей кобальта в тканях снижается до 82 % по сравнению с контрольной группой.

На лабораторных животных 3-й, 10-й, 13-й и 16-й групп моделировался КАД 5 % двуххромовокислым калием (таблица 11).

Таблица 11 – Концентрация солей хрома в коже экспериментальных животных после различных методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана

Экспериментальные группы	Содержание солей хрома, Me [Q ₁ ; Q ₃], мг/кг
3-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	352,4 [350,2; 354,2]
10-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	298,0 [296,5; 299,6]
13-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	260,0 [256,9; 261,2]
16-я группа (КАД моделированный 5 % двуххромовокислым калием)	183,9 [181,8; 185,5]
Уровень значимости	$p < 0,001$ $p_{3-10} = 0,001$ $p_{3-13} = 0,001$ $p_{3-16} = 0,001$

При обработке полученных данных выяснилось, что самой высокой проникающей способностью обладает 5 % раствор двуххромовокислого калия. Соединения хрома лучше всего проникают через эпидермальный барьер, в сравнении с соединениями никеля и кобальта и в меньшей степени выводятся раствором хитозана. Большую эффективность, в элиминации соединений хрома из дермы показал метод фотофореза с 1 % раствором водорастворимого хитозана.

Предположительно, фотофорез повышает проникающую и сорбирующую способность 1 % водного раствора хитозана, а так же участвует в элиминации полученных соединений из дермы. Использование данной методики позволяет сократить содержание соединений хрома в дерме до 48 % по сравнению с контрольной группой.

Сравнение полученных показателей с показателями при использовании фотофореза хитозана, статистически значимо, подтверждают эффективность применения фотофореза хитозана (сокращение концентрации никеля с 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг до 70,5 [69,6; 72,9] мг/кг, кобальта с 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг до 51,4 [49,3; 53,3] мг/кг и хрома с 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг до 183,9 [181,8; 185,5] мг/кг соответственно (при $p = 0,001$).

Сравнительная оценка эффективности применения фонофореза и фотофореза соединений хитозана на фоне контактного аллергического дерматита у экспериментальных животных подтверждает высокую сорбционную способность хитозана при условии применения совместно с фотофорезом (рисунок 22).

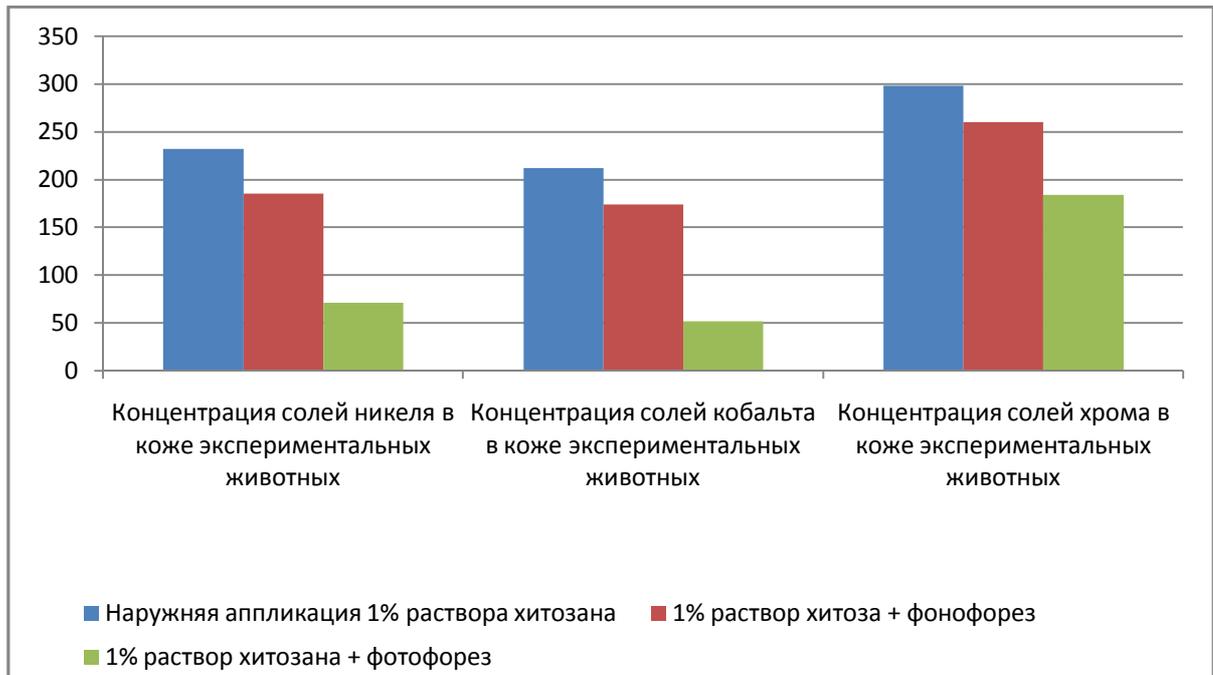


Рисунок 22 – Сравнительный анализ сорбционной способности 1 % раствора хитозана в зависимости от методик нанесения

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Контактный аллергический дерматит (КАД) неизменно является одним из самых распространенных заболеваний в практике врача дерматолога [5, 27, 64, 106, 133]. Согласно статистическим данным, в последние годы заболеваемость среди взрослых и детей контактным аллергическим дерматитом постоянно растет и за последнее десятилетие увеличилась в среднем в 1,3–1,4 раза [14, 21, 32]. На территории Красноярского края за период с 2011 по 2015 гг. в структуре дерматологической заболеваемости контактный аллергический дерматит составил 14,7 % от всей кожной патологии [46]. За исследуемый период общая заболеваемость контактным аллергическим дерматитом увеличилась на 20,2 %, что, возможно, связано с большим количеством химических веществ, используемых в быту и на производстве.

Наиболее часто встречающимися этиологическими факторами контактного аллергического дерматита и контактной экземы являются такие соли тяжелых металлов, как никеля сульфат (41,4 %), кобальта хлорид (20,3 %), калия дихромат (10,0 %), смесь ароматизирующих веществ и тиомерсал (6,8 %), ланолин (5,6 %), производные тиурама (5,2 %), смесь карбоматов (4,4 %) [43, 46, 77, 88, 115, 116, 157].

В России хром, никель и кобальт являются наиболее частыми причинами аллергических дерматозов [4, 31, 40]. Различные варианты данных соединений металлов широко используются в быту и на производстве. В быту соли хрома, никеля и кобальта встречаются в составе пигментов различных красок, моющих и очистительных средств, в фотографии, при протравке древесины и полировке мебели, цементосодержащей продукции. Контактный аллергический дерматит может возникнуть при длительном контакте с бижутерией (браслеты, булавки, заколки, серьги, шпильки для волос и др.), пуговицами, пряжками, авторучками, ножницами. Нельзя исключать и профессиональный контакт с данными соединениями у работников здравоохранения, металлургии, сельского хозяйства, печатной промышленности и керамического производства [5, 14, 21, 28, 36, 45, 47, 61].

Исследования проницаемости кожи для химических соединений, особенно содержащих металлы, пути проникновения веществ через эпидермальный и дермальный слои, особенности распределения металлов в этих слоях, пути и механизмы эвакуации металлов являются предметом первоочередных задач в дерматологии. Большинство авторов указывает на недостаточность разработок этих задач, несмотря на публикации обобщающих работ [7, 13, 28, 41, 43, 51].

В развитии реакции гиперчувствительности замедленного типа, время кумулирования и полувыведения металлов играет важную роль прижизненный контроль этих характеристик в коже дает возможности регуляции этих процессов и сокращения времени выведения [28]. В настоящий момент достоверно установлено, что скорость эвакуации металлов из кожи различна и зависит, главным образом, не от атомной массы и радиуса электронной оболочки металла, величины потенциала электроотрицательности, а от способности вступать в связь с белковыми коллоидами [29, 46, 49]. Задержка транспорта металлов, как раз, может быть объяснена захватом резидентными клетками соединений тяжелых металлов с образованием новых биомолекул в белковых или липидных структурах кожи [36, 184].

В современных публикациях стали широко изучаться свойства и перспективы применения природных биополимеров хитина и хитозана [23, 52, 62, 66, 70, 81, 117, 134, 141, 186].

Хитозан, хитин и их производные образуют прочные хелатные связи с металлами, вследствие чего способны селективно извлекать ионы ртути, кобальта, хрома, никеля, золота, серебра, иридия, палладия, свинца, кадмия, железа и других металлов из солевых растворов и морской воды [46, 65, 78, 86, 112].

Уровень и динамика заболеваемости контактным аллергическим дерматитом позволяют определить высокую востребованность практического здравоохранения в разработке новых средств лечения этого заболевания. Разработка и создание новых препаратов способных эффективно инактивировать действие химических аллергенов, по-прежнему является актуальной задачей и имеет важное значение.

Дальнейшее изучение свойств хитозана и применение химических производных этого полимера представляет значительный интерес и является перспективным в разработке эффективных методов лечения контактного аллергического дерматита.

Целью настоящего исследования было установить влияние соединений хитозана на элиминацию никеля, кобальта и хрома из кожи лабораторных животных при экспериментальной модели аллергического дерматита при воздействии аппаратного инфракрасного излучения и ультразвука. Для решения поставленных задач проводились экспериментальные исследования на 128 половозрелых крысах в возрасте от 2 до 2,5 месяцев и массой от 200 до 250 граммов. Количество животных было минимальным, но достаточным для решения поставленных задач.

При моделировании контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома, клинические изменения на коже экспериментальных животных проявлялись в течение первых суток с момента нанесения раздражающего агента. Раннее проявление симптомов КАД свидетельствует о высоких раздражающих способностях соединений никеля, кобальта и хрома.

На коже лабораторных животных 1-й группы, подвергшихся воздействию 5 % раствора никеля хлористого, на 3–4-й день эксперимента на месте нанесения металла появлялась эритема. Животные проявляли беспокойство, наблюдался зуд. В последующие дни эритема усиливалась. На 9–10-е сутки эксперимента высыпания были представлены эритемой, везикулами, папулами и мелкопластинчатым шелушением. В ходе эксперимента на лабораторных животных, схожую динамику клинических проявлений показывал раствор 5 % хлористого кобальта. У животных 2-й группы симптомы контактного аллергического дерматита появились на 4-й день эксперимента и были представлены эритемой на коже экспериментального поля. Хотя эритема никелевой и кобальтовой этиологии была схожа и проявлялась она в одинаковый отрезок времени, следует отметить, что эритема на раствор никеля была разлитой

и проявлялась равномерно по всему экспериментальному полю, тогда как эритема на кобальт начиналась преимущественно перифолликулярно и только потом наблюдался ее периферический рост. Данное наблюдение может свидетельствовать о различных механизмах проникновения соединений никеля и кобальта в кожу экспериментальных животных. У животных 2-й группы на 9–10-е сутки высыпания были представлены: папулами, везикулами и серозными корочками, локализовались преимущественно вокруг сально – волосяных фолликулов.

При патоморфологическом исследовании образцов животных 1-й группы, взятых из опытных участков кожи, выявлялись: значительный отек эпидермиса, умеренный равномерный акантоз, усиленная десквамация рогового слоя, очаговый паракератоз. В сосочковом слое дермы – отек, разрыхление коллагеновых волокон, выраженная диффузная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы, представленная лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов, очаговые инфильтраты располагались преимущественно периваскулярно с экзоцитозом клеток инфильтрата в стенку сосудов. Макрофаги крупные, с обильными включениями темного цвета в цитоплазме (состояние активного фагоцитоза). Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, эндотелий набухший, в сосудах стаз.

Патоморфологическая картина у животных выявляет значительное утолщение эпидермиса, выраженный акантоз, вакуольную дистрофию в шиповатом и базальном слоях, клетки базального и шиповатого слоев – с пикнотичными ядрами, явления спонгиоза. В сосочковом слое дермы – выраженный интерстициальный отек, диффузные воспалительные инфильтраты представлены преимущественно лимфоцитами, макрофагами и полиморфно-ядерными лейкоцитами. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз крови. Выраженный перифолликулярный отек и макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация. Данная патогистологическая картина является типичным морфологическим критерием контактного аллергического дерматита.

Следует отметить, что патоморфологическая картина КАД у экспериментальных животных подтверждает клинические наблюдения в ходе эксперимента. Растворы никеля и кобальта обладают выраженными раздражающими и сенсibiliзирующими свойствами, хотя и с различными механизмами проникновения в кожу. Данное наблюдение нашло свое подтверждение в ряде обобщающих работ при обзоре литературы [28, 36, 45].

При морфометрическом исследовании инфильтрата в коже животных с КАД, вызванным 5 % раствором хлорида никеля, относительный объем лимфоцитов составил 3,0 [2,3;4,0] при $p = 0,001$ и нейтрофилов 2,0 [1,3;2,0] при $p = 0,018$. В модели КАД, вызванного 5 % раствором хлорида кобальта, относительный объем лимфоцитов составил 3,5 [3,0;4,0] при $p = 0,001$, нейтрофилов 2,0 [1,3;2,0] ($p = 0,027$), что было сопоставимо с данными при КАД, вызванным солями никеля.

На гладкой коже животных 3-й группы, подвергшихся воздействию 5 % калия бихромата, на 3-й день эксперимента появилась разлитая эритема и единичные милиарные папулы. На 4–6-й день у животных на фоне эритемы наблюдались милиарные папулы розовато-красного цвета, округлой формы и единичные воспалительные папулы; на 7–8-й день эксперимента – преобладали эрозии, единичные серозные корочки. На 9–10-е сутки эксперимента высыпания, представленные эрозиями, папулами, распространились на прилегающие участки кожи. Животные стали малоподвижными и вялыми. Патоморфологические изменения были наиболее выражены вокруг волосяных фолликулов, в том числе и корневой части волос, выводных протоков сальных и потовых желез, наблюдались диффузные воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы, представленные преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов, равномерный акантоз, усиленная десквамация рогового слоя, экзоцитоз клеток инфильтрата в роговой слой с формированием корок, чешуе-корок. Воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы располагались диффузно и были представлены преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с

примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз форменных элементов крови. При морфометрическом исследовании инфильтрата в коже животных с КАД, вызванным 5 % раствором двуххромовокислого калия, относительный объем лимфоцитов составил 5,0 [4,0;5,8] и нейтрофилов 3,0 [2,3;3,8] ($p = 0,001$).

Содержание тяжелых металлов в образцах кожи определялось на атомно-абсорбционном спектрофотометре SOLAAR серии S (ThermoElectron, США). Метод атомно-абсорбционных измерений основан на распылении раствора минерализата испытуемой пробы в воздушно-ацетиленовом пламени. Величина абсорбции света с длиной волны с соответствующей резонансной линией пропорциональна значению концентрации металла в испытуемой пробе. Для хрома длина волны составляла 357,9 нм (или 359,4 нм), для никеля 232,5 нм, а для кобальта 228,8 нм.

Метод атомно-абсорбционной спектрофотометрии биоптатов кожи животных с моделированным КАД позволил с высокой точностью определить проникающую способность солей различных металлов в кожу. Исследование биоптатов кожи животных контрольных групп проводилось на 20 сутки эксперимента и показало, среднюю концентрацию никеля 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг, кобальта – 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг, а так же хрома – 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг (при $p < 0,05$).

У экспериментальных животных, подвергшихся воздействию 5 % калия бихромата, отмечались более выраженные клинические и патоморфологические изменения дермы, в сравнении с животными подвергавшимися воздействию 5 % хлористого никеля и кобальта. Эти результаты свидетельствуют о выраженном раздражающем и сенсибилизирующем действии двуххромовокислого калия на кожу экспериментальных животных, в сравнении с соединениями никеля и кобальта. Раствор 5 % двуххромовокислого калия обладает высокой проникающей способностью в дерму, создает более прочные связи с элементами дермы, а также способен длительно удерживаться в структурных элементах дермы; по сравнению с соединениями никеля и кобальта. Данное наблюдение может свидетельствовать

о конкурентных свойствах металлов за структурные элементы дермы при полиэтиологическом КАД. Степень конкуренции металлов между собой, в равных условиях, за элементы дермы требует дополнительных исследований.

При нанесении солей металлов на интактные участки кожи у лабораторных животных на 12-е сутки эксперимента наблюдались проявления контактной гиперчувствительности в виде эритемы.

Таким образом, на моделях контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома у лабораторных животных, можно наблюдать все стадии клинических и патоморфологических изменений кожи свойственных контактному аллергическому дерматиту.

В последнее время широко стали изучаться свойства и перспективы применения природных биополимеров хитина и хитозана. Хитозан, хитин и их производные образуют прочные хелатные связи с металлами, вследствие чего способны селективно извлекать ионы ртути, кобальта, хрома, никеля, золота, серебра, иридия, палладия, свинца, кадмия, железа и других металлов из сточных вод, солевых растворов и морской воды [42, 46, 69, 109]. В настоящее время в медицинской практике широко используются препараты для наружного и парентерального применения на основе хитозана [83, 123, 161].

Исследование гистологических срезов кожи экспериментальных животных с помощью люминесцентной микроскопии позволило определить особенности распределения 1 % водорастворимого раствора хитозана, меченного ФИТЦ, в различных слоях кожи в течение первых суток.

Результаты исследования проницаемости хитозана в кожу экспериментальных животных показали, что водорастворимый хитозан свободно проникает через неповрежденную кожу преимущественно трансфолликулярно, трансгландулярно в первые 1–2 часа после его нанесения. Во всех случаях через 24 часа после нанесения 1 % водорастворимого хитозана определялось его проникновение и равномерное распределение во всех слоях кожи.

Распределение свободного раствора флюоресцеина изотиоцианата (ФИТЦ) при нанесении его на интактную область носило равномерный

трансэпидермальный характер. Уже в первые часы после аппликации раствор ФИТЦ накапливался в эпидермисе, далее проникая в дерму и распределяясь в ней равномерно. Через 24 часа краситель почти полностью выводился из дермы, но максимально сохранялся в клетках Лангерганса. Экспериментальным путем было выявлено, что ФИТЦ, применявшийся в качестве метки для хитозана, не влияет на пути, время проникновения биополимеров и характер распределения его в коже.

С помощью люминесцентной микроскопии удалось изучить и выявить особенности кинетики 1 % водорастворимого хитозана и флюоресцеина изотиоцианата в коже экспериментальных животных в течение 24 часов. Проведенные исследования показали, что водорастворимый хитозан способен проникать в неповрежденную кожу в первые 1–2 часа трансфолликулярно, трансгландулярно, трансэпидермально, а также через эпидермальные дефекты.

Изучение влияния водорастворимого хитозана на элиминацию солей никеля, кобальта и хрома у лабораторных животных с моделированным КАД проводилось путем оценки клинической картины, патогистологических данных, результатов морфометрических исследований и метода атомно-абсорбционной спектrophотометрии биоптатов кожи.

Исследование влияния 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию солей никеля, кобальта и хрома в коже лабораторных животных изучалось на модели контактного аллергического дерматита у животных 8-й, 9-й и 10-й групп. Для этой цели на опытную область подготовленной поверхности кожи путем легкого втирания в течение 10 дней 1 раз в сутки наносился 0,1 мл 1 % водорастворимого хитозана (Мм 15–20 кДа, СД 87 %).

На 7–8-й день применения водорастворимого хитозана у лабораторных животных с КАД, вызванным солями никеля и кобальта, отмечалась положительная динамика, эритема сохранялась, но была менее выражена по сравнению с контрольной группой, отмечалась начинающаяся эпителизация эрозий, папулы уплощались. У животных на фоне модели контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома, острые воспалительные

явления на коже сохранялись в течение 10 дней в виде эритемы, папул, корочек. У всех животных также на 20-е сутки проводилась сравнительная оценка клинических и патоморфологических изменений кожи. Патоморфологическая картина у животных выявляет незначительное утолщение эпидермиса, признаки акантоза и спонгиоза. В сосочковом слое дермы – умеренно-выраженный интерстициальный отек, диффузные воспалительные инфильтраты представлены преимущественно лимфоцитами и макрофагами. Умеренный перифолликулярный отек и макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация.

При морфометрическом исследовании воспалительного инфильтрата в дерме при моделированном КАД, вызванном солями никеля, после нанесения водорастворимого хитозана относительный объем лимфоцитов, в сравнении с контрольной группой, достоверно не менялся (контроль 3,0 [2,3; 4,0], хитозан наружно 3,0 [2,0; 3,8] при $p = 0,001$), относительный объем нейтрофилов снизился, в сравнении с группой контроля с 2,0 [1,3; 2,0] до 1,5 [1,0; 2,0], при $p = 0,001$.

Атомно-абсорбционная спектрофотометрия показала, что в биоптатах экспериментальных животных 8 группы концентрация никеля составила 231,7 [230,3; 234,7] мг/кг, тогда как в контрольной группе концентрация никеля в дерме составляла 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг (при $p < 0,05$), что в процентном выражении составляет 24,5 %.

Морфометрическое исследование воспалительного инфильтрата в дерме при моделированном КАД, вызванном солями кобальта, показало: лимфоцитов 3,5 [3,0; 4,0], нейтрофилов 2,0 [1,3; 2,0] (при $p = 0,001$). После нанесения 1 % водорастворимого хитозана, относительный объем лимфоцитов и нейтрофилов незначительно, но достоверно снизился, в сравнении с группой контроля: 3,0 [2,3; 3,8] и 1,0 [1,0; 2,8], соответственно ($p = 0,001$), что подтверждается атомно-сорбционной спектрофотометрией. Концентрация кобальта в исследуемых биоптатах статистически значимо снизилась с 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг до 211,9 [210,8; 214,0] мг/кг (при $p < 0,05$), на 25,5 % процентов от контрольной группы.

За 10 дней использования 1 % водорастворимого хитозана концентрация металлов сократилась на 24,5 % для никеля и 25,5 % для кобальта, по сравнению с контрольными группами, что положительно сказалось на патологическом процессе в дерме, но было не достаточным для полного излечения экспериментальных животных. По-видимому, концентрация металлов в дерме остается достаточной для формирования реакции гиперчувствительности.

У лабораторных животных с КАД, вызванный солями хрома, несмотря на 10 дневное применение водорастворимого хитозана сохранялась клиническая картина дерматита. Гистологически выявлялись диффузные воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы, преимущественно представленные лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз.

При морфометрическом исследовании воспалительного инфильтрата в дерме при моделированном КАД, вызванном солями хрома после нанесения водорастворимого хитозана, относительный объем лимфоцитов незначительно снизился с 5,0 [4,0; 5,8] до 4,5 [4,0; 5,0], а относительный объем нейтрофилов достоверно не менялся (3,0 [2,3; 3,8] при $p = 0,01$). Исследование биоптатов дермы у экспериментальных животных методом атомно-сорбционной спектрофотометрии показал, статистически значимое снижение концентрации хрома с 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг до 298,0 [296,5; 299,6] мг/кг (при $p < 0,05$), что в процентном выражении составило 15,5 % в сравнении с показателями у животных контрольных групп.

Сравнительная оценка клинических и морфометрических изменений дермы при КАД на никель, кобальт и хром показало, что соединения никеля и кобальта дают схожую клиническую картину КАД при относительно одинаковых изменениях в дерме. Тогда как соединения хрома дают более выраженную клиническую и патогистологическую картину КАД.

Таким образом, патоморфологическое исследование биоптатов кожи экспериментальных животных показало, что раствор 1 % водорастворимого

хитозана в большей степени способен связывать и элиминировать соединения никеля и кобальта; уменьшает воспалительные изменения в дерме. В меньшей степени водорастворимая форма хитозана способна связываться с соединениями хрома, что подтверждается клинической и патоморфологической картинами, а также данными полученными с помощью атомно-сорбционной спектрофотометрии.

В комплексном лечении больных аллергическими дерматозами наряду с диетотерапией и медикаментозными средствами широко используется аппаратная физиотерапия: электрофорез лекарственных веществ, ультразвуковая терапия, лечение с помощью лазера [19, 45].

Влияние ультразвука в комплексе с 1 % водорастворимым хитозаном на течение КАД исследовалось на 11-й, 12-й и 13-й группах экспериментальных животных. Ультразвук – неслышимые человеческим ухом высокочастотные (выше 20 кГц) механические колебания упругой среды, распространяющиеся в ней в виде чередующихся переменных сжатий (уплотнений) и разрежений веществ (так называемых продольных волн). В качестве контактной среды использовался 1 % водорастворимый раствор хитозана.

Отдельно ультразвуковая терапия оказывает сосудорасширяющее действие, нормализует тонус сосудов, улучшает местное кровообращение, микроциркуляцию, усиливая кровотоки и лимфоток, раскрывая резервы капилляров, уменьшая их спазм и венозный застой. При воздействии ультразвука на кожу усиливаются репаративная и физиологическая регенерация в коже, повышается ее проницаемость, изменяется окислительно-восстановительный потенциал и активная реакция (рН) кожи, увеличивается интенсивность гликолитических процессов, биосинтез нуклеиновых кислот, стимулируются процессы тканевого дыхания, активизируется экскреторная функция кожи (увеличивается количество функционирующих сальных и потовых желез) – возрастает экскреция липидов и хлоридов, повышаются бактерицидные свойства, барьерно-защитная функция кожи, нормализуется ее реактивность [2, 8, 12, 37, 183].

На 6-й день применения фонофореза водорастворимого хитозана у

лабораторных животных 11-й и 12-й групп начали регрессировать симптомы КАД, вызванные солями никеля и кобальта. Клинически: на коже лабораторных животных эритема уменьшалась в размере, сохранялись единичные уплощенные папулезные элементы сыпи, на поверхности наблюдалось мелко-пластинчатое шелушение. На 10-й день применения фонофореза водорастворимого хитозана клиническая картина КАД оценивалась как удовлетворительная. Сохранялись отдельные папулы, шелушение. Общее состояние экспериментальных животных улучшилось, что подтвердилось результатами морфометрии. У экспериментальных животных 11-й группы статистически значимо снизилось количество лимфоцитов в дерме с 3,0 [2,3 4,0], до 2,5 [2,0 3,0]; нейтрофилов с 2,0 [1,3 2,0], до 1,0 [1,0 2,0]. У животных 12-й группы с моделью КАД на хлористый кобальт также отмечалось снижение макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации. Количество лимфоцитов снизилось с 3,5 [3,0; 4,0] до 3,0 [2,0; 3,0], нейтрофилов с 2,0 [1,3; 2,0] до 1,5 [1,0; 2,0].

У лабораторных животных 13-й группы, подвергшихся воздействию 5 % двуххромовокислого калия, клинические улучшения появились только к 8 дню применения 1 % водорастворимого хитозана. Патологический процесс стабилизировался. Экссудация прекратилась, воспалительные папулы начали регрессировать.

Патоморфологическая картина биоптатов экспериментальных животных 13-й группы заключалась в диффузных воспалительных инфильтратах в сосочковом слое дермы, представленных лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов, экзоцитоз клеток инфильтрата в роговой слой с формированием корок, чешуе-корок. Воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы располагались диффузно и были представлены преимущественно лимфоцитами, полиморфно-ядерными лейкоцитами с примесью макрофагов и эозинофилов. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, стенки сосудов отечны, в сосудах стаз форменных элементов крови. Концентрацию тяжелых металлов в коже экспериментальных животных определяли методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии.

Анализ морфометрии биоптатов животных 13-й группы показал

статистически значимое снижение количества лимфоцитов с 5,0 [4,0; 5,8] до 4,5 [4,0; 5,0], нейтрофилов с 3,0 [2,3; 3,8] до 2,5 [2,0; 3,0], в сравнении с контрольными группами.

У животных с КАД, вызванным солями никеля, кобальта и хрома, при применении фонофореза хитозана: концентрация никеля в коже, в среднем составила $(185,1 \pm 2,5)$ мг/кг (в контрольной группе – $(306,4 \pm 2,9)$ мг/кг ($p < 0,05$), кобальта – $(173,2 \pm 2,2)$ мг/кг (контрольная группа – $(285,5 \pm 2,4)$ мг/кг ($p < 0,05$), хрома – $(258,4 \pm 2,3)$ мг/кг (контрольная группа – $(355,35 \pm 2,9)$ мг/кг ($p < 0,05$), что статистически значимо показало снижение концентрации металлов в коже по сравнению с контрольной группой на 39,58 %, 39,33 % и 27,28 % соответственно.

В эксперименте, ультразвуковые колебания усиливают проницаемость кожи. 1 % водорастворимый хитозан свободнее проникает в патологический участок, где связывается со свободно располагающимися соединениями металла, а также вступает в конкурентные связи с образованием хелатных связей с уже сформированными комплексами (коллаген-металл). Ультразвук также усиливает местный кровоток, уменьшая спазм и венозный застой, тем самым способствуя быстрой элиминации сформированных комплексов (хитозан-металл) по лимфотической и венозной системам. 1 % водорастворимый хитозан обладает высокой сорбционной активностью в отношении металлов. Связывание металла происходит не только в дерме экспериментальных животных, но и на пути проникновения раствора в дерму, непосредственно на поверхности кожи и во всех слоях эпидермиса. Сформированные комплексы не могут элиминироваться из кожи через лимфатическую систему. Они выводятся из кожи благодаря ее экскреторной функции. Уже доказано, что ультразвук активизирует экскреторную функцию кожи, тем самым ускоряя процесс элиминации металлов из верхних слоев дермы. Данный механизм является предположительным и требует дальнейшего изучения.

Инфракрасные лучи излучают при вращательных и колебательных движениях внешние электроны атомов и молекул. Это движение усиливается при нагревании. Источником ИК-лучей служит любое нагретое тело, и чем сильнее

оно нагрето, тем короче длина волн и больше интенсивность излучения. Большинство лучей проникает в ткани организма на глубину 3–4 мм и только четвертая часть их проходит глубже (до 4 см). ИК-лучи называют тепловыми, так как, поглощаясь тканями организма, они трансформируются в тепловую энергию, возбуждают терморецепторы кожи, импульсы от которых поступают в терморегуляционные центры и вызывают терморегуляционные реакции [17, 22, 99]. Сосудистая реакция характеризуется фазностью. Кратковременная, нередко выраженная фаза спазма, вскоре сменяется фазой активной гиперемии. При этом повышается местная васкуляризация тканей, во много раз возрастает количество циркулирующей в них крови. Тепло, являясь катализатором, активизирует биохимические процессы в тканях. Под влиянием ИК-излучения улучшается обмен веществ, трофика, ускоряются окислительные процессы [8, 17, 151, 154]. Коротковолновые ИК-излучения вызывают также слабый фотохимический эффект, изменяют чувствительность кожи – повышают тактильное и снижают болевое чувство. Анальгезирующее их действие обусловлено снижением чувствительности рецепторов, удалением продуктов метаболизма, понижением мышечного тонуса, снятием спазмов. Повышение местного лейкоцитоза и фагоцитоза, стимуляция иммунобиологических процессов, болеутоляющее действие, усиление проницаемости сосудов, рассасывание и удаление продуктов метаболизма обуславливают противовоспалительный эффект [8, 25, 50].

Исследования влияния фотофореза 1 % водорастворимого хитозана на концентрацию металлов в коже проводили на модели КАД у экспериментальных животных 14-й, 15-й и 16-й групп в течение 10 дней. У экспериментальных животных 14-й и 15-й групп на 5-й день применения водорастворимого хитозана наблюдалось существенное снижение острых воспалительных явлений на коже, сохранялась эритема, единичные папулезные элементы сыпи. На 10 сутки сочетанного применения хитозана методом фотофореза клиническая картина КАД у экспериментальных животных значительно улучшилась. Нивелировались острые симптомы заболевания. На легком эритематозном фоне определялись единичные папулы, корочки и мелкопластинчатое шелушение. При

патоморфологическом исследовании образцов, взятых из опытных участков кожи лабораторных животных 14-й и 15-й групп, отмечалось снижение проявлений КАД в сравнении с контрольными группами. Незначительный отек и разрыхление коллагеновых волокон, скудная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы. Сосуды сосочкового слоя дермы расширены, эндотелий набухший.

Морфометрические исследования биоптатов экспериментальных животных подтвердили снижение выраженности воспалительной инфильтрации в дерме. При КАД, вызванном солями никеля, после применения фотофореза водорастворимым хитозаном отмечалось снижение объема лимфоцитов с 3,0 [2,3; 4,0] до 1,0 [1,0; 1,8], нейтрофилов с 2,0 [1,3; 2,0] до 1,0 [0,0; 1,0] при $p = 0,001$. При фотофорезе 1 % водорастворимого хитозана в условиях КАД, вызванного 5 % раствором хлорида кобальта, отмечалось снижение выраженности макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации в дерме (лимфоцитов с 3,5 [3,0; 4,0] до 2,0 [1,0; 2,0] нейтрофилов с 2,0 [1,3; 2,0] до 1,0 [0,0; 1,0] при $p = 0,001$).

Обработка полученных данных атомно-сорбционной спектрофотометрии биоптатов дермы у экспериментальных животных 14-й группы показала существенное снижение количества соединений никеля в дерме. Концентрация никеля в коже в среднем составила 70,5 [69,6; 72,9] мг/кг, (контрольная группа 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг). Раствор 1 % водорастворимого хитозана, нанесенный методом фотофореза, способен выводить из дермы экспериментального животного до 77,1 % соединений никеля.

У экспериментальных животных 15-й группы концентрация соединений кобальта в дерме составила 51,4 [49,3; 53,3] мг/кг, против 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг в контрольной группе. В ходе проведенного эксперимента концентрация соединений кобальта статистически значимо снизилась, в сравнении с животными контрольной группы на 82 %.

У лабораторных животных 16-й группы, подвергшихся воздействию 5 % двуххромовокислого калия, острый период КАД начал переходить в подострый только с 16-х суток эксперимента. У животных 16-й группы на 6–7 день использования 1 % водорастворимого хитозана методом фотофореза отмечалось

снижение степени проявлений контактного аллергического дерматита. Клинические проявления на 20 день эксперимента: умеренно выраженная эритема и инфильтрация, незначительные локализованные очаги мокнутия, бляшки с серозными корочками, незначительное мелкопластинчатое шелушение.

Патоморфологические изменения кожи в 16-й группе животных на 20-й день эксперимента были представлены равномерным незначительно-выраженным акантозом эпидермиса, скудными очаговыми воспалительными инфильтратами в сосочковом слое дермы. На гистологических срезах сохранялись диффузные лимфоцитарные и макрофагальные умеренные воспалительные инфильтраты в сосочковом слое дермы, наличие лимфоцитов, макрофагов и эозинофилов, расширение сосудов дермы.

Морфометрия полученных биоптатов показала существенное снижение инфильтрации дермы в сравнении с животными контрольной группы. Статистически значимое снижение лимфоцитов с 5,0 [4,0; 5,8] в контрольной группе до 2,0 [2,0; 3,0] в исследуемой; нейтрофилов с 3,0 [2,3; 3,8] до 1,0 [1,0; 1,8] при $p = 0,001$.

Концентрация соединений хрома в биоптатах экспериментальных животных 16-й группы составила 183,9 [181,8; 185,5] мг/кг, что значительно меньше показателей у лабораторных животных контрольной группы 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг. Методика нанесения 1 % водорастворимого хитозана методом фотофореза способна элиминировать до 48 % соединений хрома из дермы экспериментальных животных.

Действие фотофореза на дерму заключается в возбуждении терморцепторов и усилении терморегуляторных реакций. В связи с этим повышается местная васкуляризация тканей и возрастает циркулирующая в них кровь. Происходит растяжение сосудистой стенки, усиливается проницаемость сосудов, стимулируются иммунобиологические процессы, что приводит к повышению местного фагоцитоза. Данная последовательность реакций приводит к усиленному фагоцитозу и элиминации металлов и продуктов метаболизма из дермы через венозную и лимфатическую системы.

В ходе проведенного эксперимента хорошо себя зарекомендовали аппаратные методики использования 1 % водорастворимого хитозана при лечении КАД, вызванного соединениям никеля, кобальта и хрома. При использовании фонофореза и фотофореза значительно повышался противовоспалительный эффект, а также сорбционные и элиминирующие свойства 1 % водорастворимого хитозана.

Анализ клинических и патоморфологических изменений дермы, морфометрии биоптатов, а также результатов атомно-сорбционной спектрофотометрии экспериментальных животных доказал, что 1 % водорастворимый раствор хитозана обладает различной сорбционной активностью в отношении соединений никеля, кобальта и хрома и зависит от метода его нанесения.

Сравнение аппаратных методик применения 1 % водорастворимого хитозана в лечении КАД, вызванного соединениями никеля, кобальта и хрома, у экспериментальных животных методом атомно-сорбционной спектрофотометрии подтверждает эффективность применения фотофореза хитозана (сокращение концентрации никеля с 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг до 70,5 [69,6; 72,9] мг/кг кобальта с 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг до 51,4 [49,3; 53,3] мг/кг и хрома с 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг до 183,9 [181,8; 185,5] мг/кг соответственно).

При использовании фотофореза 1 % водорастворимый хитозан способен абсорбировать на себе и элиминировать из дермы экспериментального животного до 77,1 % никеля, до 82 % кобальта и до 48 % хрома.

Сравнительная оценка эффективности применения фонофореза и фотофореза соединений хитозана на фоне контактного аллергического дерматита у экспериментальных животных подтверждает высокую сорбционную способность хитозана при условии применения совместно с фотофорезом.

Возможно больший прогрев и усиление микроциркуляции тканей при использовании фотофореза играет ключевую роль в усилении сорбционных и элиминирующих свойств 1 % водорастворимого хитозана, что приводит к значительному снижению острого периода КАД.

В заключении следует отметить, что дальнейшее изучение свойств хитозана и хитина представляет значительный интерес и является перспективным в лечении и профилактике контактных аллергических дерматозов, вызванных тяжелыми металлами.

ВЫВОДЫ

1. Исследование экспериментальных животных с моделью контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля, кобальта и хрома, показало, что 5 % хлористый никель и 5 % хлористый кобальт обладают одинаковыми раздражающими и сенсибилизирующими свойствами, но значительно уступают по своей активности 5 % двуххромовоокислему калию. Результаты подтверждаются клиническими и патоморфологическими изменениями кожи у лабораторных животных.

2. Водорастворимый хитозан способен проникать в неповрежденную кожу в первые 1–2 часа трансфолликулярно, трансгландулярно, трансэпидермально, а также через эпидермальные дефекты. Водорастворимая форма хитозана сохраняется во всех слоях дермы более 24 часов.

3. Методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии определено, что водорастворимый раствор хитозана обладает высокой сорбционной способностью в отношении 5 % хлористого никеля и 5 % хлористого кобальта. Степень абсорбции 5 % двуххромовоокислого калия значительно ниже, по сравнению с солями никеля и кобальта. Водорастворимая форма хитозана способна элиминировать соли тяжелых металлов из кожи в зависимости от методик применения 1 % водорастворимого хитозана.

4. Анализ результатов атомно-сорбционной спектrophотометрии биоптатов кожи экспериментальных животных подтверждает, что абсорбционные свойства водорастворимого хитозана значительно усиливаются под воздействием аппаратных методик. Сравнительный анализ полученных результатов при использовании фонофореза и фотофореза водорастворимого хитозана выявил более высокую эффективность фотофореза при снижении концентрации никеля с 306,6 [305,9; 308,2] мг/кг до 70,5 [69,6; 72,9] мг/кг, кобальта с 284,1 [283,2; 287,5] мг/кг до 51,4 [49,3; 53,3] мг/кг и хрома с 352,4 [350,2; 354,2] мг/кг до 183,9 [181,8; 185,5] мг/кг. 1 % водорастворимый хитозан, нанесенный методом фотофореза, способен абсорбировать на себе до 77,1 % никеля, до 82 % кобальта и до 48 % хрома в сравнении с контрольными группами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При развитии контактного аллергического дерматита, вызванного солями тяжелых металлов, рекомендуется использовать 1 % водорастворимый хитозан молекулярной массой 20 кДа и степенью деацетилирования 87 % методом фотофореза.

2. Рекомендовано использовать универсальный хитозановый гель при лечении контактного аллергического дерматита, вызванного солями тяжелых металлов, в качестве проводниковой среды при проведении аппаратных физиопроцедур.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТФ-аза	аденозинтрифосфатаза
Вт	Ватт
ВНИРО	Всероссийский НИИ рыбного хозяйства и океанографии
ВХз	водорастворимый хитозан
ИК-лучи	инфракрасные лучи
ИЛ	интерлейкин
КАД	контактный аллергический дерматит
КБМ	контактная биомикроскопия
кДа	килоДальтон
КЛ	клетки Лангерганса
Мм	молекулярная масса
Нм	нанометр
СД	степень деацетилирования
ФИТЦ	флюоресцеин изотиоцианат
Ув	увеличение

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаптивный ответ организма на воздействие сульфата никеля / М. Г. Домшлак, Е. Н. Макарова-Землянская, А. Н. Осипов [и др.] // Токсикологический вестник. – 2007. – № 3. – С. 21–25.
2. Актуальные вопросы совершенствования специализированной помощи больным хроническими дерматозами / Н. В. Кунгуров, Н. М. Герасимова, М. М. Кохан [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2002. – № 5. – С. 75–76.
3. Аллилхитозан – новое реакционноспособное производное хитозана / Л. А. Нудьга, В. А. Петрова, А. М. Бочек [и др.] // Производство и применение хитина и хитозана : тез. IV всерос. конф. – М., 1995. – С. 35–37.
4. Антоньев, А. А. Контактные аллергические дерматозы / А. А. Антоньев, В. И. Прохоренков, Е. А. Банников. – Красноярск : Изд-во Красноярского ун-та, 1992. – 192 с.
5. Антоньев, А. А. Опыт изучения профессиональных дерматозов химического генеза (структура, классификация, клиника и профилактика) : дис. ... д-ра мед. наук / Антоньев, Анатолий Анатольевич ; Первый Моск. мед. ин-т им. И. М. Сеченова. – Москва, 1967. – 340 с.
6. Белоусова, Т. А. Наружная терапия аллергического дерматита и экземы / Т. А. Белоусова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2008. – № 2. – С. 97–103.
7. Бреслер, В. М. Транспорт органических кислот через плазматические мембраны дифференцированных эпителиальных слоев у позвоночных / В. М. Бреслер, А. А. Никифоров. – Киев : Наука, 1981. – 204 с.
8. Веремейчик, А. П. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при аллергических дерматозах : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Веремейчик Анжелика Петровна ; Белорусский государственный университет физической культуры. – Гродно, 2004. – 22 с.

9. Веселова, Л. В. Патогенетическая терапия аллергодерматозов / Л. В. Веселова, И. В. Хамаганова, М. И. Савина // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2007. – № 1. – С. 21–25.

10. Влияние энтеросорбентов на гемодинамические показатели и свободнорадикальные процессы у крыс при моделировании хронической интоксикации хлоридом никеля / Ж. К. Албегова, В. Б. Брин, Э. М. Гаглоева [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, № 3. – С. 91–93.

11. Гайдамака, И. И. Иммунологическая характеристика действия ультразвука в условиях эксперимента / И. И. Гайдамака // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 10–11.

12. Горшкова, В. М. Обработка кожи при помощи ультразвука / В. М. Горшкова, В. Н. Рождествин // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2007. – № 10. – С. 62–65.

13. Гущин, И. С. Эпидермальный барьер и аллергия / И. С. Гущин // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 2. – С. 3–16.

14. Дерматозы, связанные с воздействием косметических препаратов и парфюмерных средств / Ю. Н. Перламутров, Г. Д. Селицкий, Н. И. Измерова [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. – № 3. – С. 8–12.

15. Дзугкоева, Ф. С. Патобиологические механизмы токсического влияния хлорида никеля в эксперименте у крыс / Ф. С. Дзугкоева, Е. А. Такоева // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 36–37.

16. Дмитриева, М. Ю. Комплексный метод лечения атопического дерматита, ограниченного нейродермита и экземы с использованием биологической обратной связи : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.11, 14.00.18 / Дмитриева Марианна Юрьевна ; Новосиб. гос. мед. акад. – Новосибирск, 2003. – 13 с.

17. Защитный эффект низкоинтенсивного лазерного излучения в условиях острого токсического стресса / Е. Г. Новоселова, О. В. Глушкова, М. О. Хренов [и др.] // Биофизика. – 2007. – Т. 52, № 1. – С. 137–140.

18. Зорин, С. Н. Получение и физико-химическая характеристика

комплексов эссенциальных микроэлементов (хром, медь, цинк) с ферментативными гидролизатами пищевых белков / С. Н. Зорин // Микроэлементы в медицине. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 53–55.

19. Иванов, О. Л. Дерматиты / О. Л. Иванов, Т. А. Белоусова. – М. : Здоровье, 2000. – 64 с. – (Для тех, кто лечит). – Прил. к журн. "Здоровье". – 2000. – № 4.

20. Изменения микроэлементного статуса семенников крыс в условиях повышенного поступления солей тяжелых металлов / А. Н. Романюк, С. В. Сауляк, Р. А. Москаленко [и др.] // Морфология. – 2011. – Т. V, № 2. – С. 55–60.

21. Измерова, Н. И. Проблема аллергических дерматозов в различных регионах мира / Н. И. Измерова, В. В. Чикин // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2003. – № 6. – С. 14–17.

22. Иммунные механизмы стимуляции репаративных процессов в коже при воздействии физических факторов / А. И. Исайкин, П. И. Щеколдин, И. Е. Валамина [и др.] // Вестник восстановительной медицины. – 2011. – № 4. – С. 51–54.

23. Карбоксиметилирование хитин-глюкановых комплексов грибного происхождения и сорбционные свойства продуктов / Л. А. Нудьга, В. А. Петрова, С. И. Ганичева [и др.] // Журнал прикладной химии. – 2000. – № 2. – С. 297–301.

24. Клетки Лангерганса при контактной гиперчувствительности, вызванной платиноидами, и атопическом дерматите / В. И. Прохоренков, Д. Н. Мисенко, Н. А. Гасич [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 1995. – № 2. – С. 4–7.

25. Коган, Б. Г. Новые европейские подходы в терапии резистентных форм аллергодерматозов / Б. Г. Коган // Український журнал дерматології, косметології. – 2013. – № 1 (48). – С. 137–143.

26. Кожные заболевания и синдромы, зависящие от воздействия химических антропогенных факторов / Ю. К. Скрипкин, Г. Д. Селицкий, С. М. Федоров [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2000. – № 3. – С. 7–8.

27. Колпаков, Ф. И. Влияние солей палладия и никеля на активность некоторых ферментов кожи / Ф. И. Колпаков, В. Д. Макаренко // Труды 1 научной конференции мед. ин-тов Западной Сибири. – Томск, 1974. – С. 275–277.
28. Колпаков, Ф. И. Проницаемость кожи / Ф. И. Колпаков. – М. : Медицина, 1973. – 208 с.
29. Колпаков, Ф. И. Цитологическая картина лимфатических узлов при экспериментальном аллергическом дерматите, вызванном хромом и никелем / Ф. И. Колпаков, В. И. Прохоренков // Вестник дерматологии и венерологии. – 1983. – № 6. – С. 49–52.
30. Контактный дерматит в практике косметолога / Н. Д. Красько, Н. Ю. Резниченко, Д. А. Равлюк [и др.] // Практикуючий лікар. – 2014. – № 1. – С. 93–95.
31. Критерии аллергенности строительных материалов / F. Did, H. Shubert, M. Fischer [et al.] // Медицинская иммунология. – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 419–426.
32. Легессе, Д. Г. О патогенезе экземы / Д. Г. Легессе, В. И. Прохоренков // Сибирское медицинское обозрение. – 2003. – Т. 25, № 1. – С. 65–67.
33. Лусс, Л. В. Новые возможности диагностики аллергического контактного дерматита / Л. В. Лусс, С. А. Ерохина, К. С. Успенская // Российский аллергологический журнал. – 2008. – № 2. – С. 65–72.
34. Лусс, Л. В. Современные проблемы диагностики и терапии аллергического контактного дерматита / Л. В. Лусс // Доктор.ру. – 2009. – № 2. – С. 63–67.
35. Махнева, Н. В. Антигены главного комплекса гистосовместимости класса II (HLAII) на клеточных элементах кожи при дерматозах / Н. В. Махнева, Л. В. Белецкая // Вестник дерматологии и венерологии. – 2004. – № 4. – С. 7–12.
36. Металлоаллергозы / Ж. Ж. Рапопорт, А. В. Роцин, В. Г. Веселов [и др.] ; ред. Ж. Ж. Рапопорт. – Красноярск : Изд-во Красноярск. гос. ун-та, 1987. – 175 с.
37. Механизмы коррекции воспалительных и репаративных процессов в

коже ультразвуком / В. В. Базарный, И. Е. Валамина, Д. С. Самойлов [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2008. – № 3. – С. 29–31.

38. О моделировании хронического аллергического дерматита / А. А. Антоньев, С. В. Суворов, П. И. Богатырев [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 1981. – № 1. – С. 16–19.

39. Опарин, Р. Б. Профилактика контактных дерматитов различной этиологии / Р. Б. Опарин // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2010. – № 6. – С. 54–56.

40. Оценка эффективности средств индивидуальной защиты кожи при воздействии соединений никеля / А. А. Ларкин // Медицина труда и промышленная этиология. – 2007. – № 9. – С. 22–27.

41. Патология кожи : в 2 т. / В. Г. Акимов, В. И. Альбанова, И. И. Богатырева [и др.] ; под ред. В. Н. Мордовцева, Г. М. Цветковой. – М. : Медицина, 1993. – Т. 1. – 336 с.

42. Пивень, Н. П. Сопутствующая патология у больных хроническими дерматозами / Н. П. Пивень, Е. А. Пивень // Альманах клинической медицины. – 2007. – № 15. – С. 262–264.

43. Показатели иммунного гомеостаза рабочих хромового производства / А. А. Мамырбаев, Л. Д. Сакебаева, У. А. Сатыбалдиева [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2011. – № 6. – С. 43–45.

44. Полиаминосахаридсодержащие сорбенты из отходов микробиологических производств / Л. Н. Кириллова, М. Б. Муравьева, А. И. Козин [и др.] // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана : материалы V конф. – М., 1999. – С. 31–34.

45. Профессиональные болезни кожи : рук. для врачей / А. А. Антоньев, Б. А. Сомов, Л. П. Цыркунов [и др.]. – Красноярск : Офсет, 1996. – Т. 2. – 240 с.

46. Прохоренков, В. И. Перспективы использования хитозана и его продуктов при заболеваниях кожи (обзор литературы) / В. И. Прохоренков, И. Н. Большаков, М. Г. Боргоякова // Сибирское медицинское обозрение. – 2002. – Т. 22, № 2. – С. 45–58.

47. Прохоренков, В. И. Экзема / В. И. Прохоренков, Т. А. Яковлева. – Красноярск : Офсет, 1994. – 255 с.
48. Проценко, Т. В. Опыт проактивной терапии больных атопическим дерматитом / Т. В. Проценко, О. А. Проценко, А. С. Черновол // Украинський журнал дерматології, косметології. – 2013. – № 1 (48). – С. 118–122.
49. Рабинович, М. И. Применение хитозана как фармакокорректора содержания тяжелых металлов в организме животных на южном Урале / М. И. Рабинович, А. Р. Таирова // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана : материалы V конф. – М., 1999. – С. 186–188.
50. Родионов, А. Н. Дерматовенерология : полное руководство для врачей / А. Н. Родионов. – СПб. : Наука и Техника, 2012. – 1199 с.
51. Ройт, А. Иммунология : пер. с англ. / А. Ройт, Дж. Бротстофф, Д. Мейл. – М. : Мир, 2000. – 592 с.
52. Свойства пленок, полученных из смесей целлюлозы и хитозана / С. З. Роговина, Г. А. Вихорева, Т. А. Аكوпова [и др.] // Высокомолекулярные соединения. – 1999. – № 11. – С. 1839–1842.
53. Сергеев, А. Ю. Иммунодерматология: иммунологические основы патогенеза главных воспалительных дерматозов человека / А. Ю. Сергеев, А. В. Караулов, Ю. В. Сергеев // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2003. – № 4. – С. 10–23.
54. Современная диагностика аллергического контактного дерматита: возможности и перспективы / А. Н. Львов, О. Л. Иванов, Т. А. Белоусова [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2007. – № 3. – С. 17–22.
55. Токсикологическая оценка кобальт-, медь-, железо-полигалактуроната / А. Б. Выштакалюк, А. Н. Карасева, В. В. Карлин [и др.] // Токсикологический вестник. – 2006. – № 6. – С. 10–14.
56. Токсичность никеля для тионовых бактерий / Л. И. Ахметов, А. Г. Быков, М. Б. Вайнштейн [и др.] // Известия Тульского гос. ун-та. Серия : Естественные науки. – 2010. – № 1. – С. 167–174.
57. Феденко, Е. С. Аллергический контактный дерматит / Е. С. Феденко //

Consilium Medicum. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 164–166.

58. Феденко, Е. С. Контактная аллергия. Советы врача : пособие для пациентов / Е. С. Феденко. – М. : [Б. и.], 2004. – 12 с.

59. Хронические дерматозы / В. П. Адаскевич, В. В. Саларев, С. И. Пиманов [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2003. – № 6. – С. 8–11.

60. Шашкова, Т. А. Терапия контактного дерматита у взрослых и детей / Т. А. Шашкова, О. Б. Тамразова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. – № 4. – С. 46.

61. Эйсен, М. А. Роль бытовых аллергенов в развитии контактного дерматита / М. А. Эйсен, С. Л. Каур, Х. А. Сильм // Вестник дерматологии и венерологии. – 2001. – № 1. – С. 33–36.

62. A comparison of spacer on water-soluble cyclodextrin grafted chitosan inclusion complex as carrier of eugenol to mucosae / W. Sajomsang, O. Nuchuchua, S. Saesoo [et al.] // Carbohydr. Polym. – 2013. – Vol. 92, № 1. – P. 321–327.

63. A facile approach for controlled modification of chitosan under γ -Ray irradiation for drug delivery / W. Huang, Y. Wang, S. Zhang [et al.] // Macromolecules. – 2013. – Vol. 46, № 3. – P. 814–818.

64. A quantitative approach to assess the potency of skin sensitizers in the elicitation phase / J. Ezendam, J. P. Vermeulen, A. de Klerk [et al.] // Toxicology. – 2012. – Vol. 299, № 1. – P. 20–24.

65. A water-soluble, mucoadhesive quaternary ammonium chitosanmethyl- β -cyclodextrin conjugate forming inclusion complexes with dexamethasone / A. M. Piras, Y. Zambito, S. Burgalassi [et al.] // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2018. – Vol. 29, 4. – P. 42.

66. Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs / H. Ueno, H. Yamada, I. Tanaka [et al.] // Biomaterials. – 1999. – Vol. 20, № 15. – P. 1407–1414.

67. Agarwal, S. Occupational allergic contact dermatitis to silver and colophonium in a jeweler / S. Agarwal, D. J. Gawkrödger // Am. J. Contact Dermatol. –

2002. – Vol. 13, № 2. – P. 74.

68. Alternative approach for potency assessment: *In vitro* methods / E. Corsini, E. L. Roggen, V. Galbiati [et al.] // *Cosmetics*. – 2016. – Vol. 3, № 1. – P. 7.

69. Antibacterial and antioxidative activity of O-amine functionalized chitosan / T. M. Tamer, M. A. Hassan, A. M. Omer [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2017. – Vol. 169. – P. 441–450.

70. Antimicrobial activity of hydroxylbenzenesulfonilides derivatives of chitosan, chitosan sulfates and carboxymethyl chitosan / Z. Zhong, P. Li, R. Xing [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2009. – Vol. 45, № 2. – P. 163–168.

71. Approaches and considerations for the assessment of immunotoxicity for environmental chemicals: a workshop summary / D. R. Boverhof, G. Ladics, B. Luebke [et al.] // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 68, № 1. – P. 96–107.

72. Aquino, M. Systemic contact dermatitis and allergy to biomedical devices / M. Aquino, T. Mucci // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2013. – Vol. 13, № 5. – P. 518–527.

73. Assessment of the efficacy of drug transdermal delivery by electrophoresis in treating tuberculous lymphadenitis / S. Chen, M. Qin, Y. Han [et al.] // *Drug Deliv.* – 2016. – Vol. 23, № 5. – P. 1588–1593.

74. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on PVA/chitosan-blended hydrogels / T. Koyano, N. Minoura, M. Nagura [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1998. – Vol. 39, № 3. – P. 486–490.

75. Bogen, K. T. Risks of Allergic Contact Dermatitis Elicited by Nickel, Chromium, and Organic Sensitizers: Quantitative Models Based on Clinical Patch Test Data / K. T. Bogen, M. R. Garry // *Risk Anal.* – 2018. – Vol. 38, № 5. – P. 1036–1051.

76. Bonchai, W. Risk factors for common contact allergens and patch tests results using a modified European baseline series in patients tested between 2000–2009 at Siriraj Hospital / W. Bonchai, P. Iantharachai // *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* – 2014. – Vol. 32, № 1. – P. 60–65.

77. Brandao, M. H. Contact sensitivity to metals (chromium, cobalt and nickel) in childhood / M. H. Brandao, B. Gontijo // *An. Bras. Dermatol.* – 2012. – Vol. 87, № 2.

– P. 269–276.

78. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs / E. Ruel-Gariepy, A. Chenite, C. Chaput [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2000. – Vol. 203, № 1–2. – P. 89–98.

79. Chitinous materials inhibit nitric oxide production by activated RAW 264.7 macrophages / S. M. Hwang, C. Y. Chen, S. S. Chen [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – Vol. 271, № 1. – P. 229–233.

80. Chitosan and chitosan sulfate have opposing effects on collagen- fibroblast interactions / M. R. Mariappan, E. A. Alas, J. G. Williams [et al.] // *Wound Repair. Regen.* – 1999. – Vol. 7, № 5. – P. 400–406.

81. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering / S. M. Ahsan, M. Thomas, K. K. Reddy [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 110. – P. 97–109.

82. Chitosan nanoparticles for the linear release of model cationic peptide / A. M. Piras, S. Sandreschi, G. Maisetta [et al.] // *Pharm. Res.* – 2015. – Vol. 32, № 7. – P. 2259–2265.

83. Chitosan nanoparticles loaded with the antimicrobial peptide temporin B exert a long-term antibacterial activity in vitro against clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* / A. M. Piras, G. Maisetta, S. Sandreschi [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 372.

84. Chitosan-chondroitin sulfate and chitosan-hyaluronate polyelectrolyte complexes: biological properties / A. Denuziere, D. Ferrier, O. Damour [et al.] // *Biomaterials.* – 1998. – Vol. 19, № 14. – P. 1275–1285.

85. Chitosan-graft- β -cyclodextrin nanoparticles as a carrier for controlled drug release / Z. Yuan, Y. Yeb, F. Gao [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2013. – Vol. 446, № 1-2. – P. 191–198.

86. Chitosans as absorption enhancers of poorly absorbable drugs. 3: Influence of mucus on absorption enhancement / N. G. Schipper, K. M. Varum, P. Stenberg [et al.] // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 1999. – Vol. 8, № 4. – P. 335–343.

87. Christoffers, W. A. Two decades of occupational (meth)acrylate patch test

results and focus on isobornyl acrylate / W. A. Christoffers, P. J. Coenraads, M.-L. Schuttelaar // *Contact Dermatitis*. – 2013. – Vol. 69, № 2. – P. 86–92.

88. Chromium allergy and dermatitis: prevalence and main findings / D. Bregnbak, J. D. Johansen, M. S. Jellesen [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2015. – Vol. 73, № 5. – P. 261–280.

89. Chromium in leather footwear – risk assessment of chromium allergy and dermatitis / J. P. Thyssen, M. Strandesen, P. B. Poulsen [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2012. – Vol. 66, № 5. – P. 279–285.

90. Chromones as a privileged scaffold in drug discovery: a review / R. Keri, S. Budagumpi, R. K. Pai [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 78. – P. 340–374.

91. CLH report. Proposal for harmonised classification and labelling. Based on regulation (EC) No 1272/2008 (CLP Regulation), Annex VI, Part 2. Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde (HICC) [Electronic resource]. – 2013. – URL : <https://echa.europa.eu/documents/10162/05e13e86-201c-522b-473d-3cb1461367ba>

92. Clinical features, testing, and management of patients with suspected prosthetic hip-associated cobalt toxicity: a systematic review of cases / J. J. Devlin, A. C. Pomerleau, J. Brent [et al.] // *J. Med. Toxicol.* – 2013. – Vol. 9, № 4. – P. 405–415.

93. Commission Regulation (EU) No 1003/2014 of 18 September 2014 amending Annex V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products Text with EEA relevance [Electronic resource]. – URL : <http://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2014/1003/oj>

94. Commission Regulation (EU) No 301/2014 of 25 March 2014 amending Annex XVII to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards chromium VI compounds [Electronic resource] // *Official Journal of the European Communities*. – 2014. – URL : <http://leatherindia.org/wp-content/uploads/2015/07/eu-chromium-annex-xvii-1.pdf>.

95. Compilation of historical local lymph node data for evaluation of skin sensitization alternative methods / G. F. Gerberick, C. A. Ryan, P. S. Kern [et al.] // *Dermatitis*. – 2005. – Vol. 16, № 4. – P. 157–202.

96. Concurrent sensitization to metals and occupation / F. Rui, M. Bovenzi, A. Prodi [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2012. – Vol. 67, № 6. – P. 359–366.
97. Contact allergy to metals in adolescents: nickel release from metal accessories 7 years after the implementation of the EU Nickel Directive in Poland / B. Krecisz, D. Chomiczewska, C. Palczynski [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2012. – Vol. 67, № 5. – P. 270–276.
98. Contact dermatitis due to ultrasound gel: A case report and published work review / F. Chasset, A. Soria, P. Moguelet [et al.] // *J. Dermatol.* – 2016. – Vol. 43, № 3. – P. 318–320.
99. Contact sensitization to allergens in the Spanish standard series at Hospital Costa del Sol in Marbella, Spain: a retrospective study (2005–2010) / M. Aguilar-Bernier, A. I. Bernal-Ruiz, F. Rivas-Ruiz [et al.] // *Actas Dermosifilogr.* – 2012. – Vol. 103, № 3. – P. 223–228.
100. Crépy, M. N. News on occupational contact dermatitis / M. N. Crépy, L. Bensefa-Colas // *Rev. Prat.* – 2014. – Vol. 64, № 3. – P. 342–349.
101. De Groot, A. C. Patch test concentrations and vehicles for testing contact allergens / A. C. De Groot, P. J. Frosch // *Contact Dermatitis* / eds. P. J. Frosch, T. Menné, J. P. Lepoittevin. – Heidelberg; Berlin : Springer Verlag, 2006. – P. 906–928.
102. De Groot, A. C. Patch Testing / A. C. De Groot. – 3rd ed. – Wapserveen : Acdegroot publishing, 2015. – 33 p.
103. De Groot, A. C. Patch Testing: Test Concentration and Vehicles for 4350 Chemicals / A. C. De Groot. – 3rd ed. – Wapserveen : Acdegroot Publishing, 2008. – 455 p.
104. Demetgül, C. Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives / C. Demetgül, N. Beyazit // *Carbohydr. Polym.* – 2018. – Vol. 181. – P. 812–817.
105. Duarte, I. Frequency of occupational contact dermatitis in an ambulatory of dermatologic allergy / I. Duarte, A. Rotter, R. Lazzarini // *An. Bras. Dermatol.* – 2010. – Vol. 85, № 4. – P. 168–172.
106. Effect of citrate spacer on mucoadhesive properties of a novel water-

soluble cationic β -cyclodextrin-conjugated chitosan / S. Chaleawlerthumpon, O. Nuchuchua, S. Saesoo [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2011. – Vol. 84, № 1. – P. 186–194.

107. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro / T. Mori, M. Okumura, M. Matsuura [et al.] // *Biomaterials.* – 1997. – Vol. 18, № 13. – P. 947–951.

108. Enzymatically biomineralized chitosan scaffolds for tissue-engineering applications / M. Dash, S. K. Samal, T. E. T. Douglas [et al.] // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2017. – Vol. 11, № 5. – P. 1500–1513.

109. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing – recommendations on best practice / J. D. Johansen, K. Aalto-Korte, T. Agner [et al.] // *Contact Dermatitis.* – 2015. – Vol. 73, № 4. – P. 195–221.

110. Evaluation of the usefulness of dressings made from chitosan and lyophilized human placenta on wound healing / P. Drenda, P. Lampe, Z. Gorka [et al.] // *Wiad. Lek.* – 1997. – Vol. 50, Suppl. 1 (Pt. 2). – P. 252–256.

111. Felt, O. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery / O. Felt, P. Buri, R. Gurny // *Drug. Dev. Ind. Pharm.* – 1998. – Vol. 24, № 11. – P. 979–993.

112. Fowler, J. F. Jr. Cobalt / J. F. Jr. Fowler // *Dermatitis.* – 2016. – Vol. 27, № 1. – P. 3–8.

113. Garcia-Miguel, J. Allergic contact dermatitis in medical professionals due to exposure to ultrasound gel / J. Garcia-Miguel, N. Lamas-Doménech, P. Barceló-García // *Rheumatol. Clin.* – 2016. – Vol. 12, № 2. – P. 115–116.

114. Gawkrödger, D. J. Contact sensitivity to nickel and other metals in jewelry reactors / D. J. Gawkrödger, F. M. Lewis, M. Shah // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2000. – Vol. 43, №1 (Pt 1). – P. 31–36.

115. Gawkrödger, D. J. Nickel skin levels in different occupations and an estimate of the threshold for reacting to a single open application of nickel in nickel-allergic subjects / D. J. Gawkrödger, C. W. McLeod, K. Dobson // *Br. J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 166, № 1. – P. 82–87.

116. Heparin-chitosan complexes stimulate wound healing in human skin /

G. Kratz, C Arnander, J. Swedenborg [et al.] // *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.* – 1997. – Vol. 31, № 2. – P. 119–123.

117. Hirano, S. Chitin biotechnology applications / S. Hirano // *Biotechnol. Annu. Rev.* – 1996. – Vol. 2. – P. 237–258.

118. Hoergberg, B. The mechanism of the disruption of cell podusendby compound 4880 / B. Hoergberg, B. Uvnas // *Acta Phisiol. Scand.* – 1957. – Vol. 41. – P. 345–348.

119. ICCVAM Test Method Evaluation Report: Usefulness and Limitations of the Murine Local Lymph Node Assay for Potency Categorization of Chemicals Causing Allergic Contact Dermatitis in Humans. NIH Publication Number 11-7709 [Electronic resource]. – ICCVAM, 2011. – URL : https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/immunotox_docs/llna-pot/tmer.pdf

120. Incidence rates of occupational allergic contact dermatitis caused by metals / L. Kanerva, R. Jolanki, T. Estlander [et al.] // *Am. J. Contact Dermat.* – 2000. – Vol. 11, № 3. – P. 155–160.

121. Inducible ablation of mouse Langerhans cells diminishes but fails to abrogate contact hypersensitivity / C. L. Bennett, E. van Rijn, S. Jung [et al.] // *J. Cell Biol.* – 2005. – Vol. 169, № 4. – P. 569–576.

122. Kam, H. M. Storage of partially deacetylated chitosan films / H. M. Kam, E. Khor, L. Y. Lim // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – Vol.48, № 6. – P. 881–888.

123. Kono, H. Cyclodextrin-grafted chitosan hydrogels for controlled drug delivery / H. Kono, T. Teshirogi // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2015. – Vol. 72. – P. 299–308.

124. Leffler, C. C. Influence of the acid type on the physical and drug liberation properties of chitosan–gelatin sponges / C. C. Leffler, B. W. Muller // *Int. J. Pharm.* 2000. – Vol. 194, № 2. – P. 229–237.

125. Liposomes as a potential ocular delivery system of distamycin A / P. Chetoni, D. Monti, S. Tampucci [et al.] // *J. Pharm.* – 2015. – Vol. 492, № 1-2. – P. 120–126.

126. Loftsson, T. Cyclodextrins and topical drug delivery to the anterior and

posterior segments of the eye / T. Loftsson, E. Stefánsson // *Int. J. Pharmaceut.* – 2017. – Vol. 531, № 2. – P. 413-423.

127. Madsen, J. T. Further evidence of the methylisothiazolinone epidemic / dermatitis / J. T. Madsen, K. E. Andersen // *Contact Dermatitis.* – 2014. – Vol. 70, № 4. – P. 246–247.

128. Madsen, J. T. Undisclosed methylisothiazolinone in an ultrasound gel causing occupational allergic contact dermatitis / J. T. Madsen, S. Broesby-Olsen, K. E. Andersen // *Contact Dermatitis.* – 2014. – Vol. 71, № 5. – P. 303–317.

129. Martin, B. G. Contact dermatitis: evaluation and treatment / B. G. Martin // *J. Am. Osteopath. Assoc.* – 1999. – Vol. 99, Suppl. 3. – P. S11–S14.

130. Mateen, R. Carboxymethyl and hydrazide functionalized beta-cyclodextrin derivatives: a systematic investigation of complexation behaviours with the model hydrophobic drug dexamethasone / R. Mateen, T. Hoare // *Int. J. Pharm.* – 2014. – Vol. 472, № 1-2. – P. 315–326.

131. Mechanisms of chemical-induced innate immunity in allergic contact dermatitis / S. F. Martin, P. R. Esser, F. C. Weber [et al.] // *Allergy.* – 2011. – Vol. 66, № 9. – P. 1152–1563.

132. Mohamoud, A. A. Allergic contact dermatitis caused by textile dyes mimicking atopic dermatitis / A. A. Mohamoud, F. Andersen // *Contact Dermatitis.* – 2017. – Vol. 76, № 2. – P. 114–128.

133. Mucoadhesive nanoparticles made of thiolated quaternary chitosan crosslinked with hyaluronan / Y. Zambito, F. Felice, A. Fabiano [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2013. – Vol. 92, № 1. – P. 33–39.

134. Mucoadhesivity and release properties of quaternary ammonium-chitosan conjugates and their nanoparticulate supramolecular aggregates: an NMR investigation / G. Uccello-Barretta, F. Balzano, F. Aiello [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2014. – Vol. 461, № 1-2. – P. 489–494.

135. Muzzarelli, R. A. Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives / R. A. Muzzarelli // *Cell. Mol. Life Sci.* – 1997. – Vol. 53, № 2. – P. 131–140.

136. New chitin, chitosan, and O-carboxymethyl chitosan sources from resting eggs of *Daphnia longispina* (Crustacea); with physicochemical characterization, and antimicrobial and antioxidant activities / M. Kaya, Y. S. Çakmak, T. Baran [et al.] // *Biotechnol. Bioprocess Engineering*. – 2014. – Vol. 19, № 1. – P. 58–69.
137. Nickel acts as an adjuvant during cobalt sensitization / C. M. Bonefeld, M. M. Nielsen, M. T. Vennegaard [et al.] // *Exp. Dermatol.* – 2015. – Vol. 24, № 3. – P. 229–231.
138. Nickel allergy in Spain needs active intervention / J. García-Gavín, J. C. Armario-Hita, V. Fernández-Redondo [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2011. – Vol. 64, № 5. – P. 289–291.
139. Nickel, chromium and cobalt: the relevant allergens in allergic contact dermatitis. Comparative study between two periods: 1995-2002 and 2003-2015 / I. Duarte, R. F. Mendonça, K. L. Korkes [et al.] // *An. Bras. Dermatol.* – 2018. – Vol. 93, № 1. – P. 59–62.
140. Novel quaternized chitosan containing β -cyclodextrin moiety: Synthesis, characterization and antimicrobial activity / P. Gonil, W. Sajomsang, U. R. Ruktanonchai [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2011. – Vol. 83, № 2. – P. 905–913.
141. Occupational allergic contact dermatitis caused by isothiazolinones in ultrasound gel: 2 cases / M. Corazza, G. Amendolagine, D. Cristofaro [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2017. – Vol. 77, № 5. – P. 337–338.
142. Onishi, H. Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice / H. Onishi, Y. Machida // *Biomaterials*. – 1999. – Vol. 20, № 2. – P. 175–182.
143. Plaza, G. Sorption of cadmium by filamentous soil fungi / G. Plaza, W. Lukasik, K. Ulfig // *Acta Microbiol. Pol.* – 1996. – Vol. 45, № 2. – P. 193–201.
144. Polyelectrolyte complex composed of chitosan and sodium alginate for wound dressing application / H. J. Kim, H. C. Lee, J. S. Oh [et al.] // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* – 1999. – Vol. 10, № 5. – P. 543–556.
145. Possible role of regional variation in allergic contact dermatitis: case report / A. Jiang, J. C. Harrison, P. D. Siegel [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2018. – Vol. 78, № 3. – P. 223–239.

146. Potency Values from the Local Lymph Node Assay: Application to Classification, Labelling and Risk Assessment. Document № 46 [Electronic resource] / European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. – Brussels, 2008. – 46 p. – URL : <http://www.ecetoc.org/wp-content/uploads/2014/08/DOC-0461.pdf>

147. Predicting chemically-induced skin reactions. Part I: QSAR models of skin sensitization and their application to identify potentially hazardous compounds / V. M. Alves, E. Muratov, D. Fourches [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 284, № 2. – P. 262–272.

148. Preparation and adsorption capacity evaluation of graphene oxide-chitosan composite hydrogels / H. Zhao, T. Jiao, L. Zhang [et al.] // *Sci. China Mater.* – 2015. – Vol. 58. – P. 811–818.

149. Preparation and characterization of polymeric host molecules, β -cyclodextrin linked chitosan derivatives having different linkers / W. Buranaboripan, W. Lang, E. Motomura [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2014. – Vol. 69. – P. 27–34.

150. Preparation of graphene oxide-based hydrogels as efficient dye adsorbents for wastewater treatment / H. Guo, T. Jiao, Q. Zhang [et al.] // *Nanoscale Res. Lett.* – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. 931.

151. Prevalence of contact allergy in the general population in different European regions / T. L. Diepgen, R. F. Ofenloch, M. Bruze [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2016. – Vol. 174, № 2. – P. 319–329.

152. Properties of the poly(vinyl alcohol)/chitosan blend and its effect on the culture of fibroblast in vitro / W. Y. Chuang, T. H. Young, C. H. Yao [et al.] // *Biomaterials.* – 1999. – Vol. 20, № 16. – P. 1479–1487.

153. Protein-hapten binding: Challenges and limitations for in vitro skin sensitization assays / M. Divkovic, D. A. Basketter, N. Gilmour [et al.] // *J. Toxicol. Cutaneous Ocul. Toxicol.* – 2003. – Vol. 22, № 1–2. – P. 87–99.

154. Razak, A. Metal hypersensitivity in patients with conventional orthopaedic implants / A. Razak, A. D. Ebinesan, C. P. Charalambous // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2014. – Vol. 96, Pt 2, № 2. – P. e1.

155. Recommendation to include a textile dye mix in the European baseline

series / M. Isaksson, K. Ryberg, A. Goossens [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2015. – Vol. 73, № 1. – P. 15–20.

156. Reference test method for release of nickel from all post assemblies which are inserted into pierced parts of the human body and articles intended to come into direct and prolonged contact with the skin. Irish Standard I.S. EN 1811:2011+A1:2015 [Electronic resource]. – URL : <https://infostore.saiglobal.com/preview/is/en/2011/i.s.en1811-2011%2ba1-2015.pdf?sku=1459192>

157. Relationship of occupation to contact dermatitis: evaluation in patients tested from 1998 to 2000 / R. L. Rietschel, C. G. Mathias, J. F. Fowler [et al.] // *Am. J. Contact Dermatitis*. – 2002. – Vol.13, № 4. – P. 170–176.

158. Revised minimal baseline series of the International Contact Dermatitis Research Group: evidence-based approach / A. Alikhan, L. S. Cheng, I. Ale [et al.] // *Dermatitis*. – 2011. – Vol. 22, № 2. – P. 121–122.

159. Richardson, S. C. Potential of low molecular mass chitosan as a DNA delivery system: biocompatibility, body distribution and ability to complex and protect DNA / S. C. Richardson, H. V. Kolbe, R. Duncan // *Int. J. Pharm.* – 1999. – Vol. 178, № 2. – P. 231–243.

160. Risbud, M. Growth modulation of fibroblasts by chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogel: implications for wound management? / M. Risbud, A. Hardikar, R. Bhonde // *J. Biosci.* – 2000. – Vol. 25, № 1. – P. 25–31.

161. Rodríguez Villanueva, J. Pharmaceutical technology can turn a traditional drug, dexamethasone into a first-line ocular medicine. A global perspective and future trends / J. Rodríguez Villanueva, L. Rodríguez Villanueva, M. Guzmán Navarro // *Int. J. Pharm.* – 2017. – Vol. 516, № 1-2. – P. 342–351.

162. Schwarz, T. Pathomechanismen der Auslisephase der allergischen Kontaktdermatitis / T. Schwarz, H. Riemann, S. Grabbe // *JDDG*. – 2003. – Vol. 1, № 8. – P. 613–619.

163. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Opinion on methylisothiazolinone (P94) submission II (sensitization only). The SCCS adopted this opinion at its 4th plenary meeting on 12 December 2013 [Electronic resource]. – URL :

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_145.pdf

164. Self-assembly reduced graphene oxide nanosheet hydrogel fabrication by anchorage of chitosan/silver and its potential efficient application toward dye degradation for wastewater treatments / T. Jiao, H. Zhao, J. Zhou [et al.] // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2015. – Vol. 3, № 12. – P. 3130–3139.

165. Sensitizing capacity of Disperse Orange 1 and its potential metabolites from azo reduction and their cross-reactivity pattern / L. Malinauskiene, E. Zimerson, M. Bruze [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2013. – Vol. 69, № 1. – P. 40–48.

166. Shepherd, R. Chitosan functional proprieties / R. Shepherd, S. Reader, A. Falshaw // *Glycogonj. J.* – 1997. – Vol. 14, № 4. – P. 535–542.

167. Skin electroporation for transdermal drug delivery: the influence of the order of different square wave electric pulses / B. Zorec, S. Becker, M. Reberšek [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2013. – Vol. 457, № 1. – P. 214–223.

168. Study of innervation, sensory neuropeptides, and serotonin in murine contact allergic skin / H. El-Nour, L. Lundeberg, A. Boman [et al.] // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* – 2005. – Vol. 27, № 1. – P. 67–76.

169. Study of molybdate ion sorption on chitosan gel beads by different spectrometric analyses / E. Guibal, C. Milot, O. Etteradossi [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 1999. – Vol. 24, № 1. – P. 49–59.

170. Supramolecular cyclodextrin-based drug nanocarriers / S. M. Simões, A. Rey-Rico, A. Concheiro [et al.] // *Chem. Commun.* – 2015. – Vol. 51, № 29. – P. 6275–6289.

171. Surveillance of occupational skin disease: EPIDERM and OPRA / N. Cherry, J. D. Meyer, A. Adisesh [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2000. – Vol. 142, № 6. – P. 1128–1134.

172. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of two aromatic chitosan Schiff base derivatives / T. M. Tamer, M. A. Hassan, A. M. Omer [et al.] // *Process Biochemistry*. – 2016. – Vol. 51, № 10. – P. 1721–1730.

173. T cells reactive to keratinocyte antigens are generated during induction of contact hypersensitivity in mice. A model for autoeczematization in humans? /

B. S. Fehr, A. Takashima, P. R. Bergstresser [et al.] // *Am. J. Contact Dermatitis*. – 2000. – Vol. 11, № 3. – P. 145–154.

174. Taravel, M. N. Collagen and interactions with chitosan, III some biological and mechanical properties / M. N. Taravel, A. Domard // *Biomaterials*. – 1996. – Vol. 17, № 4. – P. 451–455.

175. Teixeira, V. Allergic contact dermatitis to metals in a 20 years period in central of Portugal: evaluation of the effect of the European directives / V. Teixeira, I. Coutinho, M. Gonçalo // *Acta Med. Port.* – 2014. – Vol. 27, № 3. – P. 295–303.

176. Teixeira, V. Allergic contact dermatitis to metals over a 20-year period in the Centre of Portugal: evaluation of the effects of the European directives / V. Teixeira, I. Coutinho, M. Gonçalo // *Acta Med. Port.* – 2014. – Vol. 27, № 3. – P. 295–303.

177. Test No. 429: Skin Sensitisation. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [Electronic resource]. – URL : <http://dx.doi.org/10.1787/9789264071100-en>

178. The EU Nickel Directive revisited - future steps towards better protection against nickel allergy / J. P. Thyssen, W. Uter, J. McFadden [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 2011. – Vol. 64, № 3. – P. 121–125.

179. The interaction of chitosan with fibroblast growth factor-2 and its protection from inactivation / K. Masuoka, M. Ishihara, T. Asazuma [et al.] // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26, № 16. – P. 3277–3284.

180. Thyssen, J. P. Nickel and cobalt allergy before and after nickel regulation – evaluation of a public health intervention / J. P. Thyssen // *Contact Dermatitis*. – 2011. – Vol. 65, Suppl. 1. – P. 1–68.

181. Tilakaratne, D. Heavy metal (monoclonal) bands: a link between cutaneous T-cell lymphoma and contact allergy to potassium dichromate, nickel and cobalt? / D. Tilakaratne, S. Sidhu // *Australas. J. Dermatol.* – 2015. – Vol. 56, № 1. – P. 59–63.

182. Transdermal delivery of isoniazid and rifampin in guinea pigs by electrophoresis / S. Chen, Y. Han, D. Yu [et al.] // *Drug Deliv.* – 2017. – Vol. 24, № 1. – P. 467–470.

183. Verdelli, A. Contact allergic dermatitis due to Kathon CG contained in

ultrasound gel / A. Verdelli, S. Francalanci, G. M. Palleschi // *Dermatitis*. – 2014. – Vol. 25, № 1. – P. 35–36.

184. Water-soluble chitin as a wound healing accelerator / Y. W. Cho, Y. N. Cho, S. H. Chung [et al.] // *Biomaterials*. – 1999. – Vol. 20, № 22. – P. 2139–2145.

185. Water-soluble chitosan derivatives and pH-responsive hydrogels by selective C-6 oxidation mediated by TEMPO-laccase redox system / S. Botelho da Silva, M. Krolicka, L. A. M. van den Broek [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2018. – Vol. 186. – P. 299–309.

186. Wiedersberg, S. Transdermal drug delivery: 30+ years of war and still fighting / S. Wiedersberg, R. H. Guy // *J. Control. Release*. – 2014. – Vol. 190. – P. 150–156.

187. Wilson, L. D. Preparation and sorption studies of β -cyclodextrin-chitosan-glutaraldehyde terpolymers / L. D. Wilson, D. Y. Pratt, J. A. Kozinski // *J. Colloid Interface Sci.* – 2013. – Vol. 393. – P. 271–277.

188. Wong, C. C. Systemic allergic dermatitis caused by cobalt and cobalt toxicity from a metal on a metal hip replacement / C. C. Wong, R. L. Nixon // *Contact Dermatitis*. – 2014. – Vol. 71, № 2. – P. 108–128.

189. Yoshihisa, Y. Metal allergy and systemic contact dermatitis: an overview / Y. Yoshihisa, T. Shimizu // *Dermatol. Res. Pract.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 749561.

190. Zhang, L. Removal of heavy metal ions using chitosan and modified chitosan: A review / L. Zhang, Y. Zeng, Z. Cheng // *J. Mol. Liquids*. – 2016. – Vol. 214. – P. 175–191.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Строение молекулы хитина. С. 27
2. Рисунок 2 – Строение молекулы хитозана. С. 27
3. Рисунок 3 – Проявления контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля. На эритематозном фоне, единичные везикулы, мелкопластинчатое шелушение. С. 43
4. Рисунок 4 – Контактный аллергический дерматит, вызванный солями никеля. Гиперкератоз с паракератозом в эпидермисе, лимфоцитарно-лейкоцитарная инфильтрация в сосочковом слое. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$ С. 43
5. Рисунок 5 – Проявления контактного аллергического дерматита, вызванного солями кобальта. На эритематозном фоне слившиеся папулы, везикулы, серозные корочки. С. 44
6. Рисунок 6 – Контактный аллергический дерматит, вызванный солями кобальта. Выраженный акантоз, диффузный спонгиоз, диффузные лимфоцитарно-лейкоцитарные инфильтраты в дерме. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$ С. 45
7. Рисунок 7 – Проявления контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома. Эрозии, язвы распространились на прилегающие участки кожи. С. 46
8. Рисунок 8 – Контактный аллергический дерматит, вызванный солями хрома. В верхних слоях эпидермиса – тканевой детрит с нитями фибрина и лейкоцитами, в дерме диффузные инфильтраты из лимфоцитов, лейкоцитов и макрофагов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$ С. 47
9. Рисунок 9 – Кожа интактного животного. Естественная люминесценция. Ув. $\times 400$ С. 49
10. Рисунок 10 – Неповрежденная кожа экспериментального животного через 2 часа после нанесения водорастворимого

- хитозана, меченного ФИТЦ. Ув.× 400. С. 49
11. Рисунок 11 – Неповрежденная кожа экспериментального животного через 24 часа после нанесения водорастворимого хитозана, меченного ФИТЦ. Признаков воспаления, отека, стаза крови не наблюдается. Ув. × 400. С. 50
12. Рисунок 12 – Клетки Лангерганса эпидермиса через 24 часа после обработки кожи раствором ФИТЦ флюоресцируют и имеют вид отростчатых клеток. За одни сутки ФИТЦ выводится из дермы почти полностью. Ув. × 800. С. 50
13. Рисунок 13 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля у экспериментальных животных после аппликационного нанесения хитозана. Умеренная макрофагально-лимфоцитарная инфильтрация дермы, в сосудах стаз форменных элементов крови. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200. С. 52
14. Рисунок 14 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома у экспериментальных животных после аппликационного нанесения хитозана. Воспалительная лимфоцитарная инфильтрация сосочкового слоя дермы. Сосуды расширены, стенки отечны. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200. С. 53
15. Рисунок 15 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома у экспериментальных животных после нанесения хитозана методом фонофореза. Лимфоцитарно-лейкоцитарная воспалительная инфильтрация сосочкового слоя дермы. Сосуды расширены, стаз форменных элементов крови. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200. С. 55
16. Рисунок 16 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями никеля

- у экспериментальных животных после нанесения хитозана методом фотофореза. Скудная инфильтрация сосочкового слоя дермы лимфоцитами. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$ С. 56
17. Рисунок 17 – Патоморфологические изменения, характерные для контактного аллергического дерматита, вызванного солями хрома у экспериментальных животных после нанесения хитозана методом фотофореза. Умеренная инфильтрация сосочкового слоя дермы лимфоцитами, лейкоцитами. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$ С. 57
18. Рисунок 18 – Сравнительный анализ клеточных элементов дермы на фоне КАД NiCr_2 и в зависимости от метода нанесения раствора хитозана. С. 59
19. Рисунок 19 – Сравнительный анализ клеточных элементов дермы на фоне КАД CoCr_2 и в зависимости от метода нанесения раствора хитозана. С. 60
20. Рисунок 20 – Сравнительный анализ клеточных элементов дермы на фоне КАД $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ и в зависимости от метода нанесения раствора хитозана. С. 62
21. Рисунок 21 – Сравнительный анализ концентраций металлов в коже экспериментальных животных при различных методах нанесения 1 % раствора хитозана. С. 68
22. Рисунок 22 – Сравнительный анализ сорбционной способности 1 % раствора хитозана в зависимости от методик нанесения. С. 72
23. Таблица 1 – Распределение животных по экспериментальным группам. С. 35
24. Таблица 2 – Относительный объем гистологических элементов дермы лабораторных крыс при комбинированном воздействии 1 % водорастворимого хитозана и 5 % раствора хлорида никеля. С. 58
25. Таблица 3 – Относительный объем гистологических элементов

- дермы лабораторных крыс при комбинированном воздействии 1 % водорастворимого хитозана и 5 % раствора хлорида кобальта. С. 60
26. Таблица 4 – Относительный объем гистологических элементов дермы лабораторных крыс при комбинированном воздействии 1 % водорастворимого хитозана и 5 % раствора двуххромовокислого калия. С. 61
27. Таблица 5 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных контрольных групп. С. 63
28. Таблица 6 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных после применения 1 % водорастворимого хитозана. С. 64
29. Таблица 7 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных после использования фонофореза 1 % водорастворимого хитозана. С. 65
30. Таблица 8 – Концентрация никеля, кобальта и хрома в коже экспериментальных животных после использования фотофореза 1 % водорастворимого хитозана. С. 67
31. Таблица 9 – Концентрация солей никеля в коже экспериментальных животных после различных методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана. С. 69
32. Таблица 10 – Концентрация солей кобальта в коже экспериментальных животных после различных методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана. С. 70
33. Таблица 11 – Концентрация солей хрома в коже экспериментальных животных после различных методик нанесения 1 % водорастворимого хитозана. С. 71