

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

---

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского

Биология. Химия. Том 8 (74). 2022. № 2. С. 3–13.

**УДК 576.08: 57.08**

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КОЖИ В ДИНАМИКЕ ОЖОГОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

*Ажикова А. К.<sup>1</sup>, Великородная Ю. И.<sup>2,3</sup>, Смирнов А. В.<sup>2,3</sup>, Башкина О. А.<sup>1</sup>,  
Самотруева М. А.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Астрахань, Россия*

<sup>2</sup>*Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия*

<sup>3</sup>*Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия*

*E-mail: alfia-imateva@mail.ru*

В статье описаны морфологические особенности и пролиферативный потенциал кожи в динамике ожогового воздействия. В эксперименте на половозрелых самцах белых крыс изучены структурная организация и особенности пролиферативной активности кератиноцитов в динамике ожогового воздействия. Для количественной оценки экспрессии маркеров пролиферативной активности использовали индекс пролиферации Ki-67 (Ki-67). В ходе иммуногистохимического исследования установлено, что степень экспрессии белков-регуляторов пролиферации (Ki-67) на фоне ожоговой травмы кожи увеличивается на 10-е сутки эксперимента, что определяет восстановление пролиферативной активности клеток поврежденной кожи в эти сроки. Детальный анализ иммуноморфологических характеристик клеток кожи при регенерации ожоговых ран свидетельствует о хронологической зависимости экспрессии маркеров регенераторного процесса.

**Ключевые слова:** кожа, термическая ожоговая рана, регенерация, иммуногистохимический метод исследования, маркер пролиферации (Ki-67).

### ВВЕДЕНИЕ

В исследовании генеза кожной патологии особое внимание уделяется изучению молекулярных и клеточных механизмов регенераторного процесса. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении посттравматической регенерации кожи, остаются мало изученными проблемы межтканевых и межклеточных взаимодействий, структурно-временная характеристика тканей на разных этапах заживления раны. Практически все восстановительные процессы проходят на фоне воспалительной реакции, в которой межсистемные взаимодействия играют определяющую роль.

Одну из главенствующих ролей в процессах адаптации и защиты организма играет иммунная система. Как составляющая регуляторов гомеостаза, система иммунитета участвует в процессах воспаления, ангиогенеза, реэпителизации и заживления раны. Так, различные иммунологические процессы в коже, в том числе

фагоцитоз и антигенпрезентацию, осуществляют макрофаги. Кроме того, лимфоциты эпидермиса выполняют функцию регуляторов пролиферативной активности кератиноцитов [1, 2]. Механизм иммунных взаимодействий лежит в основе современных методов исследования.

В настоящее время высокую прогностическую значимость имеет иммуногистохимическое исследование, которое является наиболее точным методом оценки пролиферативного пула клеток при патологических состояниях [1]. Изучение таких иммуногистохимических маркеров, как маркеров пролиферации, апоптоза, регенераторного процесса и т.д., позволит точно оценить интенсивность репаративных процессов в поврежденных тканях и может быть рекомендовано в качестве модели для определения выраженности репарации [3–6].

Среди иммуноцитохимических маркеров наиболее высокоселективным и цитоспецифичным является маркер Ki-67 – маркер пролиферативной активности клеток [7–9]. Присутствие маркера клеточной пролиферации в клетках только во время процесса деления и разрушение его в течение 1,5 часов после окончания митоза определяет пролиферативный потенциал нормальной или поврежденной ткани. Поскольку Ki-67 разрушается после митоза в течение 60–90 минут, клетки в этот временной промежуток не окрашиваются им в раннем пресинтетическом периоде интерфазы клеточного цикла. При использовании моноклональных антител к белку Ki-67 ядра клеток меняют свою окраску на коричневую, отражая таким образом восстановительный, пролиферативный потенциал.

Обнаружение и определение ядерного белка Ki-67 является важным прогностическим показателем при исследовании физиологических и патологических особенностей тканей организма, ряда заболеваний, но его диагностическая значимость при ожоговом поражении кожи до настоящего времени мало изучена [9–13]. В связи с этим научный интерес вызывает изучение морфологических изменений кожи в динамике ожогового процесса иммуногистохимическим методом.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении структурных особенностей кожи крыс в динамике термической ожоговой травмы иммуногистохимическим методом.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Объектом исследования явились нелинейные крысы, мужского пола, массой 200–230 г. Содержание животных соответствовало положениям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986), «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» согласно Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренный вариант 2000 г., требованиям комиссии Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук. Работу с животными осуществляли с соблюдением этических норм работы с лабораторными животными, основанном на директиве Европейского Сообщества по гуманному обращению с экспериментальными животными (European Communities Council Directive #86 / 609 of the of L of Anim(s), и

одобрены комиссией локального этического комитета Астраханского ГМУ Минздрава России.

Лабораторные животные были разделены на 5 групп (n=10):

1 – группа интактных животных (контроль);

2 – группа животных, подвергшихся ожоговому воздействию и выведенных из эксперимента на 2 сутки после ожога (опыт 1);

3 – группа животных, подвергшихся ожоговому воздействию и выведенных из эксперимента на 4 сутки после ожога (опыт 2);

4 – группа животных, подвергшихся ожоговому воздействию и выведенных из эксперимента на 7 сутки после ожога (опыт 3);

5 – группа животных, подвергшихся ожоговому воздействию и выведенных из эксперимента на 10 сутки после ожога (опыт 4).

У всех опытных групп моделировали контактную термическую травму в межлопаточной области спины в условиях эфирной наркотизации. На депилированный участок кожи накладывали медный предмет диаметром 1,5 см, нагретый в кипящей воде до 100 °С, с экспозицией 5 с. Животных выводили из эксперимента на 2, 4, 7, 10 сутки после ожогового воздействия для сравнительной оценки изменений во всех стадиях ожогового процесса. Декапитацию проводили в условиях эфирной наркотизации.

Материалом для исследования служили образцы раневой поверхности кожи межлопаточной области на 2, 4, 7, 10 сутки после моделирования термического ожога. Образцы фиксировали в 4 % растворе параформальдегида (Sigma, ЕС), приготовленного на 0,01 М фосфатном буфере с рН 7,4 (Sigma, ЕС), затем обезживали в батарее спиртов восходящей крепости, просветляли в хлороформе с использованием гистопротектора Cytadel 2000 (Shendon, Великобритания) и заключали в парафиновую среду HistoMix (Бивитрум, Россия). Парафиновые блоки резали на ротационном микротоме HM340E (MICROM, Германия), получали срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на предметные стекла, обработанные поли-L-лизинном (Menzel, Германия). При выполнении иммуногистохимического исследования парафиновые срезы после депарафинизации и регидратации инкубировали 20 минут в 3 % перекиси водорода для блокирования эндогенной пероксидазы. Демаскировку антител осуществляли путем кипячения срезов при 100 °С в 0,01 М цитратном буфере с рН=6,0 в течение 20 минут. В качестве маркера пролиферации использовали моноклональные антитела Ki-67 (Clone SP-6), фирмы Labvision (США) в разведения 1:200. Постановку реакции проводили с помощью пероксидаза-полимерной системы визуализации согласно инструкции производителя (Lab Vision, США). Фермент пероксидаза катализирует химическую реакцию, которая приводит к изменению цвета. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. Негативным контролем служили препараты без инкубации с первичными антителами при полном соблюдении остальных этапов протокола.

Препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа AxioScope.A1 (ZEISS, Германия), оборудованного цифровой камерой AxioCam MRc5. Полученные фотографии обрабатывали с помощью программы ZENpro 2012 (ZEISS, Германия).

Для количественной оценки пролиферативного потенциала кожного регенерата рассчитывали индекс пролиферации Ki-67 ( $I_{Ki-67}$ ) по формуле:

$$I_{Ki-67} (\%) = (n+ / N) * 100 \%,$$

где  $n+$  – количество меченых ядер,  $N$  – общее число ядер в базальном и шиповатом слоях кожи в поле зрения микроскопа. Ki-67 определяли как среднее значение от числа меченых ядер на 100 учтенных, пролиферативная активность кератиноцитов оценивалась как низкая (до 30 % меченых ядер на 100 учтенных), средняя (от 30 до 60 % ядер) и высокая (более 60 % ядер). Исследовали по одному срезу кожи от каждого животного. Подсчёты производили при общем увеличении 400 в 10 полях зрения среза.

Для статистической обработки данных использовали программу STATISTICA Base. Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью параметрических методов вариационной статистики ( $M \pm m$ ) – критерий Стьюдента для множественных сравнений с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали результаты с уровнем достоверности не менее 95 % ( $p < 0,05$ ) с обозначением [\*] в группах опытных крыс.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В неповрежденной коже крыс из контрольной группы на 100 клеток базального и шиповатого слоев (росткового слоя) встречается умеренное число Ki-67 позитивно окрашенных клеток, локализованных вблизи базальной мембраны (рис. 1).

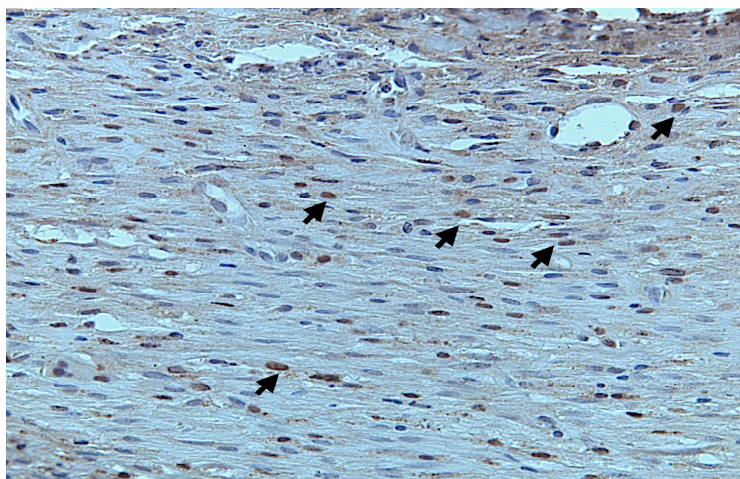


Рис. 1. Ki-67-позитивные клетки в области неповрежденной кожи крыс. Окраска – Моноклональные антитела к Ki-67 и гематоксилин Майера (ядра). Ув.\*400. Пероксидазно-антипероксидазный-метод.

В ранней фазе течения репаративного процесса (2-е сутки) в эпидермисе наблюдали незначительное количество пролиферирующих клеток (до 25 % меченых ядер на 100 учтенных), по сравнению с контрольной группой животных (рис. 2). Уменьшение экспрессии Ki-67, на наш взгляд, было связано с снижением

пролиферации кератиноцитов в связи с нарастанием пролиферативной активности клеток дермальных инфильтратов.

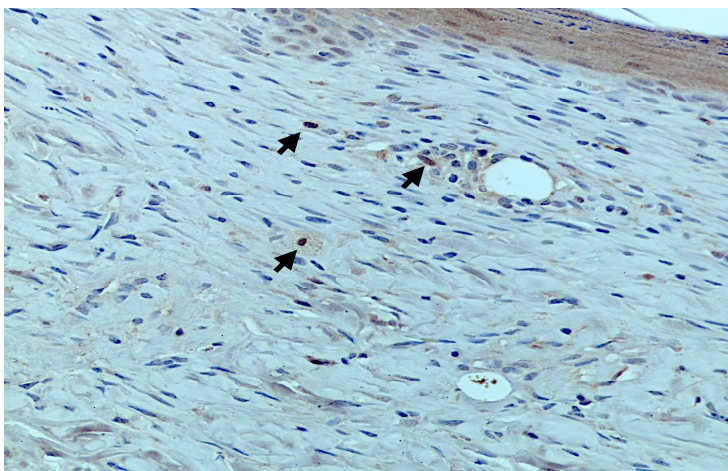


Рис. 2. Ki-67-позитивные клетки в области ожоговой раны кожи на 2 сутки послеожогового периода. Окраска – Моноклональные антитела к Ki-67 и гематоксилин Майера (ядра). Ув.\*400. Peroxidазно-антипероксидазный-метод.

На 4 сутки после ожогового воздействия также наблюдали сниженную пролиферативную активность кератиноцитов и малое число иммунореактивных клеток Ki-67 (до 30 % меченых ядер на 100 учтенных), по сравнению с контрольной группой животных (рис. 3).

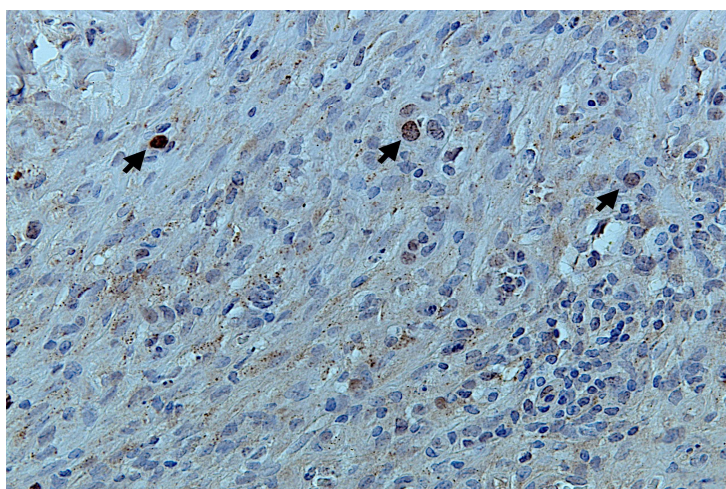


Рис. 3. Ki-67-позитивные клетки в области ожоговой раны кожи на 4 сутки эксперимента. Окраска – Моноклональные антитела к Ki-67 и гематоксилин Майера (ядра). Ув.\*400. Peroxidазно-антипероксидазный-метод.

На 7-е сутки эксперимента отмечали среднюю пролиферативную активность клеток эпидермиса (от 30 до 60 % меченых ядер на 100 учтенных) (рис. 4). Транзиторные клетки уже начинали дифференцироваться на уровне супрабазальных слоев. Наблюдали единичные камбиальные клетки волосяного фолликула околораневой области.

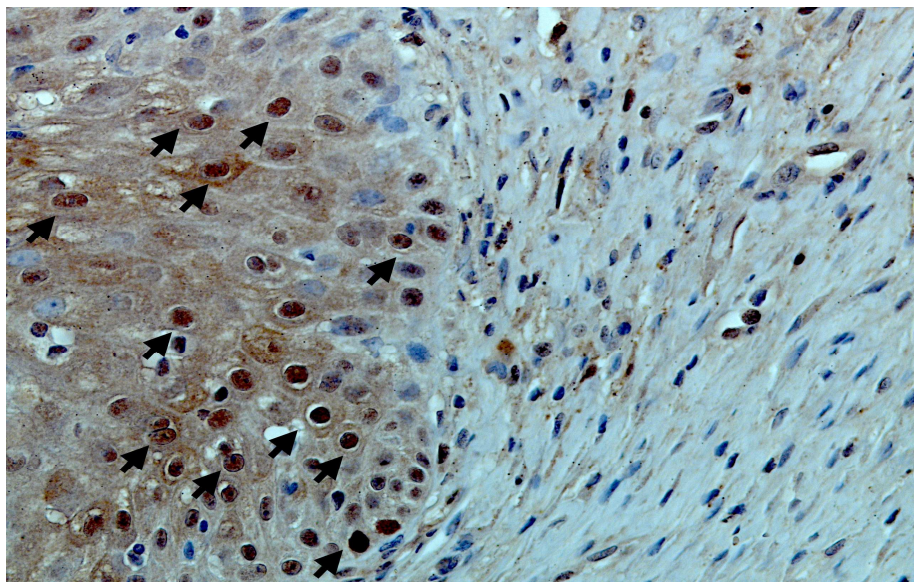


Рис. 4. Ki-67-позитивные клетки в области ожоговой раны кожи на 7 сутки послеожогового периода. Окраска – Моноклональные антитела к Ki-67 и гематоксилин Майера (ядра). Ув.\*400. Пероксидазно-антипероксидазный-метод.

На 10-е сутки отмечали увеличенное число пролиферирующих клеток эпидермиса (более 60 % меченых ядер на 100 учтенных). Анализ распределения Ki-67<sup>+</sup> клеток кожи (в первую очередь, пролиферирующих кератиноцитов) выявил наиболее высокое значение данного показателя у крыс в этот временной промежуток. В этот период наблюдали снижение экссудативных реакций и активизацию пролиферативной фазы воспалительного процесса. Клетки сохраняли столбчатую организацию, уменьшалась пролиферативная активность клеток волосяных фолликулов. В некоторых областях визуализировали стволовые клетки эпидермиса, мигрирующие из наружного корневого волосяного влагалища и пополняющие пул базальных кератиноцитов эпидермиса (рис. 5).

Структурные преобразования кожи межлопаточной области спины белых крыс при экспозиции термического ожога обусловлены развитием деструктивных процессов в виде увеличения периваскулярных пространств и их отечности на 2, 4, 7 сутки. Обширные изменения с начальными проявлениями экссудативной фазы воспаления в виде выраженных гемодинамических нарушений сочетались с отрицательной реакцией Ki-67 в эти сроки наблюдений, признаком отсутствия

пролиферативной активности эпителиоцитов вследствие последовательной смены фаз первичной и вторичной альтерации. В течение 2–7 суток после ожоговой травмы этот показатель многократно уменьшался за счет нарастания снижения пролиферации кератиноцитов.

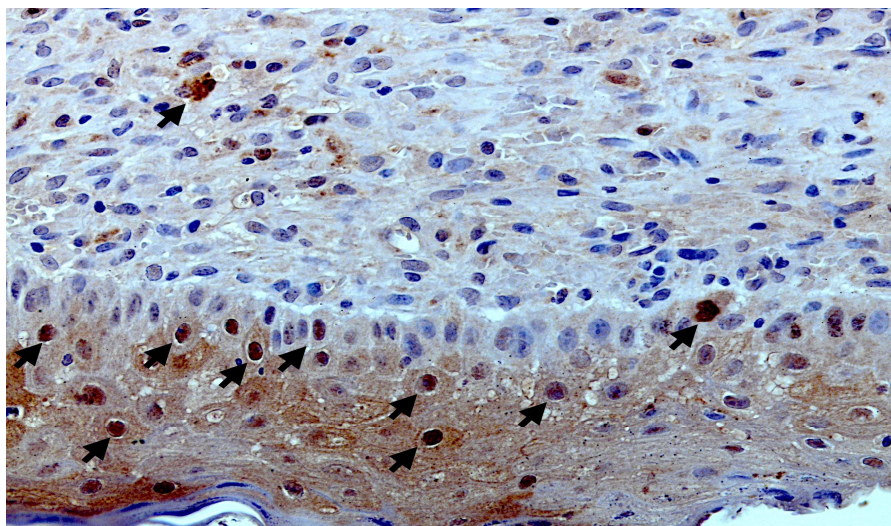


Рис. 5. Ki-67-позитивные клетки в области ожоговой раны кожи на 10 сутки послеожогового периода. Окраска – Моноклональные антитела к Ki-67 и гематоксилин Майера (ядра). Ув. 400. Пероксидазно-антипероксидазный-метод.

Анализ распределения Ki-67<sup>+</sup> клеток кожи (пролиферирующих кератиноцитов) выявил наиболее высокое значение митотического деления на 10 сутки после ожога. В этот период происходило частичное восстановление нарушенных структур клеток. Увеличение числа Ki-67-иммунопозитивных ядер большей части клеток можно рассматривать как показатель активной пролиферации клеток (Таблица 1).

**Таблица 1**

**Пролиферативная активность клеток в эпидермисе кожного регенерата после ожогового воздействия, % (M±m)**

Группы животных	Индекс пролиферации I <sub>Ki-67</sub>
Контроль	13±0,03
2 сутки	10±0,03**
4 сутки	15 ±0,16***
7 сутки	21±0,16**
10 сутки	27±0,6*

Примечание: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01;\*\*\* – p<0,001 – относительно контроля (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования подтверждают высокую прогностическую значимость иммуногистохимического метода. В ходе работы установлено, что степень экспрессии белков-регуляторов пролиферации (Ki-67) на фоне ожоговой травмы кожи увеличивается на 10-е сутки эксперимента, что определяет восстановление пролиферативной активности и начало репаративной регенерации клеток поврежденной кожи в эти сроки. Обнаружение высокого числа Ki-67-иммунопозитивных ядер на 10 сутки после ожога связано с митотическим делением клеток кожи, в этот период происходило частичное восстановление нарушенных структур клеток, что можно рассматривать как показатель активной пролиферации клеток. Данное заключение согласуется с результатами ряда исследований по изучению гистофизиологии кожи [3–6, 8]. Изменения иммуноморфологических характеристик кератиноцитов в динамике ожогового воздействия при регенерации ожоговых ран свидетельствуют об адаптивных физиологических механизмах кожи и об особой хронологической зависимости экспрессии маркеров регенераторного процесса.

Принимая во внимание возможности экспрессии ядерного белка Ki-67 в делящихся клетках, данный показатель позволяет использовать его в качестве достоверного маркера для выявления пула пролиферации, а иммуногистохимическое исследование кожи можно применять в качестве дополнительного прогностического показателя течения посттравматической регенерации.

Таким образом, изучение цитоморфологических особенностей кожи в послеожоговый период послужит важным критерием эффективности коррекции раневого процесса. Дальнейшие исследования в данном направлении могут способствовать разработке новых стратегий диагностики, прогнозирования и лечения патофизиологических процессов на уровне кожи.

## Список литературы

1. Королькова Т. Н. Изучение иммуногистохимических показателей в эпидермисе и дерме при применении средств для регенерации кожи / Т. Н. Королькова, Н. В. Калмыкова, Е. В. Круглик [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2019. – Т. 18, вып. 4. – С. 460–468.
2. Прохоров Д. В. Роль маркеров клеточного обновления (vcl-2, p-53) и пролиферации (ki-67) в диагностике злокачественных меланоцитарных новообразований кожи / Д. В. Прохоров // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2013. – вып. 4 (51). – С. 31–38.
3. Волошин Р. Н. Оптимизация лечения пролифераций кожи, индуцированных вирусом папилломы человека / Р. Н. Волошин, О. А. Проценко, И. В. Диденко [и др.] // Вестник СурГУ. Медицина. – 2021. – вып.1 (47). – С. 75–79.
4. Галеева А. Г. Проллиферация клеток кожи экспериментальных животных при внутридермальном введении гиалуроновой кислоты / А. Г. Галеева, Ф. Х. Камилов, О. М. Капулер [и др.] // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19, вып. 4. – С. 7–14.
5. Горшунова Г. Н. Иммуногистохимическая характеристика кожи больных диабетом / Г. Н. Горшунова, В. В. Валиуллин // Астраханский медицинский журнал. – 2012. – Т. 7, вып. 4. – С. 87–89.



6. Chimenti M. S. Histopathology of the skin in rheumatic diseases / M. S. Chimenti, A. Di Stefani, P. Conigliaro [et al.] // *Reumatismo*. – 2018. – Vol. 70, No 3. – P. 187–198. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2018.1049>. PMID: 30282444.
7. Хабаров В. Н. Экспрессия маркеров клеточного обновления в клетках кожи человека под действием препаратов гиалуроновой кислоты / В. Н. Хабаров, И. М. Кветной, Н. С. Линькова [и др.] // *Молекулярная медицина*. – 2020. – Т. 18, вып. 5. – С. 53–57.
8. Хлебникова А. Н. Особенности пролиферации и межклеточной адгезии в предраковых и злокачественных эпителиальных опухолях кожи / А. Н. Хлебникова, Л. Е. Гуревич, Е. В. Селезнева [и др.] // *Альманах клинической медицины*. – 2016. – Т. 44, вып. 1. – С. 58–63.
9. He W. L. Combined evaluation of centromere protein H and Ki-67 as prognostic biomarker for patients with gastric carcinoma / W. L. He, Y. H. Li, D. J. Yang [et al.] // *Eur J Surg Oncol*. – 2013. – Vol. 39, No 2. – P. 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2012.08.023>
10. Kim S. A. Differential expression of cyclin D1, Ki-67, pRb, and p53 in psoriatic skin lesions and normal skin / S. A. Kim, Y. W. Ryu, J. I. Kwon [et al.] // *Mol Med Rep*. – 2018. – Vol. 17, No 1. – P. 735–742. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8015>. Epub 2017 Nov 8. PMID: 29115643; PMCID: PMC5780150.
11. Mauskar N. A. Donor site healing dynamics: molecular, histological, and noninvasive imaging assessment in a porcine model / N. A. Mauskar, S. Sood, T. E. Travis [et al.] // *J Burn Care Res*. – 2013. – Vol. 34, No 5. – P. 549–562. <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3182839aca>. PMID: 23511287.
12. Stewart C. J. Fascin and cyclin D1 immunoreactivity in non-neoplastic vulvar squamous epithelium, vulvar intraepithelial neoplasia and invasive squamous carcinoma: correlation with Ki67 and p16 protein expression / C. J. Stewart, M. L. Crook // *J Clin Pathol*. – 2013. – Vol. 67, No 4. – P. 319–325. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201920>. Epub 2013 Nov 11. PMID: 24218024.
13. Fix W. C. MART-1-labeled melanocyte density and distribution in actinic keratosis and squamous cell cancer in situ: Pagetoid melanocytes are a potential source of misdiagnosis as melanoma in situ / W. C. Fix, S. J. Yun, C. M. Groft MacFarlane [et al.] // *J Cutan Pathol*. – 2018. – Vol. 45, No 10. – P. 734–742. <https://doi.org/10.1111/cup.13309>. Epub 2018 Jul 31. PMID: 29943494.

## STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE SKIN IN THE DYNAMICS OF BURN EXPOSURE

*Azhikova A. K.<sup>1</sup>, Velikorodnaya YU. V.<sup>2,3</sup>, Smirnov A. V.<sup>2,3</sup>, Bashkina O. A.<sup>1</sup>,  
Samotrueva M. A.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia*

<sup>2</sup>*Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia*

<sup>3</sup>*Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia*

*E-mail: alfia-imacheva@mail.ru*

In the study of the genesis of skin pathology, special attention is paid to the study of the molecular and cellular mechanisms of the regenerator process. Currently, immunohistochemical examination, which is the most accurate method for assessing the proliferative cell pool in pathophysiological conditions, has high prognostic significance. The study of immunohistochemical markers such as markers of proliferation, apoptosis, regenerative process, etc., will accurately assess the intensity of reparative processes in damaged tissues and can be recommended as a model for determining the severity of repair.

The article describes the morphological features and proliferative potential of the skin of white nonlinear rats in the dynamics of burn exposure. In an experiment on sexually

mature male laboratory animals, the structural organization and features of the proliferative activity of keratinocytes in the dynamics of burn exposure were studied. The immunohistochemical method was used to evaluate the expression of markers of proliferative activity. The Ki-67 Proliferation Index (IKi-67) was used to quantify the expression of proliferative activity markers.

Given the potential for nuclear Ki-67 protein expression in dividing cells, this indicator allows it to be used as a reliable marker for detecting the proliferation pool, and immunohistochemical examination of the skin can be used as an additional prognostic indicator of the course of post-traumatic regeneration.

Structural transformations of the skin of the interscapular region of the back of white rats during exposure to thermal burn are caused by the development of destructive processes in the form of an increase in perivascular spaces and their swelling on days 2, 4, 7. Extensive changes with the initial manifestations of the exudative phase of inflammation in the form of pronounced hemodynamic disorders were combined with a negative Ki-67 reaction during these observation periods, a sign of the absence of proliferative activity of epitheliocytes due to a sequential change in the phases of primary and secondary alteration. Within 2–7 days after a burn injury, this indicator was repeatedly reduced due to an increase in the decrease in keratinocyte proliferation.

Analysis of the distribution of Ki-67+ skin cells (proliferating keratinocytes) revealed the highest value of mitotic division on day 10 after burn. During this period, partial restoration of disturbed cell structures took place. An increase in the number of Ki-67-immunopositive nuclei of most cells can be considered as an indicator of active cell proliferation. In the course of the study, it was found that the degree of expression of proliferation regulator proteins (Ki-67) against the background of skin burn injury increases on the 10<sup>th</sup> day of the experiment, which determines the restoration of proliferative activity of damaged skin cells in these periods. A detailed analysis of the immunomorphological characteristics of skin cells during the regeneration of burn wounds indicates a chronological dependence of the expression of markers of the regenerator process.

Thus, the study of cytomorphological features of the skin in the post-burn period will serve as an important criterion for the effectiveness of wound correction and may contribute to the development of new strategies for the diagnosis, prediction and treatment of pathophysiological processes at the skin level.

**Keywords:** skin, thermal burn wound, regeneration, immunohistochemical method of investigation, proliferation marker (Ki-67).

#### References

1. Korolkova T. N., Kalmykova N. V., Kruglik E. V., Zinoviev E. V. Study of immunohistochemical indicators in the epidermis and dermis when using skin regeneration agents, *Clinical dermatology and venereology*, **18** (4), 460 (2019).
2. Prokhorov D. V. Role of markers of cellular renewal (all-2, p-53) and proliferation (ki-67) in the diagnosis of malignant melanocytic skin neoplasms, *Ukrainian Journal of Dermatology, Venereology, Cosmetology*, **4** (51), 31 (2013).

3. Voloshin R. N., Protsenko O. A., Didenko I. V., Snitko A. V. Optimization of treatment of human papillomavirus-induced skin proliferation, *Bulletin of Surgut State University. Medicine*, **1** (47), 75 (2021).
4. Galeeva A. G., Kamilov F. H., Kapuler O. M., Danilova O. V. Proliferation of skin cells of experimental animals during intradermal administration of hyaluronic acid, *Electronic scientific and educational bulletin Health and education in the 21st century*, **19** (4), 7 (2017).
5. Gorshunova G. N., Valiullin V. V. Immunohistochemical characteristic of the skin of patients with diabetes, *Astrakhan Medical Journal*, **7** (4), 87 (2012).
6. Chimenti M. S., Di Stefani A., Conigliaro P., Saggini A., Urbani S., Giunta A., Esposito M., Bianchi L., Peris K., Perricone R., Histopathology of the skin in rheumatic diseases, *Reumatismo*, **70** (3), 187 (2018) <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2018.1049>. PMID: 30282444.
7. Khabarov V. N., Kvetnoy I. M., Linkova N. S., Paltsev M. A. Expression of cell renewal markers in human skin cells under the action of hyaluronic acid preparations, *Molecular medicine*, **18** (5), 53 (2020).
8. Khlebnikova A. N., Gurevich L. E., Selezneva E. V., Obydenova K. V., Sedova T. G., Kuntsevich Zh. S. Features of proliferation and intercellular adhesion in precancerous and malignant epithelial skin tumors, *Almanac of Clinical Medicine*, **44** (1), 58 (2016).
9. He W. L., Li Y. H., Yang D. J., Song W., Chen X. L., Liu F. K., Wang Z., Li W., Chen W., Chen C. Y., He Y. L., Zhan W. H. Combined evaluation of centromere protein H and Ki-67 as prognostic biomarker for patients with gastric carcinoma, *Eur J Surg Oncol.*, **39** (2), 141 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2012.08.023>.
10. Kim S. A., Ryu Y. W., Kwon J. I., Choe M. S., Jung J. W., Cho J. W. Differential expression of cyclin D1, Ki-67, pRb, and p53 in psoriatic skin lesions and normal skin, *Mol Med Rep.*, **17** (1), 735 (2018). <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8015>. Epub 2017 Nov 8. PMID: 29115643; PMCID: PMC5780150.
11. Mauskar N. A., Sood S., Travis T. E., Matt S. E., Mino M. J., Burnett M. S., Moffatt L. T., Fidler P., Epstein S. E., Jordan M. H., Shupp J. W. Donor site healing dynamics: molecular, histological, and noninvasive imaging assessment in a porcine model, *J Burn Care Res.*, **34** (5), 549 (2013). <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3182839aca>. PMID: 23511287.
12. Stewart C. J., Crook M. L. Fascin and cyclin D1 immunoreactivity in non-neoplastic vulvar squamous epithelium, vulvar intraepithelial neoplasia and invasive squamous carcinoma: correlation with Ki67 and p16 protein expression, *J Clin Pathol.*, **67** (4), 319 (2014). <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-201920>. Epub 2013 Nov 11. PMID: 24218024.
13. Fix W. C., Yun S. J., Groft MacFarlane C. M., Jambusaria A., Elenitsas R., Chu E., Etkorn J. R., Sobanko J. F., Shin T. M., Miller C. J. MART-1-labeled melanocyte density and distribution in actinic keratosis and squamous cell cancer in situ: Pagetoid melanocytes are a potential source of misdiagnosis as melanoma in situ, *J Cutan Pathol.*, **45** (10), 734 (2018). <https://doi.org/10.1111/cup.13309>. Epub 2018 Jul 31. PMID: 29943494.