

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ УСЛОВНО АСЕПТИЧЕСКОЙ РАНЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ

Е. А. Конюченко — ФГБУ Саратовский НИИТО Минздрава России, отдел фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, младший научный сотрудник; **Л. Ф. Жандарова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, кафедра хирургии и онкологии ФПК и ППС, доцент, кандидат медицинских наук; **И. В. Бабушкина** — ФГБУ Саратовский НИИТО Минздрава России, отдел фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук; **Е. В. Гладкова** — ФГБУ Саратовский НИИТО Минздрава России, руководитель отдела фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, кандидат биологических наук; **И. А. Мамонова** — ФГБУ Саратовский НИИТО Минздрава России, отдел фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, младший научный сотрудник; **С. В. Белова** — ФГБУ Саратовский НИИТО Минздрава России, отдел фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук; **Е. В. Карякина** — ФГБУ Саратовский НИИТО Минздрава России, отдел фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, главный научный сотрудник, доктор медицинских наук.

CYTOLOGIC ASSESSMENT OF DYNAMICS OF REPARATIVE PROCESSES IN THE EXPERIMENTAL CONDITIONALLY ASEPTIC WOUND UNDER THE ACTION OF COMPLEX PREPARATION BASED ON CHITOSAN AND METAL NANOPARTICLES

E. A. Konyuchenko — Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Fundamental and Clinical Experimental Investigations, Junior Research Assistant; **L. F. Zhandarova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Surgery and Oncology of Raising Skills Faculty, Assistant Professor, Candidate of Medical Science; **I. V. Babushkina** — Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Fundamental and Clinical Experimental Investigations, Senior Research Assistant, Candidate of Medical Science; **E. V. Gladkova** — Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Head of Department of Fundamental and Clinical Experimental Investigations, Candidate of Biological Science; **I. A. Mamonova** — Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Fundamental and Clinical Experimental Investigations, Junior Research Assistant; **S. V. Belova** — Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Fundamental and Clinical Experimental Investigations, Senior Research Assistant, Candidate of Biological Science; **E. V. Karyakina** — Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Fundamental and Clinical Experimental Investigations, Chief Research Assistant, Doctor of Medical Science.

Дата поступления — 4.06.2013 г.

Дата принятия в печать — 25.11.2013 г.

Конюченко Е. А., Жандарова Л. Ф., Бабушкина И. В., Гладкова Е. В., Мамонова И. А., Белова С. В., Карякина Е. В. Цитологическая оценка динамики репаративных процессов в экспериментальной условно асептической ране под действием комплексного препарата на основе хитозана и наночастиц металлов // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 4. С. 629–632.

Цель: оценить динамику репаративных процессов с помощью цитологического исследования препаратов, полученных с условно асептической раны при действии комплексного препарата на основе биополимера хитозана и наночастиц металлов. **Материал и методы.** На сорока белых беспородных крысах была моделирована условно асептическая рана. В группе сравнения и в опытной группе проводилась цитологическая оценка динамики репаративных процессов. Регистрировалось количество нейтрофильных лейкоцитов и клеток фибробластического ряда на 100 клеток в препаратах на 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е сутки с момента формирования раны с использованием иммерсионного объектива. **Результаты.** Установлено, что в группе сравнения цитологическая картина мазков-отпечатков характеризовалась снижением нейтрофильных лейкоцитов и увеличением клеток фибробластического ряда к 14-м суткам с момента формирования раны. В опытной группе (применение комплексного препарата) зафиксировано более интенсивное уменьшение нейтрофильных лейкоцитов и значительное увеличение клеток фибробластического ряда к 10-м суткам и полное заживление к 14-м суткам с момента формирования раны. **Заключение.** Препарат на основе биополимера хитозана и наночастиц металлов обладает выраженным регенерирующим действием в отношении экспериментальной условно асептической раны, о чем свидетельствовали результаты цитологических исследований.

Ключевые слова: рана, репаративная регенерация, цитологическая оценка, наночастицы металлов, хитозан.

Konyuchenko E. A., Zhandarova L. F., Babushkina I. V., Gladkova E. V., Mamonova I. A., Belova S. V., Karyakina E. V. Cytologic assessment of dynamics of reparative processes in the experimental conditionally aseptic wound under the action of complex preparation based on chitosan and metal nanoparticles // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 4. P. 629–632.

Objective: assessment of dynamics of reparative processes with the help of cytological examination of the preparations obtained from a conditionally aseptic wound under the action of a complex preparation based on biopolymer chitosan and metal nanoparticles. **Material and Methods.** A conditionally aseptic wound was simulated in 40 white outbred rats. In comparison and experimental groups cytologic assessment of dynamics of reparative processes was carried out. A number of neutrophilic leukocytes and fibroblastic row per 100 cells in the preparations is recorded on the 3rd, 5th, 7th, 10th, 14th day from the moment of formation of the wound with the use of the immersion objective. **Results.** It is established, that in the comparison group the cytologic pattern of impression smear was characterized by decrease in neutrophilic leukocytes and increase in fibroblastic row cells by the 14th day from the moment of formation of the wound. In the experimental group (the use of a complex preparation) more intensive reduction of neutrophilic leukocytes and a significant increase in fibroblastic row cells by the 10th day and a complete healing by the 14th day from the moment of formation of the wound has been determined. **Conclusion.** When treated by a complex preparation based of biopolymer chitosan and metal nanoparticles earlier occurrence of fibroblastic row cells in preparations and a significant decrease in quantity of neutrophilic leukocytes have been observed.

Key words: wound, reparative regeneration, cytologic assessment, metal nanoparticles, chitosan.

Введение. Лечение ран мягких тканей является сложным многостадийным процессом. Среди большого количества различных способов местного лечения ран до сих пор не найдено оптимальных методов [1, 2]. В литературе имеются данные по созданию новых раневых покрытий, содержащих в своем составе наночастицы металлов [3, 4].

В последние годы многочисленные исследования посвящены изучению влияния локально используемых ранозаживляющих препаратов, в частности хитозана, также описан характер цитологических изменений в раневом экссудате при его применении [5–7]. Актуальной является цитологическая оценка динамики репаративных процессов экспериментальной раны под действием ранозаживляющего комплексного препарата, включающего хитозан и наночастицы металлов.

Цель: оценить динамику репаративных процессов с помощью цитологического исследования препаратов, полученных с полнослойной условно асептической раны при действии комплексного препарата на основе биополимера хитозана и наночастиц металлов.

Материал и методы. Анализ проведен на сорока белых беспородных крысах, половозрелых самцах с массой тела 180–230 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. В группу сравнения вошли 20 особей, в опытную группу (применение комплексного препарата) — 20 особей.

Модель асептической кожной раны была получена следующим образом: после предварительной обработки кожи в асептических условиях, под наркозом, на выбритом от шерсти участке в межлопаточной области у крыс иссекалась кожа с подкожной клетчаткой в виде квадрата 242 см (400 мм²) по контуру, предварительно нанесенным трафаретом. На 3-и сутки в межлопаточной области у животных формировалась рана со всеми характерными признаками воспаления. Отмечались отек и гиперемия кожи в области нанесения раны, припухлость.

У животных группы сравнения рана заживала естественным путем, а у животных опытной группы рану после формирования однократно обрабатывали препаратом на основе хитозана и наночастиц металлов (получено Решение о выдаче патента РФ на изобретение по заявке № 2012119622 с приоритетом от 16.05.12).

Нами выполнено цитологическое исследование препаратов с целью изучения динамики репаративных процессов в экспериментальной ране в данных группах животных. Мазки-отпечатки получали, прикладывая стерильное предметное стекло к поверхности исследуемого участка раны. Окраску цитологических препаратов осуществляли при помощи цитологического красителя «Лейкодиф 200». Подсчитывали 100 клеток с использованием иммерсионного объектива (10Ч100). Цитологическое изучение мазков в группе сравнения и опытной группе проводили на 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е сутки с момента формирования раны.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью программы Medstat, предназначенной для оценки результатов медицинских и биологических наблюдений, с вычислением средней

арифметической (M), ошибки средней арифметической (m), показателя вероятности (p).

Результаты. С помощью цитологического метода изучали динамическое изменение количества нейтрофильных лейкоцитов и клеток фибробластического ряда. Полученные результаты приведены в табл 1 и 2.

Таблица 1

Динамические изменения среднего количества нейтрофильных лейкоцитов (M±m) в мазках-отпечатках с поверхности экспериментальной раны

Сутки исследования	Количество нейтрофильных лейкоцитов, (M±m)	
	Группа сравнения, n=20	Опытная группа, n=20
3-и	95,45±0,32	92,40±0,75 p<0,001
5-е	90,55±1,08	86,15±0,32 p<0,001
7-е	85,50±0,32	58,25±3,34 p<0,001
10-е	76,05±0,64	34,20±1,40 p<0,001
14-е	55,95±1,51	Полное заживление

Примечание: p — уровень достоверности различий показателей по отношению к группе сравнения.

Таблица 2

Динамические изменения среднего количества клеток фибробластического ряда (M±m) в мазках-отпечатках с поверхности экспериментальной раны

Сутки исследования	Количество клеток фибробластического ряда, (M±m)	
	Группа сравнения, n=20	Опытная группа, n=20
3-и	0,50±0,03	1,10±0,07 p<0,001
5-е	1,75±0,28	2,50±0,75
7-е	6,90±0,64	30,20±4,75 p<0,001
10-е	20,50±1,08	63,35±2,05 p<0,001
14-е	29,80±2,37	Полное заживление

Примечание: p — уровень достоверности различий показателей по отношению к группе сравнения.

Как видно из табл. 1 и 2, в группе сравнения на 5-е сутки с момента формирования раны цитограмма в основном состояла из нейтрофильных лейкоцитов, но количество их снизилось по сравнению с 3-ми сутками в среднем в 1,05 раза, а количество клеток фибробластического ряда увеличилось в среднем в 3,50 раза.

Данная цитологическая картина соответствует дегенеративно-воспалительному периоду раневого процесса.

На рис. 1 представлено скопление нейтрофильных лейкоцитов в мазке-отпечатке экспериментальной раны у животных группы сравнения на 5-е сутки исследования.

На 10-е сутки с момента формирования раны в группе сравнения цитологическое исследование препаратов свидетельствовало об уменьшении количества нейтрофильных лейкоцитов в среднем в 1,20 раза и увеличении количества фибробластов в 41,0 раз по сравнению с 3-ми сутками. Данная цитологи-

Ответственный автор — Конюченко Елена Анатольевна
Адрес: 410002, г. Саратов, ул. Чернышевского, 148.
Тел.: 8 (8452) 393–202.
E-mail: koniuchienko1983@mail.ru

ческая картина соответствует первой фазе регенеративного периода раневого процесса. К 14-м суткам в этой группе в цитологических препаратах наблюдали значительное уменьшение количества нейтрофильных лейкоцитов в среднем в 1,70 раза по сравнению с начальным сроком исследования и увеличение клеток фибробластического ряда в 59,60 раза по сравнению с 3-ми сутками. Данная цитологическая картина соответствует второй и третьей фазам регенеративного периода раневого процесса.

Судя по табл. 1 и 2, при цитологическом исследовании у животных опытной группы к 5-м суткам с момента формирования раны отмечалась положительная динамика, которая проявлялась в снижении количества нейтрофильных лейкоцитов в 1,07 раза, а также в увеличении клеток фибробластического ряда в 2,27 раза по сравнению с 3-ми сутками. Данная цитологическая картина соответствует дегенеративно-воспалительному периоду раневого процесса.

На рис. 2 представлено скопление нейтрофильных лейкоцитов и появление единичных клеток гистиоцитарного и фибробластического ряда у животных опытной группы на 5-е сутки исследования.

На 10-е сутки с момента формирования раны у животных опытной группы цитологические препараты характеризовались значительным снижением нейтрофильных лейкоцитов в 2,70 раза и увеличением клеток фибробластического ряда в 57,6 раза по сравнению с 3-ми сутками. Данная цитологическая картина соответствует второй и третьей фазам регенеративного периода раневого процесса.

На рис. 3 представлено преобладание клеток фибробластического ряда над нейтрофильными лейкоцитами у животных опытной группы на 10-е сутки исследования.

К 14-м суткам у животных опытной группы произошла эпителизация раны.

Обсуждение. Полученные данные экспериментальных исследований при применении комплексного препарата на основе биополимера хитозана и наночастиц металлов свидетельствовали о быстром купировании воспалительного процесса с последующей активацией регенеративных процессов. По оценке цитологического профиля экспериментальной раны судили об эффективности действия используемого композита. Так, достоверно уменьшалось количество нейтрофильных лейкоцитов в опытной группе, начиная с 5-х суток, а также на 7-е, 10-е сутки с момента формирования раны вплоть до полного заживления раны. Наряду с этим происходит достоверное увеличение клеток фибробластического ряда в опытной группе, начиная с 5-х суток, а также на 7-е, 10-е сутки с момента формирования раны вплоть до полного заживления раны.

Лечение комплексным препаратом способствует более ранней регенерации условно асептической раны.

Заключение. Препарат на основе биополимера хитозана и наночастиц металлов обладает выраженным регенерирующим действием в отношении экспериментальной условно асептической раны, о чем свидетельствовали результаты цитологических исследований.

Конфликт интересов. Настоящее исследование выполнено в рамках НИР ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава РФ «Разработка нанопорошков меди и цинка для стимуляции репаративной регенерации поврежденных тканей». Номер государственной регистрации 1201275055.

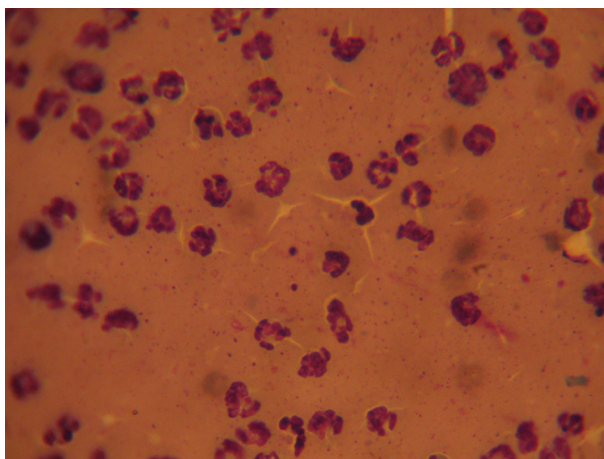


Рис. 1. Скопление нейтрофильных лейкоцитов в группе сравнения на 5-е сутки с момента формирования раны

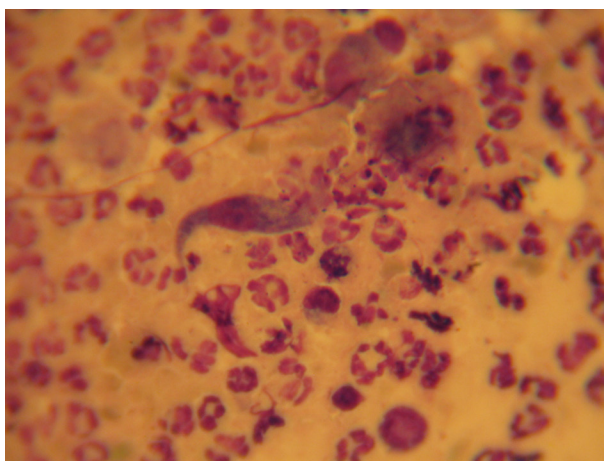


Рис. 2. Нейтрофильные лейкоциты и единичные клетки фибробластического ряда, а также гистиоциты в опытной группе на 5-е сутки с момента формирования раны

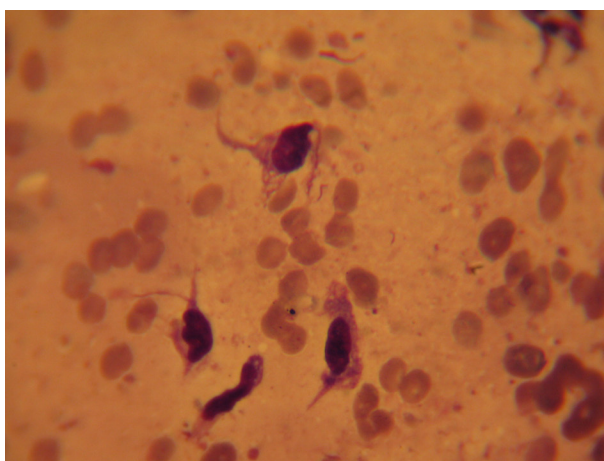


Рис. 3. Преобладание клеток фибробластического ряда над нейтрофильными лейкоцитами в опытной группе на 10-е сутки с момента формирования раны

Библиографический список

1. Столяров Е. А., Иванова В. Д., Колсанов А. В. Заживление гнойных ран мягких тканей при местном лечении // Хирургия. 2003, № 9. С. 28–32.
2. Абаев Ю. К. Справочник хирурга: Раны и раневая инфекция. Ростов н/Д: Феникс, 2006. 427 с.
3. Бурмистров В. А., Симонова О. Г. Новый серебросодержащий препарат «Аргоника» // Серебро и висмут в медицине: сб. тр. в по матер. науч.-практ. конф. Новосибирск, 2005. С. 195–204.
4. Бабушкина И. В. Наночастицы металлов в лечении экспериментальных гнойных ран // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. Т. 7, № 2, С. 530–533.
5. Жанзаков А. Е. Лечение ран у животных с использованием хитозана // Фундаментальные исследования. 2007. № 6, С. 11–14.
6. Брайлоская Т. В., Федорина Т. А. Морфологические характеристики течения раневого процесса при экспериментальном моделировании резаных и рвано-ушибленных кожных ран // Биомедицина. 2009. № 1, С. 68–74.
7. Арзыматов Р. К. Экспериментальное обоснование клинического применения хитозанового геля при лечении закрытых переломов костей голени: автореф. дис.... канд. мед. наук. Новосибирск, 2003. 20 с.
8. Препарат для регенерации мягких тканей с антибактериальным эффектом: заявка 2012119622 (Рос. Федерация): заявл. 16.05.12.

Translit

1. Stoljarov E. A., Ivanova V. D., Kolsanov A. V. Zazhivlenie gnojnyh ran mjagkih tkanej pri mestnom lechenii // Hirurgija. 2003, № 9. S. 28–32.
2. Abaev Ju. K. Spravochnik hirurga: Rany i ranevaja infekcija. Rostov n/D: Feniks, 2006. 427 s.
3. Burmistrov V. A., Simonova O. G. Novyj serebrosoderzhashij preparat «Argonika» // Srebro i vismut v medicine: sb. tr. v po mater. nauch.-prakt. konf. Novosibirsk, 2005. S. 195–204.
4. Babushkina I. V. Nanochasticy metallov v lechenii jeksperimental'nyh gnojnyh ran // Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2011. T. 7, № 2, S. 530–533.
5. Zhanzakov A. E. Lechenie ran u zhivotnyh s ispol'zovaniem hitozana // Fundamental'nye issledovanija. 2007. № 6, S. 11–14.
6. Brajl'ovskaja T. V., Fedorina T. A. Morfologicheskie karakteristiki techenija ranevogo processa pri jeksperimental'nom modelirovanii rezanyh i rvano-ushiblennyh kozhnyh ran // Biomedicina. 2009. № 1, S. 68–74.
7. Arzymatov R. K. Jeksperimental'noe obosnovanie klinicheskogo primeneniya hitozanovogo gelya pri lechenii zakrytyh perelomov kostej goleni: avtoref. dis.... kand. med. nauk. Novosibirsk, 2003. 20 s.
8. Preparat dlja regeneracii mjagkih tkanej s antibakterial'nym jeffektom: zajavka 2012119622 (Ros. Federacija): zajavl. 16.05.12.

УДК 616.65–066.66–091.8–078.33

Оригинальная статья

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРОСТАТЫ
ПО БИОПСИЙНОМУ МАТЕРИАЛУ

Т. А. Федорина — ГБОУ ВПО Самарский ГМУ, заведующая кафедрой общей и клинической патологии: патологической анатомии и патологической физиологии, профессор, доктор медицинских наук; **С. В. Полемаева** — ГБУЗ Самарский областной клинический онкологический диспансер, врач-патологоанатом, ГБОУ ВПО Самарский государственный медицинский университет, ассистент, заочный аспирант кафедры общей и клинической патологии: патологической анатомии и патологической физиологии.

PROSTATE CANCER DIAGNOSTICS WITH BIOPSY MATERIAL

T. A. Fedorina — Samara State Medical University, Head of Department of Common and Clinical Pathology: Pathological Anatomy and Pathological Physiology, Professor, Doctor of Medical Science; **S. V. Poletaeva** — Samara State Medical University, Department of Common and Clinical Pathology: Pathological Anatomy and Pathological Physiology, Assistant.

Дата поступления — 15.10.13 г.

Дата принятия в печать — 25.11.2013 г.

Федорина Т. А., Полемаева С. В. Особенности диагностики рака простаты по биопсийному материалу // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 4. С. 632–636.

Цель. изучить особенности диагностики рака простаты по биоптатам. **Материал и методы.** Исследован гистологический материал от 700 пациентов, в том числе от 580 пациентов после радикальной простатэктомии. Всем пациентам до лечения выполнялась биопсия из 12 точек под контролем ТРУЗИ. Проведено гистологическое, морфометрическое, иммуногистохимическое (PIN4-коктейль, рецепторы к андрогену) исследование биопсийного и операционного материала. **Результаты.** В 3% имелось завышение, а в 26% — занижение суммы Глисона по биоптатам. В большинстве случаев занижение суммы Глисона связано с низким содержанием опухолевых элементов в биоптатах, мультицентрическим ростом, гетерогенностью строения опухоли. **Заключение.** Важная задача патолога: выявление даже минимального числа неопластических желез в биоптатах, так как в группе пациентов с аденокарциномой, занимавшей менее 5% площади единичного столбика, часто обнаруживался рак объемом более 1 см³ в операционном материале.

Ключевые слова: рак простаты, радикальная простатэктомия, трепанбиопсия, атипичная аденоматозная гиперплазия.

Fedorina T. A., Poletaeva S. V. Prostate cancer diagnostics with biopsy material // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 4. P. 632–636.

The aim of the article is to study the potential importance of specific location of biopsy of prostate cancer. **Material and methods.** Histological material from 700 patients has been examined. 580 specimen of radical prostatectomy were examined. TRUS-guided 12-cores biopsy has been performed in all patients. Histological, computer morphometric, immunohistochemical methods (PIN4-cocktail, AR) were used. **Results.** It has been established that undergrading of carcinoma in needle biopsy occurred in 26% of patients. Overgrading of carcinoma in needle biopsy may also occur, but it was only found in 3% of cases. Undergrading results have been explained by low amount of tumor elements taken from tiny areas of carcinoma, multicentric growth and heterogenous structure of tumor. **Conclusions.** An important task is to identify the minimal or limited adenocarcinoma in biopsies, as tumor of >1cc volume is often found in prostatectomy specimen.