

УДК 615.849.5

О.Л. Фабрикантов, М.А. Каплан, Р.А. Бродский

**ПАРАМЕТРИЧЕСКИЕ ЗАВИСИМОСТИ ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО
ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

ГУ Медицинский Радиологический Научный центр РАМН (Обнинск)

В работе методами световой микроскопии исследовались изменения в поджелудочной железе мышей (СВА × С57 BL) под влиянием импульсного низкоинтенсивного лазерного излучения с различными параметрами. 80 мышей были подвергнуты лазерному воздействию со следующими параметрами: длина волны — 890 нм, частота следования импульсов — от 80 до 3000 Гц, экспозиции — от 5 до 15 мин, количество сеансов облучения — от 1 до 10. Воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения на поджелудочную железу во всем диапазоне частот при разных режимах облучения улучшало кровоток и в значительной степени снимало стрессовый сосудистый компонент, связанный с ве-

нозным застоем, возникавшим в результате фиксации животного. НИЛИ частотой 150 Гц повышало секреторную активность инсулярного аппарата, которая нарастала при переходе к более высоким частотам, однако при частоте 300 Гц и экспозиции 15 мин появлялись единичные дистрофические клетки. Увеличение частоты воздействия до 1500 Гц, вызывало дальнейшее усиление синтетических процессов, однако данная частота оказывала неблагоприятное воздействие на клетки, находившиеся в стадии внутриклеточного синтеза. Частота 3000 Гц снижала синтез зимогеновых гранул с одновременным уменьшением выраженности морфологических изменений в облученном органе. Увеличение экспозиции и количества сеансов облучения приводило к усилению вызываемых в тканях поджелудочной железы эффектов НИЛИ при всех частотах облучения.

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение, поджелудочная железа

PARAMETRIC DEPENDENCES OF LOW-LEVEL LASER RADIATION ON PANCREAS (EXPERIMENTAL RESEARCH)

O.L. Fabrikantov, M.A. Kaplan, R.A. Brodskij

Medical Radiological Scientific Center RAMS, Obninsk

The changes in mousy pancreas under the influence of pulse low-level laser radiation with different parameters have been investigated. 80 mice (CBA × C57 BL) were irradiated by laser with the following parameters: wavelength — 890 nm, pulse frequencies — from 80 to 3000 Hz, exposition — 5–15 min, amount of sessions — 1–10. Pancreas tissues were investigated by light microscopy method. Low-level laser radiating with all frequencies and different modes enlarged microcirculation in pancreas and removed stress vascular component, connected with venostasis after fixation. Low-level laser radiation 150 Hz increased secretion activity, but in 300 Hz and 15 min exposition appeared single dystrophic cells. Increasing frequency to 1500 Hz, caused further reinforcement of synthetic processes, however this frequency made disadvantage influence on cells, which were in intracellular syntheses stage. The frequency 3000 Hz reduced syntheses of zimogen granules with simultaneous reducing morphological changes in the irradiate organ. Increasing an exposition and amounts of sessions caused the reinforcement of low-level laser radiation effects in pancreas tissues with all irradiation frequencies.

Key words: low-level laser radiation, pancreas

За два десятилетия использования импульсного низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) ближнего инфракрасного диапазона в медицине накоплено большое количество наблюдений, в которых отмечаются положительные результаты его клинического применения [5], в то же время, существует ряд работ, обращающих внимание на неэффективность или на отрицательные результаты лазеротерапии [4]. В определении ряда параметров низкоинтенсивного излучения господствует эмпирический подход, поэтому данные, рекомендуемые разными авторами, значительно отличаются. Если длительность импульса и угол расхождения луча заданы производителями лазерных терапевтических аппаратов, а цифры длительности экспозиции и импульсной мощности находятся примерно в одном порядке у разных исследователей, то в вопросе частоты следования импульсов различия параметров в сто и более раз не являются исключением [3]. Те, относительно редкие, фундаментальные исследования частотнозависимых эффектов, которые представлены в литературе, были выполнены в основном *in vitro* на клеточном уровне [2], что, не умаляя их научной ценности, не дает возможности напрямую использовать полученные данные при облучении органов и тканей целостного организма [1, 6]. Все вышеизложенное относится и к применению импульсного НИЛИ в гастроэнтерологии для воздействия на поджелудочную железу, где данный вопрос остается практически неизученным.

Цель работы — изучить изменения в поджелудочной железе экспериментальных животных, вызываемые низкоинтенсивным лазерным излу-

чением различной частоты при разных режимах облучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на 88 мышах разного пола линии (СВА × С57 BL) весом 17–19 г. В качестве источника лазерного излучения использовался аппарат «Узор», производства Калужского радиолампового завода. Перед началом облучения лабораторные животные фиксировались мягкими зажимами на плоской подставке в положении «на животе». Для соблюдения стандартных условий облучения применялись специальные аппликаторы с направляющей площадкой и ограничителем площади облучения.

Все животные были разделены на 22 группы в зависимости от условий проведения эксперимента. Первую группу (контроль) составили 4 интактных животных. Во вторую группу вошли 4 мыши, которым проводился контроль влияния фиксации в течение 15 минут на гистоструктуру поджелудочной железы. В группы с 3-й по 22-ю были включены 80 животных (по 4 в каждую), которые подвергались транскутанному воздействию НИЛИ ближнего инфракрасного диапазона с длиной волны 890 нм: третья группа — частота 80 Гц, однократное облучение, экспозиция 5 мин; четвертая группа — 80 Гц, 10-тикратное воздействие, 5 мин; пятая группа — 80 Гц, 5-тикратное воздействие, 15 мин; шестая группа — 80 Гц, 10-тикратное воздействие, 15 мин; седьмая группа — 150 Гц, однократное воздействие, 5 мин; восьмая группа — 150 Гц, 10-кратное воздействие, 5 мин; девятая группа — 150 Гц, 5-кратное облучение, 15 мин; десятая группа — 300 Гц, однократное воздействие, 5 мин; одиннадцатая группа — 300 Гц,

10-кратное воздействие, 5 мин; двенадцатая группа — 300 Гц, 5-кратное облучение, 15 мин; тринадцатая группа — 600 Гц, однократное облучение, 5 мин; четырнадцатая группа — 600 Гц, 10-кратное облучение, 5 мин; пятнадцатая группа — 600 Гц, 5-кратное облучение, 15 мин; шестнадцатая группа — 1500 Гц, однократное воздействие, 5 мин; семнадцатая группа — 1500 Гц, 10-кратное воздействие, 5 мин; восемнадцатая группа — 1500 Гц, 5-кратное облучение, 15 мин; девятнадцатая группа — 3000 Гц, однократное облучение, 5 мин; двадцатая группа — 3000 Гц, 10-кратное облучение, 5 мин; двадцать первая группа — 3000 Гц, 5-кратное облучение, 15 мин; двадцать вторая группа — 3000 Гц, 10-кратное облучение, 15 мин.

Забой животных производился смещением шейных позвонков. Гистологическая проводка выполнялась по стандартным методикам с последующим заключением в парафин, изготовлением микропрепаратов и окрашиванием гематоксилин-эозином. Изготовленные препараты исследовались методом световой микроскопии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первая группа (контроль). У интактных животных в экзокринном эпителии этого органа различалась расположенная в базальной части зона базофилии, соответствующая хорошо развитому гранулярному эндоплазматическому ретикулуму, и апикальная, содержащая зимогенные гранулы. У голодных животных в ацинусах поджелудочной железы эозинофильная зимогенная зона была хорошо развита, ядра клеток при этом оттеснены к базальной мембране. После приема пищи и выброса секрета в эпителии преобладала базофилия, ядра округлялись и смещались к центру. Таким образом, по соотношению базофильной и оксифильной зон мы могли судить о синтетической и выделительной функциях экзокринных клеток поджелудочной железы.

Островковый аппарат поджелудочной железы интактных мышей был представлен полигональными клетками, гистоструктура которых определялась их функциональной активностью. В одних островках преобладали клетки с небольшим овальным гиперхромным ядром, умеренно базофильной цитоплазмой с четкими границами, по ее периферии иногда просматривались мелкие вакуоли. В таких островках клетки находились в состоянии относительного функционального покоя. В других островках отмечалось значительное число клеток с признаками более выраженной функциональной активности: цитоплазма без четких границ, заполнена слабо окрашенными зернами или мелкими вакуолями, ядра увеличены, светлые. В отдельных клетках выявлялась вакуольная дистрофия цитоплазмы. Часть синусов, пронизывающих островки, была расширена. В соединительнотканых прослойках определялись сосуды, выводные протоки, в основном мелкие, заполненные содержимым или в спавшемся состоянии. В отдельных случаях рядом с сосудами были видны нервные ганглии.

Во второй группе (фиксация животных на животe в течение 15 мин) у одних животных выявлялась морфологическая картина, характерная для венозного застоя и интенсивного выброса зимогена экзокринными клетками: базофилия, ядра увеличены в размере, светлые, положение их центральное (рис. 1). Клетки островков в состоянии высокой активности: границы их стерты, ядра просветлены, цитоплазма заполнена мелкой слабоэозинофильной зернистостью. Венозные сосуды расширены, выводные протоки спавшиеся. У других животных каких-либо выраженных изменений со стороны экзокринной части не отмечалось. Островки Лангерганса полнокровны, в инсулинocyтах определялось увеличенное, по сравнению с интактными животными, число светлых клеток с большей гетероморфностью, вплоть до дистрофических изменений, что отражало большую функциональную активность эндокринного аппарата.

Таким образом, фиксация вызывала у животных стрессовую реакцию в виде венозного застоя. Со стороны экзокринных клеток, не смотря на отсутствие пищевого фактора, отмечался выброс зимогена, за которым следовала новая фаза синтеза. У разных животных выявлялись разные стадии стрессового ответа со стороны экзокринных ацинусов. Островковый аппарат имел признаки значительно повышенной функциональной активности.

Третья группа. В экзокринных клетках было выявлено усиление базофилии цитоплазмы, но выраженность ее не достигала степени базофилии у некоторых фиксированных животных. Островки полнокровны, клетки их мало отличались от таковых у интактных мышей. В нервном ганглии границы нейронов и их ядер недостаточно четкие, нейропил умеренно отечен.

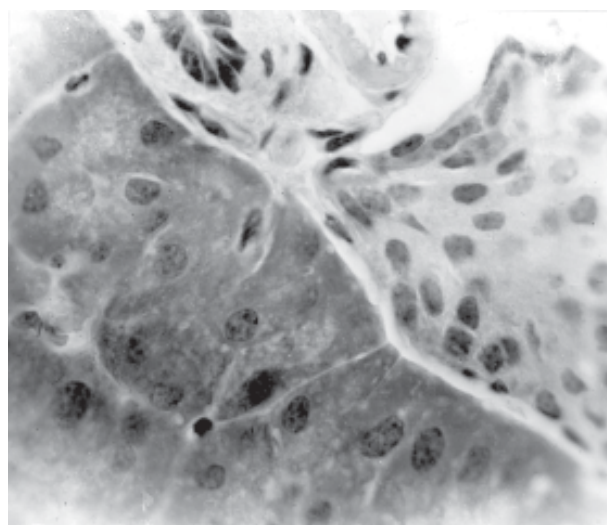


Рис. 1. Поджелудочная железа мыши, выведенной из эксперимента через 1 сутки после фиксации в течение 15 минут. Экзокринный эпителий базофильный, ядра расположены в средней части клеток. Выводной проток спавшийся. Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 90.

Четвертая группа. В экзокринных клетках зона базофилии расширена. В одних островках Лангерганса отмечалось полнокровие и картина, соответствующая высокой функциональной активности вплоть до мелковакуольной дистрофии отдельных клеток. В других островках инсулинциты не отличались от интактного контроля. В нервном ганглии среди нейронов, имевших четкую базофильную цитоплазму, встречались вакуолизированные.

Пятая и шестая группы. У животных этих групп выявлялись аналогичные изменения, особенностью которых была меньшая по сравнению с фиксированным контролем выраженность признаков венозного застоя в строме, преобладание эозинофилии в экзокринных клетках, мелковакуольная дистрофия клеток инсулярного аппарата.

Седьмая и восьмая группы. В обеих группах не было выявлено признаков венозного застоя, в экзокринных клетках умеренно выражена базофилия. В островках Лангерганса клетки отличались полиморфизмом: встречались как находящиеся в покое, так и с признаками высокой функциональной активности, некоторые в состоянии вакуольной или баллонной дистрофии. При 10-кратном облучении, кроме того, видны островки, в которых цитоплазма эндокринных клеток содержала большое количество слабо эозинофильных зерен.

Девятая группа. У животных этой группы отмечались признаки венозного застоя: расширенные заполненные эритроцитами венулы, артериолы умеренно расширены или находились в спавшемся состоянии. В экзокринных клетках преобладала базофилия, у одного животного была выявлена вакуолизация апикальных частей цитоплазмы. В островках Лангерганса видна зернистая дистрофия эпителия.

Десятая и одиннадцатая группы. В поджелудочной железе отмечался венозный застой. В экзокринных клетках периферических ацинусов преобладала базофилия, а в ацинусах, расположенных в центральной части, в эпителии довольно хорошо выражена эозинофильная зона. При однократном облучении строение островков Лангерганса сходно с таковым у фиксированных животных: выявлялась умеренная гетероморфность клеток. При 10-кратном облучении в эндокринных клетках видна зернистая дистрофия.

В *двенадцатой группе* застойные явления не отмечались. В экзокринных клетках хорошо были выражены и базофильная, и эозинофильная зоны. В клетках отдельных ацинусов отмечалось появление дистрофических и гипертрофических клеток эпителия. Нервный ганглий умеренно отечен. В клетках островков Лангерганса видна умеренная зернистая дистрофия.

Тринадцатая и четырнадцатая группы. Застойных явлений не выявлено. В экзокринных клетках хорошо выражены эозинофильная и базофильная зоны, особенно в центрально расположенных дольках. Из особенностей отмечалась

выраженная сжатость эпителия, что свидетельствовало о сильной гидратации клеток перед фиксацией ткани. При 10-кратном воздействии была отмечена высокая активность ядер экзокринных клеток периферических долек органа и вставочных отделов, а также эпителия мелких выводных протоков: они увеличены, на светлом фоне карิโอплазмы хорошо просматривались глыбки хроматина, ядрышки крупные. В клетках Лангерганса при 10-кратном облучении была видна мелкая вакуолизация. При однократном воздействии в цитоплазме этих клеток наблюдалось большое число слабо окрашенных эозином зерен. Некоторые клетки в состоянии лизиса.

В *пятнадцатой группе* в экзокринной части вокруг островков отмечалось более выраженное накопление зимогеновых гранул, то есть эозинофильная зона в эпителии расширена. В нейронах соматического ганглия выявлено расширение цитоплазмы, ее базофилия. Глиальные клетки также активированы, некоторые из них в состоянии атрофии. В эпителии островков была видна зернистая дистрофия цитоплазмы, эпителий рядом лежащих выводных протоков активирован и местами наблюдалось его вращение в островковую ткань.

Шестнадцатая группа. У животных этой группы отмечался венозный застой, отек паренхимы, преобладание базофилии экзокринных клеток. Одни островки Лангерганса были сходны по своей структуре с таковыми интактных животных, другие содержали клетки с признаками высокой активности, часть эндокринных клеток была резко вакуолизирована.

Семнадцатая группа. В клетках ацинусов выявлялась хорошая выраженность обеих функциональных зон, причем в периферических ацинусах преобладала базофилия, отмечались признаки активации ядер панкреатоцитов и мелких выводных протоков. В то же время, в этих же местах были видны дольки, эпителий которых выглядел мутным и набухшим. В центральных отделах железы, вокруг островков, имелись группы клеток с преобладанием в их цитоплазме эозинофильной зоны (рис. 2). В эпителии островков Лангерганса выявлялась зернистая дистрофия.

Восемнадцатая группа. НИЛИ с такими параметрами вызывало интенсивное накопление зимогена в панкреатоцитах, расположенных вокруг островков, иногда этот процесс захватывал всю дольку. Базофильное вещество в таких клетках почти не просматривалось, ядра выглядели полиморфными с признаками дистрофических изменений, в отдельных группах таких клеток можно было видеть гиалиноз апикальных частей (рис. 3). В островках Лангерганса отмечалась зернисто-вакуольная дистрофия и некроз отдельных клеток. В нейронах нейроинсулярного комплекса грубых признаков дистрофии не отмечалось.

В *девятнадцатой группе* морфологическая картина поджелудочной железы была близка к

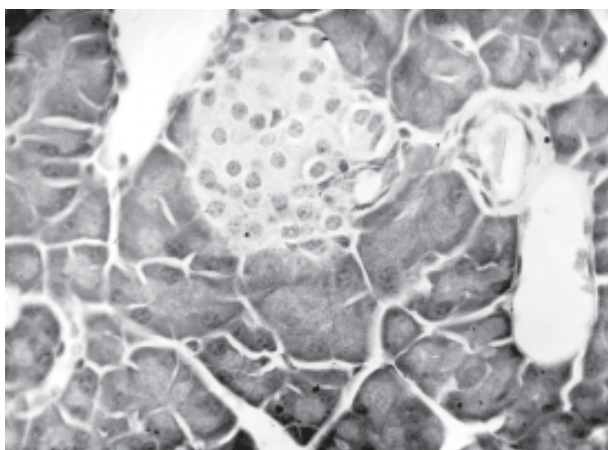


Рис. 2. Поджелудочная железа мыши, выведенной из эксперимента через 1 сутки после 10-кратного облучения по 5 минут с частотой 1500 Гц. Расширение эозинофильного отдела в экзокринных клетках параинсулярной зоны. Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 40.

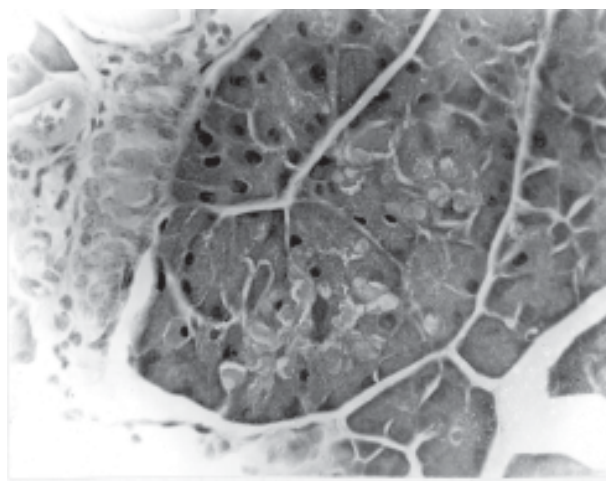


Рис. 3. Поджелудочная железа мыши, выведенной из эксперимента через 1 сутки после 5-кратного облучения по 15 минут с частотой 1500 Гц. Гиалиноз апикальных частей экзокринных клеток с преобладанием в цитоплазме зимогена. Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 40.

таковой у интактных животных. В экзокринных клетках хорошо выражены базофильная и эозинофильная зоны. Островки Лангерганса в разных стадиях активности: в одних эпителий в спокойном состоянии, в других — активирован.

Двадцатая, двадцать первая, двадцать вторая группы. Четкой разницы в реакции органа при этих режимах облучения не отмечалось. В центральных отделах железы в клетках хорошо была выражена эозинофильная зона, однако ни у одного животного она не достигала тех размеров на клеточном и дольковом уровне, которые выявлялись при 5-кратном 15-минутном облучении при частоте 1500 Гц. В островках Лангерганса эпителий содержал слабоэозинофильную зернистость, часть клеток в состоянии дистрофии. В нервном ганглии нейроны имели узкую умеренно базофильную цитоплазму, отмечалась умеренная отечность нейропиля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения на поджелудочную железу в диапазоне частот от 80 до 3000 Гц при разных режимах облучения улучшало кровоток и в значительной степени снимало стрессовый сосудистый компонент, связанный с венозным застоем, возникавшим в результате фиксации животного. НИЛИ частотой 150 Гц вызывало в клетках инсулярного аппарата признаки повышенной секреторной активности, которые нарастали при переходе к более высоким частотам, однако при 5-кратном облучении частотой 300 Гц экспозиции 15 мин в некоторых ацинарных появлялись дистрофические клетки, рядом с которыми выявлялись гипертрофированные панкрециты. У единичных животных при максимальных режимах воздействия частотой 300 Гц отмечалась явная активация клеток вставочных отде-

лов и эпителия мелких выводных протоков, которая усиливалась при использовании частоты 600 Гц. Увеличение частоты воздействия до 1500 Гц, вызывало дальнейшее усиление синтетических процессов, однако данная частота оказывала неблагоприятное воздействие на клетки, находившиеся в стадии внутриклеточного синтеза. Дальнейшее увеличение частоты до 3000 Гц снижало синтез зимогеновых гранул с одновременным уменьшением выраженности морфологических изменений в облученном органе. Увеличение экспозиции и количества сеансов облучения приводило к усилению вызываемых в тканях поджелудочной железы эффектов НИЛИ при всех частотах облучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каплан М.А. Лазерная терапия — механизмы действия и возможности / М.А. Каплан // Лазер и здоровье: 1-й Междунар. конгресс. — Лимасол — М., 1997. — С. 88 — 92.
2. Кару Т.И. Клеточные механизмы низкоинтенсивной лазерной терапии / Т.И. Кару // Лазерная медицина. — 2001. — № 5 (1). — С. 7 — 15.
3. Низкоинтенсивная лазерная терапия // Под общей редакцией С.В. Москвина, В.А. Буйлина. — М.: Фирма «Техника», 2000. — 724 с.
4. Практика эффективного использования лазерного излучения в медицине // Под ред. П.И. Толстых, А.Н. Иваняна. — Смоленск: Изд-во СГМА, 1995. — 79 с.
5. Применение низкоинтенсивных лазеров в клинической практике // Под ред. О.К. Скобелкина. — М., 1997. — 296 с.
6. Чудновский В.М. Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии / В.М. Чудновский и др. — Владивосток: Дальнаука, 2002. — 157 с.