

УДК: 615.849.19

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЕЕ РЕЗЕКЦИИ

А.А. Стенько, Р.И. Кравчук, И.Г. Жук

Кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Исследование посвящено изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на ультраструктурные изменения при резекции поджелудочной железы. Установлено, что применение низкоинтенсивного лазерного излучения способствует повышению биосинтетической активности и резкому возрастанию репаративных процессов в клетках ацинарной и островковой части поджелудочной железы.

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение, резекция поджелудочной железы, электронная микроскопия.

Investigation was devoted to determinate the influence of low level laser therapy on ultra structural changes at pancreas resection. Low level laser therapy precipitates processes of reparative regeneration and biosynthetic activity at pancreas resection.

Key words: Low level laser therapy, pancreas resection, electron microscopy.

В настоящее время низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) весьма успешно применяется при лечении многих заболеваний [1, 2, 8]. Высокая терапевтическая эффективность НИЛИ обусловлена реализацией его свойств (противовоспалительного, регенераторного, бактерицидного, десенсибилизирующего, способностью улучшать региональное кровообращение) в тканях, органах и целостном живом организме [5, 6, 7]. Однако, несмотря на сравнительно большой срок применения вышеуказанного метода, имеются лишь единичные работы о реализации эффектов терапевтического лазерного излучения на ультраструктурном уровне [3, 4].

Нами было проведено исследование по изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на ультраструктурные изменения поджелудочной железы при ее резекции.

Материал и методы

Исследования проводились на 10 белых крысах самцах массой 200-250 г. Под внутримышечным калипсоловым наркозом выполняли срединную лапаротомию. Производили мобилизацию поджелудочной железы с сохранением кровоснабжения селезенки, выполняли дистальную резекцию органа. Культю железы ушивали П-образными швами (полипропилен 5/0). Животные были разделены на две группы (по 5 в каждой): контрольная и опытная. У животных опытной группы после выполнения резекции производили однократное интраоперационное облучение культи поджелудочной железы гелий-неоновым лазером (мощность 20 мВт; длина волны 632,7 нм; продолжительность облучения 5 мин), после чего передняя брюшная стенка ушивалась наглухо. В послеоперационном периоде этим животным выполняли чрезкожное в зоне проекции культи органа облучение лазером с вышеуказанными характеристиками в течение 6 дней 1 раз в сутки. Животных выводили из опыта на 7 суток после операции. Результаты эксперимента оценивали с помощью электронной микро-

скопии препаратов, фиксированных 1% раствором четырехокси осмия на 0.1 М буфере Миллонига [9], контрастированных 2%-ым раствором уранилацетата на 50% метаноле [11] и цитратом свинца по E.S. Reynolds [10]. Изменения фиксировали в области резекции поджелудочной железы и вне зоны рубца.

Результаты и обсуждение

В контрольной группе вне зоны резекции ядра ацинарных клеток интактной зоны ткани поджелудочной железы отличались овальной формой, мелкозернистым хроматином с формированием крупных гранул в кариоплазме и возле внутренней ядерной мембраны. Ядрышко было средних, реже крупных размеров, с преимущественно гранулярным компонентом, локализовано, как правило, эксцентрично. Поры отчетливые, крупные, многочисленные (рис. 1). Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС) сильно развита, что характерно для секреторных клеток поджелудочной железы, была представлена параллельно расположенными мембранами с обилием связанных рибосом, последнее свидетельствует о выработке большого количества транспортного белка «на экспорт». Местами цистерны ГрЭС незначительно расширялись. Митохондрии были немногочисленными, округлой или овальной формы, с умеренным или большим количеством крист, матриксом средней электронной плотности (рис. 1). Зоной преимущественной их локализации явились участки цитоплазмы, примыкающие к плазматической мембране. Именно в этой зоне происходят основные обменные процессы между клеткой и межклеточным пространством. Комплекс Гольджи был представлен уплотненными цистернами и крупными конденсационными вакуолями со слабо осмиофильным содержимым, расположенными, как правило, между ядром и апикальным отделом ацинарной клетки. В цитоплазме клеток отмечали большое число зимогеновых гранул различных размеров, преимущественно зрелых, локализованных большей частью

в апикальной зоне клеток (рис. 1). Выявлялись также единичные гранулы прозимогена и незрелые гранулы. Часто наблюдалась картина тесного топографического контакта гранул между собой. В обычных условиях ацинусы находятся на разных стадиях цикла. Судя по количеству, составу и расположению зимогеновых гранул, секреторные клетки поджелудочной железы находились преимущественно на стадии накопления или выделения секрета, которое происходило по мерокриноному типу. Обнаруживались единичные двоядерные клетки и «темные» клетки. Последние характеризовались более электронно-плотной цитоплазмой, большим количеством митохондрий, плотно расположенными мембранами ГрЭС, что свидетельствует о их функциональной активности. Принято считать, что асинхронизм в секреторном цикле в ацинусе обусловлен наличием «темных» клеток, динамика секреции которых отличается от остальных «светлых» клеток. Центроацинозные протоки сохраняли свое строение, были незначительно расширены и заполнены секретом. Гемокапилляры имели нормопластический вариант строения, эндотелиальные клетки содержали крупное ядро с глубокими изрезанными контурами и тонкие цитоплазматические отростки.

В зоне резекции поджелудочной железы у животных контрольной группы наблюдалось образование грануляционной ткани, расположенной вокруг шовного материала и на границе с интактной тканью железы. Она была представлена расширенными кровеносными капиллярами и клеточными элементами. Местами отмечали очаги формирования соединительной ткани, при этом выявлялись многочисленные соединительнотканые волокна и фибробласты. В ацинарных клетках, расположенных вблизи шовного материала, ядра приобретали удлинненную форму. Наблюдалось более выраженное формирование гранулярного периферического хроматина. Ядрышко отличалось довольно крупными размерами. Эти наблюдения указывали на активацию ядерного аппарата. Митохондрии не имели существенных отличий от контрольного участка ткани. Лишь в отдельных ацинарных клетках наблюдались локальное просветление матрикса и лизис крист отдельных органелл. ГрЭС была сильно развита, с содержанием многочисленных связанных рибосом, с умеренным расширением цистерн во многих клетках (рис. 2). Комплекс Гольджи был представлен либо небольшой стопкой плотно упакованных мембран, небольшим числом мелких гладких везикул и крупных конденсационных вакуолей, либо состоял из мембран с концевыми мешочками без электронно-плотного содержимого. Зимогеновые гранулы были преимущественно зрелыми, неинтенсивно черного цвета, различного размера. Достаточно часто наблюдалась картина их тесного контакта между собой и с митохондриями. Просветы центроацинозных протоков, как правило, были расширены и заполнены содержимым умеренной или повышенной электронной плотности, т.е. секретом. В большинстве протоков ворсинки редуцировались и укорачивались. Выявлялись единичные «темные» клетки, в то же время резко увеличивалось число двоядерных кле-

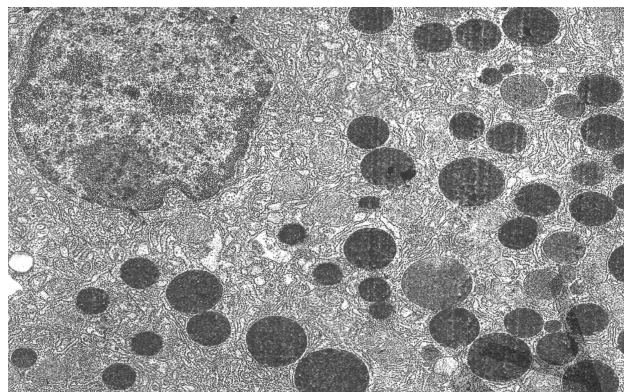


Рис. 1. Стадия накопления секрета, преимущественно зрелые зимогеновые гранулы, картина их тесного контакта между собой и с митохондриями, умеренное расширение цистерн ГрЭС, ядра с мелкозернистым хроматином и формированием крупных гранул в кариоплазме и возле внутренней ядерной мембраны, обилие ядерных пор. Контрастирование уранилацетат. Ув.х19600

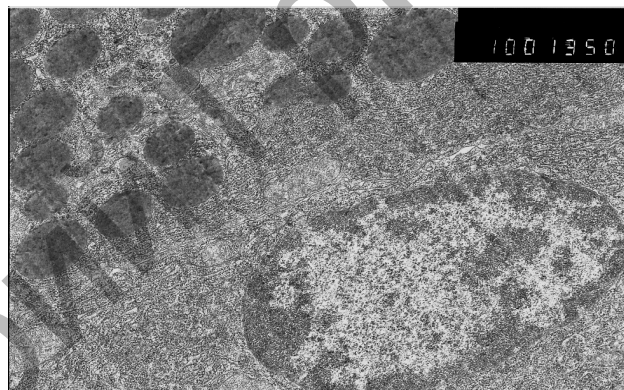


Рис. 2. Ядро удлинненной формы, формирование гранулярного периферического хроматина. Ядрышки довольно крупные. Преимущественно зрелые зимогеновые гранулы, контактируют между собой. Развита ГрЭС, с обилием рибосом, митохондрии с умеренным количеством крист, матриксом средней электронной плотности. Контрастирование уранилацетат. Ув.х9600 ток.

Таким образом, в ацинарных клетках, на границе с шовным материалом, существенных деструктивных изменений не было выявлено. Определялись морфологические признаки, указывающие на повышенную биосинтетическую и репаративную активность в клетках поджелудочной железы. Резекция стимулировала образование двоядерных клеток. В секреторном цикле в одних ацинусах преобладала стадия накопления секрета, в других выявлялось значительное количество выделенного секрета в просветах центроацинозных протоков.

В опытной группе в участках поджелудочной железы, расположенных **вне зоны резекции**, обращала на себя внимание гетерогенность ацинусов. В клетках одних ацинусов наблюдалось скопление многочисленных зрелых зимогеновых гранул в зоне апикального полюса с признаками задержки выделения секрета в просвет центроацинозного протока, о чем косвенно могла свидетельствовать редукция микроворсинок. В клетках других ацинусов содержались многочисленные гранулы прозимогена, незрелые гранулы и конденсационные вакуоли. Такая же картина наблюдалась и в пределах одного ацинуса. Ядра ацинарных клеток

отличались овальной или округлой формой, неглубокими инвагинациями ядерной оболочки, мелкозернистым хроматином с периферической концентрацией конденсированного хроматина. Ядрышки были крупными, с преимущественно гранулярным компонентом, поры широкие, отчетливые. Митохондрии были овальной или удлинённой формы, часто гипертрофированные, с многочисленными ориентированными кристами, матриксом умеренной электронной плотности. С митохондриями часто тесно контактировали зрелые зимогеновые гранулы (рис. 3). ГрЭС была мощно развита, представлена множественными плотноупакованными параллельными мембранами с большим числом связанных рибосом (рис. 3). Комплекс Гольджи, как правило, находился в активном состоянии, с многочисленными мелкими гладкими везикулами и конденсационными вакуолями различного размера. Выявлялись единичные двоядерные и «темные» клетки. В междольковом пространстве наблюдали пролиферацию гемокапилляров.

Таким образом, облучение интактного участка ткани поджелудочной железы лазером низкой интенсивности стимулирует белоксинтезирующие процессы в железе, морфологическим подтверждением которого является активация ядерного аппарата, ГрЭС, комплекса Гольджи, митохондрий. Большинство ядер ацинарных клеток сохранило округлую форму. При этом количество двоядерных и «темных» клеток существенно не увеличивалось по сравнению с контрольной группой. Лазерное воздействие стимулировало пролиферацию гемокапилляров в междольковом пространстве.

В зоне резекции в результате применения низкоинтенсивного лазерного излучения происходил ряд ультраструктурных изменений в ацинарных клетках и соединительно-тканной строме по сравнению с контролем. Вокруг шовного материала наблюдалось разрастание соединительной ткани с преобладанием коллагеновых волокон, часто обладающих повышенной электронной плотностью и фибробластов. Клеточные элементы выявлялись редко. Указанные морфологические признаки свидетельствовали о более быстром созревании грануляционной ткани под воздействием лазера и трансформации ее в соединительную ткань. Аци-

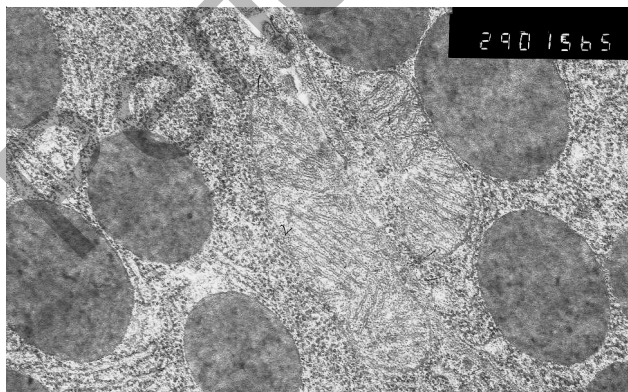


Рис. 3. Митохондрии гипертрофированные, с многочисленными кристами, матриксом умеренной плотности. С ними тесно контактируют зрелые зимогеновые гранулы. ГрЭС была мощно развита, с большим числом связанных рибосом. Контрастирование уранилацетат. Ув.х15000

нарные клетки в пределах одного ацинуса отличались выраженной гетерогенностью цитоплазматического матрикса. Возрастало число «темных» клеток в 2-3 раза по сравнению с контрольной группой (рис. 6). Увеличение числа «темных» клеток в поджелудочной железе наблюдается при ее повышенной функциональной активности, когда идет стимуляция выброса секрета. «Темные» клетки являются либо резервными, «покоящимися», позже вступающими в фазу синтеза секрета, либо такими, в которых синтез пищеварительных ферментов занимает более длительный срок. Наряду с «темными» и «светлыми» клетками выявлялись «промежуточные». Возрастало количество двоядерных ацинарных клеток, причем как «светлых», так и «темных». Ядра большинства клеток приобретали удлинённую форму, содержали крупное, эксцентрично расположенное ядрышко, с преимущественно гранулярным компонентом, широкие отчетливые поры в ядерной оболочке. В ядрах отдельных ацинарных клеток значительно увеличивалось количество ядрышкового материала (рис. 4). Митохондрии содержали многочисленные кристы, матрикс умеренной электронной плотности (рис. 5). Во многих ацинарных клетках отмечалось набухание матрикса митохондрий и приобретение наружной мембраной органелл волнистых очертаний, что способствует увеличению поверхностной плотности органелл, чаще встречались гипертрофированные формы. Подобные структурные изменения митохондрий указывали на возрастание их функциональной активности. ГрЭС была сильно развита, цистерны ее с многочисленными связанными рибосомами практически равномерно плотно заполняли всю цитоплазму ацинарных клеток как в базальном отделе, так и в апикальном (рис. 5). Во многих ацинарных клетках наблюдалась дегрануляция ГрЭС, а между ее цистернами выявлялось множество свободных рибосом. Эти морфологические признаки являются показателем активации биосинтеза как транспортного белка, так и для собственных нужд клеток. В «светлых» клетках цистерны ГрЭС, как правило, были расширенными, в промежуточных – в меньшей степени, а в «темных» представлены плотно упакованными параллельными мембранами (рис. 6). Комплекс Гольджи был представлен стопкой уплощенных цистерн и крупными вакуолями с электронно-светлым содержимым, часто имел расплывчатые структуры. Характерно, что, в отличие от предыдущих групп, в примерно одной трети «светлых» ацинарных клеток как в пределах одного ацинуса, так и в разных ацинусах преобладали незрелые гранулы зимогена и гранулы прозимогена. Это обстоятельство указывало на преобладание стадии созревания секрета над накоплением. При этом незрелые гранулы зимогена имели нетипичный вид, обусловленный характером распределения секрета в гранулах. В остальных ацинарных клетках выявлялись преимущественно зрелые гранулы зимогена интенсивно черного цвета, которые местами тесно контактировали друг с другом и локализовались большей частью в апикальном отделе (стадия накопления и выделения секрета). Центроацинарные протоки отличались многочисленны-

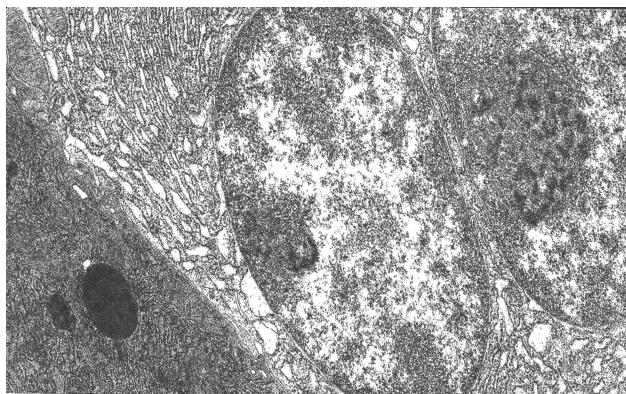


Рис. 4. Ядра удлиненной формы, содержат крупное, эксцентрично расположенное ядрышко, с преимущественно гранулярным компонентом, широкие отчетливые поры в ядерной оболочке. Контрастирование уранилацетат. Ув.х20000

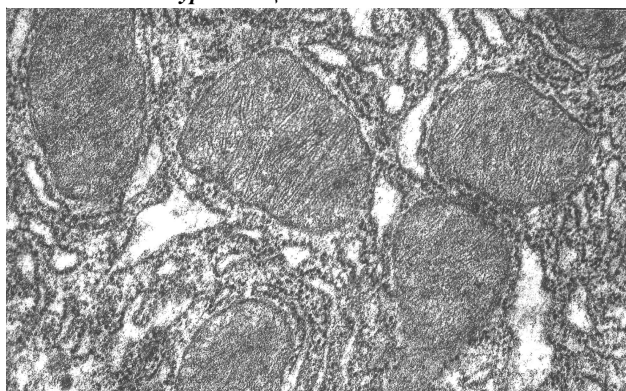


Рис. 5. Митохондрии с многочисленными кристами, матрикс умеренной электронной плотности, набухание матрикса митохондрий и приобретение наружной мембраной органелл волнистых очертаний. Сильно развита ГрЭС, цистерны ее с многочисленными связанными рибосомами, также дегрануляция ГрЭС. Контрастирование уранилацетат. Ув.х58000

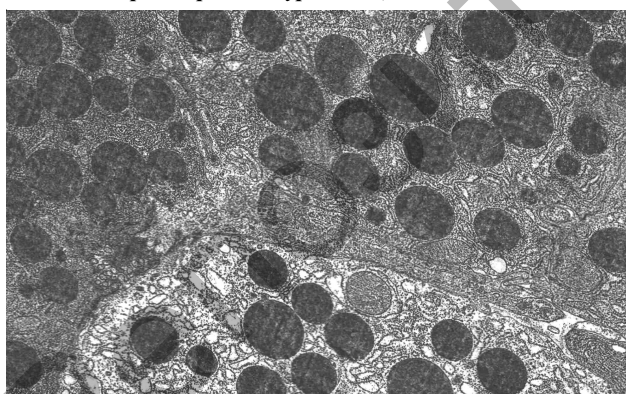


Рис. 6. В «светлых» клетках цистерны расширены, в промежуточных – в меньшей степени, в «темных» представлены плотно упакованными параллельными мембранами. Контрастирование уранилацетат. Ув.х14400

ми микроворсинками и отчетливыми соединительнотканскими комплексами. Отмечалась пролиферация островковой ткани.

Таким образом, в результате воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения в зоне резекции поджелудочной железы отмечается ускорение созревания грануляционной ткани с последующей трансформацией в зрелую соединительную ткань. При этом резко возрастают репаративные процес-

сы в ацинарных клетках, морфологическим показателем которых является значительное увеличение числа двуядерных и «темных» клеток. В соответствии с этим повышается биосинтетическая активность в клетках, о чем свидетельствует активация ядерного аппарата, гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий. Усиливаются процессы катаболизма, наблюдается более выраженный асинхронизм секреторного цикла в ацинусах. Стимулируется пролиферация островковой ткани. По-видимому, лазерное излучение стимулирует образование «темных» клеток только в патологически измененной ткани поджелудочной железы, в то время как в интактной ткани количество «темных» клеток остается на уровне контроля.

Выводы

На основании полученных данных можно сделать вывод, что применение низкоинтенсивного лазерного излучения в послеоперационном периоде при резекции поджелудочной железы способствует созреванию соединительной ткани в зоне резекции, повышению биосинтетической активности и резкому возрастанию репаративных процессов в клетках ацинарной и островковой части органа.

Литература

1. Буйлин В.А., Брехов Е.И. Низкоинтенсивное лазерное излучение в хирургии: успехи и перспективы // Здоровоохранение. – 2002. – №5. – С. 57- 60.
2. Буйлин В.А., Брехов Е.И., Брыков В.И. Низкоинтенсивные лазеры в хирургии: реальность и перспективы // Анналы хирургии. – 2003. – №2. – С. 8-10.
3. Байбеков И. М., Касымов А. Х., Козлов В. И. и др. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии / Под ред. В. И. Козлова, И. М. Байбекова. — Ташкент, 1991. — С. 15—21.
4. Владимиров Ю.А. Лазерная терапия: настоящее и будущее // СОЖ. – 1999. – №12. – С. 2–8.
5. Веремейчик А.П. Влияние лазеротерапии на активность ферментов антиоксидантной системы при экспериментальном аллергическом дерматозе // Белорусский медицинский журнал. – 2003. – №2. – С. 25-27.
6. Волотовская А.В., Улащик В.С., Филипович В.Н. Антиоксидантное действие и терапевтическая эффективность лазерного облучения крови у больных ишемической болезнью сердца // Вопросы курортологии. – 2003. – №3. – С. 22-25.
7. Исмаилов Д.А., Агзамов А.И., Шукуров Б.И. Применение внутрисосудистого лазерного облучения крови в хирургии // Вестник хирургии. – 1995. – №4-6. – С. 128-130.
8. Саросек Ю.К. Применение низкоинтенсивного полупроводникового лазера «Узор» в хирургии // Метод. рекомендации. – Гродно, 1991. – 38с.
9. Millonig G.A. Advantages of a phosphate buffer for osmiumtetroxide solutions in fixation // J. Appl. Physics. – 1961. – V.32. – P. 1637-1643.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // J. Cell. Biol. – 1963. – Vol. 17. – P. 208-212.
11. Watson M.L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals // J. Biophys. Biochem. Cyt. – 1958. – V.4. – P. 475-478.

Resume

INFLUENCE OF LOW LEVEL LASER THERAPY ON ULTRA STRUCTURE OF PANCREAS AT ITS RESECTION

A.A. Stenko, R.I. Kravchuk, I.G. Zhuk

The research on the study of the influence of low level laser therapy on ultra structural changes at pancreas resection was carried out. Experiments were performed on white rats. It was revealed, that the application of low level laser therapy stimulates reparative processes, formation and maturation of connective tissue in place of pancreas resection.

Поступила 31.01.07