

УДК 616.36/366-003.7:616.361:572.7

Шамирзаев Б.Н.

Структурно-функциональные основы лазерных воздействий на морфологию печени и желчевыводящих путей при желчнокаменной болезни

Shamirzaev B.N.

Structurally functional bases of laser effects on morphology of liver and biliary ducts in cholelithiasis

Центральный военный клинический госпиталь Министерства обороны Республики Узбекистан

Цель исследования. Использование лазеротерапии в комплексном эндохирургическом лечении холециститов. *Задачи исследования.* 1. Изучить изменения желчного пузыря под воздействием низкоинтенсивного лазерного излучения. 2. Изучить изменения печени при холецистите и влияние лазеротерапии на редукцию этих изменений. *Материал и методы.* У 60 больных с калькулезным холециститом в предоперационную подготовку перед лапароскопической холецистэктомией включали облучение области желчного пузыря и печени низкоинтенсивным магнито-инфракрасным лазером. Использовали магнитолазерные аппараты «Милта» и «Согдiana». Исследовались удаленные желчные пузыри и кусочки ткани печени, которые иссекались из краев печени во время лапароскопических операций. *Результаты.* Проведенные исследования выявили существенную редукцию изменений печени и желчного пузыря как на светооптическом, так и на электронномикроскопическом уровне, обусловленные воздействием. *Заключение.* Это позволяет рекомендовать лазеротерапию как эффективную составную часть в подготовке пациентов с холециститами к проведению эндоскопической холецистэктомии. *Ключевые слова:* желчнокаменная болезнь, печень, желчный пузырь, лазер.

Purpose of research. Use laser therapy in complex endo surgery treatment of cholelithiasis. *Research problems.* 1. To study changes of gall bladder under influence of low intensity laser radiation. 2. To study changes of liver in cholelithiasis and influence of laser therapy on a reduction of these changes. *Material and methods.* In 60 patients with stone cholecystitis in preoperative preparation before laparoscopic cholecystectomy there was included an irradiation on the area of gall bladder and epigastric puncture with low intensity magnet-infra-red laser. The magnet-laser devices «Milta» and «Sogdiana» were used. The removed gall bladder and slices of liver tissue which were out from edges of a liver during laparoscopic operations in the patients with cholelithiasis were studied. *Results.* The investigation carried out, have revealed essential reductions of changes in the liver and gall bladder, both on light-optical and on electron-microscopical levels caused by low intensity influence of laser radiation. *Conclusion.* It allows to recommend laser therapy as an effective component in preparation of the patients with cholelithiasis to realization of endovideo cholecystectomy. *Key words:* cholelithiasis, liver, bilious bubble, laser.

До настоящего времени множество вопросов лечения заболеваний печени и желчного пузыря, к сожалению, не решены. Широкое распространение холелитиаза определяет актуальность проблемы лечения заболеваний желчного пузыря и желчных протоков как чрезвычайно важной в современной хирургии [4, 7].

Результаты терапевтического влияния лазерного излучения изучены при многих заболеваниях и их моделях в эксперименте и клинике с использованием клинических, физиологических, биохимических, гистохимических, люминесцентных, электронномикроскопических, биофотометрических, математических и других методов исследований.

В настоящее время достаточно четко определены оптимальные диапазоны, режимы, дозы и точки лазерных воздействий при самых различных заболеваниях. По имеющимся данным, терапевтический эффект основан на следующих свойствах лазерного воздействия: стимуляция синтетической функции и пролиферативной активности клеток, усиление фагоцитарной функции микроциркуляции и анальгезирующий эффект и др. [2, 8, 9, 12]. Эти свойства позволяют применять лазеротерапию практически при всех острых и хронических воспалительных процессах, обменных нарушениях, иммунодепрессиях и нарушениях регенерации тканей.

С.В. Москвин и В.А. Буйлин (2006) полагают, что в основе использования низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в комплексном лечении холецистита являются его выраженные спазмолитические свойства. По их мнению, в основе спазмолитического действия лазеротерапии лежат сигнальные молекулы Ca^{2+} , которые, распространяясь между соседними клетками гладкой мускулатуры, обеспечивают координирование сокращения миоцитов, обуславливающее положительный эффект лазеротерапии.

По мнению большинства исследователей, занимающихся механизмами действия НИЛИ, в этом аспекте ключевым вопросом является выявление периферического акцептора фотоэффекта. Таких акцепторов выявлено немало, среди них ряд ферментов, таких как каталаза, супероксид мутаза, цитохромы [3, 5]. Проведя в этом ключе анализ основных данных литературы, С.В. Москвин и В.А. Буйлин (2006) подчеркивают, что в качестве акцептора может выступать любой внутриклеточный компонент, имеющий полосу поглощения для данной длины волны, в том числе и вода. В этом случае пусковым механизмом биологического действия НИЛИ является, в первую очередь, термодинамический эффект. Функционирование большинства внутриклеточных компонентов тесно связано с их конформационной подвижностью, зависящей от присутствия воды и ее состояния. Показано, что концен-

трация внутриклеточного кальция при воздействии НИЛИ увеличивается многократно [6, 12].

Механизмы регулирования необычайно универсальны. Это и транспорт через мембраны, процессы секреции, свертывания крови, активизация метаболизма клеток и повышение их функциональной активности, стимуляция репаративных процессов. Эти процессы обусловлены повышением редокс-потенциала митохондрий [3, 5, 11, 13].

Противовоспалительное действие НИЛИ и стимуляция микроциркуляции также обусловлены кальцийзависимым высвобождением медиаторов воспаления – цитокинов, а также кальцийзависимым выделением клетками эндотелия вазодилатора – оксида азота – NO [6].

Таким образом, анализ данных современной литературы свидетельствует о том, что универсальность действия НИЛИ в настоящее время связывается во многом с их воздействием на высвобождение ионов Ca^{2+} из кальциевого депо. Универсальность же благотворного действия НИЛИ на многие внутриклеточные процессы обусловлена стимуляцией микроциркуляции, опять же опосредованно, из-за возрастания под воздействием Ca^{2+} содержания, оксида азота [6].

Анализ современной литературы, к сожалению, свидетельствует о факте того, что использование лазеротерапии в комплексном эндохирургическом лечении холециститов наименее изучено исследователями.

Не изучены изменения желчного пузыря под воздействием НИЛИ, а также изменения печени при холецистите и влияние лазеротерапии на редукцию этих изменений.

Все это определило проведение исследований, изложенных в настоящей статье.

Материалы и методики исследования

У 60 больных (35 – острым калькулезным холециститом и 25 – хроническим калькулезным холециститом) в предоперационную подготовку перед лапароскопической холецистэктомией (ЛХЭ) включали облучение области желчного пузыря и области эпигастрального прокола низкоинтенсивным магнитоинфракрасным лазером. Использовали магнитолазерные аппараты «Милта» и «Согдиана», генерирующие лазерное излучение в импульсном режиме в инфракрасной области спектра длиной волны 0,89 мкм, в постоянном магнитном поле напряженностью 35 мТл. Мощность излучения лазера в импульсе была равна 8–14 мВт, выходная средняя мощность 4–7 мВт. Частота следования импульса – 800–1000 Гц. Облучение проводили чрескожно, в 3–5 точках по 60–120 с. Исследовались удаленные желчные пузыри и кусочки ткани печени, которые иссекались из краев печени во время лапароскопических операций.

Для световой микроскопии образцы ткани фиксировали в 10–12% растворе формалина на фосфатном

буфере по Лилли. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином – эозином.

Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) образцы ткани фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на фосфатном или какодилатном буфере, после обезвоживания в спирте – ацетоне заливали эпоно-аралдитовой смесью. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме Ultracut (Австрия), контрастировали в аппарате Ultrastainer (Австрия) и просматривали в электронном микроскопе Hitachi H-600 (Япония).

Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) препараты после вышеописанной фиксации подвергали обезвоживанию в спирте – ацетоне, затем высушивали методом критической точки в аппарате HCP-2 и напыляли золотом в аппарате IB-2. Исследовали в электронном микроскопе Hitachi S405A.

Фотографирование проводили на цветную пленку Kodak Professional Pro Foto100 или Fujicolor superia 100, а также с помощью цифровой зеркальной камеры с экрана монитора микроскопа.

Микрофотографии сканировали на сканнере Scan Prisa 640P (Acer) и подвергали компьютерной обработке на компьютере CompuTek Pentium IV Windows 2003.

Светооптически исследовали и полутонкие эпоксидные срезы, окрашенные метиленовым синим – фуксином.

Светооптические микрофотографии получали на микроскопе Axioscope (Zeiss) с цифровой камерой Sony.

Результаты исследования

Влияние НИЛИ на морфологию печени и желчных путей при холециститах изучалось у пациентов, которым лазеротерапию проводили в подготовительный к лапароскопической холецистэктомии (ЛХЭ) период.

Исследования показали, что курс лазеротерапии оказывает выраженное положительное воздействие на нормализацию структуры печени.

Уменьшается число гепатоцитов, подвергнутых баллонной и жировой дистрофии при хроническом калькулезном холецистите. Просветы синусоидов сокращаются, в них становится меньше эритроцитов (рис. 1, 2).

При изучении биоптатов в портальных трактах имеются признаки снижения лимфоидной инфильтрации. Просветы центральных вен остаются расширенными. Нормализуется общая архитектоника печеночных балок, в том числе и ближе к центральной вене. Ядра становятся более однородными как по форме, так и по размерам (рис. 3).

Электронномикроскопические исследования показали восстановление внутриклеточных структур гепатоцитов. Митохондрии приобретают характерную для них ультраструктуру и электронную плотность матрикса. Возрастает число профилей зернистой эндоплазматической сети. Гликоген равномерно рас-

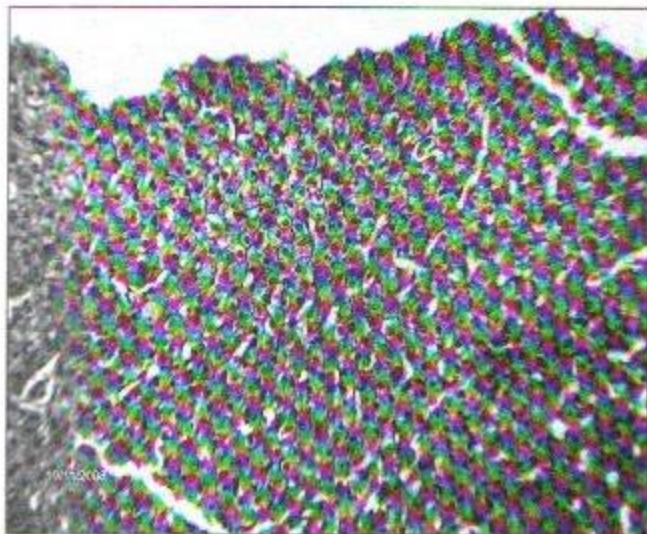


Рис. 1. Снижение числа измененных гепатоцитов после лазеротерапии. Хронический холецистит. Г-Э. 10×10

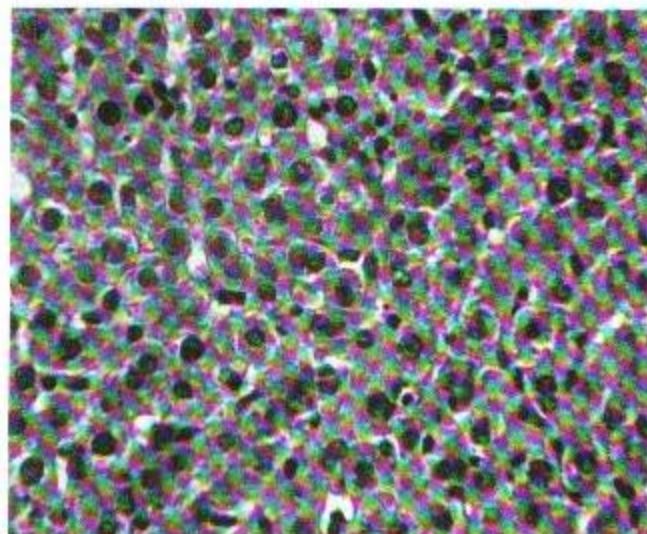


Рис. 2. Редукция изменений гепатоцитов и сокращение просвета синусоидов после лазеротерапии. Хронический холецистит. Г-Э. 10×20

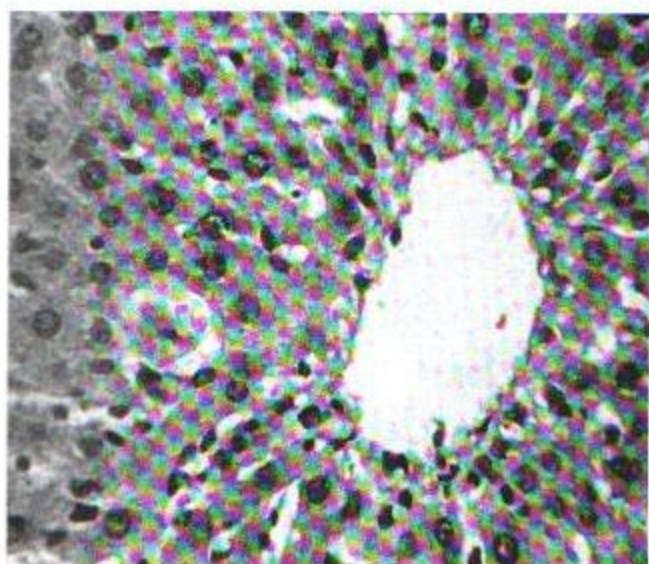


Рис. 3. Расширенная центральная вена, нормализация структуры гепатоцитов. Мономорфизм гепатоцитов, сокращение просвета синусоидов после лазеротерапии. Хронический холецистит. Г-Э. 10×20

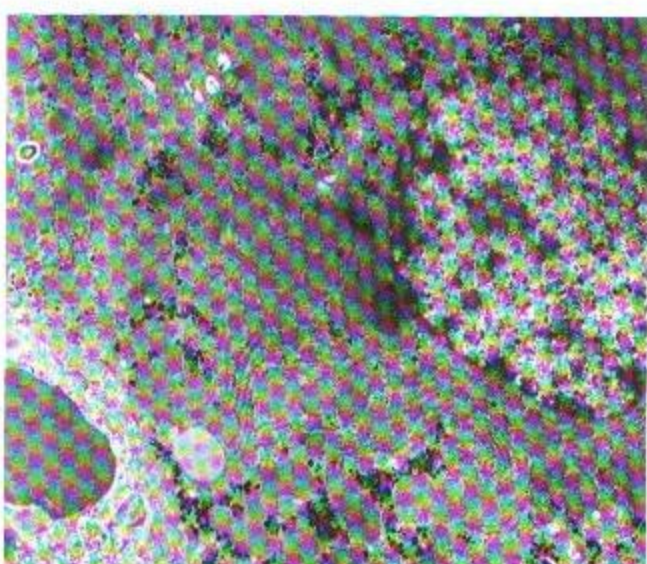


Рис. 4. Нормализация ультраструктуры гепатоцитов после лазеротерапии. Хронический холецистит. ТЭМ. $\times 7500$

пределен по всей цитоплазме. В ядрах доминирует гетерохроматин, в ядерной оболочке определяется большое число пор (рис. 4).

Существенная редукция воспалительно-деструктивных изменений отмечается и в стенке желчных пузырей.

Это проявляется в уменьшении воспалительной инфильтрации, отека и стаза, а также и формирования тромбов в просвете сосудов.

Восстанавливается целостность эпителиальной выстилки слизистой оболочки (рис. 5).

Однако в стенке желчных пузырей при хроническом калькулезном холецистите продолжают доминировать фибробласты.

СЭМ-исследования показали уменьшение числа и размеров микроэрозий на апикальной поверхности

эпителиоцитов, восстановление тесного прилегания эпителиальных клеток друг к другу и уменьшение числа включений на просветной поверхности (рис. 6).

Лазеротерапия, проведенная в дооперационный период, вызывает и существенные качественные изменения в состоянии осадка желчи.

Здесь резко уменьшается число кристаллических структур. Доминирующими образованиями становятся аморфные массы детрита и различные слущенные и мигрировавшие в просвет клетки (рис. 7, 8).

Морфологические исследования показали некоторые особенности изменения печени, стенки желчного пузыря и самой желчи у пациентов с острым и хроническим калькулезным холециститом.

При разных формах острого холецистита патологические изменения выражены незначительно. Они



Рис. 5. Редукция воспалительных изменений, восстановление целостности эпителиальной выстилки пузыря после лазеротерапии. Хронический холецистит. Г-Э. 10×20



Рис. 6. Восстановление целостности эпителиальной выстилки пузыря после лазеротерапии. Хронический холецистит. СЭМ. $\times 1000$



Рис. 7. Уменьшение содержания кристаллических структур в осадке желчи после лазеротерапии. Хронический холецистит. СЭМ. $\times 1000$



Рис. 8. Клетки крови и эпителия в осадке желчи после лазеротерапии. Хронический холецистит. СЭМ. $\times 1000$

заканчиваются в изменениях циркуляторного характера. Не выявлено изменений, указывающих на те или иные виды дистрофий.

Более выраженные изменения печени были обнаружены при хронических холециститах.

Помимо циркуляторных расстройств имеет место жировая и баллонная дистрофия гепатоцитов. Частично нарушается и общая архитектоника печени.

Таким образом, проведенные исследования выявили существенную редукцию изменений печени и желчного пузыря, как на светооптическом, так и на электронномикроскопическом уровне, обусловленные воздействием сеансов НИЛИ.

Это позволяет рекомендовать лазеротерапию как эффективную составную часть в подготовке пациен-

тов с холециститами к проведению эндовизуальной холецистэктомии.

Выводы

1. Курс лазерной терапии при хроническом калькулезном холецистите в печеночной ткани уменьшает число гепатоцитов, подвергнутых баллонной и жировой дистрофии, в портальных трактах снижается лимфоидная инфильтрация, нормализуется общая архитектоника печеночных балок.
2. Существенная редукция воспалительно-деструктивных изменений имеет место и в стенке желчных пузырей: уменьшается воспалительная инфильтрация, отек и стаз, а также формирование тромбов в просвете сосудов, восстанавливается

- целостность эпителиальной выстилки слизистой оболочки.
3. Курс лазерной терапии при различных формах острого холецистита уменьшает выраженность патологических изменений: нормализуется сосудистый циркуляторный характер, не выявляются изменения в печени и желчном пузыре, указывающие на те или иные виды дистрофий.
 4. Лазеротерапию можно рекомендовать в качестве эффективной составной части в подготовке пациентов с холециститами к проведению лапароскопической холецистэктомии.

Литература

1. Артыков Ш.Н. Клинико-экспериментальное обоснование использования низкоинтенсивного лазерного излучения в комплексном хирургическом лечении больных циррозом печени: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1992. 19 с.
2. Байбеков И.М., Мавляи-Ходжаев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. М.—Тверь: Триада, 2008. 256 с.
3. Гейниц А.В., Москвин С.В., Азизов Г.А. Внутривенное лазерное облучение крови. М.—Тверь: Триада, 2006. 144 с.
4. Ермолов А.С., Гуляев А.А., Адамьян А.И. Малоинвазивные вмешательства при остром обтурационном холецистите // Эндоскопическая хирургия. 1997. № 1. С. 64–67.
5. Кару Т.И. Клеточные механизмы низкоинтенсивной лазерной терапии // Лазерная медицина. 2001. № 5 (1). С. 7–15.
6. Москвин С.В., Буйлин В.А. Основы лазерной терапии. М., 2006. 256 с.
7. Ярош В.Н., Раманов Ю.А. Лапароскопическая холецистэктомия в лечении заболеваний желчного пузыря // XII Московский международный конгресс по эндоскопической хирургии. М., 2008. С. 489–491.
8. Alexandratou E., Yova D., Handris P. et al. Human fibroblast alterations induced by low power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy // Photochemical & Photobiological Sciences. 2003. Vol. 16. P. 208–214.
9. Baxter D.G. Therapeutic Lasers. Theory and Practice. Churchill Livingstone, 1994. 259 p.
10. Carafoli E., Santella L., Brance D., Brisi M. Generation, control, and processing of cellular calcium signals // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2001. Vol. 36. P. 107–260.
11. Filippin L., Magalhaes P.J., Di Benedetto G. et al. Stable interactions between mitochondria and endoplasmic reticulum allow rapid accumulation of calcium in a subpopulation of mitochondria // J. Biol. Chem. 2003. Vol. 10. 1074 p.
12. Tuner J., Hode L. Low Level Laser Therapy. Stockholm: Prima Books, 1999. 245 p.
13. Schafer M.J., Sroka R., Fuchs R. Biomodulative effects induced by 805 nm laser light irradiation of normal and tumor cell // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 1997. Vol. 40. 3 p.

Поступила в редакцию 01.04.09 г.

Для контактов:
e-mail: bah-tier-88@inbox.ru