

© Мнихович М.В., Чумаченко П.А., Панкратова Е.С. 2006  
УДК 618.19+615.849  
М 733

## **ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРОМ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

*М.В. Мнихович, П.А. Чумаченко, Е.С. Панкратова*

Рязанский государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова

**В статье представлена характеристика морфологических изменений в паренхиме и в строме молочной железы белых беспородных крыс при воздействии различных режимов низкоинтенсивного лазерного излучения в группах опыта.**

Достижения современной электроники и оптики привели к возникновению и развитию новой отрасли – низкоинтенсивной лазерной терапии. Лазерную терапию возможно применять в различных областях медицины. В отличие от ранее известных источников света, лазерное излучение обладает рядом уникальных особенностей, которые можно свести к четырем основным свойствам этого луча: высокой когерентности, монохроматичности, малой расходимости, высокой плотности мощности энергии излучения, высокой проникающей способности [1, 3, 11]. Биостимулирующее воздействие гелий-неонового излучения выявлено многочисленными клинико-экспериментальными исследованиями [1, 3, 11, 12, 13, 16]. Уникальную особенность низкоинтенсивного лазерного излучения – оказывать биостимулирующее действие, одними из первых отметили дерматологи и хирурги при лечении длительно незаживающих ран и трофических язв, а также для лечения ожоговых ран, размеры раны быстро уменьшаются, вплоть до полного стойкого заживления [3, 11, 16]. В последние годы все больше появляется работ, посвященных самым разным областям медицины, в которых успешно применяется лазерное излучение. Интерес-

ные работы, с хорошими результатами проводились по изучению анальгезирующего эффекта лазерного излучения. В частности, оно использовалось в ближнем инфракрасном диапазоне в лечении острых и хронических болевых синдромов. Основной метод при этом – лазеропунктура с использованием акупунктурных точек и облучение болевых зон. Многочисленными экспериментами совершенно четко выявлено противовоспалительное действие монохроматического красного излучения гелий-неонового лазера. Оно способствует сокращению продолжительности течения воспаления, путем ускорения смены фаз воспалительного процесса, благодаря, усилению тканевого дыхания, увеличению интенсивности обменных процессов, нормализации проницаемости сосудисто-тканевых барьеров, усилению пролиферативных процессов в соединительной ткани, повышению защитно-приспособительных реакций организма.

Низкоинтенсивное лазерное излучение оказывает противовоспалительное, иммунокорректирующее, обезболивающее действие, способствует заживлению ран. Механизм действия лазерного излучения заключается в том, что вследствие поглощения энергии света процессы жизне-

деятельности получают лучшее энергетическое обеспечение. Способ воздействия лазерного излучения на организм зависит от вида и локализации патологического процесса. Различают: лазерную рефлексо-терапию (воздействие излучения на точки акупунктуры), наружное (чрескожное), внутривещное воздействие и лазерное облучение крови.

Пусковыми моментами в сложном механизме действия лазерного излучения на биологические объекты являются восприятие световых лучей фотоакцепторами, трансформация их молекулярной композиции и изменения их физико-химического состояния [Девятков Н.Д. и др., 1987; Кару Т.И., 1989]. В дальнейшем происходит активизация биохимических реакций с инициацией в ферментах активных и аллостерических центров и ростом их количества. Подтверждением этому является большое число исследований, свидетельствующих о росте ферментативной активности после лазерной физиотерапии, усилении синтеза АТФ [Гордон С.А. и др., 1960; Passarella et al., 1984]. На клеточном уровне механизм передачи и усиления фотосигнала в красной области спектра, по мнению Т.И. Кару (1989), связан с ускорением передачи электронов в редокс-парах компонентов дыхательных цепей, что ведет к изменению редокс-потенциала в митохондриях и цитоплазме. В результате в клетках увеличивается синтез АТФ, а в конечном итоге достигается макроэффект – ускорение пролиферации клеток.

Несмотря на множество работ по применению лазерного излучения в медицинской практике, вопрос о его действии на молочную железу остается недостаточно изученным. Особенно слабо изучены морфологические изменения молочной железы, поскольку эти методы являются весьма трудоемкими, но они позволяют с высокой точностью и достоверностью судить о структурно-функциональных изменениях в любом

органе и ткани. Учитывая выше сказанное, мы вправе утверждать, что изучение изменений в молочной железе с помощью морфологических методов анализа при воздействии на нее физических факторов, лекарственных веществ является актуальным.

**Цель исследования:** изучить влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на состояние молочной железы в обычных условиях.

### Материалы и методы

Эксперимент проведен на 50 белых беспородных девственных самках крыс. Крысы содержались в условиях вивария.

Животные были разделены на 2 группы – опытную и контрольную.

Опытным группам проводилось облучение гелий-неоновым лазером аппаратом ЛГН-111 с длиной волны 0,63 мкм и мощностью на выходе из световода 13 мВт в течение 2, 4 и 8 недель, временной экспозиции 5 и 10 минут, кратностью облучения 3 раза в неделю. По прошествии 2, 4 и 8 недель от начала опыта крысы усыплялись эфиром (смертельная доза) в эксикаторе, молочные железы извлекались (паховые молочные железы), фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина, заливались парафином, все срезы окрашивались гематоксилин-эозином, выборочно – пикрофуксином по Ван-Гизону, суданом III на липиды, на эластину по Вейгерту, импрегнировали серебром ретикулярные волокна по Фуру, проводилась ШИФФ-реакция, выявление ДНК по методу Браше, РНК – по методу Унны-Тенцера.

Изучение гистологических препаратов производилось с помощью следующих методов:

1. описательный
2. гистологический
3. гистохимический
4. морфометрический.

Описательный метод дает оценку тех или иных изменений в молоч-

ной железе.

Паренхима.

– преимущественное расположение протоков: одиночное, группами маленькими или большими;

– эпителий протоков: высота, форма;

– ядро: размеры, форма, расположение, интенсивность окраски, хроматин;

– цитоплазма: размеры, цвет, гомогенность, вакуолизация;

– нижний пласт эпителия, базальная мембрана: толщина, состояние;

– состояние просвета протоков: различимы, сужены, расширены;

– содержимое протоков (белки, жиры, клетки эпителия).

Строма.

– соотношение жировой и фиброзной ткани;

– состояние сосудов: количество, кровенаполнение, стенка;

– клеточный состав стромы: количество клеток.

Морфометрический анализ строения паренхимы и стромы оценивали по следующим показателям: площадь поперечного сечения молочной железы в мм<sup>2</sup>

(ПГС), количество протоков (К), количество протоков в группах (КПГ), количество групп (КГ), величина групп протоков (ВГ), плотность железистого поля (П), количество одиночных протоков (КО), степень сгруппированности (%Г), процент одиночных протоков (%О).

### Результаты и их обсуждение

В норме молочные железы состоят из спавшихся протоков, расположенных в жировой ткани, бедной сосудами и клеточными элементами. Эпителий, выстилающий протоки – кубический с ярко окрашенными, в центре расположенными ядрами, бледной гомогенной цитоплазмой. Базальная мембрана тонкая, нежная. Просветы протоков едва различимы, вокруг протоков местами имеются тонкие полоски фиброзной ткани с эластическими волокнами и небольшим количеством клеток: фибробластов, лимфоцитов, плазмочитов, нейтрофилов и т.д. Сосуды мелкого калибра, сужены. В стенках кровеносных сосудов располагались эластические волокна. Периваскулярно располагаются единичные клетки. (рис. 1)

Рисунок 1. Нормальное гистологическое строение молочной железы белой самки крысы (окр. гемм.-эозин; ок. 7, об. 8).

При облучении молочных желез низкоинтенсивным лазером в течение 2 недель при экспозиции 5 и 10 минут гистологически молочные железы имели следующее строение: чаще протоки располагались малыми группами или одиночно, в единичном случае более компактно по 10-15 протоков, формируя маленькие дольки; эпителий однослойный кубический или высокий многослойный, ядра ярко-базофильные, центрально расположенные, овальной или округлой формы; цитоплазма и базаль-

ная мембрана без особенностей; просветы протоков иногда хорошо различимы, в просветах таких протоков содержится немного розового секрета, одновременно в поле зрения имеются протоки, просветы которых не различимы, содержимое отсутствует; протоки не расширены; вокруг протоков имеются тонкие полосы периретикулярной ткани с разными клетками и эластическими волокнами; строма: жировая ткань, сосуды полнокровны (рис. 2).

Рисунок 2. Морфология молочной железы при облучении низкоинтенсивным лазером в течение 2 недель (окр. гемм.-эозин; ок. 7, об. 8).

При облучении молочных желез низкоинтенсивным лазером в течение 4 недель при экспозиции 5 и 10 минут гистологическая картина молочных желез: протоки расположены преимущественно одиночно или в виде небольших групп по 3-6 протоков. Эпителий кубический, ядра овальной или округлой формы, базофильные; цитоплазма блед-

но-розовая, гомогенная. Базальная мембрана тонкая, нежная, без особенностей. Просветы протоков в основном хорошо различимы, иногда в просветах содержится немного бледно-розового секрета. Строма представлена жировой тканью, сосуды местами полнокровны. Стромальные элементы различны (рис. 3).

Рисунок 3. Морфология молочной железы при облучении низкоинтенсивным лазером в течение 4 недель (окр. гемм.-эозин; ок. 7, об. 8).

При облучении молочных желез низкоинтенсивным лазером в течение 8 недель при экспозиции 5 и 10 минут гистологически молочные железы представлены: протоки располагались небольшими группами по 5-6 или одиночно; эпителий кубический однослойный, реже высокий многослойный; ядра яркие, базофильные, округлой или оваль-

ной формы, центрально расположенные; цитоплазма бледно-сиреневая, гомотогенная; базальная мембрана без особенностей; просветы чаще очень хорошо различимы, в просветах – немного розового секрета и клеток слущенного эпителия, реже просветы протоков практически не различимы. (рис. 4).

Рисунок 4. Морфология молочной железы при облучении низкоинтенсивным лазером в течение 4 недель (окр. гемм.-эозин; ок. 7, об. 8).

Вокруг протоков – тонкие полоски фиброзной ткани с различными клетками (Эф, Бф, Лц, Тк, Мц, Фб) и эластическими волокнами. Средние морфометрические

показатели представлены в таблице 1.

Важно отметить, что в данной и предыдущей группах в перидуктальной строме идет накопление тучных клеток. (рис. 5).

Рисунок 5. Тучные клетки околопротоковой и периваскулярной стромы в молочной железе при облучении низкоинтенсивным лазером в течение 4 недель (окр.; основным коричневым по Шубичу; ок. 7, об. 40).

Среднее количество их на мм<sup>2</sup> равнялось 65. Тучные клетки преимущественно расположены по ходу путей микроциркуляции. Мы наблюдали 3 вида

тучных клеток: (рис. 6).

1. Отросчатые тучные клетки
2. Типичные или «Тканевые»
3. Дегранулирующие.

Рисунок 6. Тучные клетки вокруг сосудов в строме в молочной железе при облучении низкоинтенсивным лазером в течение 8 недель (окр. PAS – реакция ок. 7, об. 40).

Дегрануляция тучных клеток является показателем их функциональной активности, а, следовательно, показателем повышенной функциональной активности соединительной ткани. При этом, характерностью распределения тучных клеток было расположение отростчатых форм – вокруг сосудов, а типичных в отдалении от сосудов ими была выполнена перидуктальная строма. Дегранулирующие клетки располагались, преимущественно в отдалении от сосудов и протоков. При чем соотношение типичных и дегранулирующих клеток составляет 50: 50. В некоторых по-

лях зрения определяются комплексы: тучная клетка – эозинофил или тучная клетка-плазмоцит и реже тучная клетка – фибробласт.

Таким образом, абсолютное увеличение числа тучных клеток в группе опыта, относительное увеличение среди них нетипичных (отростчатых) форм, появление цитоплазматических признаков их активного функционирования (пузырьковидная секреция и дегрануляция) рассматривается как индикатор функциональной напряженности ткани, очень чутко реагирующей на изменение ее функции.

Таблица 1

Морфометрические показатели молочной железы при воздействии низкоинтенсивным лазером в различных экспериментальных условиях.

Продолжительность опыта	ПГС	К	КГ	КПГ	ВГ	П	КО	%Г	%О
5 мин – 2 недели	8,0±1,6	38,8±6	11,0±2,2	35,8±8	3,2±0,5	4,8±0,8	1,0±0,5	95,0±5	5,0±1,5
10 мин – 2 недели	9,6±2	64,0±27	13,2±3,2	63,0±24	4,8±0,9	6,7±3	1,0±0,2	94,5±5	5,5±2,0
Контроль 2 недели	8,0±1,6	16,4±6,6	6,0±2	13,8±5,4	2,3±0,3	2,1±0,3	2,6±0,8	69±4	31±10,0
5 мин – 4 недели	12,0±1,4	94,0±24	15±1,8	93,0±20	6,2±3	7,8±2,2	0,4±0,4	98,6±0,4	1,4±0,4
10 мин – 4 недели	6,9±1,8	53,0±10	12,1±1,4	53,8±10	4,4±0,8	7,7±1,0	0,8±1,0	95,0±4	5,0±4,2
Контроль 4 недели	8,6±1,0	19,0±1,0	8,6±1,0	15,4±1,6	1,7±0,3	2,2±0,2	3,6±0,8	59,4±6,1	40,6±6,0
5 мин – 8 недель	5,4±1,0	54,0±11	14,6±1,2	54,0±11	3,7±0,4	10,0±5,0	0	100	0
10 мин – 8 недель	6,4±1,2	56,0±5,0	10,8±1,8	43,0±5,0	4,0±0,6	88±1,8	0,8±0,2	89,0±0,2	11,0±1,0
Контроль 8 недель	5,0±1,4	29,4±5,0	8,8±1,0	28,6±5,0	3,2±0,2	5,8±1,0	1,0±0,6	94,0±2,0	6,0±4,0

### Выводы:

1. Низкоинтенсивное лазерное излучение оказывает определенное влияние на интактные молочные железы, способствует развитию молочных желез, не вызывает развитие патологических процессов; молочные железы в изученных опытных группах имели нормальное строение;

2. Используя низкоинтенсивное лазерное излучение в любых дозах в течение двух, четырех и восьми недель увеличиваются показатели – ПГС, К, КГ, КПГ, ВГ, П, %Г и снижается – КО и % О;

3. Увеличение морфометрических показателей, таких как плотность железистого поля во многих наблюдениях говорит о том, что лазерное излучение

увеличивает протоки, их просветы, что подтверждается данными гистологического исследования: просветы протоков хорошо различимы, протоки немного расширены, в просветах содержится немного розового гомогенного секрета;

4. Абсолютное увеличение числа тучных клеток во всех группах опыта, относительное увеличение среди них нетипичных (отросчатых) форм, появление цитоплазматических признаков их активного функционирования (пузырьковидная секреция и дегрануляция) рассматривается как индикатор функциональной напряженности ткани, очень чутко реагирующей на изменение ее функции. С этой точки зрения тучные клетки рассматриваются как собиратели и накопители биогенных аминов, основная роль которых заключается в очищении ткани от таких биогенных аминов, таких как гистамин и серотонин.

5. Активируется пролиферативная способность паренхимы молочной железы, об этом говорит увеличение показателей различных морфометрических показателей в группе опыта при воздействии НИЛИ на молочную железу.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии. Байбеков И.М., Касымов А.Х., Козлов В.И. /Ташкент: Изд-во им. Ибн Сины, 1991. – 223с
2. Голубев О.А. Взаимоотношения сосудистого компонента коммуникационных систем и внутриклеточных регуляторов при раке молочной железы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук /О.А. Голубев. – СПб, 2002. – 36 с.
3. Гримблатов В.М. Современная аппаратура и проблемы низкоинтенсивной лазерной терапии // Применение лазеров в биологии и медицине. – Киев, 1996. – С.123-127.
4. Закс М.Г. Молочная железа, нервная и гормональная регуляция ее развития и функции / М.Г. Закс. – М.;Л., 1964.
5. Лазерный свет и живой организм /Инюшин В.М. – Алма-Ата, 1970. – 46с.
6. Биостимуляция лучом лазера и биоплазма. Инюшин В.М., Чекуров П.Р. – /Алма-Ата: Казахстан, 1975. – 120с.
7. Кайшаури Н.Л. Сопоставление возрастных и структурных изменений яичников и молочных желез: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.Л. Кайшаури. – Л., 1962.
8. Кузнецова Н.М. Железистая ткань молочной железы человека и некоторых животных: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.М. Кузнецова. – Харьков, 1955. –с.25.
9. Кушталов Н.И. Функция молочной железы человека при нормальных и патологических ее условиях / Н.И.Кушталов. – Астрахань, 1932.
10. Лагучев С.С. Стимуляция процессов пролиферации эпителия молочных желез фолликулином у мышей с удаленными гипофизом и яичниками / С.С. Лагучев //Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1960. – Т.2. – С.109-112.
11. Москвин С.В. Лазерная терапия, как современный этап развития гелиотерапии (исторический аспект) // Лазерная медицина. – 1997. Т.1. вып.1. – С.45-49.
12. Справочник по лазерам: пер. с англ. / Под ред. А.М.Прохорова, -М., 1978.- Т.1-2.
13. Справочник по лазерной технике: пер. с нем. – М.: Энергоатомиздат, 1991. – 544с.
14. Чумаченко П.А. Молочная железа и эндокринный гомеостаз / П.А. Чумаченко, О.К. Хмельницкий, И.П. Шлыков. – Воронеж, 1987.
15. Чумаченко П.А. Молочная железа (морфометрический анализ) / П.А. Чумаченко, И.П. Шлыков. – Воронеж, 1991.
16. Treatment of Post Herpetic Neuralgia using a 904nm (infrared) Low Incident Energy Laser: a Clinical Study McKibbin L., Downie R // LLLT for Postherpetic Neuralgia: 1991. – Pp.35-39.



**THE ESTIMATION OF MORPHOLOGICAL CHANGES OF MAMMARY GLAND  
UNDER THE INFLUENCE OF LOW-INTENSIVE LASER  
(EXPERIMENTAL INVESTIGATION)**

M.V. Mnikhovich, I.A.Chumachenko, E.S.Pankratova

**In the article there is given the characteristic of morphological changes in the parenchyma and in the stroma of the mammary gland of white not pedigree rats under the influence of different regimes of low-intensive laser radiation in experimental groups.**