

В. Е. МХЕЯН, Е. А. ПАРЕЙШВИЛИ, Э. Г. КАРАГЕЗЯН

ИЗМЕНЕНИЯ, ВОЗНИКАЮЩИЕ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛУЧАМИ РУБИНОВОГО ЛАЗЕРА НА СЕЛЕЗЕНКУ

В связи с попытками применения в медицине различных типов оптических квантовых генераторов возникла проблема изучения механизма биологического действия излучений лазера. В этом аспекте представляет интерес изучение изменений в крови.

Число работ, посвященных вопросу изучения изменений, происходящих в крови после воздействия лучами лазера, пока невелико. Так, в работе Городецкого [1] представлены результаты изучения действия рубинового импульсного квантового генератора — лазера с длительностью импульса 0,5 м сек на кровь. На неокрашенных мазках крови человека и лабораторных животных обнаружено разрушение эритроцитов с обесцвечиванием всего поля облучения. При фокусировке пучка излучения до 2 м в эритроцитах образуется дырчатый дефект. Разрушительное действие усиливается в препаратах, окрашенных бриллиант крезил-блау и по Гимза. Лейкоциты в неокрашенных мазках остаются не разрушенными, в препаратах же, окрашенных по Гимза, они легко разрушаются. Предполагается, что стойкость лейкоцитов обусловлена опалесцирующей способностью их поверхности, благодаря чему часть излучения отражается от лейкоцита, а часть проходит через него.

Другие авторы [6] изучали действие лучей лазера на отдельные клетки крови. Облучение производилось рубиновым лазером при длине волны 6943 Å, который был соединен с микроскопом. Было установлено разрушение красных кровяных клеток на месте повреждения. Степень повреждения зависела от энергии и места облучения. Эритроциты человека сморщивались в клетки неправильной формы. Если облучению подвергалась часть клетки, не содержащая ядра, оставшаяся часть оставалась практически жизнеспособной. В лейкоцитах при этом же уровне энергии изменений не наблюдалось.

Парий [5] подвергал лазерной радиации область уха кроликов. Кровь для исследования бралась после однократного облучения и затем после повторных облучений на протяжении нескольких дней. Автор не обнаружил значительных изменений в крови, за исключением некоторого повышения общего количества лейкоцитов.

Инюшина и Инюшин [4], изучая физиологическое действие монохроматического красного света (МКС) на периферическую кровь, выявили сти-

мулирующее действие его на эритропоэз. После двухразового тотального облучения белых крыс газовым лазером длиной волны $6328 \text{ \AA}$ и мощностью излучения 2 милливата на 1 см (т. е. без заметного теплового эффекта) через сутки было отмечено резкое увеличение количества молодых форм ретикулоцитов. При тотальном облучении белых крыс и кошек по несколько минут в течение 10 дней было обнаружено увеличение содержания гемоглобина на пятые сутки более чем на 12 ед. Количество же эритроцитов несколько уменьшилось через сутки после облучений и далее прогрессивно нарастало с 6 до 8—9 млн к 10-му дню. Авторы предполагают два механизма стимулирующего действия МКС: прямой, когда красный свет, поглощаясь порфиринами, может вызвать уменьшение резистентности старых эритроцитов и их распад, продукты же распада могут активизировать кроветворение, косвенный—за счет активизации деятельности эндокринных желез (активация гипофиза ведет к усилению функции щитовидной железы, что в свою очередь стимулирует эритропоэз).

Цель нашего исследования заключалась в изучении количественных и морфологических изменений периферической крови, а также морфологических изменений в селезенке при непосредственном воздействии лучей лазера на кроветворные органы (селезенку).

Это поможет выяснить особенности реакции кроветворных органов на лазерное излучение, а также установить соответствующие изменения, происходящие в периферической крови, что имеет большое практическое значение.

Материал и методика исследования. Исследование было проведено на 60 белых беспородных крысах-самцах весом 230—250 г.

Предварительно была разработана специальная методика оперативного выведения селезенки наружу. Животных усыпляли путем внутрибрюшинного введения нембутала (из расчета 30 мг на 1 кг веса животного), затем уложив на правый бок, после предварительной стрижки волос и обработки оперативного поля спиртом и йодом, в области селезенки делали разрез размером около 2 см—селезенка осторожно извлекалась наружу. У 40 подопытных животных острый конец селезенки облучался рубиновым лазерным излучателем, а у контрольных селезенка без облучения водворялась на место и рана зашивалась. Такое вмешательство крысы хорошо переносили и после окончания действия наркоза были подвижны и бодры. Облучение проводилось рубиновым лазером длиной волны $6943 \text{ \AA}$ с энергией 3 дж в импульсе; диаметр изображения пучка равнялся 7 мм, длительность импульса—0,5 сек. Облучение проводилось однократно. У 25 крыс изучались изменения в периферической крови, а у 35—морфологические изменения селезенки.

Исследования проводились в динамике. Первоначально выводились исходные показатели (2 раза). Затем через 1 час, на 1, 7, 15 и 30-ые сутки у животных опытной группы после облучения лучами лазера производилась заборка крови, у контрольной группы заборка крови производилась в те же сроки. Исследование периферической крови производилось общепринятыми методами. Для выведения лейкоформулы сосчитывалось 1000 клеток.

С целью морфологических исследований селезенки животные после облучения забивались. Кусочки селезенки фиксировались в жидкости Карнуа, заливались в парафин, готовились пятимикронные срезы, которые окрашивались по методу Браше. Все результаты исследования были статистически обработаны.

Результаты исследования. Результаты исследования показали (рис. 1), что количество лейкоцитов у животных опытной группы спустя 24 часа после воздействия лучами лазера на селезенку начинало повышаться ($P < 0,05$). Уровень их оставался высоким до 7-го дня исследования, с 15-го дня наблюдалось некоторое снижение его. Только к 30-му дню уровень лейкоцитов приблизился к исходному. У контрольных животных число лейкоцитов во все сроки исследований оставалось без изменений.

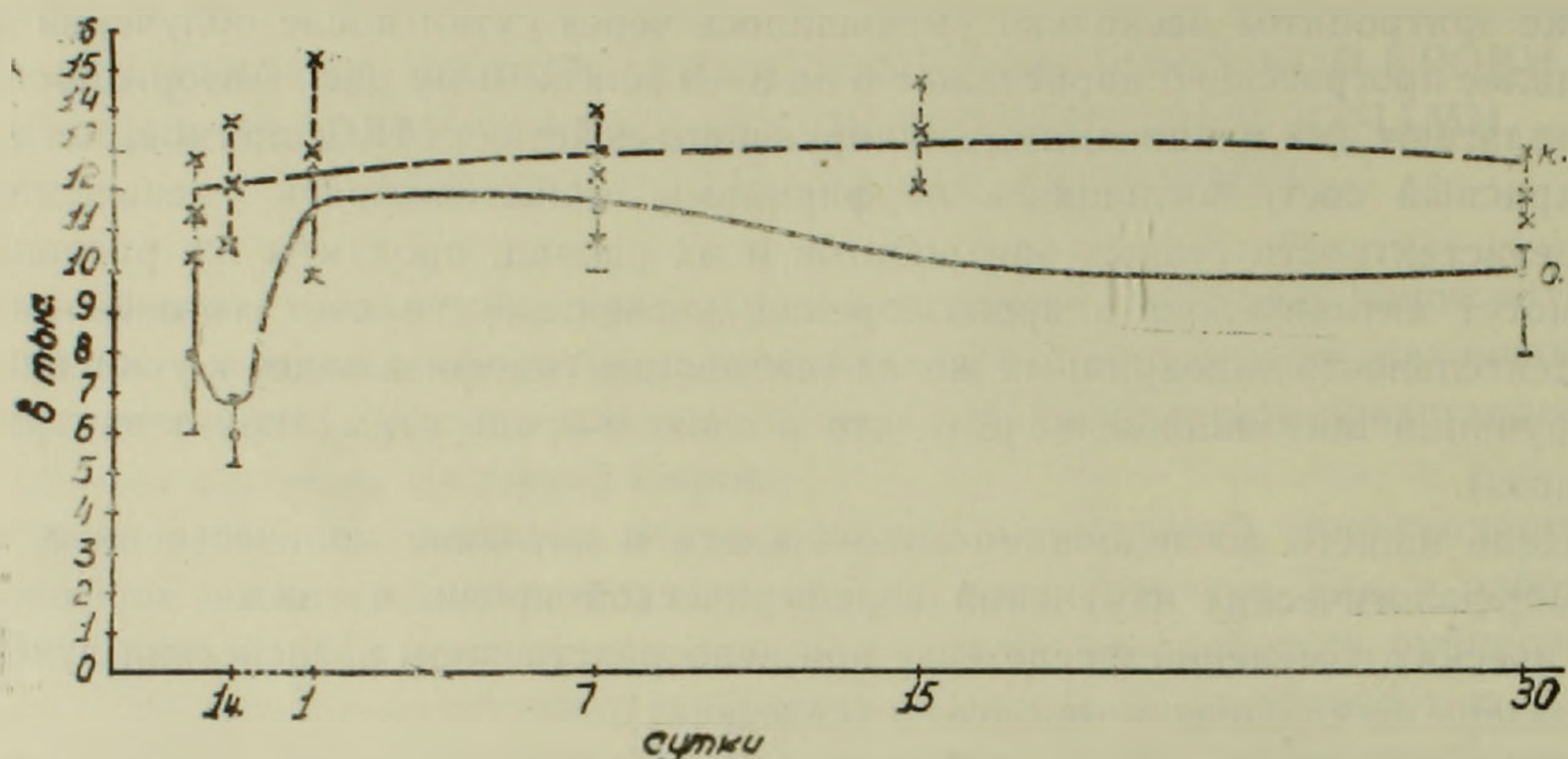


Рис. 1. Динамика числа лейкоцитов.

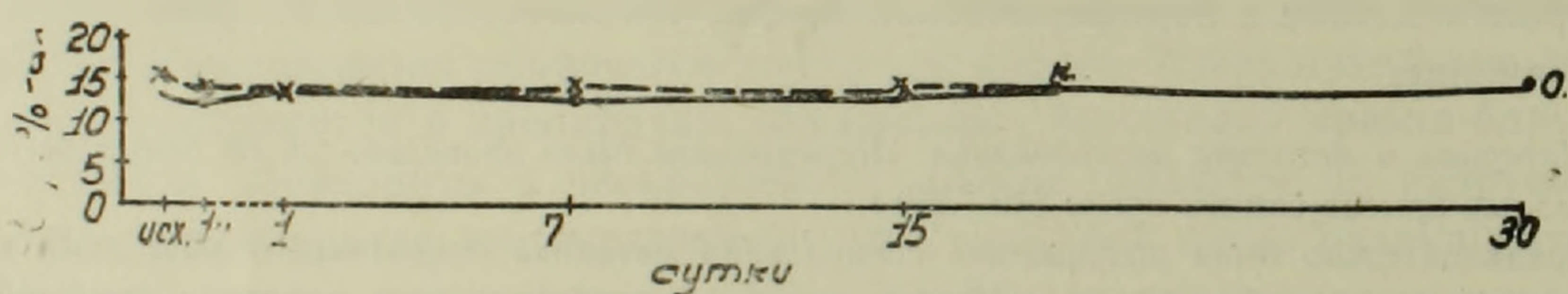


Рис. 2. Динамика содержания гемоглобина.

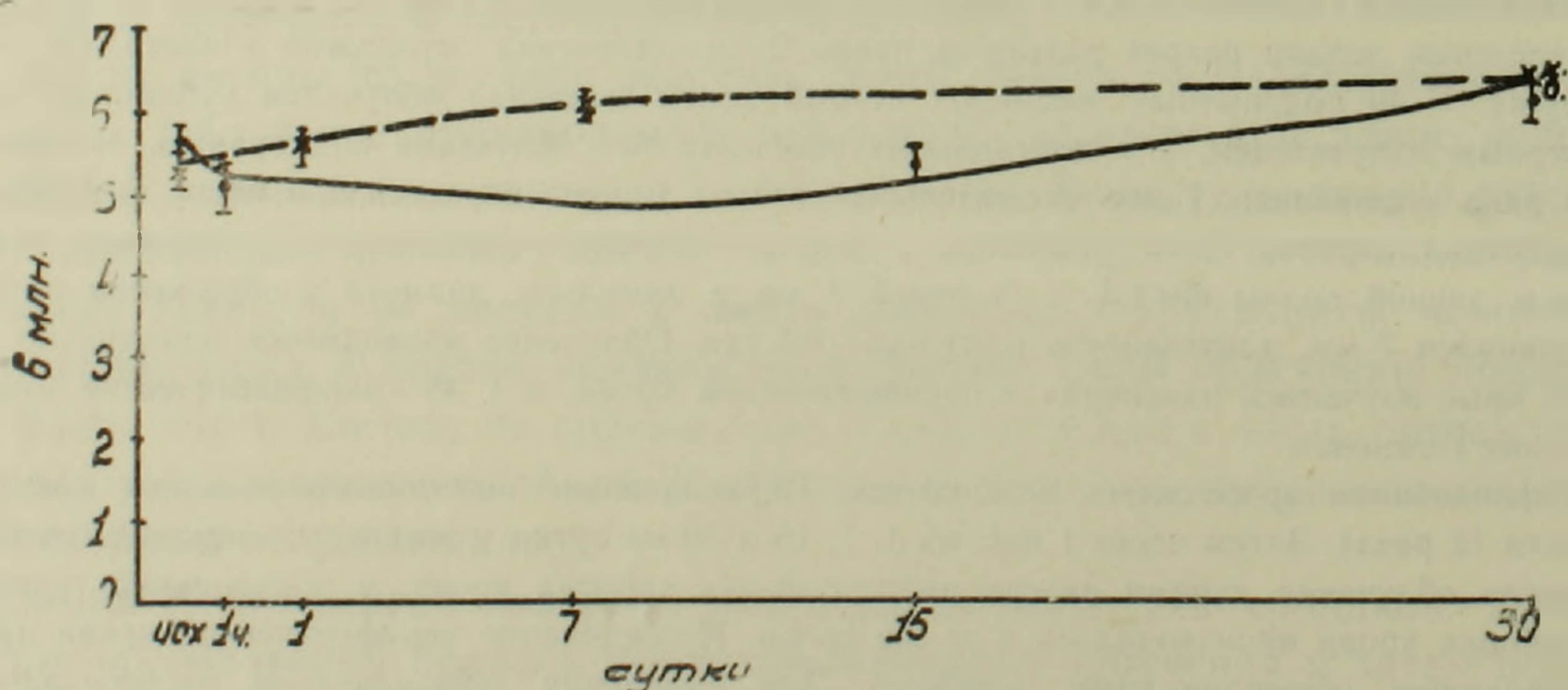


Рис. 3. Динамика числа эритроцитов.

Нам не удалось выявить каких-либо существенных изменений в содержании гемоглобина и количестве эритроцитов (рис. 2, 3) как у животных опытной, так и контрольной групп.

Изучение изменений лейкоформулы выявило некоторые сдвиги в процентном и абсолютном содержании разного вида клеток крови. Так, в ряду гранулоцитов число нейтрофилов оставалось без изменений во все сроки исследований у животных опытной и контрольной групп (рис. 4). Количество эозинофилов (рис. 5) через час после облучения у животных

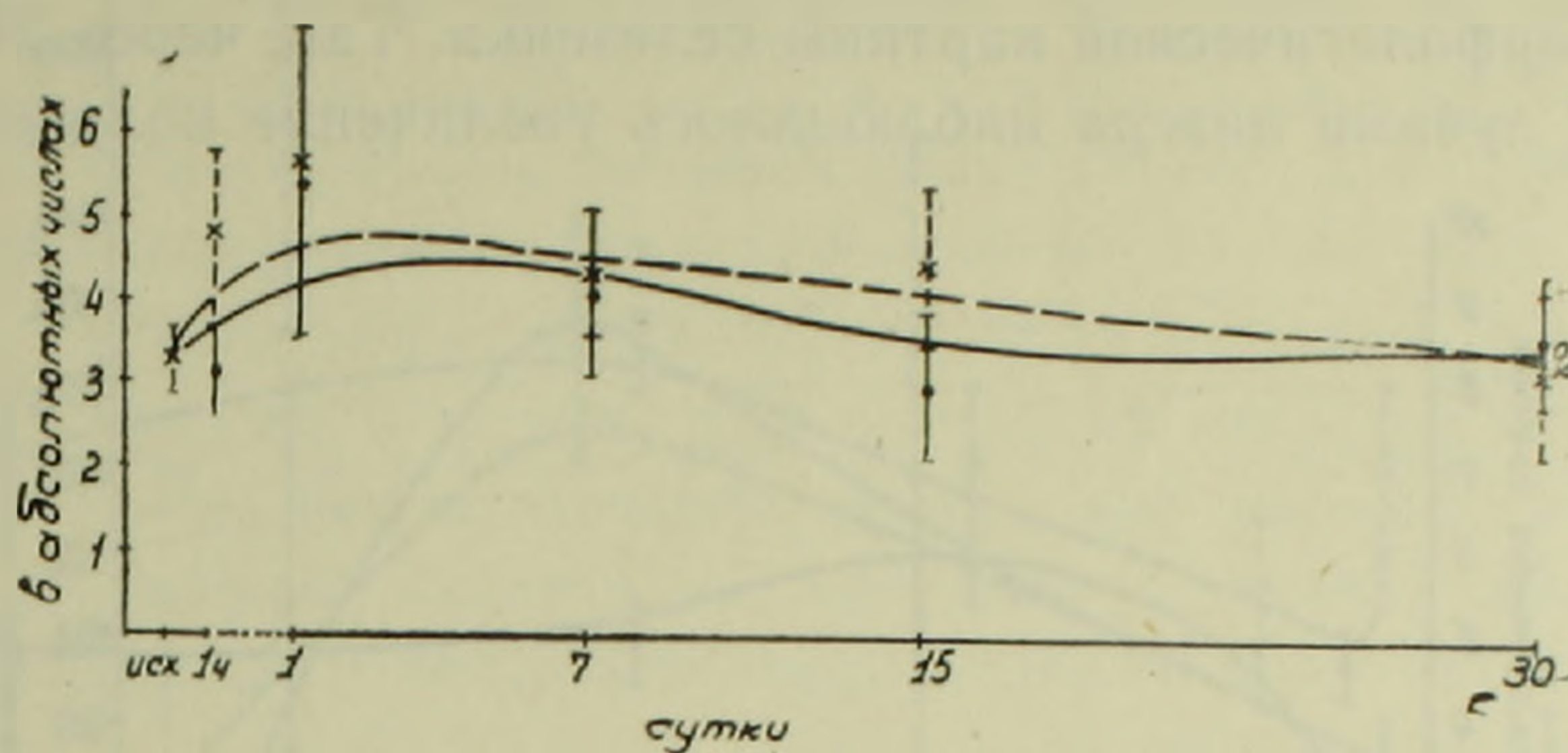


Рис. 4. Динамика числа нейтрофилов.

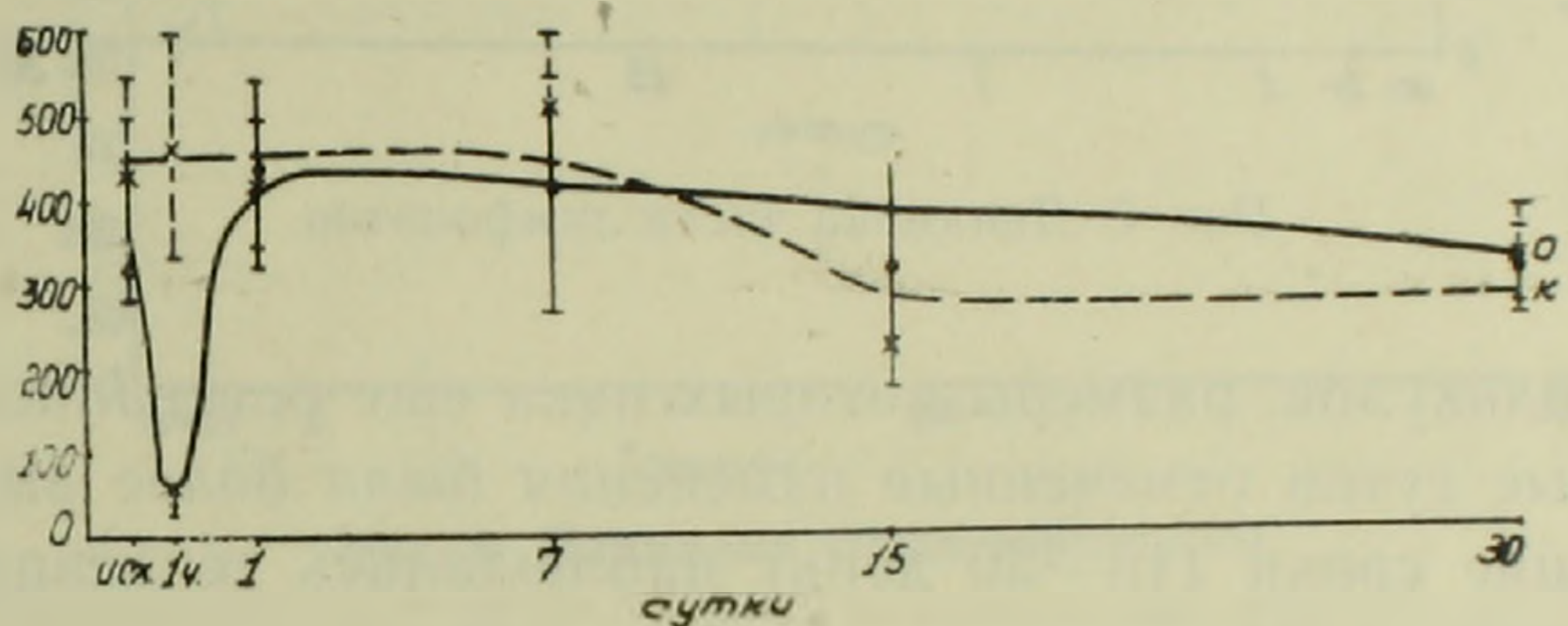


Рис. 5. Динамика числа эозинофилов.

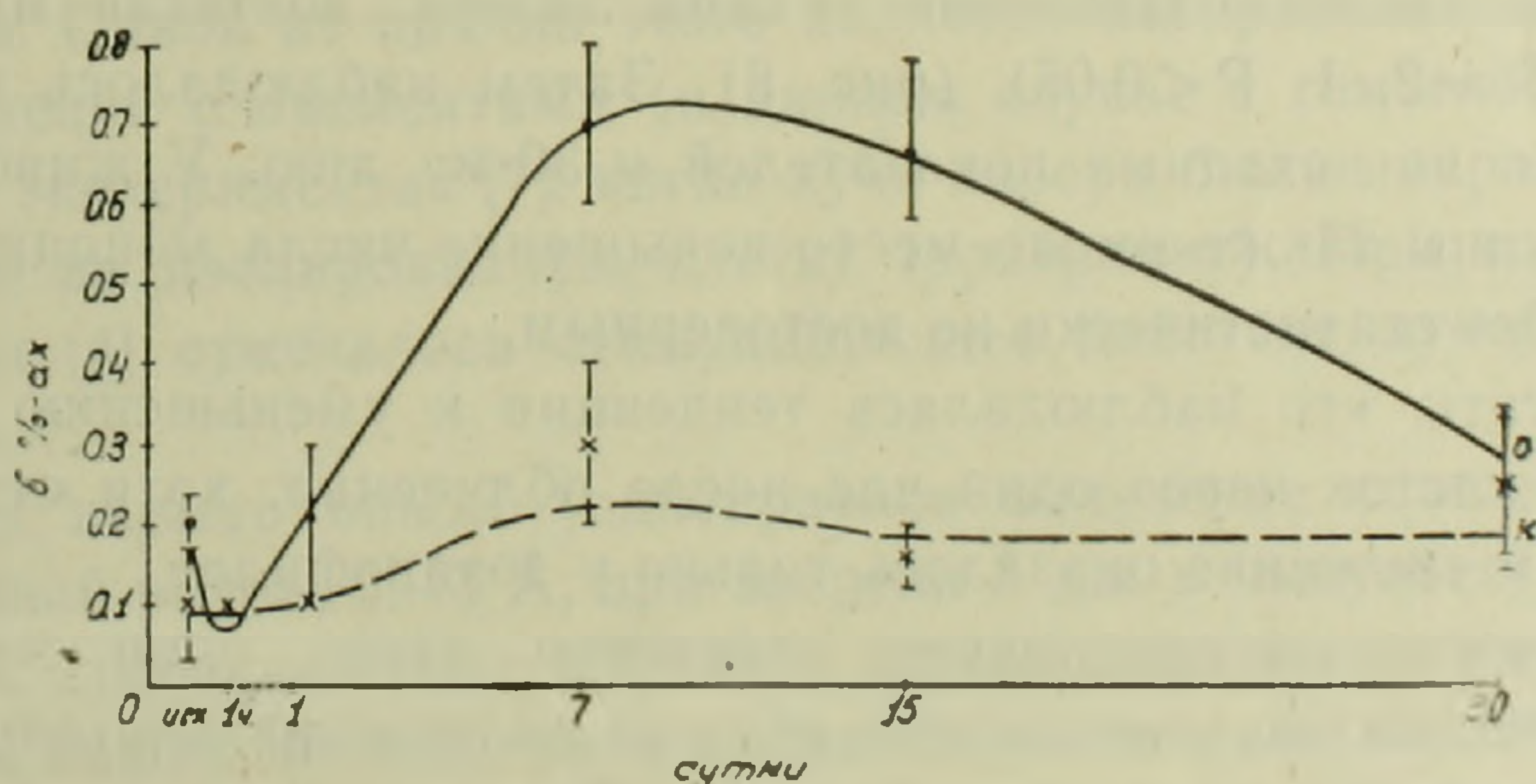


Рис. 6. Динамика процентного содержания базофилов.

опытной группы резко уменьшилось ($P < 0,05$), тогда как у животных контрольной группы оно существенно не изменилось. В последующие сроки у животных опытной группы этот показатель восстановился, сохранив стабильность до конца исследований (к 30-му дню). Число базофилов у животных опытной группы значительно нарастало к 7-му дню после облучения ($T=5$, $P < 0,05$), оставалось повышенным до 15-го дня, к 30-му дню приближалось к исходному уровню (рис. 6). В агранулоцитарном ряду представляет интерес изменение содержания лимфоцитов, коли-

чество которых у животных опытной группы (рис. 7) с первого же дня после воздействия лучами лазера начинало повышаться, достигая максимума к 7-му дню. Затем наблюдался постепенный спад — к 30-му дню восстановился исходный уровень. У животных контрольной группы статистически достоверного повышения уровня лимфоцитов не отмечалось.

Изменения лимфоцитов в периферической крови соответствовали изменениям морфологической картины селезенки. Так, через 24 часа после воздействия лучами лазера наблюдалось увеличение количества лимфа-

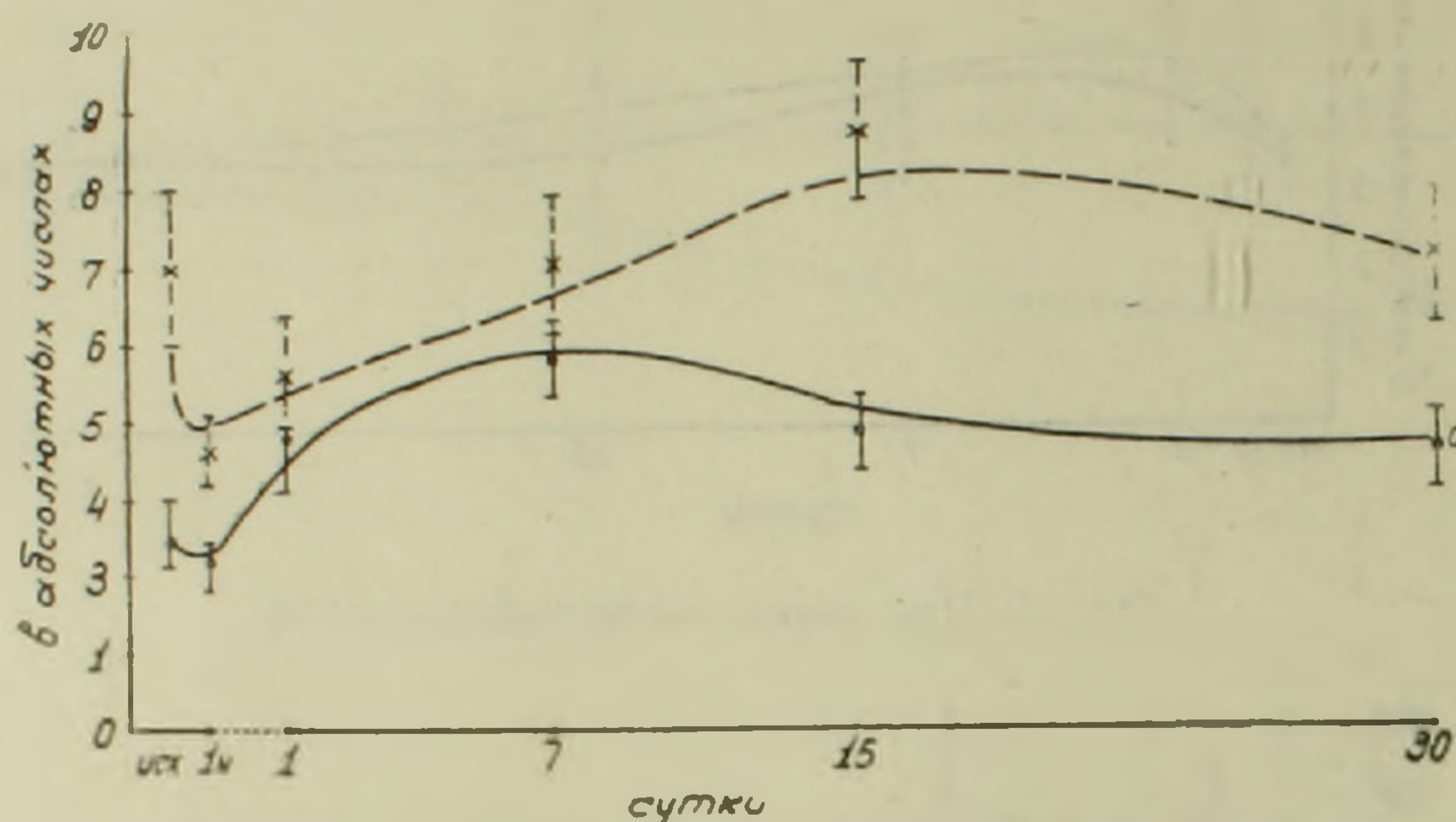


Рис. 7. Динамика числа лимфоцитов.

гических фолликулов, размеры которых пока еще оставались уменьшенными. На 7-ые сутки отмеченные изменения были более выраженными. В последующие сроки (15—30 день) наблюдалась тенденция к нормализации.

Содержание моноцитов в крови опытных животных увеличилось с первого же дня после воздействия лучами лазера, достигая максимума к 7-му дню ($T=2, 1, P<0,05$) (рис. 8). Затем наблюдалось постепенное снижение их до исходных показателей к 30-му дню. У животных контрольной группы также имело место повышение числа моноцитов, однако оно оказалось статистически не достоверным.

Надо отметить, что наблюдалась тенденция к уменьшению количества всех видов клеток через один час после облучения, хотя статистически достоверным снижение оказалось только у эозинофилов.

Морфологическое исследование селезенки через один час после облучения обнаружило уменьшение общего количества клеточных элементов как в красной, так и в белой пульпе. Размеры лимфатических фолликулов были значительно уменьшены.

При морфологическом изучении клеток периферической крови не установлено каких-либо специфичных для лазерного облучения изменений.

Можно отметить выраженную зернистость в нейтрофилах животных опытной группы через один час после облучения, а также появление в мазках периферической крови клеток с митотическим делением (в 2-х случаях из 11) к 7-му дню после облучения.

Морфологическое исследование селезенки помимо уже описанных изменений выявило деструктивные изменения через один час после воздей-

ствия лучами лазера. Отсутствовала зона разряжения, что приводило к слиянию белой пульпы с красной. Синусоидные капилляры были незначительно расширены и заполнены клеточными элементами. В весовых показателях существенных изменений как у животных опытной, так и контрольной группы не обнаружено.

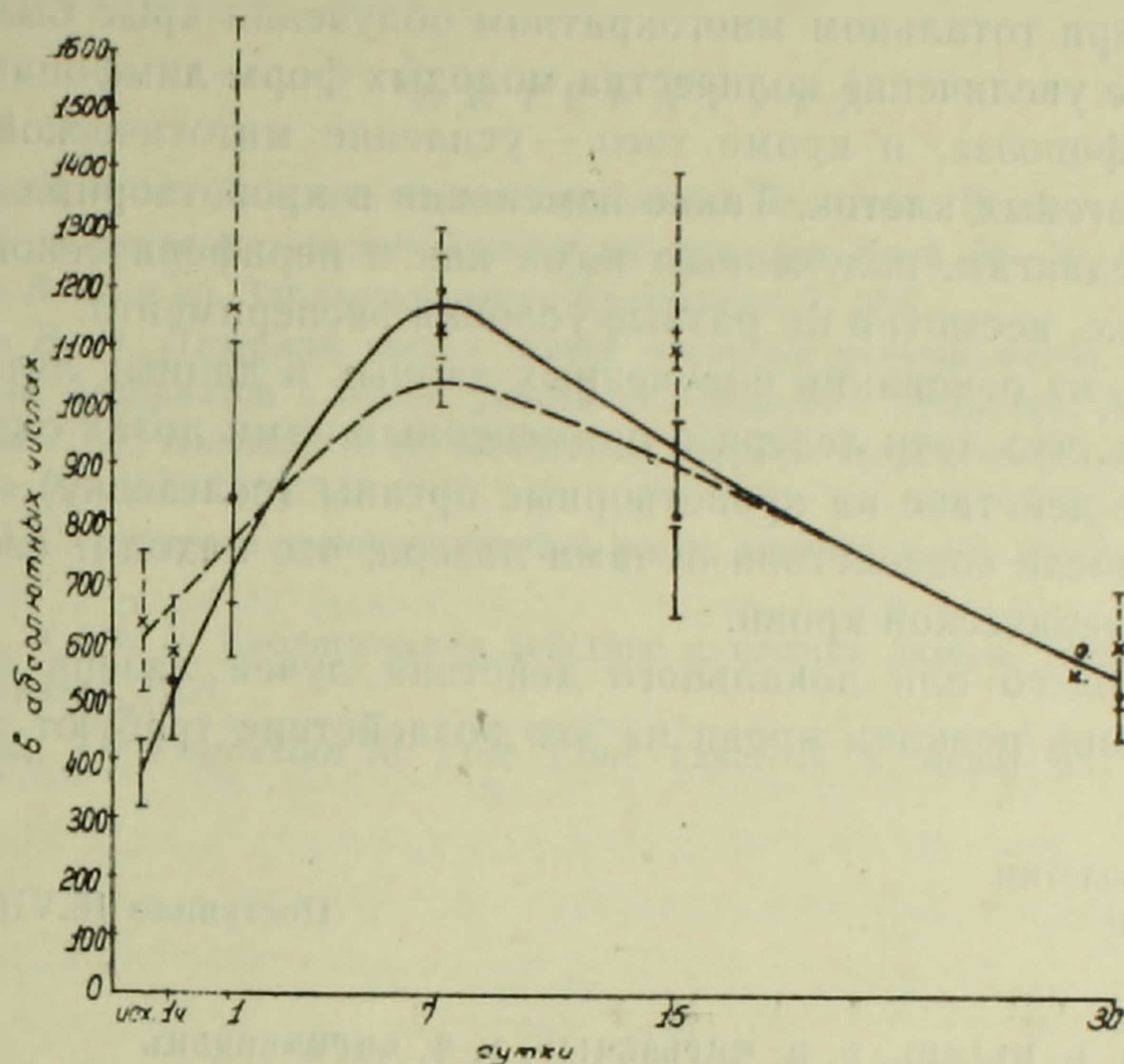


Рис. 8. Динамика числа моноцитов.

Обсуждение результатов. По данным литературы [3, 6], эритроциты и гемоглобин при воздействии лучами лазера подвергаются значительным изменениям. Одной из причин этого является избирательное взаимодействие излучения с пигментами (в данном случае с гемоглобином). Это доказано в экспериментах [7], когда лучи лазера были направлены непосредственно на изолированную клетку (эритроцит). При тотальном же воздействии [4] отмечалось стимулирующее действие лучей лазера на эритропоэз.

В условиях нашего опыта (однократное облучение селезенки лучами лазера длиной волны 6943 Å, при энергии 3 Дж в импульсе) каких-либо визуальных изменений гемоглобина и эритроцитов мы не наблюдали.

Результаты наших исследований показали увеличение числа лейкоцитов, абсолютного количества лимфоцитов, моноцитов и базофилов. Оно начиналось с 1-го дня после облучения и достигало максимума к 7-му дню. Помимо этого было отмечено, что через 1 час после воздействия лучами лазера наблюдалась кратковременная тенденция к уменьшению числа всех видов клеток крови, особенно эозинофилов, что, по-видимому, связано с отмеченными в этот период деструктивными изменениями селезенки; возможно также участие нервно-рефлекторного фактора.

В последующие сроки (7, 15, 30 дни) наблюдалось увеличение числа всех видов клеток крови, в особенности лимфоцитов. Это соответство-

вало активации кроветворения в селезенке в эти же сроки, выражающейся в увеличении количества лимфатических фолликулов и клеточных элементов красной пульпы. Не исключено, что активации кроветворения также способствовали продукты распада кровяных клеток, имеющего место в участках прямого попадания лучей.

Смирновой [2] при тотальном многократном облучении крыс было отмечено в селезенке увеличение количества молодых форм лимфоцитов, т. е. активация лимфопоэза, и кроме того — усиление митотической активности костномозговых клеток. Такие изменения в кроветворных органах соответствуют сдвигам, полученным нами как в периферической крови, так и в селезенке, несмотря на разные условия эксперимента.

Таким образом, на основании полученных данных и данных литературы можно полагать, что лучи лазера в примененных нами дозах оказывают стимулирующее действие на кроветворные органы (селезенку), начиная с первого дня после воздействия лучами лазера, что находит свое отражение и в периферической крови.

Вопросы же общего или локального действия лучей лазера и специфичности ответной реакции крови на это воздействие требуют дальнейшего изучения.

Сектор радиобиологии
МЗ АрмССР

Поступило 16.VIII 1971 г.

Վ. Ե. ՄԽՅԱՆ, Ե. Ա. ՊԱՐԵՅՇՎԻԼԻ, Է. Գ. ԿԱՐԱԳՅՈՂՅԱՆ

**ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՊԵՐԻՖԵՐԻԿ ԱՐՅԱՆ ՄԵՋ ԵՎ ՓԱՅԾԱՂՈՒՄ
Ի ՀԱՅՏ ԵԿԱԾ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ, ՓԱՅԾԱՂԻ ՎՐԱ ՌՈՒՐԻՆԱՅԻՆ
ԼԱՋԵՐՈՎ ՆԵՐՔՈՐԾԵԼԻՍ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ներկա աշխատանքում ուսումնասիրվել է մոնոխրոմատիկ կոգերենտ $\lambda = 6943 \text{ \AA}$ ալիքի երկարություն ունեցող ճառագայթների ազդեցությունը պերիֆերիկ արյան և փայծաղի վրա: Փորձերը դրվել են 60 սպիտակ առնետների վրա: Ճառագայթահարումը կատարվել է փայծաղի որոշ տեղադրության շրջանում երեք ջրուլ հզորությամբ յուրաքանչյուր իմպուլսում: Ինչպես արյան, այնպես էլ փայծաղի հետազոտությունները կատարվել են դինամիկայում՝ ճառագայթահարումից մեկ ժամ հետո, առաջին, 7, 15 և 30-րդ օրերի ընթացքում: Արդյունքները ցույց են տվել, որ պերիֆերիկ արյան մեջ լեյկոցիտների բանակը ճառագայթահարման առաջին օրերին ավելանում է և իր մաքսիմալ արժեքին է հասնում 7-րդ օրը: Միաժամանակ նկատվում է լիմֆոցիտների, մոնոցիտների և բազոֆիլների բացարձակ բանակի ավելացում, այն ժամանակ, երբ նեյտրոֆիլների և էոզինոֆիլների կոզմից բանակական տեղաշարժեր չի նկատվում:

Փայծաղի ձևաբանական հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ այստեղ հանդես են գալիս լարյունաստեղծման ակտիվացում, մասնավորապես լիմֆոպոեզի, որը նկատվում է ճառագայթահարման հենց առաջին օրվանից:

Ստացված տվյալները հանդեսնում են այն նախնական եզրակացության, որ $\lambda = 6943 \text{ \AA}$ ալիքի երկարություն ունեցող ճառագայթները խթանող ազդեցություն ունեն արյունաստեղծ օրգանների (փայծաղի) վրա, որը իր արտացոլումն է դոնում պերիֆերիկ արյան պատկերում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Городецкий А. А. Действие излучения лазера на кровь. Биофизические закономерности действия физических агентов на организм. Киев, 58—59, 1966.
2. Инюшин В. М. и др. Здравсохранение Казахстана, 7, 1967.
3. Инюшин В. М. Лазерный свет и живой организм (научно-метод. пособие для студентов, аспирантов и практ. работников биологич. профиля), Алма-Ата, 1970.
4. Инюшина Т. Ф., Инюшин В. М. Некоторые вопросы теоретической и прикладной биологии, Алма-Ата, 1967.
5. Парий О. С. Биология злокачественного роста, диагностика и лечение опухолей. Киев, 1968.
6. Файн С., Клейн Э. Биологическое действие излучения лазера. (перевод с англ.), М., Атомиздат, 1968.
7. Bessis M., Ter-Pogossian M. Proc. Conf. Laser. N. Y. Acad. Sci., 1964.