

УДК 591.481.1.081:615.849.19

ЛАЗЕРНАЯ ФОТОСТИМУЛЯЦИЯ КРОВОТОКА В ПИАЛЬНЫХ МИКРОСОСУДАХ

В.И. Козлов¹, Ф.Б. Литвин², С.М. Рыжакин¹

¹ Российский университет дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8),

² Смоленская академия физической культуры, спорта и туризма (214018, г. Смоленск, пр-т Гагарина, 23)

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение, головной мозг, микроциркуляция, крысы.

LASER PHOTOSTIMULATION OF THE BLOOD FLOW IN PIAL MICROCIRCULATORY VESSELS

V.I. Kozlov¹, F.B. Litvin², S.M. Ryzhakin¹

¹ Peoples' Friendship University of Russia (8 Miklukho-Maklaya St. Moscow 117198 Russian Federation), ² Smolensk State Academy of Sports and Tourism (23 Gagarina St. Smolensk 214018 Russian Federation)

Background. It was experimentally conducted a comparative analysis of a pial microcirculatory vessels reactivity on exposure to laser irradiation.

Methods. The work was carried out on Wistar rats. The reaction of microcirculatory vessels to the laser irradiation was performed in the condition of an 'open window'. Together with the method of laser Doppler flowmetry we studied the state of tissue blood flow in the cortical area of the brain. Low-intensity laser irradiation at a dose of 3 and 6 J/cm² was carried out in the red and infrared spectral ranges.

Results. Low-intensity laser irradiation of blood vessels of the pia mater at a dose of 3 J/cm² has a stimulating effect on the microcirculation. The response was dose-dependent up to the threshold limit reactivity. Most sensitive to laser irradiation were the smallest pre-cortical arterioles, which are the final link of multiple branching pial vessels. The high reactivity of the pial microcirculatory vessels was found out in newborn and young animals, and its decline – in mature rats. Increasing the dose of laser irradiation to 6 J/cm² led to a drop in blood flow and the appearance of signs of microcirculation disorders.

Conclusions. Within the therapeutic doses the laser irradiation has a photo stimulating effect on cerebral blood flow.

Keywords: low-intensity laser irradiation, brain, microcirculation, rats.

Pacific Medical Journal, 2016, No. 2, p. 90–93.

Нарушения мозгового кровообращения являются одной из наиболее актуальных проблем современной медико-биологической науки из-за высокой частоты и тяжелых медико-социальных последствий. Сосудистая система мозга обладает хорошо развитой ауторегуляцией, которая заключается в способности артериол за счет изменения диаметра поддерживать постоянство кровотока в широком диапазоне перфузионного давления. Для микроциркуляторного русла мягкой мозговой оболочки характерна модульная организация из относительно автономных структурно-функциональных блоков [6], при этом установлена тесная функциональная взаимосвязь артериоло-венулярных блоков пиальных сосудов с отдельными группами корковых нейронов. По мере усложнения гематотканевых взаимоотношений в онтогенезе появляется функциональная неравнозначность разных сосудистых компонентов микроциркуляторного русла, во многом связанная с его реактивностью, которая

непосредственно зависит от чувствительности гладких миоцитов стенки сосуда к гидравлическим, нейрогенным и гуморальным воздействиям [6]. В этой связи возникает вопрос о том, в какой мере реактивность микрососудов зависит от их структурных параметров и положения в системе микроциркуляции на путях движения крови, в частности, в пределах артериоло-венулярных блоков пиальных сосудов?

Перспективным направлением в изучении сосудистой реактивности служит исследование фотовоздействия гелий-неонового лазера, излучение которого вызывает дилатацию микрососудов и повышает уровень тканевого кровотока [7, 8, 11, 15].

Цель настоящего исследования – сравнительный анализ реактивности микрососудов мягкой мозговой оболочки при воздействии лазерного излучения красного и инфракрасного спектрального диапазонов и ее влияния на состояние тканевого кровотока в эксперименте.

Материал и методы. Использованы 124 крысы линии Вистар массой от 30 до 250–300 г разных возрастных групп: 7, 30, 45 и 90 дней (26, 34, 34 и 34 животных, соответственно). Крыс наркотизировали внутримышечным введением раствора тиопентала натрия из расчета 3–5 мг препарата на 100 г массы тела. В эксперименте соблюдались все требования по этике работы с животными, предложенные European Communities Council Direction (86/609 ЕЕС) и положения приказа № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г. Проведение исследований разрешено этической комиссией РУДН (протокол № 55 от 2005 г.).

Биомикроскопия пиальных сосудов проводилась в условиях «открытого окна» в черепе при вскрытой твердой мозговой оболочке с помощью микроскопа МБС-2, на котором была укреплена телевидеометрическая установка, позволявшая вести видеорегистрацию во время эксперимента. Морфометрическую обработку данных биомикроскопии после передачи с телекамеры на компьютер осуществляли с использованием программы Image Tools 2.0 (Техасский университет, США). Полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики и выражались в средней арифметической и ее стандартной ошибке.

Раздельно изучали реакцию артериол 1-го и 2-го порядков ветвления и прекартикальных артериол, а также сосудов посткапиллярного звена: посткартикальных венул и венул 1-го и 2-го порядков ветвления. В соответствии с положением в иерархии микрососудов

Литвин Федор Борисович – д-р биол. наук, профессор кафедры биологических дисциплин СГАФКСТ; e-mail: bf-litvin@yandex.ru



Рис. 1. Реакция микрососудов на лазерное фотовоздействие в дозе 3 Дж/см²: а – исходное состояние; б – сразу после воздействия; в – через 5 мин после воздействия. Биомикрофото, ×80.

их диаметр в артериолярном звене характеризовался следующими параметрами: артериолы 1-го порядка – 43–45 мкм, артериолы 2-го порядка – 29–31 мкм и пре-кортикальные артериолы – 22–23 мкм; в веноулярном звене: посткортикальные вены – 28–29 мкм, вены 2-го порядка – 50–51 мкм, а вены 1-го порядка – 68–70 мкм.

Реакцию микрососудов оценивали по изменению их диаметра. Наряду с этим методом лазерной доплеровской флуометрии (на аппарате ЛАКК-01) оценивали состояние кровотока в кортикальной зоне. При этом регистрировали средние значения тканевой перфузии – показатель микроциркуляции (ПМ) и уровень колебаний тканевого кровотока, или «флакс», – среднее квадратичное отклонение ПМ, а также соотношения колебаний кровотока в разных частотных диапазонах [9].

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) осуществляли в красном и инфракрасном спектральных диапазонах при длине волн 0,63–0,89 мкм с помощью аппаратов ЛГН-108 и АЛТ «Мустанг-2000». Доза воздействия составила 3 и 6 Дж/см².

Результаты исследования. Воздействие НИЛИ приводило к расширению пиальных сосудов и повышению уровня мозгового кровотока. У взрослых животных через 10 мин после воздействия гелий-неонового лазера расширилось подавляющее большинство артериол и венул (рис. 1). В отдельных случаях отмечена и противоположная направленность реакции: локальная констрикция отдельных артериол. Частота такой инвертированной реакции у молодых крыс (7- и 30-дневных) не превышала 5%, а у зрелых (90-дневных) – 15%. Параллельно с дилатацией микрососудов происходило повышение уровня тканевой перфузии на 26%, в 1,7 раза поднимался уровень флакса. Основные сдвиги происходили за счет увеличения в спектре доли медленных колебаний, обусловленных вазомоциями (рис. 2). Она возрастала в 1,7 раза, что приводило к существенному росту индекса флаксмоций (ИФМ), который характеризует соотношение активных (обусловленных вазомоциями) и пассивных (обусловленных дыхательными колебаниями и кардиоритмом) модуляций тканевого кровотока (табл. 1).

При НИЛИ между диаметром микрососудов и уровнем их дилатации существовала обратная зависимость: артериолы малого диаметра (прекортикальные)

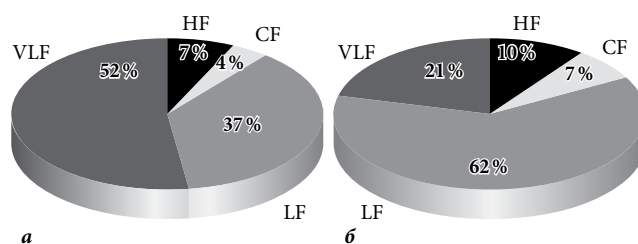


Рис. 2. Вклад различных ритмических составляющих в общий частотно-амплитудный спектр:

а – исходные показатели; б – через 10 мин после НИЛИ в дозе 3 Дж/см². LF (low frequency) – медленные волны флаксмоций в диапазоне частот 0,07–0,2 Гц; HF (high frequency) – быстрые волны флаксмоций в диапазоне частот 0,2–0,4 Гц; CF (cardio frequency) – пульсовые волны флаксмоций в диапазоне частот 0,8–1,5 Гц; VLF (very low frequency) – очень медленные колебания (в диапазоне 0,01–0,03 Гц).

Таблица 1

Тканевый кровоток в кортикальной зоне при НИЛИ в дозе 3 Дж/см² (M±m)

Время регистрации	ПМ, перф. ед.	Флакс, перф. ед.	ИФМ
Исходно	21,3±1,3	0,54±0,11	0,67±0,31
По воздействию	сразу	22,2±1,6	0,58±0,13
	через 5 мин	24,1±1,4	0,91±0,16
	через 10 мин	26,8±1,9	0,74±0,24
		1,27±0,04	

реагировали максимальным расширением просвета, более крупные сосуды отвечали умеренной дилатацией. У взрослых животных наибольшей реактивностью обладали пре-кортикальные артериолы, диаметр которых увеличивался на 37%. Реакция артериол 2-го порядка оказалась более чем в 2 раза ниже, а артериол 1-го порядка – самой минимальной. Расширение венул и посткортикальных микрососудов было незначительным и, по-видимому, носило характер вторичного явления, обусловленного интенсификацией кровотока в артериальном звене (табл. 2).

Реакция микрососудов на лазерное воздействие была дозозависимой, и существовал порог их предельной реактивности. Первые признаки вазодилатации артериол отмечались с 1-й минуты фотостимуляции. Расширение сосудов демонстрировало выраженную локальность в месте действия лазерного пучка и исчезало спустя 3–4 мин после завершения облучения. Увеличение экспозиции до 12 мин сопровождалось нарастающей вазодилатацией по всем порядкам ветвления

Таблица 2
Изменения диаметра пиальных микрососудов на 10-й минуте после лазерного воздействия ($M \pm m$)

Микрососуды		Доза НИЛИ, Дж/см ²			
		3		6	
		Диаметр, мкм	Изменение, %	Диаметр, мкм	Изменение, %
Артериолы	1-го порядка	48,5±4,1	7	46,4±3,6	5
	2-го порядка	37,1±1,7	16	35,9±1,4	24
	прекортикальные	31,8±1,5	37	27,4±1,6	20
Венулы	посткортикальные	32,7±1,4	14	31,1±1,6	7
	2-го порядка	55,1±1,4	7	52,5±1,2	4
	1-го порядка	74,1±3,6	6	72,0±3,1	6

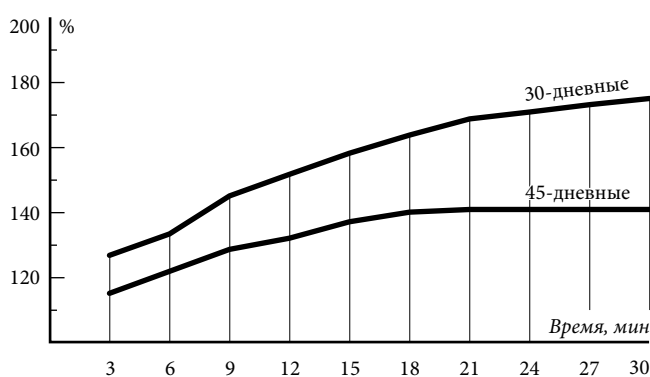


Рис. 3. Реакция прекортикальных артериол на воздействие гелий-неонового лазера у животных разного возраста.

сосудов. Явное опережение этой реакции было характерно для прекортикальных артериол (рис. 3). К 18-й минуте НИЛИ прирост диаметра микрососудов достигал у взрослых животных максимальных значений, после чего существенно не изменялся.

При сравнении изменений пиальных микрососудов при воздействии НИЛИ в дозах 3 и 6 Дж/см² выявлена сходная тенденция их дилатации и усиления тканевого кровотока в кортикальной зоне, что свидетельствовало об однотипных механизмах регуляции. Ведущим механизмом здесь оказался вазомоторный. Однако стимулирующее влияние НИЛИ на кровоток при дозе 3 Дж/см², проявлявшееся в его усилении и повышении флаксомаций, было выражено более отчетливо. При увеличении дозы до 6 Дж/см² дилатация микрососудов становилась мене выраженной и сопровождалась расстройствами микроциркуляции (ослабление колебаний кровотока и снижение доли вазомоторных колебаний в частотном спектре). Поэтому изменения микроциркуляции в кортикальной зоне при 6 Дж/см², скорее характеризует эффект передозировки НИЛИ.

У более молодых (30-дневных) животных реактивность сосудов микроциркуляторного русла оказалась более высокой. Это касалось не только прекортикальных артериол, но и более крупных микрососудов.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, реактивность разных отделов микроциркуляторного русла прежде всего обусловлена различиями

морфологических, функциональных и гемодинамических свойств микрососудов, расположенных в разных зонах тканевого микрорегиона. Наиболее чувствительны к лазерному воздействию оказались самые мелкие прекортикальные артериолы, которые являются конечным звеном многократно ветвящихся пиальных сосудов. Следовательно, реактивность микрососудов определяется не только параметрами лазерного воздействия, но и гистотопографическими свойствами артериол и венул, которые меняются по мере приближения к капиллярной сети коры мозга.

Сосудистая реактивность обеспечивает расширение возможностей по дополнительной мозговой перфузии. Адекватное кровоснабжение головного мозга представляет собой результат взаимодействия нескольких механизмов [11]. Полученные результаты заставляют искать адекватные объяснения разному уровню реактивности различных генераций пиальных микрососудов в ответ на лазерное воздействие. Известно, что в основе механизма воздействия НИЛИ на ткани в красной и инфракрасной спектральных областях лежат процессы, происходящие на клеточном и молекулярном уровнях [2, 5]. Основными мишенями, опосредующими лазерное воздействие и преобразующее его в изменения микроциркуляторного потока, служат сократительный аппарат гладких миоцитов и функциональная подвижность эндотелия [5, 7, 10, 12]. Наиболее изучена к настоящему времени сократительная активность гладких миоцитов, благодаря спонтанной активности которых поддерживается базальный тонус микрососудов. Полученные данные свидетельствуют в пользу доминирования миогенного механизма, обеспечивающего реактивность крупных артериол и венул, содержащих хорошо развитый слой гладкомышечных клеток [12]. Одним из проявлений миогенной активности можно назвать вазомоции на уровне нутритивного звена системы микроциркуляции [6, 9].

Возможность воздействия лазерного излучения на сократительную активность гладких миоцитов и усиление в результате фотоактивации вазомоций является патофизиологическим обоснованием применения лазерной терапии при нарушениях микроциркуляции и сопутствующих трофических расстройствах. В пользу миогенного механизма дилатации свидетельствует и низкая реактивность прекортикальных артериол у 7-дневных крыс, связанная с незрелостью у них мышечного слоя сосудистой стенки. Менее выраженная структурная организация этого слоя в венулярных сосудах предопределяет снижение их реактивности по сравнению с артериолами одного порядка ветвления. Более того, по данным Е.Р. Андреевой и др. [1], А.Е. Коцубы и В.М. Чертока [8, 12] расширение венул происходит преимущественно за счет изменения геометрии эндотелия. Работой одного миогенного механизма с большой натяжкой можно объяснить

продолжающуюся в течение нескольких десятков минут дилатацию после завершения действия НИЛИ.

Этот и другие вопросы снимает концепция, согласно которой ведущая роль в регуляции функций сосудистой системы отводится эндотелию [8, 10, 12]. НИЛИ вызывает фотостимуляцию эндотелиальных клеток [1]. По существующим представлениям, в механизме вазодилатации здесь основную роль играет увеличение образования оксида азота в эндотелиоцитах и уменьшение содержания кальция в гладкомышечных клетках [14, 15]. При повышении энергии и интенсивности лазерного излучения увеличивается кальцийзависимая активность нитроксидсинтазы [3]. С позиций эндотелийзависимой реакции объясняется высокая реактивность прекортикальных артериол, поскольку с уменьшением диаметра сосудов усиливается эндотелийзависимая реакция [4, 12]. Общепризнанной является структурно-морфологическая закономерность, согласно которой с уменьшением диаметра артериол их чувствительность к нервным импульсам ослабевает, а чувствительность к вазоактивным веществам стремительно растет. Известно, что вазодилатация модулируется через эндотелийзависимый механизм, опосредуемый повышением напряжения сдвига за счет увеличения объемного кровотока, вызванного воздействием низкоинтенсивного излучения [13].

Заключение

НИЛИ в дозе 3 Дж/см² оказывает фотостимулирующее влияние на микроциркуляцию в мягкой оболочке головного мозга крыс, что проявляется усилением кровотока на фоне снижения сосудистого тонуса. Реакция микрососудов на лазерное воздействие носит дозозависимый характер до порога предельной реактивности. Наиболее чувствительны к лазерному излучению самые мелкие прекортикальные артериолы, которые служат конечным звеном многократно ветвящихся пиальных сосудов. Повышение дозы облучения до 6 Дж/см² приводит к падению скорости кровотока и появлению признаков расстройств микроциркуляции.

Литература

1. Андреева Е.Р., Ударцева О.О., Возовиков И.Н. [и др.]. Влияние фотодинамического воздействия на эндотелиальные клетки в модели *in vitro* // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2010. Т. 149, № 2. С. 228–231.
2. Владимиров Ю.А., Клебанов Г.И., Борисенко Г.Г. [и др.]. Молекулярно-клеточные механизмы влияния низкоинтенсивного лазерного излучения // Биофизика. 2004. Т. 49, № 2. С. 339–350.
3. Горшкова О. П. Динамика изменения реактивности пиальных сосудов после кратковременной ишемии головного мозга // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2014. Т. 14, № 2. С. 69–74.
4. Камалин Н.С. Биофизические основы механизма действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Вестник МАНЭБ. 2002. Т. 7, № 6. С. 64–69.
5. Клебанов Г.И., Полтанов Е.А., Чичук Т.В. [и др.]. Изменение активности супероксиддисмутазы и содержания пероксинитрита в перитонеальных макрофагах, подвергнутых облучению He-Ne лазером // Биохимия. 2005. Т. 70, № 12. С. 1623–1630.
6. Козлов В.И. Развитие системы микроциркуляции М.: Изд-во РУДН, 2012. 314 с.
7. Козлов В.И., Литвин Ф.Б., Рыжакин С.М. Влияние излучения гелий-неонового лазера на сосуды микроциркуляторного русла мягкой оболочки головного мозга // Лазерная медицина, 2002, Т. 6, вып. 2. С. 22–24.
8. Коцюба А.Е., Беспалова Е.П., Черток В.М. Влияние оксида азота на реактивность сосудов микроциркуляторного русла при воздействии лазером // Тихоокеанский медицинский журнал. 2007. № 4. С. 44–46.
9. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность / руководство для врачей. М.: Либриком, 2014. 498 с.
10. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: СПбГМУ, 2003. 184 с.
11. Черток В.М., Коцюба А.Е., Беспалова Е.В. Особенности реакции сосудов микроциркуляторного русла некоторых органов на воздействие гелий-неонового лазера // Тихоокеанский мед. журнал. 2007. № 3. С. 48–52.
12. Черток В.М., Коцюба А.Е. Эндотелиальный (интимальный) механизм регуляции мозговой гемодинамики: трансформация взглядов // Тихоокеанский мед. журнал. 2012. № 2. С. 17–26.
13. Шуваева В.Н., Горшкова О.П., Костылев А.В., Дворецкий Д.П. Влияние лазерного излучения на адренореактивность пиальных артериальных сосудов у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. № 1. С. 4–8.
14. Gensert J.M., Ratan R.R. The metabolic coupling of arginine metabolism to nitric oxide generation by astrocytes // *Axntioxid. Redox. Signal.* 2006. Vol. 8, No. 5–6. P. 919–928.
15. Shimuzu E., Tang Y.P., Rampon C., Tsien J.Z. NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation // *Science.* 2000. Vol. 290. P. 1170–1174.

Поступила в редакцию 07.10.2015.

Лазерная фотостимуляция кровотока в пиальных микрососудах

В.И. Козлов¹, Ф.Б. Литвин², С.М. Рыжакин¹
¹ Российский университет дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8), ² Смоленская академия физической культуры, спорта и туризма (214018, г. Смоленск, пр-т Гагарина, 23)

Введение. Проведен сравнительный анализ реактивности микрососудов мягкой мозговой оболочки при воздействии лазерного излучения в эксперименте.

Материал и методы. Работа выполнена на крысах линии Вистар. Реакцию микрососудов на лазерное воздействие проводили в условиях «открытого окна». Наряду с этим методом лазерной доплеровской флуометрии изучали состояние тканевого кровотока в кортикальной зоне мозга. Низкоинтенсивное лазерное излучение в дозе 3 и 6 Дж/см² осуществляли в красном и инфракрасном спектральных диапазонах.

Результаты исследования. Низкоинтенсивное лазерное облучение сосудов мягкой мозговой оболочки в дозе 3 Дж/см² оказывало стимулирующее влияние на микроциркуляцию. Реакция имела дозозависимый характер до достижения порога предельной реактивности. Наиболее чувствительны к лазерному воздействию оказались самые мелкие прекортикальные артериолы, которые являются конечным звеном многократно ветвящихся пиальных сосудов. Выявлена высокая реактивность пиальных микрососудов у новорожденных и молодых животных и ее снижение у зрелых крыс. Повышение дозы лазерного облучения до 6 Дж/см² приводило к падению скорости кровотока и появлению признаков расстройств микроциркуляции.

Обсуждение полученных данных. В пределах терапевтических доз лазерное воздействие оказывает фотостимулирующее влияние на мозговой кровоток.

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение, головной мозг, микроциркуляция, крысы.