ГОРШКОВА О. П., ШУВАЕВА В. Н., ДВОРЕЦКИЙ Д. П.

# Реакции пиальных артериальных сосудов на воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения синей и зеленой областей спектра

***Лаборатория физиологии кровообращения Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург***
***e-mail: : o_gorshkova@inbox.ru***

**Реферат**

**Исследовалось влияние низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) синей (λ=473 нм) и зеленой (λ=532 нм) областей спектра на тонус артерий мягкой мозговой оболочки крыс. В ходе работы было установлено, что преимущественной реакцией пиальных артериальных сосудов на НИЛИ синей и зеленой областей спектра является констрикция. Констрикторный эффект синего лазера выражен сильнее. Лазерное излучение и синего, и зеленого спектров вызывает также расширение части пиальных артериальных сосудов, не связанное с действием эндотелиального NO.**

***Ключевые слова:*** *низкоинтенсивное лазерное излучение, пиальные артериальные сосуды, оксид азота.*

## Gorshkova O. P., Shuvaeva V. N., Dvoretsky D. P.

## Pial arterial vessels reactions to dark blue and green spectrum areas laser irradiation

***Laboratory of Blood Circulation, I. P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Science, St.-Petersburg***
***e-mail: o_gorshkova@inbox.ru***

**Abstract**

**It has been established that dark blue (473 nm) and green (532,8 nm) spectrum areas laser irradiation mainly cause pial vessels constrictions more strongly expressed on dark blue. Along with it influence of laser radiation of dark blue and green ranges leads to dilations of part of pial arterial vessels, not connected with the endothelial NO action.**

***Keywords:*** *laser irradiation, pial arterial vessels, nitric oxide.*

**Введение**

В настоящее время широко развивается медицинское направление, изучающее и использующее воздействие света на организм, получившее название «светотерапия». Многочисленные исследования показывают, что излучение различных длин волн обладает специфическим действием на организм [1, 2, 4, 5].

Наибольшее число лечебных методик, применяемых в современной медицине, используют воздействие на организм низкоитенсивного лазерного излучения (НИЛИ) инфракрасной, видимой красной и ультрафиолетовой областей спектра, так как воздействие и молекулярно-клеточные механизмы клинических эффектов лазерного излучения именно этих длин волн являются наиболее изученными. В то же время механизмы влияния НИЛИ других областей спектра и, в частности, зеленого и синего, изучены недостаточно.

**Цель исследования**

Изучение влияния НИЛИ синей (λ=473 нм) и зеленой (λ=532 нм) областей спектра на тонус артерий мягкой мозговой оболочки крыс и выявление возможной роли оксида азота (NO) в реакциях пиальных артериальных сосудов крыс на эти воздействия.

**Материал и методы исследования**

Опыты проведены на крысах линии WKY массой 220–285 г (n=21), наркотизированных уретаном (внутрибрюшинно в дозе 150 мг/100 г массы тела). Среднее артериальное давление у наркотизированных крыс составляло 93,6±7,6 мм рт. ст. Исследование осуществлялось методом прижизненной микрофотосъемки [9] (×470). Эксперимент проходил в три этапа:

1) фиксировалось фоновое изображение сосудов, выбранного участка пиальной сети и их реакция на облучение мягкой мозговой оболочки лазером с длиной волны 473 либо 532,8 нм (мощность — 20 мВт, интенсивность — 20 мВт/см$^2$, время облучения — 5 мин) (контроль);

2) внутривенно вводился блокатор NO-синтазы L-NAME (2 мг/100 г массы тела);

3) на фоне блокады NO-синтазы регистрировалась реакция пиальных сосудов на лазерное облучение.

Проведено измерение 568 участков пиальных артерий. Рассматривались реакции сосудов 1–5-й генераций в бассейне средней мозговой артерии. Данная классификация являлась условной. Первой генерацией (А1) считали участок артерии, выходящий непосредственно из-под кости на краю операционного поля. Ветвления А2–А5 последовательно располагались (по току крови) за сосудом 1-й генерации. Исследовались сосуды диаметром от 17 до 170 мкм. Оценивали число участков и степень изменения их диаметра, суммарную площадь поперечного сечения исследованных участков пиальных артериальных сосудов (в кв. ед.); суммарную площадь поперечного сечения сосудов перед действием стимула (облучение, введение L-NAME) принимали за стандартное сечение, при нормировании диаметра сосуда к 1, а числа сосудов к 100 стандартное сечение составило 78,5 кв. ед. [10]. Линейные размеры микрососудов определяли при помощи программы «Inspector Matrox». Результаты обрабатывались статистически с помощью пакета «Microsoft Excell 2003». Статистическую достоверность различия средних значений определяли по критерию Стьюдента с вероятностью $p \leq 0,05$.

**Результаты исследования и их обсуждение**

Облучение мягкой мозговой оболочки вызывало неоднозначное изменение диаметра пиальных артериальных сосудов [11]. Часть сосудов расширилась, часть сузилась, у части сосудов в ответ на облучение диаметр не менялся (рис. 1, а). Преимущественной реакцией сосудов на лазерное излучение синего (473 нм) спектра была констрикция: 46,7 % всех исследованных сосудов суживались. Однако суммарная площадь сечения практически не изменилась: 77,4±1,6 кв. ед. по сравнению с площадью перед облучением 78,5±1,1 кв. ед., т. е. уменьшилась до 98,6 % (табл. 1).

Анализ реакций артериальных сосудов разных генераций на облучение светом синей области спектра показал, что констрикторный эффект преобладает у сосудов почти всех генераций (площадь сечения сосудов каждой генерации уменьшалась относительно их площади перед облучением), за исключением сосудов 5-й генерации, у которых отмечена значительная дилатация (рис. 2, а). 56,7 % сосудов 5-й генерации расширились, а суммарная площадь их сечения увеличилась на 17,4 %: с 78,5±1,1 перед облучением до 92,1±2,7 кв. ед. Это может быть как реакцией на облучение, так и ответом на сужение нижележащих участков сосудов. Существенная констрикция отмечена у сосудов 1-й и 2-й генераций — суммарная площадь их сечения снижалась соответственно на 28,4 и 18,8 % относительно площади сечения перед облучением (рис. 2, а).

Преимущественной реакцией сосудов на лазерное излучение зеленого (532,8 нм) спектра также была констрикция: 59,9 % всех исследованных сосудов сузились (рис. 1, б), однако суммарная площадь сечения сосудов практически не изменилась: 77,5±1,3 кв. ед. по сравнению с таковой перед облучением 78,5±1,1 кв. ед. (табл. 1). Анализ реакций артериальных сосудов разных генераций показал, что реакция пиальных сосудов на лазерное воздействие зеленой области спектра (532,8 нм) была неоднозначной: облучение вызывало констрикцию сосудов 3-й и 4-й генераций (площадь сечения уменьшалась на 23,4 и 18 % соответственно) и дилатацию сосудов 1-й, 2-й и 5-й генераций (суммарная площадь их сечения увеличивалась на 14,8, 17,7 и 4,1 %, соответственно) (рис. 2, б).

Из сопоставления площадей сечения сосудов отдельных генераций видно, что в ответ на облучение светом синей части спектра площадь сечения сосудов почти всех генераций уменьшается относительно их площади перед облучением; при этом стоит отметить, что констрикция слабее у пиальных артерий 3–4-й генераций. Излучение зеленой части спектра приводило к расширению магистральных пиальных артерий 1-й и 2-й генераций: площадь их сечения под воздействием излучения увеличивалась на 14,8 и 17,7 % соответственно (рис. 2, б). Однако мелкие артерии суживались: площадь сечения артерий 3-й и 4-й генераций снижалась на 23,4 и 18 %, соответственно, что может быть не только ответом на облучение, но и компенсаторной реакцией на усиление кровоснабжения в магистральных сосудах. Так, установлено, что в целом НИЛИ синей области спектра вызывает преимущественно констрикцию пиальных артериальных сосудов, тогда как за излучение зеленой части спектра констрикцией (59,9 % сосудов) отвечают только артерии 3-й и 4-й генераций. Стоит отметить, что сосуды 3-й и 4-й генераций — самые многочисленные в пиальной сети, они составляют больше половины всех исследованных сосудов.

Дилататорные сосудистые реакции на облучение НИЛИ, согласно данным литературы [2, 4], могут быть опосредованы участием монооксида азота (NO), который является посредником между лазерным излучением и ферментативными клеточными систе-

Площадь суммарного сечения пиальных артерий после воздействия НИЛИ

Таблица 1

| НИЛИ | Нереактивные, S, кв. ед. | Расширившиеся, S, кв. ед. | Сузившиеся, S, кв. ед. | Все исследованные сосуды, S, кв. ед. |
|---|---|---|---|---|
| λ=473 нм (синяя область спектра) | 17,3±1,7 | 36,5±1,8 | 23,6±1,3 | 77,4±1,6 |
| λ=532,8 нм (зеленая область спектра) | 11,1±1,1 | 33,2±2,0 | 33,3±1,3 | 77,5±1,3 |

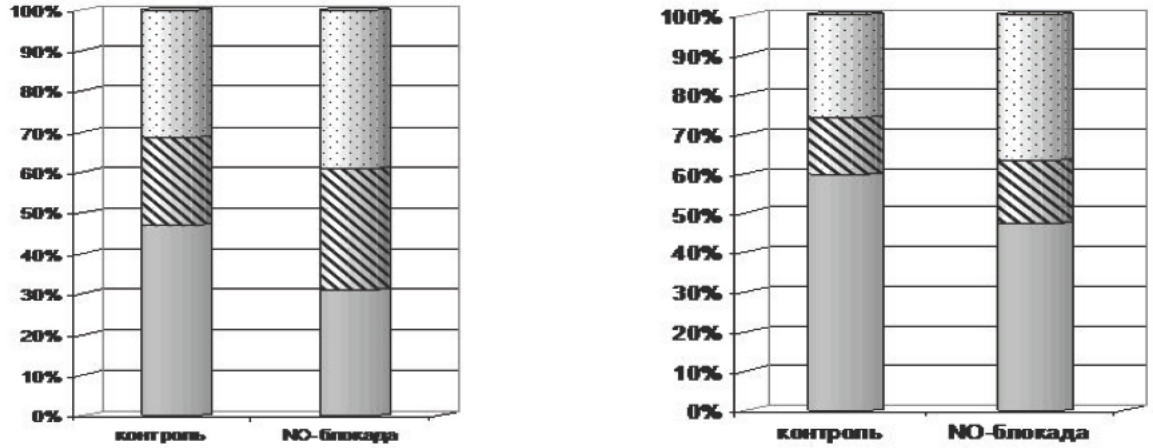


**Рис. 1.** Реакция пиальных артериальных сосудов на низкоинтенсивное лазерное излучение. Общее число сосудов: а — синий лазер (λ=473 нм); б — зеленый лазер (λ=532,8 нм). По оси ординат — процент от общего числа исследованных сосудов; косая штриховка — отсутствие реакции; точечная штриховка — дилатация; серая заливка — констрикция

мами организма. Проведенное нами исследование реакций пиальных сосудов на облучение на фоне введения L-NAME показало, что блокада синтеза эдотелиального NO вносит изменения в реакции пиальных артериальных сосудов на лазерное облучение. Однако, вопреки нашим ожиданиям, при этом не наблюдалось усиления констрикции. При воздействии излучения и синей (473 нм), и зеленой (532,8 нм) областей спектра на фоне блокады эндотелиальной NO-синтазы преобладала дилатация (табл. 2).

При облучении лазером с длиной волны 473 нм на фоне введения L-NAME число суженных сосудов уменьшилось с 46,7 до 30,9 %, а расширенных — возросло с 31,2 до 39 % (рис. 1, а). По сравнению с реакциями в контроле, на фоне NO-блокады излучение синей области спектра вызывало увеличение дилатации почти всех сосудов, за исключением сосудов 2-й и 5-й генераций (рис. 2, а). Вклад в суммарное сечение расширившихся сосудов увеличился по сравнению с контролем примерно на 33 % (табл. 1; 2). Облучение НИЛИ зеленого спектра на фоне введения L-NAME снизило чило суженных сосудов с 59,9 до 47 %, при этом число дилатированных сосудов возросло с 26 до 36,5 % (рис. 1, б). Таким образом, блокада NO-синтазы при облучении лазером зеленого спектра приводила к увеличению дилатации у сосудов почти всех генераций (рис. 2, б), вклад в суммарное сечение расширившихся артерий увеличился по ставнению с контролем примерно на 48 % (табл. 1; 2).

Наиболее существенная дилатация по сравнению с контролем наблюдалась у сосудов 3-й и 4-й генераций, тогда как суммарная площадь поперечного сечения артерии 2-й генерации уменьшилась (рис. 2, б). Увеличение дилатации в ответ на облучение на фоне блокады эндотелиальной NO-синтазы могло быть вызвано нарушением равновесия между эндотелийзависимыми вазодилататорами и вазоконстрикторами, приводящим к развитию эдотелиальной дисфункции и связанным с этим извращением реакций эндотелия на предъявляемые стимулы [3, 8]. Также в литературе имеются данные о том, что лазерное излучение приводит к увеличению концентрации в крови синглетного кислорода и свободного оксида азота, которые активно взаимодействуют друг с другом, образуя пероксинитрит (ONOO), вызывающий вазоконстрикцию. Блокада эдотелиальной NO-синтазы может приводить к снижению количества NO, циркулирующего в крови, и, как следствие этого, к снижению синтеза пероксинитрита и связанных с этим вазоконстрикторных реакций в ответ на облучение [4, 7].

Полученные результаты свидетельствуют о несущественной роли эндотелиального NO в регуляции реакций пиальных артерий на низкоинтенсивное лазерное излучение синей (473 нм) и зеленой (532,8 нм) областей спектра. В вазодилататорных реакциях на облучение лазером могут принимать участие и другие эндотелиальные вазодилататоры, например, простациклин [6].

Площадь суммарного сечения пиальных артерий после воздействия НИЛИ на фоне блокады NO-синтазы

Таблица 2

| НИЛИ | Нереактивные, S, кв. ед. | Расширившиеся, S, кв. ед. | Сузившиеся, S, кв. ед. | Все исследованные сосуды, S, кв. ед. |
|---|---|---|---|---|
| λ=473 нм (синяя область спектра) | 23,6±2,3 | 48,45±3,0 | 9,1±2,1 | 81,1±2,5 |
| λ=532,8 нм (зеленая область спектра) | 13,0±1,3 | 49,2±3,2 | 18,4±1,5 | 80,5±2,0 |

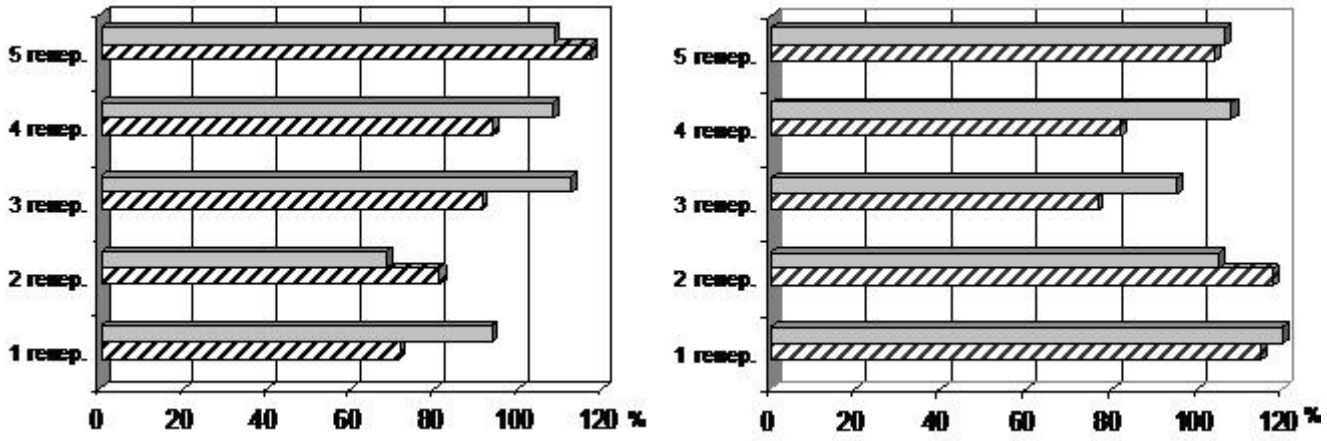


**Рис.2.** Изменение суммарной площади сечения исследованных пиальных сосудов при облучении лазером относительно суммарной площади сечения сосудов перед облучением (стандартного сечения, 100 %): а — синий лазер (λ=473 нм); б — зеленый лазер (λ=532,8 нм). По оси абсцисс — суммарная площадь поперечного сечения исследованных сосудов, %; по оси ординат — генерации сосудов; серая заливка — облучение на фоне NO-блокады; штриховка — облучение перед введением блокатора (контроль)

Возможно также, что реакция расслабления сосудов под действием синего и зеленого света связана с существованием в стенке сосуда фоточувствительных соединений, освобождающих при облучении соединение, подобное NO, резерв которого истощается по мере увеличения дозы облучения и восстанавливается донорами NO, находящимися в крови [7, 12, 13].

По литературным данным, акцепторами синего и зеленого излучения являются нитрозильные комплексы гемопротеинов, в частности, гемоглобина и оксигемоглобина [1, 2]. Излучение индуцирует распад нитрозильных комплексов эритроцитарного гемоглобина HbNO с выделением свободного NO и активацией растворимой гуанилатциклазы, т. е. в данном случае NO выделяется в эритроците [7].

**Выводы**

1. Установлено, что низкоинтенсивное лазерное излучение синей (473 нм) и зеленой (532,8 нм) областей спектра вызывает преимущественно констрикцию пиальных артериальных сосудов.
2. Констрикторный эффект синего лазера выражен сильнее, чем зеленого.
3. Лазерное излучение с длинной волны 473 и 532,8 нм также вызывает расширение части пиальных артериальных сосудов, не связанное с действием эндотелиального NO.

## Литература


1. *Буйлин В. А., Ларюшин А. И., Никитин М. В. Светолазерная терапия. Тверь: Триада, 2004.*
2. *Владимиров Ю. А., Клебанов Г. И., Борисенко Г. Г., Осипов А. Н. Молекулярные и клеточные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Биофизика. 2004. № 49. С. 339–350.*
3. *Гороховская Г. Н., Петина М. М., Акатова Е. В. и др. Возможности коррекции эндотелиальной дисфункции ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента // Consilium medicum. Системные гипертензии. 2005. № 7 (2).*
4. *Кару Т. Й. Клеточные механизмы низкоинтенсивной лазерной терапии // Успехи современной биологии. 2001. № 1. С. 110–120.*
5. *Клебанов Г. И., Крейнина М. В., Полтанов Е. А. и др. К вопросу о механизме лечебного действия низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения // Бюлл. эксперимент. биол. и мед. 2001. № 131 (3). С. 286–289.*
6. *Коцюба А. Е., Беспалова Е. П., Черток В. М. Влияние оксида азота на реактивность сосудов микроциркуляторного русла при воздействии лазером // Тихоокеан. мед. журн. 2007. № 4. С. 44–46.*
7. *Осипов А. Н., Борисенко Г. Г., Владимиров Ю. А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов // Успехи биолог. химии. 2007. № 47. С. 259–292.*
8. *Остроумова О. Д., Дубинская Р. Э., Жукова О. В. Коррекция дисфункции эндотелия при артериальной гипертонии: фокус на бета–блокаторы // Consilium medicum. Системные гипертензии. 2006. № 8 (2).*
9. *Рыжикова О. П., Шуваева В. Н., Дворецкий Д. П. Реактивность пиальных артериол нормотензивных и спонтанно гипертензивных крыс в ответ на альвеолярную гиперкапнию // Росс. физиолог. журн. 2001. № 87 (2). С. 254–260.*
10. *Шуваева В. Н., Горшкова О. П., Костылев А. В., Дворецкий Д. П. Влияние лазерного излучения на адренореактивность пиальных артериальных сосудов у крыс // Бюлл. эксперимент. биологии и мед. 2011. № 151 (1). С. 4–8.*
11. *Шуваева В. Н., Костылев А. В., Линькова Н. С., Горшкова О. П. Влияние He-Ne лазерного излучения низкой мощности на адренореактивность пиальных артериальных сосудов и деформируемость эритроцитов у крыс // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2008. № 7 (1). С. 31–37.*
12. *Chaudhry H., Lynch M., Schomacker K. et al. Relaxation of vascular smooth muscle induced by low-power laser radiation // Photochem Photobiol. 1993. № 58 (5). P. 661–669.*
13. *Venturini C. M., Palmer R. M. and Moncada S. Vascular smooth muscle contains a depletable store of a vasodilator which is light-activated and restored by donors of nitric oxide // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993. № 266 (3). P. 1497–1500.*