

УДК 57.086:591.413/415:576.8095.14

В.М. Черток, А.Е. Коцюба, Е.П. Беспалова

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ СОСУДОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ГЕЛИЙ- НЕОНОВОГО ЛАЗЕРА

Владивостокский государственный медицинский университет

Ключевые слова: биомикроскопия, микроциркуляторное русло, гелий-неоновый лазер.

Несмотря на то что особенности структурно функциональной организации микроциркуляторного русла (МЦР) различных органов изучены довольно подробно, сравнительные исследования реакции микрососудов на различные воздействия единичны [1]. Скучность работ подобного рода вполне объяснима: методы, позволявшие до недавнего времени проводить прижизненные исследования микроциркуляции, трудоемки, несовершенны и не всегда точны [6]. Совсем недавно появился новый класс интеллектуальных приборов – автоматические системы анализа изображений, которые обладают уникальными возможностями для количественного изучения динамики многих физиологических процессов, в том числе и микроциркуляции.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение реакции микрососудов различных органов на лазерное излучение в условиях продолжительного мониторинга. С помощью автоматической системы анализа изображений Allegro MC измеряли диаметр сосудов и скорость кровотока, определяли чувствительность сосуда к воздействию лазера и продолжительность ответной реакции МЦР в течение 120 минут после облучения.

Использованы 68 белых беспородных крыс массой 250–270 г, которых наркотизировали внутримышечным введением раствора нембутала (5 мг на 100 г массы). Крысу помещали на термостатированный столик микроскопа (38°C) и изучали отдельно реакцию крупных артериол (20–50 мкм), мелких прекапиллярных артериол (10–15 мкм), а также венул диаметром 30–60 мкм и посткапиллярных венул диаметром до 20 мкм в мягкой и твердой оболочках головного мозга, брыжейке

тонкой кишки, широкой связке матки, коже живота. Исследование выполняли после 30 с, 1, 3, 5, 10, 15, 20 и 30 мин непрерывного облучения гелий-неоновым лазером (ЛГН 108) с длиной волны 0,63 мкм и выходной мощностью 2 мВт. Луч лазера проецировали на микрососуды через оптическую систему контактного микроскопа таким образом, чтобы в его фокальной плоскости диаметр луча составлял 10–20 мкм, что позволяло избирательно воздействовать на отдельные компоненты МЦР.

Для изучения МЦР мозговых оболочек крыс помещали в стереотаксический станок для фиксации головы в горизонтальной плоскости. На теменной поверхности удаляли волосяной покров, кожу, апоневроз и теменные кости, в результате чего создавалось «окно» размером 800×300 мкм, в котором определялся участок твердой мозговой оболочки, включающий микрососуды. При необходимости эту оболочку удаляли и проводили прямое биомикроскопическое исследование МЦР мягкой мозговой оболочки. Поверхность мозга постоянно орошалась раствором МкИлвейна (35–37°C, pH 7,4). Для изучения брыжейки тонкой кишки и широкой связки матки через разрез передней брюшной стенки выводили конечную петлю тонкой кишки с брыжейкой (микроциркуляцию изучали в зоне 1000×500 мкм). Исследование широкой связки матки проводили после того, как ее извлекали вместе с рогом матки. Для предупреждения высыхания препараты обрабатывали тонким слоем вазелинового масла при температуре 37°C. Кроме того, изучали микрососуды кожи нижнебоковой области живота после освобождения ее от волосяного покрова. Методика проведения количественной биомикроскопии с помощью Allegro MC подробно изложена ранее [1, 8].

Лазерное облучение вызывало изменения скорости кровотока и диаметра сосудов МЦР во всех исследованных органах. Уже на первых минутах облучения в артериолах наблюдалось увеличение скорости кровотока, сопровождавшееся характерными морфологическими признаками: исчезала зернистость потока крови, повышалась его оптическая плотность, включались дополнительные анастомозы (рис. 1).

При этом увеличение диаметра артериол проходило более медленными темпами и не столь выражено, как увеличение скорости кровотока. Величина дилатации артериального звена была пропорциональна

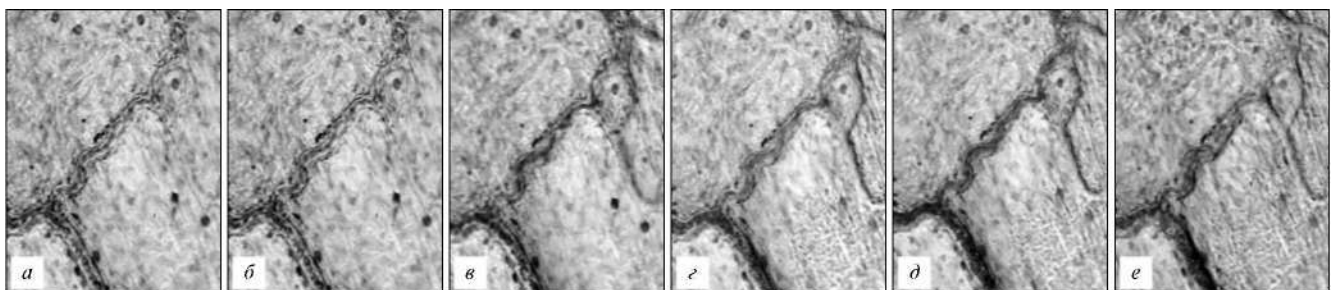


Рис. 1. Артериолярное русло твердой мозговой оболочки крыс при воздействии гелий-неонового лазера. а – контрольные животные; б–е – через 30 с (б), 1 мин(в), 2 мин(г), 3 мин(д) и 5 мин(е) лазерного воздействия.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

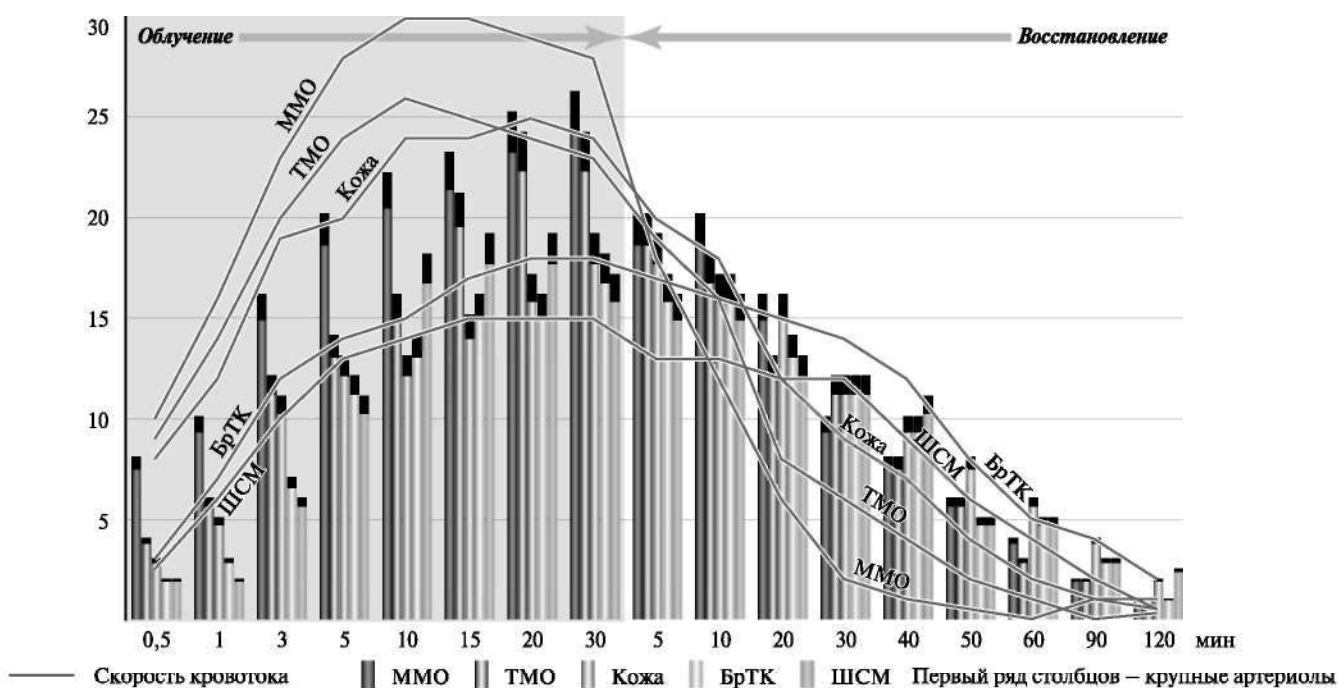


Рис. 2. Органные отличия скорости кровотока в артериолах и их диаметра при лазерном облучении и после него, %. ММО – мягкая мозговая оболочка; ТМО – твердая мозговая оболочка; БрТК – брыжейка тонкой кишки; ШСМ – широкая связка матки.

времени воздействия и находилась в обратной зависимости от исходного диаметра сосудов. Наибольшей чувствительностью обладали самые мелкие прекапиллярные артериолы, которые отличаются большой протяженностью (до 400–600 мкм).

Между 1 и 5 минутами облучения достоверное увеличение диаметра крупных артериол наблюдалось в мягкой и твердой мозговых оболочках. В брыжейке тонкой кишки и широкой связке матки значимые изменения отмечены только на 10-й мин экспозиции. Затем в течение 30–60 мин происходило возвращение величины показателей к исходному уровню. Во всех органах вначале устанавливались контрольные значения скорости кровотока, затем – диаметра сосудов. При этом в крупных артериолах изменения исчезали быстрее: сначала в сосудах мягкой и твердой мозговых оболочек, затем кожи, брыжейки и в последнюю очередь – в широкой связке матки (рис. 2).

Поскольку прекортикальные артериолы мягкой мозговой оболочки отличаются высокой функциональной активностью [5, 6], мы провели специальное исследование, во время которого осуществляли раздельное воздействие на них лазерным лучом в двух участках: в месте ответвления от материнского ствола и в среднем отделе микрососуда. Кроме того, изучали реакцию этих сосудов на облучение вещества мозга. Облучение среднего отдела прекортикальной артериолы на 3-й мин вызывало его локальное расширение (на 20% от исходного уровня). По мере увеличения времени воздействия значения показателя возрастали и на 20-й мин почти на треть превышали контроль. К этому времени диаметр артериол стабилизировался и в дальнейшем заметно не изменялся. Однако протяженность этого расширения постепенно увеличи-

валась, захватывая соседние с ним (преимущественно нижележащие) участки. Иная картина наблюдалась при облучении в месте ответвления: вначале определяется небольшая (до 10–15%) и непродолжительная (до 3 мин) констрикция, сменяющаяся общим расширением, которое достигало максимума к 20 мин. Вполне вероятно, что особенности реакции этого отрезка артериол обусловлены тем, что в месте ответвления находятся гладкие миоциты, образующие сфинктеры, отличающиеся высокой чувствительностью к внутри- и внесосудистым воздействиям [2, 3, 6].

При изучении реакции прекортикальных артериол на облучение вещества мозга было установлено расширение микрососудов на всем протяжении – от устья до места погружения в ткань мозга. Однако реактивность этого отрезка пиллярного русла невысока: латентное время ответа достигало 7–10 мин, а прирост величины показателей не превышал 16–20%. Отметим и другую особенность реакции: из 8–12 прекортикальных артериол, находившихся в поле зрения, только у 60–65% из них обнаруживалась отмеченная выше последовательность изменений величины показателей на облучение, примерно в трети микрососудов отчетливых изменений скорости кровотока и диаметра установлено не было. В остальных случаях наблюдалась инвертированная реакция – замедление кровотока и сужение артериол. Сходные закономерности изменений прекапиллярных артериол отмечены и в брыжейке.

Органные отличия реактивности прекапиллярных артериол прослеживались более отчетливо (рис. 1). Так, в мягкой и твердой мозговых оболочках уже на 1-й мин облучения существенно (на 18–28%) возрастала скорость кровотока, а между 3 и 5 минутами достоверно увеличивается диаметр этих сосудов.

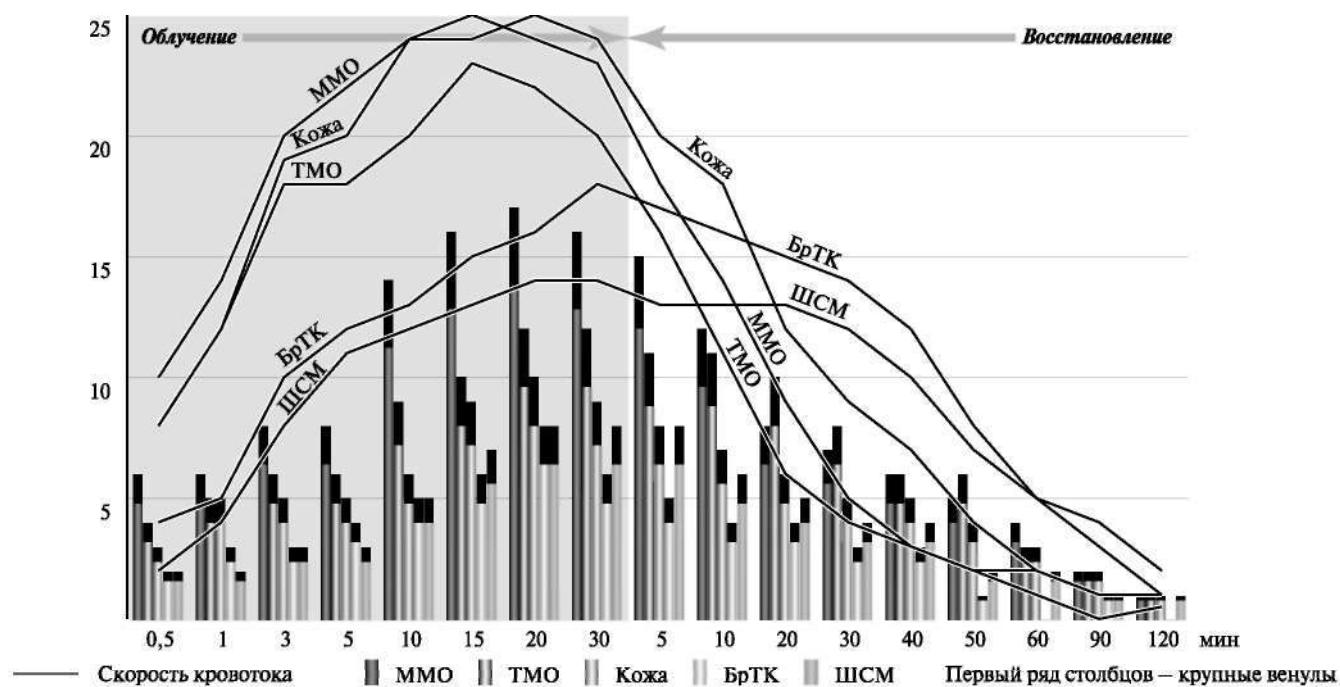


Рис. 3. Органные отличия скорости кровотока в венах и их диаметра при лазерном облучении и после него, %.

ММО — мягкая мозговая оболочка; ТМО — твердая мозговая оболочка; БрТК — брыжейка тонкой кишки; ШСМ — широкая связка матки.

Затем в течение 15–20 мин значения показателей во вращались к исходному уровню. В брыжейке тонкой кишки и широкой связке матки латентное время ответа оказалось существенно выше: значимое увеличение диаметра таких сосудов отмечено только на 15–20 й мин. Затем в течение 30 мин существенных изменений не происходило, и только через 1,5–2 часа их значения приближались к исходному уровню. Во всех органах вначале устанавливались контрольные значения скорости кровотока, а затем диаметра артериол.

Чувствительность веноулярных сосудов к лазерному облучению была выражена в меньшей степени (рис. 3), хотя последовательность изменений реактивности этого компонента микроциркуляторного русла во многом повторяла отмеченную в артериолярных сосудах. Однако достоверные изменения в посткапиллярных венах начинали регистрироваться только на 10 й мин облучения, превышая исходный уровень на 18–20%. При увеличении продолжительности экспозиции до 20 мин возрастала скорость кровотока и в более крупных сосудах, но на 30 мин она вновь падала вследствие повышенной адгезии форменных элементов — возникали стаз и тромбоз (рис. 4).

Часто можно было наблюдать многократное чередование образования и отрыва тромбов. В том случае, когда тромб отрывался, на его месте оставались лейкоциты, часть которых смывалась кровотоком, а другие путем диапедеза выходили из сосудов. Обычно процесс заканчивается формированием пристеночного тромба, а в отдельных случаях — полной закупоркой просвета сосудов. Следует упомянуть еще об одной важной особенности реакции венул на облучение: при выраженном сужении просвета, которое развивалось в основном за счет изменения геометрии

эндотелия, внешний диаметр этих сосудов практически не менялся. Высокой чувствительностью к лазерному воздействию обладали артериолярные анастомозы. Между 3 й и 5 й мин облучения почти на 30% увеличивалась скорость кровотока, а к 10 й мин — в 2 раза возрастал диаметр этих сосудов.

Таким образом, чувствительность разных отделов микроциркуляторного русла к лазерному воздействию существенно отличается, что связано с различиями их морфологических, функциональных и гемодинамических свойств. Есть основания полагать, что местом приложения непосредственного влияния лазерного излучения на микрососуд являются гладкие миоциты, которые, видимо, служат главными акцепторами лазерной энергии в системе микроциркуляции [2, 3]. Не исключено, что сама система микроциркуляции может выступать в качестве интегрального акцептора, а возможно, посредника лазерного воздействия, учитывая те вторичные процессы, развитие которых приводит к активизации кровотока в тканях.

Раздельное изучение реактивности микрососудов показало, что в целом чувствительность артериол к лазерному воздействию выше, чем венул. Это связано прежде всего с отсутствием в стенке венул мышечного слоя. Среди артериол наибольшей активностью обладают прекапиллярные, мышечный аппарат которых имеет существенные функциональные отличия от артериальных сосудов другого типа [5, 6]. Изменения диаметра артериол связаны со скоростью кровотока настолько тесно, что в состоянии обеспечить эффективную ауторегуляцию органной гемодинамики, способной нивелировать ответы сосудов на любые воздействия. Очевидно, это обстоятельство и является причиной несхожести реакции на лазерное

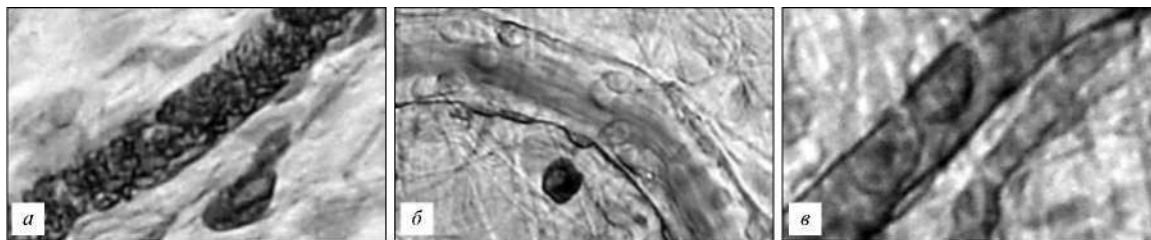


Рис. 4. Вена брыжейки крысы после лазерного облучения.

а – агрегация эритроцитов и тромбоцитов и стаз крови на 30-й мин облучения; *б* – адгезия и диапедез лейкоцитов после 20 мин облучения; *в* – формирование тромба из лейкоцитов и тромбоцитов после 20 мин облучения.

облучение прекапиллярных артериол в мягкой мозговой оболочке и в брыжейке.

Несомненный интерес представляют данные, свидетельствующие об органических особенностях реактивности различных звеньев микроциркуляторного русла. На первый взгляд, имеющиеся различия вполне объяснимы с позиций метаболической концепции регуляции кровотока, в основе которой лежит предположение о наличии жесткой корреляции между уровнем метаболизма органа и состоянием микроциркуляции [4]. С этих позиций можно было бы с некоторой тяжестью объяснить реакцию прекапиллярных артериол на облучение вещества мозга или венул, у которых латентное время ответа достаточно велико, а прирост величины показателей не так значителен. Однако этот механизм вряд ли мог бы стать универсальным для объяснения всех полученных результатов. Еще в 1949 г. Фольковым было показано, что окклюзия магистральной артерии даже в течение 2–4 с приводит к значительному снижению тонуса сосудов и к их расширению [9]. Понятно, что столь кратковременное уменьшение кровоснабжения вряд ли способно вызвать сколько нибудь значимые метаболические сдвиги, которые могут привести к дилатации сосудов. С тех пор эти данные были подтверждены многократно на сосудах разных органов. Артериальное русло исследованных нами органов также довольно оперативно реагировало на лазерное воздействие: ускорение кровотока мы наблюдали уже на первых минутах облучения, а диаметр микрососудов в большинстве случаев достоверно возрастал между 1 и 3 мин экспозиции. Длительный период восстановления функциональной активности микрососудов также не вписывается в классическую трактовку этой концепции [4]. Не утрачивается способность к регуляции просвета сосудов и после их денервации [4, 9]. Иначе говоря, и с позиций нейрогенной теории нельзя удовлетворительно объяснить результаты нашего эксперимента.

Более вероятной нам представляется концепция, согласно которой ведущая роль в регуляции функций сосудистой системы отводится эндотелию. Не без основания большую роль в становлении таких взглядов отводят Р. Фурчготту и Дж. Завадски, которые в 1980 г. в одной из своих работ [10] привлекли внимание к этой проблеме и вызвали лавинообразный поток исследований. Хотя задолго до них еще в 50-х годах XX

века С. Родбард предположил, что эндотелиальные клетки могут влиять на мышечный тонус артерий при изменениях действующей на них со стороны крови силы вязкого трения [14]. Благодаря этому свойству эндотелиоцитов диаметр артерий, по мнению автора, должен меняться при изменении скорости кровотока. В 1974 г. из стен нашего вуза (лаборатория П.А. Мотавкина) впервые в отечественной и зарубежной печати вышла работа, а в 1977 г. была защищена диссертация, в которых на основе материалов электронной микроскопии приводились доказательства важной роли эндотелия в регуляции просвета сосудов [7]. Поскольку в то время не существовало экспериментальных оснований, позволявших считать, что эндотелий играет какую-либо активную роль в регуляции сосудистого тонуса, это предположение представляло собой лишь смелую гипотезу, вызвавшую неоднозначные мнения. Достаточно сказать, что ни одно периодическое научное издание не рискнуло опубликовать данные в пользу указанного регуляторного механизма. Он был назван нами «интимальным», чтобы подчеркнуть важную роль, которую, по нашему мнению, наряду с эндотелиальными клетками, играют в регуляции функций сосудов и другие элементы внутренней оболочки – в первую очередь базальная мембрана. Эти и другие исследования, выполненные в данном направлении, были обобщены в монографии, вышедшей в свет в 1980 г. [5].

В последние годы появились сообщения, которые делают это предположение весьма правдоподобным. Было показано, что клетки эндотелия способны воспринимать механическое воздействие, оказываемое на них текущей кровью (напряжение сдвига), и регулировать тонус артериальных сосудов соответственно величине этого воздействия [14]. Чувствительность эндотелия к напряжению сдвига значительно ослабляет как констрикторные, так и дилататорные реакции артериальных сосудов, препятствуя их значительному отклонению при различных воздействиях как в ту, так и другую сторону. Установлено вещество – оксид азота, которое опосредует эти реакции.

Термином «оксид азота» (или «окись азота») обозначается восстановленная форма монооксида азота (NO) с периодом полураспада от 2 до 30 с [11, 12]. NO представляет собой растворимый в воде и жирах бесцветный газ с уникальными физиологическими свойствами. Он является одним из наиболее важных

биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов. Это уникальный по своей природе и механизмам действия вторичный мессенджер в большинстве клеток организма. В химическом отношении NO – маленькая липофильная молекула, имеющая непарный электрон, что делает ее высокореактивным радикалом, свободно проникающим через биологические мембраны и легко вступающим в химические реакции [11–13].

NO проникает в соседние клетки (например, из эндотелия в миоциты), где образующийся циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) снижает уровень свободного кальция и активирует киназу легкой цепи миозина, вызывая дилатацию. Ca^{2+} под влиянием определенных стимулов (ацетилхолин, гистамин, 5 окситриптамиин, глутамат и др.) входит в клетку, где связывается в единый комплекс с кальмодулином. Комплекс «кальций – кальмодулин» активирует NO синтазу (NOS). Под влиянием ингредиентной NOS образуются очень малые количества NO, которые измеряются пикомолями. Но продуцируемый под влиянием этих изоформ NOS оксид азота осуществляет, главным образом, местную регуляцию кровотока. Он активирует клеточную гуанилатциклазу, что приводит к образованию цГМФ, который и определяет все эффекты NO. NO может также активировать натриево-калиевый насос наружной клеточной мембраны, провоцируя ее гиперполяризацию. Этот механизм инициирует дилатацию сосуда при увеличении интенсивности тока крови и напряжения сдвига сосудистой стенки.

Важно отметить, что базальный тонус артериол определяется тоническим напряжением расположенных в их стенке гладкомышечных волокон, функциональные свойства которых зависят не только от типа сосуда, но и его органной принадлежности [12]. Артериальные сосуды обладают способностью к активной вазодилатации, которая обусловлена секрецией NO NOS, расположенной в эндотелии [11, 12]. Можно сказать, что в каждый момент времени тонус сосудов определяется балансом вазоконстрикторных и вазодилаторных влияний на гладкомышечные волокна.

Необходимо обратить внимание, что для действия таких вазодилаторов, как ацетилхолин, гистамин, брадикинин, серотонин, адениновые нуклеотиды и некоторых других факторов, необходимым условием является сохранение целостности эндотелия. Поэтому они получили название «эндотелийзависимые вазодилаторы». Стимуляция эндотелия этой группой веществ приводит к выработке NO, который, диффундируя к гладкомышечным клеткам, вызывает расширение сосуда через образование цГМФ [13]. Такой процесс имеет место в физиологических условиях, когда выделяемые локально небольшие количества NO быстро инактивируются оксидной реакцией, переходя в нитрит (NO^{2-}) или нитрат (NO^{3-}), которые не являются вазодилаторами. NO по су-

ти – локальный тканевой гормон, поддерживающий активную вазодилатацию, и один из основных факторов, регулирующих органный кровоток [15]. Различия его концентрации могут быть определяющими для органных различий реакции МЦР на лазерное воздействие.

Литература

1. Афанасьев А.А., Коцюба А.Е., Черток В.М. // *Тихоокеанский мед. журнал.* – 2004. – № 2. – С. 82–86.
2. Козлов В.И., Литвин Ф.Б., Рыжакин СМ. // *Лазерная медицина.* – 2002. – Т. 6, вып. 2. – С 22–25.
3. Козлов В.В., Черток В.М. // *Низкоэнергетические лазеры в эксперименте и клинике.* – Владивосток : Изд-во ДВГУ, 1991. – С 10–41.
4. Конради Г.П. *Регуляция сосудистого тонуса.* – Л. : Наука, 1973.
5. Мотавкин П.А., Черток В.М. *Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения.* – М.: Медицина, 1980.
6. Мчедлишвили Г.И. *Микроциркуляция крови: общие закономерности регулирования и нарушений.* – Л. : Наука, 1989.
7. Черток В.М. *Функциональная морфология артерий основания головного мозга : дис.... канд. мед. наук.* – Владивосток, 1977.
8. Черток В.М., Афанасьев А.А., Коцюба А.Е. // *Морфология.* – 2003. – № 4. – С. 88–93.
9. Folkow B. // *Acta Physiol. Scand.* – 1949. – No. 17. – P. 289–310.
10. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. // *Nature.* – 1980. – P. 373–376.
11. Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. // *Ann. intern. Med.* – 1994. – Vol. 120. – P. 227–237.
12. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. // *Pharmacol. Rev.* – 1991. – Vol. 43. – P. 109–142.
13. Pepper C.B., Shah A.M. // *Spectrum Int.* – 1996. – Vol. 36, No. 2. – P. 20–23.
14. Rodbard S // *Am. Heart.* – 1956. – Vol. 51. – P. 926.
15. Umans J.G., Levi R. // *Ann. Rev. Physiol.* – 1995. – Vol. 57. – P. 771–790.

Поступила в редакцию 28.04.2007.

THE FEATURES OF REACTION OF THE MICROCIRCULATION OF SOME ORGANS TO THE HELIUM NEON LASER

V.M. Chertok, A.E. Kotsyuba, E.P. Bepalova
Vladivostok state medical university

Summary – By the method of biomicroscopy authors studied the reaction of the micro vessels of dura and pia mater, gut mesenteries, a wide ligament of the uterus, and skin to the irradiation of the the helium neon laser. The diameter of vessels and blood velocity, sensitivity influence and duration of response was studied with the help of the automated system of the analysis of images AllegroMC. The expressed organ features of the micro vessels are found. The most sensitive were the precapillaries of the pia mater. They quickly reacted to an irradiation, but also quickly came back to an initial level of blood velocity and diameter. The least reactive were the vessels of a wide ligament of the uterus; however they needed also a lot of time for the restoration of initial parameters.

Pacific Medical Journal, 2007, No. 3, p. 48–52.