

## РЕАКЦИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Ю.А. Чельшев, К.И. Сайткулов

Кафедра гистологии (зав. — проф. Ю.А. Чельшев)  
Казанского государственного медицинского университета

За последние 25 лет лазерное излучение нашло широкое применение в различных областях медицины, в том числе в неврологии, главным образом как средство обезболивания [17]. Высокая степень специфичности фотобиологического действия определяется его уникальными свойствами: монохроматичностью, избирательной направленностью и когерентностью. Механизм действия лазерного излучения на нервную ткань состоит из нескольких звеньев: это поддержание метаболизма и функции ее клеточных элементов, повышение митотической активности клеток, стимуляция регенерации, упомянутое выше обезболивающее действие.

В экспериментах *in vivo* и *in vitro* установлено влияние низкоинтенсивного лазерного излучения (оно лежит в пределах плотности мощности излучения от  $10^{-4}$  до  $10^{-1}$  Вт/см<sup>2</sup> и не вызывает видимых деструктивных изменений в ткани) на течение внутриклеточных и тканевых реакций, а также на процесс клеточной пролиферации в нервной системе. Оптимальная доза облучения большинства клеточных типов при низкоинтенсивной лазерной терапии — 20 Дж/см<sup>2</sup> [1]. При больших дозах происходит альтерация клеток, а при дозе свыше 50 Дж/см<sup>2</sup> — часто необратимые повреждения клеток. Описаны функциональные сдвиги в нервной ткани в виде изменения характера проведения импульсов, величины порогов возбуждения и поведенческих реакций [12].

Что известно о влиянии лазерного излучения на состояние главного клеточного типа в нервной ткани — нейронов? Импульсное излучение лазера (длина волны — 337 нм, плотность мощности — 1,4 кВт/см<sup>2</sup>, плотность дозы — 0,4 Дж/см<sup>2</sup>) необратимо блокирует потенциалчувствительные Са<sup>2+</sup>-каналы нейронов виноградной улитки, по-видимому, вследствие фотомодификации воротной частицы, переводящей канал из открытого состояния в закрытое [7]. Облучение HeNe лазером нейронов спинальных ганглиев кошки вызывает достоверное уменьшение объема клетки в среднем на 11% при увеличении ядерно-цитоплазматического соотношения на 47% [5].

При воздействии излучением лазера на периферический нерв наблюдаются два эффекта: обезболивающее действие и стимуляция посттравматической регенерации нервных волокон. Облучение Nd:YAG лазером (1064 нм) нервного ствола в дозах, не вызывающих дегенеративных изменений, оказывает преимущественное влияние на электрофизиологические характеристики тонких афферентных волокон с низкой скоростью проведения импульсов [41, 42]. При этом через 7

суток после облучения возрастает диаметр безмиелиновых волокон (на 15%); в их осевых цилиндрах увеличивается количество микротрубочек (на 21%) и уменьшается количество нейрофиламентов (на 20%). Диаметр миелиновых волокон в этих условиях остается неизменным. По мнению авторов, наблюдаемые функциональные изменения в тонких безмиелиновых волокнах связаны с термическим действием лазерного излучения [40].

Облучение полупроводниковым GaAlAs лазером (830 нм) подкожного нерва вызывает уменьшение амплитуды потенциала действия (ПД) в медленнопроводящих волокнах (со скоростью проведения менее 12 м/с) [36]. При этом 3-минутное облучение блокирует импульсную активность волокон со скоростью проведения менее 1,3 м/с, уменьшает ее на 12—67% в волокнах со скоростью проведения 1,3—12 м/с и не влияет на импульсную активность в быстропроводящих волокнах со скоростью проведения более 12 м/с. Эти данные свидетельствуют об избирательном влиянии лазерного излучения на импульсную активность медленнопроводящих волокон, в состав которых входят ноцицептивные волокна от болевых рецепторов.

В результате облучения большеберцового нерва крысы Nd:YAG лазером к 7-м суткам происходит уменьшение количества ретроградно меченых пероксидазой хрена мелких чувствительных нейронов и не меняется количество крупных нейронов в спинномозговых ганглиях поясничного отдела [43]. Характер ретроградного транспорта маркера пероксидазы хрена и накопление его в перикарионе нейрона, отросток которого был поврежден, свидетельствуют о состоянии цитоскелета нейрона, в первую очередь, микротрубочек и в конечном итоге об эффективности функциональных возможностей нейрона.

Эксперименты показали, что облучение поврежденных нервных проводников способствует их регенерации. Излучение HeNe лазера поддерживает возбудимость поврежденного нерва, миелинизацию и рост аксонов [4]. Под действием низкоинтенсивного лазерного излучения значительно смягчается эффект денервации мышцы [30]. Воздействие лазерного излучения на поврежденный нерв восстанавливает и даже увеличивает в нем импульсную активность, тормозит образование рубца [29] и снижает интенсивность дегенеративных изменений нейронов соответствующих сегментов спинного мозга. Облучение низкоинтенсивным лазером сегментов спинного мозга, соответствующих проекции поврежденного

нерва, способствует его регенерации и восстанавливает в нем электрическую активность [32].

На модели седалищного нерва крысы установлено, что передавливание нерва вызывает немедленное уменьшение амплитуды суммарного ПД на 30—40%. Прямое облучение нерва HeNe лазером увеличивает амплитуду суммарного ПД поврежденного нерва до 70% величины в интактном нерве [28]. Авторы назвали это увеличение “превентивным действием” низкоинтенсивного лазерного излучения, что находит применение в клинической практике. Измерения показали, что динамика данного электрофизиологического параметра не связана с изменением температуры нерва. Кроме того, увеличение дозы облучения более 10 Дж/см<sup>2</sup> не оказывает влияния на ПД. В этом отношении излучение лазера с длиной волны 540 нм оказалось более эффективным, чем лазера с длиной волны 632,8 нм. Другие лазеры (с длиной волны 660, 830, 880 и 950 нм) в течение первых суток после травмы влияли на поврежденный нерв менее выражено, чем лазер с длиной волны 632,8 нм [31]. Излучение лазеров с другими длинами волн вообще не оказывало воздействия на данный параметр.

Эффект воздействия лазерного излучения на нерв является дозозависимым. В опытах на крысах установлено, что излучение HeNe лазера в дозе 3,5—10,0 Дж/см<sup>2</sup> обладает наиболее выраженным стимулирующим действием на электрическую активность периферического нерва [30]. В дозе менее 3,5 Дж/см<sup>2</sup> излучение не оказывает влияния на импульсную активность нервов, а в дозе более 10,0 Дж/см<sup>2</sup> наблюдается тормозящий эффект. При этом следует учитывать, что при чрескожном облучении только 3—6% энергии излучения HeNe лазера достигает седалищного нерва. В этом отношении проницаемость кожи и мышц для излучения с меньшими длинами волн оказалась еще меньшей. Экспериментально установлено, что только около 0,1% энергии излучения с длинами волн 308 и 440 нм и менее 0,2% энергии излучения с длинами волн 470 и 520 нм может достигать нерва. По этой причине излучения этих длин волн не могут быть рекомендованы для чрескожного облучения поврежденного нерва [28, 31].

Эффективность регенерации миелиновых волокон исследована при воздействии на область травмы нерва излучения различных лазеров. Показано, что лазерное излучение с длиной волны 890 нм в дозе 0,33 Дж/см<sup>2</sup> не влияет на количество регенерирующих миелиновых волокон в дистальном отрезке нерва [8, 9]. Увеличение дозы до 9,33 Дж/см<sup>2</sup> вызывает уменьшение количества миелиновых волокон на 49%. Подавление регенерации волокон этого типа на 24% зарегистрировано также при использовании лазера с длиной волны 1220 нм (суммарная доза — 0,98 Дж/см<sup>2</sup> [14]. Излучение с этой длиной волны в дозе 7,2 Дж/см<sup>2</sup> не влияет на скорость роста и миелинизации нервных волокон в дистальном отрезке нерва [10]. При вычислении скоростей убывания количества миелиновых волокон в подопытной и контрольной группах животных выявлено отсутствие достоверной разницы, что свидетельствует про-

тив влияния лазерного излучения в выбранном режиме на скорость формирования миелиновых волокон в потенциальном пространстве роста. В тех же экспериментальных условиях (перерезка нерва и последующее сшивание) излучение HeNe лазера (7 Дж/см<sup>2</sup>) не влияло на количество регенерирующих миелиновых волокон [10]. Отсутствие эффекта излучения HeNe лазера в наших экспериментах не согласуется с результатами использования близких доз излучения той же длины волны в исследованиях Rochkind et al. [29, 30]. По-видимому, это связано с использованием в данных работах модели передавливания нерва в отличие от перерезки в нашем случае, когда образование рубца проявляется в большей мере.

Большинство исследователей полагают, что лазерное излучение может влиять на различные составляющие единого процесса регенерации периферического нерва: на микроциркуляторное русло и интенсивность местного кровотока, на пролиферацию и дифференцировку различных клеточных типов от макрофагов до шванновских и периневральных клеток, на морфофункциональные свойства осевого цилиндра и аксонный транспорт в нем. Предположение ряда исследователей о стимулирующем влиянии лазерного излучения на пролиферирующем фибробластов и образование рубца, затрудняющего прорастание регенерирующих аксонов из проксимального отрезка нерва в дистальный, подтверждается фактами выраженного снижения количества регенерирующих миелиновых волокон в дистальном отрезке нерва под влиянием лазерного излучения в ближнем ИК-диапазоне при отсутствии изменений темпов роста и миелинизации волокон.

Течение уоллеровской дегенерации в дистальном отрезке поврежденного нерва и эффективность последующей регенерации нервных волокон в значительной мере зависят от поведения шванновских клеток. Они вырабатывают белок внеклеточного матрикса ламинин, который поддерживает и направляет рост регенерирующих аксонов. Van Breugel H., Ваг P. [38] впервые прямо исследовали влияние излучения лазера на шванновские клетки *in vitro*. Ежедневное однократное облучение 5-дневной культуры в течение 1, 2 или 5 минут HeNe лазером (5,98 мВ) вызывает увеличение пролиферации шванновских клеток и не влияет на выработку ими ламинина. В более поздних клеточных культурах, например 8-дневной, шванновские клетки практически не реагируют на излучение. Таким образом, дозозависимое влияние излучения HeNe лазера на пролиферацию шванновских клеток считается доказанным и должно учитываться в лазерной терапии как фактор, поддерживающий посттравматическую регенерацию нервных проводников.

В целях стимуляции регенерации нервных волокон актуален поиск оптимального режима облучения, который, с одной стороны, избирательно поддерживает необходимый для роста аксонов объем популяции шванновских клеток, а с другой — стимулирует их активность для обеспечения роста аксонов. В этом направлении уже появляются первые свидетельства стимулирующе-

го влияния лазерного излучения на выработку клетками биологически активных веществ, например факторов роста. Так, под действием лазерного излучения фибробласты *in vitro* усиливают синтез полипептидного фактора — основного фактора роста фибробластов [37], который не только контролирует пролиферацию этого клеточного типа, но и служит митогеном и для шванновских клеток [35].

На наш взгляд, преимущество в плане стимулирующего влияния на регенерацию нерва излучения HeNe лазера по сравнению с излучением полупроводниковых лазеров ближнего инфракрасного диапазона, несмотря на его меньшую проникаемость, может быть связано с упоминавшимся выше специфическим стимулирующим влиянием излучения HeNe лазера на пролиферацию шванновских клеток, с особенностью влияния этого вида излучения на микроциркуляторное русло (см. ниже), а также с воздействием на активность другого клеточного элемента — макрофагов. Поведение последних имеет важное значение для темпов и эффективности течения дегенеративных процессов в поврежденном периферическом нерве, а следовательно, и для реализации последующего процесса регенерации нерва. В ходе уоллеровской дегенерации макрофаги устраняют остатки дистального участка нервного волокна, включая фрагменты миелина, который содержит факторы, тормозящие регенерацию. Кроме того, макрофаги оказывают влияние на шванновские клетки, поддерживая их в состоянии, наиболее адекватном состоянию активного роста нервного волокна. Так, цитокины (трансформирующий фактор роста  $\beta_1$ , фактор некроза опухоли  $\alpha$ , интерлейкин  $1\alpha$ ), вырабатываемые и секретируемые макрофагами, увеличивают экспрессию тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 в шванновских клетках и в самих макрофагах в области повреждения нерва [24]. Оказалось, что этот фактор существенно важен для обеспечения направленного роста аксонов в ходе регенерации нервных волокон. Тканевый ингибитор металлопротеиназ-1 защищает от деградации коллаген IV типа базальных мембран, расположенных вокруг шванновских клеток, и поддерживает их сохранность в дистальном отрезке поврежденного нерва.

Karu et al. [23] установили, что в первые минуты после воздействия на ткань HeNe лазером происходит активация фагоцитов. Высказано предположение, что излучение HeNe лазера может вызывать в фагоцитирующих клетках выделение активации форм кислорода ("дыхательный взрыв").

Выше мы рассмотрели возможные механизмы стимулирующего влияния лазерного облучения на рост нервных волокон, которые предполагают активацию микроциркуляции в нерве, увеличение активности шванновских клеток и макрофагов. Оказывает ли лазерное излучение прямое влияние на нейрон, непосредственное другими клеточными типами и сложными механизмами тканевой регуляции? В последнее время *in vitro* получены доказательства прямого стиму-

лирующего влияния излучения HeNe лазера на рост аксонов. При облучении HeNe лазером культуры клеток эмбрионального мозга крысы наряду с дозозависимым увеличением количества клеток вокруг клеточных агрегатов выявлено усиление роста и ветвления отростков нейронов [44].

В работе Сайткулова и др. [6] установлено стимулирующее влияние чрескожного облучения ИК-лазером (890 нм, 42 мДж/см<sup>2</sup>) области локализации перикарионов нейронов на восстановление чувствительной функции поврежденного нерва. Оценка проникаемости костной ткани позвонков крысы для лазеров с длиной волны 890 нм показала, что 2% энергии излучения проходит через кость и достигает мягких тканей, включая перикарионы нейронов. Восстановление чувствительной функции передавленного нерва происходит в облученной группе значительно быстрее, чем в контрольной, не получавшей лазерного облучения. В периоде ежедневных сеансов облучения (первая половина тридцатидневного послеоперационного периода) разница между контрольной и подопытной группами была наиболее очевидна. Так, на 7-е сутки на тыльной поверхности площадь полной чувствительности в подопытной группе на 118% превосходила этот показатель в контроле. На 13 и 15-е сутки (тестирование проводили по нечетным дням) разница была максимальной — соответственно 201% и 198%. Подобная картина наблюдалась и при изучении восстановления болевой чувствительности кожи на подошвенной поверхности — максимальная разница в 250% на 13-е сутки. Именно восстановление чувствительности является важным критерием оценки регенерации, поскольку около 80% миелиновых волокон в составе седлищного нерва представлены афферентными волокнами.

Восстановление двигательной функции нерва под действием лазерного излучения также несколько ускоряется. Показано, что в подопытной группе местная вестибулярная реакция, характеризующая функциональную активность двигательных волокон, появляется в среднем на двое суток раньше, чем в контроле. Тем не менее в проведенном эксперименте масса иннервируемой волокнами седлищного нерва камбаловидной мышцы в подопытной группе не отличалась от соответствующего показателя в контроле. Подобная ситуация отмечена и при использовании другого теста — подсчета количества регенерирующих миелиновых волокон. Отсутствие достоверных различий по числу миелиновых волокон и массе камбаловидной мышцы к этому сроку соответствует отсутствию функциональных различий между группами.

Таким образом, установлено преимущественное влияние лазерного излучения на афферентное звено. Такому, в определенной степени селективному, эффекту можно предложить следующее объяснение. Представляется вероятным, что в силу особенностей топографии чувствительных и двигательных нейронов реальная доза излучения, поглощенная этими двумя клеточными типами, различна. Двигательные нейроны локали-

зованы в передних рогах серого вещества спинного мозга и заэкранированы костной тканью позвонков, обладающей высокой способностью к поглощению и отражению. Как мы уже упоминали, лишь около 2% энергии излучения проникает через позвоночник взрослой крысы. Чувствительные нейроны, локализованные в спинальных ганглиях, очевидно, могли получить большую дозу по сравнению с дозой излучения, проникшего в позвоночный канал и воздействовавшего на мотонейроны спинного мозга.

Наконец, нельзя не упомянуть о микроциркуляторном русле как о возможном звене в ответе нервных волокон на облучение спинного мозга. Излучение с длиной волны 890 нм на протяжении 32 с (средняя выходная мощность — 0,01—0,5 мВт) приводит к небольшому увеличению скорости кровотока и улучшает рисунок сосудов венозного отдела микроциркуляторного русла. При увеличении продолжительности облучения до 4 минут 16 секунд наблюдаются значительное увеличение кровотока и гиперемия в посткапиллярно-венулярном отделе. Перечисленные выше эффекты лазера на микроциркуляцию кратковременны. Они развиваются в течение нескольких минут после начала облучения и исчезают вскоре после окончания сеанса.

Можно также полагать, что стимулирующее влияние облучения лазером с длиной волны 890 нм области перикарионов нейронов на восстановление кожной чувствительности связано с активацией синтетической активности нейронов и аксонного транспорта.

С использованием морфометрической техники исследованы структурные параметры нейронов дорсального рога спинного мозга кошки после облучения спинного мозга HeNe лазером (длина волны — 632,8 нм, плотность мощности — 30 мВт/см<sup>2</sup>, диаметр пятна — 34 мм, облучение однократное в течение 30 мин) [5]. Показаны уменьшение объема перикарионов, увеличение площади ядра и соответствующие изменения ядерно-цитоплазматического индекса (в среднем на 47%) после лазерного воздействия, что связывается с изменениями процессов клеточного метаболизма.

В опытах с травмой нерва воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения на сегменты спинного мозга, соответствующие этому нерву, не только способствует восстановлению электрических характеристик нервных проводников, но и усиливает их регенерацию [28].

Экспериментально изучено влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на трансплантаты в ЦНС. Так, при аллотрансплантации фрагментов эмбрионального головного мозга в головной мозг взрослых крыс и аллотрансплантации фрагментов спинного мозга у собак установлено, что чрескожное облучение HeNe лазером (16 мВт, 30 Дж/см<sup>2</sup> для крыс и 70 Дж/см<sup>2</sup> для собак) сдерживает образование глиального рубца между трансплантатом и нервной тканью хозяина и способствует формированию более густой капиллярной сети [31]. Оба эти фактора рассматриваются как безусловно благоприятствующие процессу приживления трансплантата в ЦНС.

Полученные в этих экспериментах результаты, касающиеся замедления процесса образования рубца, вступают, однако, в противоречие с результатами наблюдений из той же лаборатории о стимулирующем влиянии HeNe лазера на пролиферацию астроцитов и олигодендроцитов [32]. В то же время корреляция между упомянутым увеличением количества олигодендроцитов и усилением процесса миелинизации аксонов в ЦНС под действием низкоинтенсивного лазерного излучения представляется очевидной [31]. Что касается другого фактора, проявляющегося при облучении ткани мозга лазером и стимулирующего приживление трансплантата в ЦНС, — активации ангиогенеза и формирования при этом большего количества капилляров в трансплантате, то это предположение подтверждается данными об исключительном выживании нейронов лишь в васкуляризованных участках трансплантата, которые таким образом становятся связанными с общей системой капиллярного кровотока мозга [27].

Одним из подходов к проблеме лечения травмы спинного мозга является трансплантационная вставка из фрагмента периферического нерва. Установлено, что в этом случае аксоны нейронов мозга хозяина проникают на некоторое расстояние в трансплантат [16]. В экспериментах с использованием подобной вставки из седалищного нерва и последующим чрескожным облучением области трансплантата HeNe лазером, наряду с явным улучшением клинической картины, установлены значительное уменьшение деструкции на границе между трансплантатом и тканью спинного мозга, увеличение количества прорастающих в трансплантат нервных волокон и усиление процесса их миелинизации [31].

Для трансплантации в ЦНС используется фетальная мозговая ткань. Иммунологическая система новорожденных млекопитающих развита слабо, а уровень экспрессии поверхностных антигенов в незрелых клетках мозга более низок, чем в зрелом организме. Все это является причиной развития менее выраженных реакций отторжения трансплантата. Низкоинтенсивное лазерное излучение в больших дозах вызывает иммуносупрессивный ответ, что поддерживает процесс приживления трансплантата [31]. Из этих и некоторых других экспериментов следует, что оно дает два дозозависимых эффекта: 1) стимуляцию фотоактивируемых окислительных процессов в клетках, и соответственно усиление клеточного метаболизма в диапазоне доз от 0,2 Дж/см<sup>2</sup> до 10 Дж/см<sup>2</sup>; 2) возможное специфическое подавление иммунной реакции в дозах от 30 Дж/см<sup>2</sup> до 70 Дж/см<sup>2</sup>, что также может использоваться в различных областях трансплантации органов. Оба эффекта способствуют достижению успешной регенерации в головном и спинном мозге.

Зрительный нерв — также нерегенерирующая часть ЦНС. Двухнедельное облучение низкоинтенсивным лазером зрительного нерва крысы после умеренного калиброванного повреждения с относительным сохранением электрической активности тормозит развитие посттравматической дегенерации [11].

На модели передавленного зрительного нерва крысы детально изучено влияние лазерного излучения, которое замедляет течение дегенеративных процессов в нерве [33]. Использование различных режимов облучения показало, что по критерию поддержания максимальной амплитуды суммарного ПД ежедневное однократное 2—3-минутное воздействие на нерв излучения HeNe лазера (10,5 мВт) в течение 14 суток наиболее эффективно. Причем облучение, проведенное точчас перед повреждением нерва, оказывает более выраженное влияние, чем облучение сразу же после травмы. Облучение длительностью более 3 минут или дважды в день само по себе травматично для нерва. Некогерентный свет (904 нм) не влиял на темпы и выраженность процесса дегенерации в зрительном нерве.

В последнее время обсуждается другой перспективный эффект лазерного излучения — способность облегчать боли различной этиологии, в том числе хронические [39]. Механизм подобного анальгезирующего эффекта остается неясным. Результаты некоторых клинических и лабораторных исследований лазеропосредованной анальгезии можно объяснить с помощью нейрофармакологических данных. Большинство этих исследований показывает, что лазерное облучение периферических точек, обычно точек акупунктуры, может существенно изменить продукцию и метаболизм биологически активных веществ в нервной системе [15]. Представляется достаточно вероятным, что лазерное излучение влияет на проведение и восприятие боли на разных уровнях.

Болевые импульсы распространяются от специфических болевых рецепторов (ноцицепторов) по A $\delta$ -(тонкие безмиелиновые) и C-волокам (безмиелиновые). Они представляют собой периферические отростки чувствительных нейронов, перикарионы которых локализованы в спинномозговых узлах. Центральные отростки этих клеток заканчиваются на вставочных нейронах, выделяя в синаптическую щель основной медиатор боли — вещество P. Были исследованы эффекты диодного лазера (830 нм, 40 мВт, 3 минуты, непрерывный режим) на импульсную активность чувствительных нейронов при раздражении периферических нервных окончаний различными стимулами. Электрическая активность нейронов, вызванная трением, ушибыванием, термическими стимулами и химическим раздражителем (0,1 мл терпентина подкожно), регистрировалась с задних корешков спинного мозга на уровне L $_5$  у крыс под уретановым наркозом. Облучение изолированного подкожного нерва значительно уменьшало электрические разряды, вызванные ушибыванием и термическим раздражителем. Импульсная активность нейронов, индуцированная трением, не являющимся болевым раздражителем, под действием лазерного излучения не менялась. Подкожные инъекции терпентина вызвали электрические разряды, которые в значительной мере ингибировались или полностью блокировались лазерным излучением. Результаты, полученные Tsuchiya et al. [36], свидетельствуют о селективном ингибировании лазером ноцицептивной нейрональной активности.

В генезе воспалительного боли большое значение играют, по-видимому, медиаторы воспаления — гистамин, простагландин E $_2$  и брадикинин. Последний повышает чувствительность ноцицепторов к PGE $_2$ . Наряду с анальгезирующим эффектом в ответ на экзогенные болевые раздражители установлено, что лазерное излучение может уменьшать гипералгезию в очаге острого воспаления. Nonmura et al. [20] показали подобное действие (GaAlAs лазера (780 нм, 31,8 Вт/см $^2$ , продолжительность одного сеанса облучения — 3 минуты, непрерывный режим) при облучении поверхности стопы у крыс после инъекций каррагена, используемого в эксперименте для индуцирования отека у подопытных животных. Два сеанса облучения, проведенные непосредственно до и после инъекции раздражителя, в среднем на 50% ингибировали наступление гипералгезии, сопровождающей прогрессирующую воспалительную реакцию. Такой эффект идентичен результату введения нестероидного противовоспалительного препарата индометацина в дозе 4 мг/кг, который обладает сильным обезболивающим действием. В другой группе гипералгезию удалось почти полностью устранить как минимум на 24 часа одним сеансом лазерного излучения, проведенным через 3 часа после инъекции каррагена. При этом развитии отека устранено не было. Этот эффект блокировался налоксоном на 50% в дозе 10 мг/кг внутривбрюшинно и полностью — в дозе 30 мг/кг. Полученные результаты позволяют предположить вовлечение и неких других механизмов, помимо опiatных, в анальгезирующее действие лазерного излучения.

В восприятии боли огромное значение имеет так называемый центральный компонент, представленный центральными ноцицептивными и антиноцицептивными механизмами (сенсорный компонент), а также эмоциональными реакциями (аффективный, психоэмоциональный компонент). Недавно было показано, что лазерное облучение ЦНС приводит к выраженным нейрохимическим изменениям в системах  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, серотонина и эндогенных опиоидов [13, 34]. Подобные исследования значительно отличаются друг от друга используемыми физическими параметрами (включая дозу) и временной динамикой эффектов. Тот факт, что с увеличением временного интервала между облучением и тестированием анальгезирующее действие уменьшается, также согласуется с гипотезой о непродолжительном лазериндуцированном высвобождении нейромедиаторов в мозге.

В настоящее время эффект плацебо связывают с кратковременным выбросом в мозге эндогенных опиоидов. В работе Heussler et al. [19] была предпринята попытка определить возможность лечения низкоинтенсивным лазерным излучением ревматоидного артрита суставов кисти. У женщин в активной стадии болезни облучали пястно-фаланговые и проксимальные межфаланговые суставы одной руки GaAlAs лазером (12 Дж/см $^2$ , 30 с, 12 сеансов за 4 нед), для другой руки имитировали лазерное излучение. При этом ни пациент, ни врач не могли отличить активное лече-

ние от имитации (метод двойного слепого контроля). У женщин регистрировали боль методом субъективных оценок (по аналоговой шкале), а также подвижность облучаемых суставов, гематологические и серологические показатели. 72% пациентов указали на облегчение боли, причем одинаковое на обеих руках. По другим клиническим и лабораторным показателям никаких эффектов лазерного излучения зарегистрировано не было. Ни пациенты, ни врачи не смогли определить, какая рука подвергалась реальному лазерному облучению. Следовательно, лазерное излучение не оказывало объективного влияния на пациентов, страдающих ревматоидным артритом. Аналгезия, достигнутая излучением, объясняется мощным эффектом плацебо.

Каковы же возможные механизмы воздействия лазерного излучения на биоткань? Эта проблема в той или иной мере затронута во всех фундаментальных работах по лазерной биологии и медицине [1, 2, 3, 22, 26].

На сегодня мы пока далеки от понимания тонких молекулярных механизмов действия лазерного излучения на нервную ткань. В этой области состояние знаний находится лишь на феноменологическом уровне. Действительно, описаны эффекты воздействия излучения в отношении электрогенеза, микроциркуляции, пролиферации ряда клеточных типов. Нельзя не отметить во многих случаях противоречивость полученных результатов. Возможно, поэтому интерес к исследованию этой проблемы остается невысоким, хотя и стабильным. Значительно менее ясна картина молекулярных механизмов действия лазерного излучения на клетки и внеклеточные структуры нервной ткани. Несмотря на то что общие принципы взаимодействия лазерного излучения с биотканью и лежащие в их основе первичные процессы фотобиологических реакций кажутся как будто понятными, существенного прогресса в понимании клеточных и субклеточных механизмов действия лазерного излучения на нервную ткань по любому из более или менее изученных феноменов практически нет.

Воздействующий на биологическую ткань свет поглощается фотоакцепторами клеток. В основе первичных процессов фотобиологических реакций лежит поглощение света молекулами веществ. Большинство таких веществ претерпевает дальнейшие фотохимические изменения. Другие вещества — акцепторы световой энергии, или фотосенсибилизаторы, как правило, не участвуют в химических превращениях и передают световую энергию другим молекулам. Эндogenous фотосенсибилизаторами служат естественные метаболиты — флавины, порфирины, билирубин и др.

В механизме действия низкоинтенсивного лазерного излучения на клетки имеют место два пути воздействия. Во-первых, это внутриклеточные структуры, например митохондрии. В них под влиянием лазерного излучения установлено увеличение синтеза АТФ. По-видимому, это действие реализуется через влияние излучения на дыхательную цепь, элементами которой являются первичные фотоакцепторы. В то же время митохондрии служат депо ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , второго посредни-

ка, контролирующего реализацию многих внутриклеточных событий. Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  локализованы преимущественно в участках митохондрий с повышенной концентрацией каротиноидов в мембранах. Существует предположение, что при поглощении света каротиноидами в митохондриальных мембранах повышается проницаемость для ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , вследствие этого возрастает концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле. Одним из многочисленных следствий данного процесса является усиление секреции биологически активных веществ, в том числе факторов роста, стимулирующих пролиферацию различных клеточных типов в тканях.

Многочисленными исследованиями установлено, что излучение различных лазеров, в том числе и HeNe лазера [25], вызывает в клетках появление синглетного кислорода ( $^1\text{O}_2$ ). Предполагается, что излучение лазера поглощается эндогенными порфиринами, которые имеют максимум поглощения при 360 нм и 4 дополнительные полосы поглощения меньшей интенсивности при 502, 540, 560 и 630 нм. Возможно, именно поэтому наиболее выраженное увеличение пролиферативной активности фибробластов *in vitro* наблюдается при облучении культуры этих клеток лазером с длиной волны в 360 нм [31].  $^1\text{O}_2$  обладает выраженной деструктивной активностью. В небольших количествах  $^1\text{O}_2$  может оказывать существенное влияние на активность ряда биохимических циклов и выполнять роль биостимулятора [21] и фактора роста [18]. Будучи мощным окислителем,  $^1\text{O}_2$  стимулирует в митохондриях активность дыхательной цепи, хемиосмос и выход  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму, что оказывает стимулирующее влияние на пролиферацию клеток. Возможно также, что видимый свет поглощается цитохромами дыхательной цепи митохондрий [22], которые имеют близкий к порфиринам спектр поглощения, но в отличие от порфиринов — дополнительно две слабые полосы поглощения при 780 и 830 нм, с чем может быть связано упомянутое выше стимулирующее влияние излучения 780 нм на пролиферацию фибробластов *in vitro* [31].

Наряду с внутриклеточными структурами важной точкой приложения энергии лазерного излучения, действующего на клетку, служит клеточная мембрана. Разнообразие ответов клетки на лазерное излучение легче всего объяснить, имея в виду именно этот путь воздействия. По схеме Сонга, световая энергия возбуждает первичный фотоакцептор, связанный с белком, встроенным в мембрану клетки. Возбужденная светом хромофорная группа фотоакцептора передает энергию электронного возбуждения связанному с ней белку. При этом тепло, возникающее при биоизлучательных переходах, вызывает локальный нагрев молекул фотоакцепторов и их реорганизацию. В ходе этого процесса фотоакцептор проходит ряд промежуточных релаксационных состояний, которые способствуют возникновению конформационных изменений белковых молекул с последующим изменением мембранного потенциала и аффинности мембранных рецепторов.

При оценке влияния лазерного излучения на морфофункциональные свойства нервных во-

лдокон можно допустить, что наблюдаемые изменения являются вторичными и следуют за улучшением микроциркуляции регенерирующего нерва вследствие облучения. К сожалению, специальных исследований, посвященных изучению состояния микроциркуляторного русла в нервном стволе после лазерного облучения, практически нет, но имеются многочисленные результаты разносторонних исследований, специально посвященных проблеме влияния лазерного излучения на состояние сосудистой системы в тканях и органах. Этими экспериментальными исследованиями установлено повышение интенсивности микроциркуляции после лазерного воздействия [3]. При различных формах нарушения микроциркуляции получены положительные результаты использования лазерной биостимуляции: повышение уровня капиллярного кровотока, нормализация проницаемости сосудистой стенки, уменьшение отека интерстиция, нормализация тромбообразующей активности крови, снижение вазоспастических реакций, улучшение показателей внутрисосудистой агрегации эритроцитов. В основе биостимулирующего влияния на микроциркуляцию низкоинтенсивного лазерного излучения красной и ближней ИК-спектральных областей лежат два процесса: собственно активация микроциркуляции и стимуляция ангиогенеза. Причиной усиления кровотока в тканях служит расширение артериол, в кровоток включаются дополнительные капилляры из числа резервных. В этом случае повышается уровень метаболических процессов в клетках, что, в свою очередь, по мнению Козлова и др. [3], ведет к повышению температуры внутри органов. Причем при сравнении результатов воздействия HeNe и полупроводникового лазера сделан вывод о том, что излучение HeNe лазера вызывает выраженные изменения в интенсивности кровотока во всех звеньях микроциркуляторного русла, а облучение полупроводниковым лазером ведет к значительной гиперемии в посткапиллярно-венулярном отделе микроциркуляторного русла [3].

Многочисленными исследованиями установлено, что лазерное облучение ткани в различных режимах (длина волны, доза, характер и периодичность облучения) влияет на активность многих ферментов [1, 3]. В случае нейронов при наличии явного эффекта воздействия на них лазерного излучения следует ожидать активацию в клеточных мембранах  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы и усиление работы ионных насосов [31].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Байбеков И.М., Касымов А.Х. и др. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии. — Ташкент, 1991.
2. Девятков Н.Д., Зубкова С.М., Лапурин И.Б., Маеква Н.С.//Успехи совр. биол. — 1987. — № 1. — С. 31—43.
3. Козлов В.И., Буйлин В.А. и др. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. — Самара, 1993.
4. Рахмиев А.Р.//Арх. анат. гистол. и эмбриол. — 1976. — Т. 70. — С. 5—13.
5. Русаков Д.А., Клеринг П.Г., Саичи В.И.//Нейрофизиология. — 1987. — № 6. — С. 844—847.
6. Сайткулов К.И., Шаймарданова Г.Ф., Чельшев Ю.А.//Росс. морфол. вед. — 1997. — № 1. — С. 129—134.
7. Самко Ю.Н., Богомоллов В.И.//Биофизика. — 1988. — Т. 33. — С. 525—527.

8. Чельшев Ю.А.//Успехи физиол. наук. — 1995. — № 3. — С. 57—77.
9. Чельшев Ю.А., Кубицкий А.А.//Росс. морфол. вед. — 1995. — № 1. — С. 65—68.
10. Чельшев Ю.А., Кубицкий А.А., Плаксейчук А.Ю.//Морфология. — 1996. — № 5. — С. 47—50.
11. Assia E., Rosner H., Belkin M. et al.//Brain Res. — 1989. — Vol. 9. — P. 205—212.
12. Belkin M., Schwartz M.//Neurosurg. Rev. — 1994. — Vol. 17. — P. 7—17.
13. Cassone M.C., Lombard A., Rossetti V., Urcioli R., Rolfo P.M.//J. Photochem. Photobiol. B: Biol. — 1993. — Vol. 18. — P. 291—294.
14. Chelyshev Yu. A., Kubitsky A.A.//Lasers in Med. Sci. — 1995. — Vol. 10. — P. 273—277.
15. Choi J.J., Srikantha K., Whu W.H.//Acupunct. Electrother. res. — 1986. — Vol. 11. — P. 45—51.
16. David S., Aguayo A.J.//J. Neurocytol. — 1985. — Vol. 72. — P. 698—707.
17. Elias Z., Powers S.K., Bullitt E.//Appl. Neurophysiol. — 1988. — Vol. 51. — P. 255—263.
18. Friedmann H., Lubart R., Laulich I., Rochkind S.//Photochem. Photobiol. — 1991. — Vol. 11. — P. 87—91.
19. Heussler J.K. et al.//Ann. Phum. Dis. — 1993. — Vol. 52. — P. 703—706.
20. Hornmura A. et al.//Lasers Surg. Med. — 1993. — Vol. 13. — P. 463—469.
21. Kanofsky R.//Chem. Biol. Interact. — 1989. — Vol. 70. — P. 1—28.
22. Karu T.I.//J. of Quant. Electr. — 1987. — Vol. 23. — P. 1703—1717.
23. Karu T.I.//Laser Life Sci. — 1988. — Vol. 2. — P. 53—74.
24. Lafleur M., Underwood J.L., Rappolee D.A., Werb Z.//J. Exp. Med. — 1996. — Vol. 184. — P. 2311—2326.
25. Lubart R., Malik Z., Rochkind S., Fisher T.//Laser Ther. — 1990. — Vol. 2. — P. 65—68.
26. Ohshira T., Calderhead R.G. Low level laser therapy: a practical introduction. Chichester—N.-Y.: John Wiley and Sons, 1988.
27. Raisman G., Lawrence J.M., Zhou C.F., Lind-say R.M. In.: Bjorklund A., Steven I. (eds) Neural Grafting in the Mammalian CNS.—N.-Y.: Elsevier, 1985.
28. Rochkind S., Barnea L. et al.//Acta Neurochir. — 1988. — Vol. 43. — P. 91—93.
29. Rochkind S., Barnea L. et al.//Neurosurgery. — 1987. — Vol. 20. — P. 843—847.
30. Rochkind S., Nissan M., Razon N. et al.//Acta Neurochir. — 1986. — Vol. 83. — P. 125—130.
31. Rochkind S., Ouaknine G.E.//Neurological Research. — 1992. — Vol. 14. — P. 11.
32. Rochkind S., Volger J., Barnea L.//Spine. — 1990. — Vol. 15. — P. 6—10.
33. Rosner M., Caplan M. et al.//Lasers Surg. Med. — 1993. — Vol. 13. — P. 611—617.
34. Rossetti V., Lombard A., Urcioli R., Cassone M.C., Rolfo P.M.//Laser Technol. — 1992. — Vol. 2. — P. 62—73.
35. Schubert D.//J. Neurobiol. — 1992. — Vol. 23. — P. 143—148.
36. Tsuchiya K., Kawatani M., Takeshige C. et al.//Brain Res. Bull. — 1994. — Vol. 34. — P. 369—374.
37. Yu W., Naim J.O., Lanzafame R.J.//Photochem. Photobiol. — 1994. — Vol. 59. — P. 167—170.
38. Van Bruegel H.H., Bar P.R.//J. Neurocytol. — 1993. — Vol. 22. — P. 185—190.
39. Walker J.//Neurosci. Lett. — 1983. — Vol. 43. — P. 339—344.
40. Wesselmann U., Kerns J.M., Rymer W.Z.//Exper. Neurol. — 1994. — Vol. 129. — P. 257—265.
41. Wesselmann U., Lin S.-F., Rymer W.Z.//Physiol. Chem. Phys. Med. NMR. — 1991. — Vol. 23. — P. 67—80.
42. Wesselmann U., Lin S.-F., Rymer W.Z.//Physiol. Chem. Phys. Med. NMR. — 1991. — Vol. 23. — P. 81—100.
43. Wesselmann U., Rumer W.Z.//Exp. Neurol. — 1993. — Vol. 119. — P. 147—152.
44. Wollman Y., Rochkind S., Simantov R.//Neurol. Res. — 1996. — Vol. 18. — P. 467—470.