

УДК 535.21:615.847: 577.3

ШИРОКОПОЛОСНЫЙ КРАСНЫЙ СВЕТ И ЛАЗЕРНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО КОМПЕНСАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

© 2010 г.

*В.А. Монич, С.Л. Малиновская, Е.А. Баймуратов,
Т.И. Соловьева, Е.И. Яковлева, М.В. Рахчеева*

Нижегородская государственная медицинская академия

vam@gma.nnov.ru

Поступила в редакцию 13.04.2010

Изучено влияние низкоинтенсивного видимого света различных диапазонов на функциональную активность сердечно-сосудистой системы крыс после моделирования ишемии миокарда *in situ*. Подводимый с помощью световодов красный свет модифицировал параметры электрической активности сердца и активность процессов перекисного окисления липидов в тканях миокарда. Наблюдались существенные отличия эффектов лазерного и широкополосного света.

Ключевые слова: широкополосный свет, лазер, ишемизированное сердце, перекисное окисление липидов, морфология.

Введение

Низкоинтенсивный красный свет способен оказывать влияние на сократительную активность изолированного сердца после ишемии [1]. При этом действие красного широкополосного света оказывается не менее значимым, чем излучение гелий-неонового лазера той же интенсивности. Одним из ключевых механизмов данных эффектов является световая регуляция процессов перекисного окисления липидов. Известно, что ишемическая болезнь сердца (ИБС) сопровождается увеличением активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях миокарда [2, 3]. Это провоцирует повреждение мембран кардиомиоцитов и обострение последствий ИБС. Одним из индикаторов данных процессов является накопление молекулярных продуктов перекисного окисления липидов [4–6]. Эксперименты, проведенные на изолированных сердцах крыс при моделировании тотальной ишемии, показали двухкратное снижение диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в тканях миокарда, обусловленное облучением изолированного сердца светом гелий-неонового лазера и широкополосным красным светом [7].

В данной работе проведено изучение активности процессов ПОЛ в тканях миокарда, а также электрической активности открытого сердца крыс при моделировании ишемии миокарда.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на самцах беспородных белых крыс массой 250–280 г. Животных наркотизировали раствором нембутала в дозе 50 мг/кг внутримышечно. После трахеотомии животное подключалось к аппарату искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ). По центральной линии груди осуществлялся разрез кожи, вскрывалась грудная клетка и затем – перикард. Моделирование ишемии осуществлялось путём окклюзии левой коронарной артерии. Под левым ушком сердца накладывалась лигатура на левую ветвь венечной артерии. Перетяжка осуществлялась в течение 5 минут. В результате развивалась острая ишемия. Животные были разделены на две опытные группы и две контрольные. В одной из опытных групп производилось воздействие на область синоатриального узла светом лазера, а в другой – широкополосным светом. Световое облучение в опытных группах начиналось сразу после снятия лигатуры и продолжалось 10 минут. В обеих контрольных группах производилось вскрытие грудной клетки по методике, описанной выше. В первой контрольной группе проводилось ложное облучение сердца без моделирования ишемии животных, во второй контрольной группе – ложное облучение после моделирования ишемии миокарда. Запись ЭКГ выполнялась с помощью кардиографа «Полиграф», включенного в линию с ЭВМ. Анализ произво-

Таблица 1

Активность СОД, содержание диеновых и триеновых конъюгатов, малонового диальдегида в миокарде крыс в контрольных и опытных группах после моделирования ишемии и десяти минут реперфузии*

Условия опыта	Активность СОД, у.е./мг тк.	ДК, опт. пл/мг ОЛ** г тк.	ТК, опт. пл/мг ОЛ** г тк.	МДА, опт. пл/мг ОЛ** г тк.
Первая контрольная группа (моделирования ишемии миокарда не производилось)	21.86±0.71	0.49±0.05	0.19±0.03	2.40±0.12
Вторая контрольная группа (моделирование ишемии миокарда)	16.75±0.93	0.58±0.08	0.18±0.03	3.09±0.13
Первая опытная группа (облучение миокарда НИЛИ)	13.06±0.81	0.49±0.04	0.21±0.03	2.43±0.09
Вторая опытная группа (облучение миокарда ШКС)	18.96±0.62	0.43±0.02	0.17±0.02	2.67±0.20

* Доверительные интервалы определены для уровня значимости $p \leq 0.05$;

** ОЛ – общие липиды.

дился с помощью компьютерной программы «Полиспектр». Источниками света являлись гелий-неоновый лазер ЛГ-13 и люминесцентный оптоволоконный аппарат собственной разработки [8]. Длина волны в максимуме спектра люминесцентного излучения составляла 640 нм, ширина спектра излучения 70 нм. Диаметр светового пятна составлял 3 мм. Интенсивность излучения в зоне засветки 5 мВт/см².

Уровень процессов перекисного окисления липидов оценивался по содержанию в тканях миокарда молекулярных продуктов перекисаации: диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов (ТК) и малонового диальдегида [9]. Состояние антиоксидантной защиты клеток определялось по активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) [10].

Эксперименты были проведены на 91 животном, из них 23 входили в I контрольную группу (ложное облучение без ишемии), 22 – во II контрольную группу (ишемия + ложное облучение), 21 – в первую опытную группу, получавшую воздействие низкоинтенсивным излучением лазера (НИЛИ) и 25 – во вторую опытную группу, облучавшуюся широкополосным красным светом (ШКС).

Для электронно-микроскопического исследования брали образцы ткани из левого желудочка в области сосочковых мышц. Методика приготовления образцов соответствовала описанной ранее [9]. Просмотр проводили на электронном микроскопе *Morgagni 268D* фирмы *FEI*. Морфометрические измерения осуществляли с помощью программы «*AnalySIS*». Статистический анализ полученных результатов проводили стандартными методами с использованием программы «*Stadia*».

Достоверность различий между значениями сравниваемых групп определяли с использованием *t*-критерия Стьюдента. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони [11].

Результаты и их обсуждение

Облучение миокарда как лазерным, так и широкополосным светом снижало уровень продуктов перекисного окисления в тканях миокарда (табл. 1). Исключение составили данные по триеновым конъюгатам для группы, обработанной лазерным светом. Более эффективное снижение уровня первичных продуктов ПОЛ выявлено в группе, облученной ШКС. В группе, экспонировавшейся ШКС, оно составило 26% по отношению к контрольным образцам, а в группе, подвергавшейся действию лазерного излучения, 16%.

Снижение уровня молекулярных продуктов ПОЛ может быть обусловлено фотохимическими процессами, связанными с повышением активности СОД в тканях сердечной мышцы. Этот фермент является одной из важных компонент ферментативного звена системы антиперекисной защиты клеток. При этом СОД имеет полосу поглощения в диапазоне красного света [12, 13]. Проведённые в данной работе измерения показали, что ШКС повышает активность супероксиддисмутазы в тканях миокарда, тогда как лазерное излучение вызывает противоположный эффект (табл. 1).

Таким образом, опыты показали возможности компенсации последствий ишемии путём облучения миокарда низкоинтенсивным красным светом.

Таблица 2

Эффекты воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения на морфометрические показатели миокарда крыс после моделирования ишемии

Условия опыта	Диаметр капилляра, мкм	Длина саркомера, мкм	Площадь митохондрий, мкм ²	Площадь СПР, мкм ²
Интактные животные	2.94±0.47	1.68±0.08	0.49±0.06	0.02±0.003
Контроль (ложное облучение)	1.34±0.58	1.64±0.08	0.59±0.03	0.05±0.01
Первая опытная группа (облучение миокарда НИЛИ)	2.52±0.44*	1.54±0.05	0.82±0.03*	0.13±0.04*
Вторая опытная группа (облучение миокарда ШКС)	3.12±0.36*	1.55±0.05	0.63±0.02	0.06±0.01

* Доверительные интервалы определены для уровня значимости $p = 0.05$ по отношению к контрольной группе.

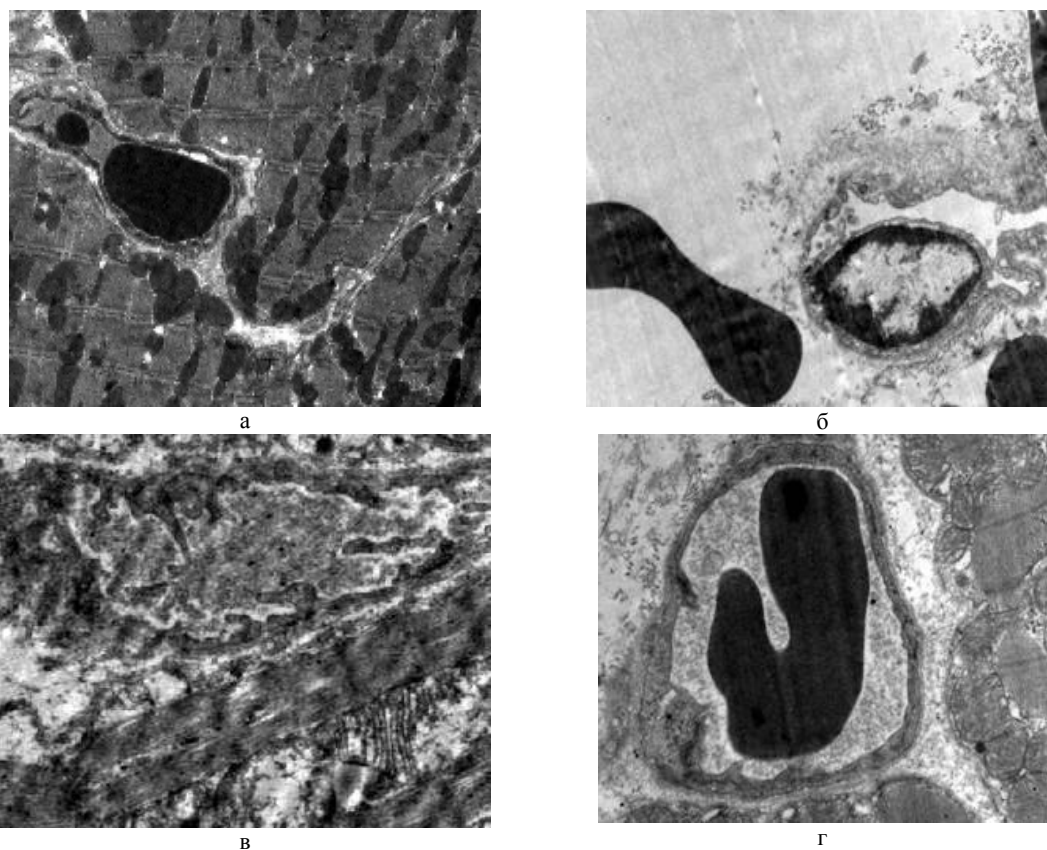


Рис. 1. Капилляры миокарда белых крыс: а – интактного животного ($\times 5600$); б – отёк эндотелия капилляра, кровоизлияние в контрольной серии ($\times 8900$); в – после воздействия НИЛИ ($\times 9000$); г – после воздействия ШКС ($\times 11000$)

Электронно-микроскопические исследования показали, что у животных контрольной серии большинство капилляров было со сниженным содержанием осьmioфильного аморфного материала (рис. 1б) по сравнению с интактными животными (рис. 1а). В отдельных сосудах наблюдались агрегации эритроцитов, тени эритроцитов и лейкостаз. Эндотелиальный слой был везикулярный или истонченный с наличием длинных выростов, выступающих в просвет сосуда, местами осьmioфильный. Имело место

набухание базального слоя. Интерстициально обнаружены эритроциты, митохондрии кардиомиоцитов, мембранные структуры. Кардиомиоциты в большинстве своём находились в состоянии сокращения, в то же время имелись участки дилатации в субсарколемальной области, очаговый лизис миофибрилл и участки пересокращения (рис. 2б). Ядра большей частью были без ядрышек, имели небольшие инвагинации и маргинацию хроматина. Отмечалась гетерогенность митохондрий – выраженная гипер-

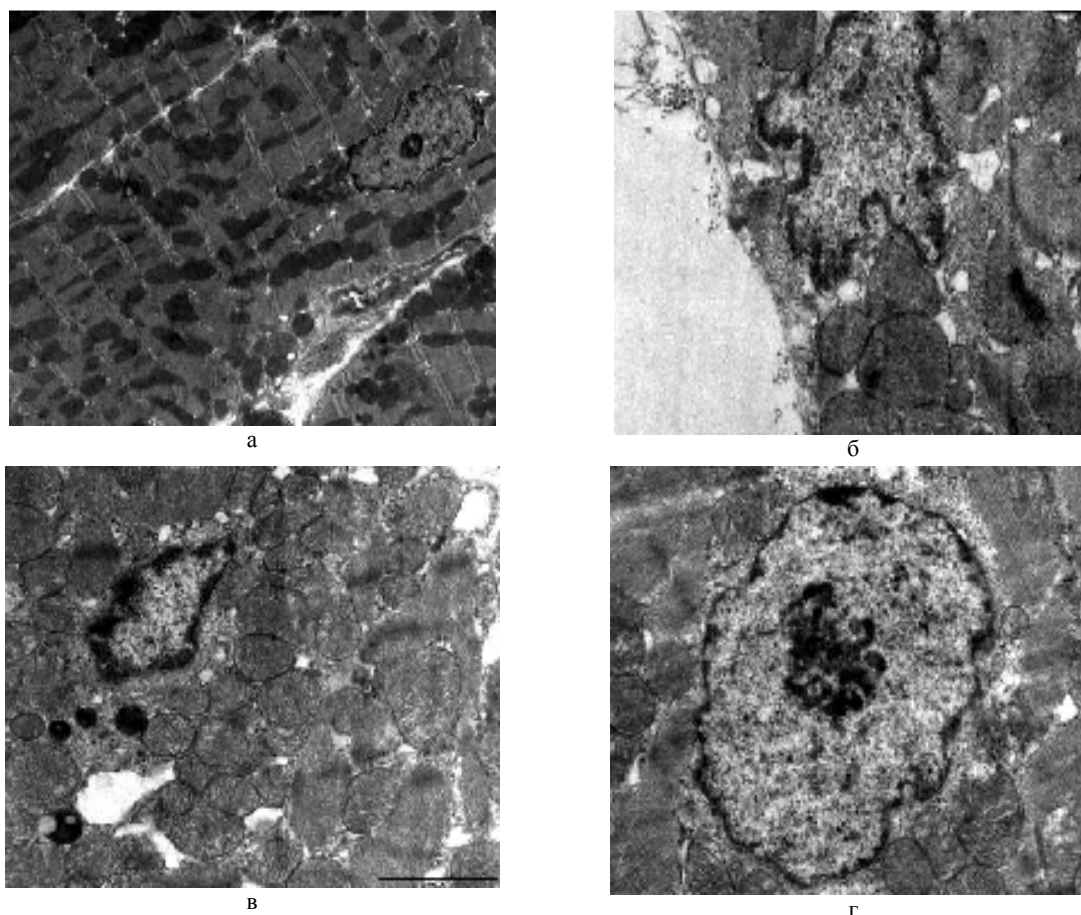


Рис. 2. Ультраструктура кардиомиоцитов белых крыс: а – intactных животных ($\times 4400$); б – контрольной серии ($\times 4400$); в – после воздействия НИЛИ ($\times 11000$); г – после воздействия ШКС ($\times 8900$)

плазия и отдельные гипертрофированные формы. Митохондрии находились в состоянии набухания, с деструкцией и дезориентацией крист, просветлением матрикса и нередко нарушением наружной мембраны. Саркоплазматический ретикулум (СПР) был расширен. В саркоплазме обнаружены липидные включения, вторичные лизосомы.

При воздействии НИЛИ на крыс нарушалась структура эндотелиального слоя (наличие длинных микровыростов в просвете сосудов, микроклязматоз) и наблюдалось уменьшение диаметра просветов капилляров (рис. 1в). В кардиомиоцитах крыс, облученных НИЛИ, были более выражены деструктивные изменения митохондрий и СПР (рис. 2в), чем в тканях, обработанных ШКС. В кардиомиоцитах тканей, облученных НИЛИ, обнаружено сокращение миофибрилл с гиперплазией мелких митохондрий. Матрикс митохондрий был просветлен, в нем выявлялись аморфные и внутрикристные электронноплотные включения. Статистически достоверно установлено значительное увеличение площади СПР (в 6.5 раз по отношению к

интактным образцам и в 2.6 раза по отношению к контрольным). Полученные данные можно интерпретировать как свидетельство влияния низкоинтенсивного лазерного света на субклеточные структуры. Изменение объема СПР может свидетельствовать также об изменениях процессов транспорта Ca^{2+} в мембранах кардиомиоцитов и хода процессов мышечного сокращения, что, в свою очередь, способно вызывать изменение параметров сократимости сердца.

Облучение открытого сердца ШКС вызывало несколько иные эффекты. После облучения ШКС диаметр капилляров восстанавливался к 5-й минуте воздействия и не уменьшался даже в течение 60-минутного облучения (рис. 1г). Не обнаружено внутриклеточного отека кардиомиоцитов (рис. 2г). Средняя площадь СПР восстанавливалась до уровня, наблюдавшегося в контрольных образцах. Отмечалась гетерогенность митохондрий.

Представляется интересным также сравнительное рассмотрение патоморфологии митохондрий при воздействии на открытое сердце

различными электромагнитными излучениями. В тканях, облученных ШКС, митохондрии имеют меньшую среднюю, по сравнению с контролем, площадь, увеличивающуюся, однако, в течение 60-минутного воздействия. Можно предположить, что при столь длительном воздействии ШКС митохондрии с сохранной структурой являются новообразованными. Новообразование митохондрий является репаративной реакцией клетки, выражением активации окислительных процессов [14]. Эффекты световой стимуляции на начальных стадиях связаны с воздействием света на редокс-цепи, в первую очередь на дыхательные цепи [15, 16]. Облучение приводит к ускорению переноса электронов в дыхательной цепи благодаря изменению компонентов редокс-цепи при фотовозбуждениях их электронных состояний [16, 17], а электронное возбуждение изменяет редокс-свойства поглощающих молекул [18].

Проведенные эксперименты убедительно свидетельствуют о перспективности клинического использования широкополосного красного света, который повышает активность антиоксидантной защиты и нормализует процессы ПОЛ, а также восстанавливает микроциркуляцию миокарда крыс *in situ* после экспериментальной ишемии.

Список литературы

1. Мониц В.А., Малиновская С.Л., Другова О.В., Мухина И.В. Низкоинтенсивный свет как физический фактор, регулирующий деятельность сердца в постишемическом периоде // Бюлл. эксп. биол. и мед. 1999. № 9. С. 302–304.
2. Меерсон Ф.З., Твердохлиб В.П., Боев В.М., Фролов В.А. Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике. М.: Наука, 1989. 70 с.
3. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 269 с.
4. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс // СПб.: Наука, 1992. 148 с.
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. М.: Наука, 2001. 78 с.
6. Bagchi D., Sen C.K., Ray S.D., Das D.K. et al. Molecular mechanism of cardioprotection by a novel drupe seed proanthocyanidin extract. *Mutation Research*. 2003. V. 523–524. P. 87–97.
7. Мониц В.А., Другова О.В., Житникова О.В. Эффекты воздействия красного света на постишемический миокард при реперфузии // Бюлл. эксп. биол. и мед. 2001. Т. 131. № 4. С. 325–326.
8. Мониц В.А., Мониц Е.А., Голиков В.М. // Патент РФ № 25007201. 1994.
9. Ланкин В.З., Герасимова Е.Н., Касаткин Л.Б., Тихазе А.К. и др. Пероксиды липидов и атеросклероз. Ферментативная детоксикация липидных пероксидов в крови при ишемической болезни сердца, обусловленной атеросклерозом коронарных артерий // Кардиология. 1979. № 19(6). С. 71–76.
10. Nishicimi M., Rao A., Yagi K. The occurrence of superoxide anion in reaction of reduced phenaxinemetasultate and molecular oxygen // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972. V. 146 (2). P. 849–854.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
12. Владимиров Ю.А., Осипов А.Н., Клебанов Г.И. Фотобиологические принципы применения лазерного излучения // Биохимия. 2004. № 1. С. 81–103.
13. Гацура С.В., Гладких С.П., Титов М.Н. Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на размеры экспериментального инфаркта миокарда, ПОЛ и сродство гемоглобина к кислороду // Бюлл. эксп. биол. и мед. 2004. № 4. С. 403–405.
14. Боголепов Н.Н. Ультраструктура мозга при гипоксии. М.: Медицина, 1979. 158 с.
15. Кару Т.Й. Молекулярный механизм лечебного действия низкоинтенсивного лазерного света // Докл. АН СССР. 1986. Т. 291(5). С. 463–466.
16. Karu T. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation // *Lasers Life Sci.* 1988. V. 2(1). P. 53–74.
17. Karu T. Photobiology of low-power laser effects // *Health Physics.* 1989. V. 56(5). P. 691–704.
18. Marcus R.A., Sutin N. Electron Transfers in chemistry and biology // *Biochem. Biophys. Acta.* 1985. V. 811. P. 265–322.

WIDEBAND RED LIGHT AND LASER RADIATION IN EXPERIMENTS TO COMPENSATE MYOCARDIAL ISCHEMIA CONSEQUENCES

V.A. Monich, S.L. Malinovskaya, E.A. Baimuratov, T.I. Solov'eva,
E.I. Yakovleva, M.V. Rakhcheeva

The impact of low-intensity visible light of various spectral bands on the activity of rat cardiovascular system was investigated after simulation of myocardial ischemia *in situ*. Fiber-delivered red light modified the parameters of the heart's electrical activity and the activity of lipid peroxidation processes in the myocardium tissues. A significant difference between the effects of laser light and wideband light was observed.

Keywords: wideband light, laser, ischemized heart, lipid peroxidation, morphology.