

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО КРАСНОГО СВЕТА ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ ПОСТАРИТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СЕРДЦЕ КРЫС

© 2022 г. О.В. Другова, А.П. Баврина, Н.В. Тиунова, В.В. Борзиков, С.Л. Малиновская

*Приволжский исследовательский медицинский университет,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1*

E-mail: olgadrugova@gmail.com

Поступила в редакцию 11.10.2021 г.

После доработки 24.12.2021 г.

Принята к публикации 07.04.2022 г.

Изучены изменения электрических характеристик сердца крыс, обусловленные адреналиновой аритмией и эффекты их модуляции низкоинтенсивным красным светом. Работали с тремя группами экспериментальных животных: в контрольной группе животных не подвергали никаким воздействиям, в опытных группах моделировали адреналиновую аритмию. В первой опытной группе регистрировали десятиминутную электрокардиограмму по истечении 5 мин после моделирования адреналиновой аритмии, во второй опытной группе электрокардиограмму регистрировали при одновременном облучении проекционной зоны сердца светом красного светодиода (650 нм, интенсивность излучения 5 мВт/см²). Сравнительный анализ вариабельности сердечного ритма после адреналинстимулируемой аритмии в двух опытных группах показал нормализацию красным светом моды и QT-интервала на фоне незначимо измененной частоты сердечных сокращений. Однако световое воздействие способствовало значительному снижению вариационного размаха; это позволяет предположить, что синоатриальный узел является наиболее чувствительной мишенью для красного света.

Ключевые слова: фотобиомодуляция, красный свет, аритмия, сердечный ритм.

DOI: 10.31857/S0006302922040135, EDN: IUAKZQ

В настоящее время светотерапия получила широкое применение в медицине. Фотобиомодуляция, или низкоуровневая лазерная терапия, показывает широкий спектр возможностей для коррекции многих патологий [1, 2]. В частности, ряд исследований свидетельствует о модуляции электрических характеристик кардиомиоцитов красным светом [3–7]. Преимущество терапевтического использования низкоэнергетического светового излучения в диапазоне видимого красного и ближнего инфракрасного света заключается в том, что оно достаточно глубоко проникает в ткань и не вызывает каких-либо повреждений. Однако первичные фотохимические и фотофизические превращения, вызванные поглощением световой энергии, до сих пор изучены крайне мало. К настоящему времени сформулировано несколько гипотез касательно первичного действия низкоуровневой лазерной терапии на организм.

Одной из общепризнанных является фотобиологическая концепция, суть которой состоит в существовании акцептора светового излучения, максимум поглощения которого совпадает с максимумом излучения источника. Дальнейшие эффекты, обусловленные активацией акцептора, связывают с инициацией новых сигнальных путей, характерных для прикладываемого излучения.

Большинство современных исследователей ключевую роль в изменении физиологического состояния облученных красным светом объектов отводят митохондриям [8]. Считается, что конечный элемент дыхательной цепи цитохром с-оксидаза способен поглощать излучение в красной области спектра и изменять работу электронтранспортной цепи, запуская тем самым каскад реакций, приводящих в первую очередь к изменению уровня АТФ. Изменения уровня АТФ могут существенно влиять на клеточный метаболизм, в том числе увеличивать возможности экзогенных и эндогенных АТФаз, что может отражаться на ионных токах [9]. Низкоинтенсивное излучение

Сокращения: ЭКГ — электрокардиограмма, Мо — мода, ЧСС — частота сердечных сокращений, ВР — вариационный размах, ВПР — вегетативный показатель ритма, СР — саркоплазматический ретикулум.

красного спектра способно активировать такие антиоксидантные системы клетки, как супероксиддисмутаза и каталаза, что, в свою очередь, также способствует более тесному сопряжению дыхания с фосфорилированием [10]. Неопровержимые доказательства в пользу активации антиоксидантных систем приведены в работах [11, 12]. В качестве первичных реакций рассматриваются также уменьшение количества NO, связанного в каталитическом центре цитохром *c*-оксидазы, и увеличение содержания активных форм кислорода [13]. Кроме того, было показано, что воздействие низкоэнергетическим излучением с длиной волны 650 и 808 нм способно вызывать повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в различных типах клеток [14–16]. В целом такие фотоиндуцированные колебания концентрации Ca^{2+} связываются с возможностью световой энергии специфически воздействовать на два основных пути регуляции концентрации Ca^{2+} , независимо от типа клеток: приток экзогенного Ca^{2+} в клетку и высвобождение эндогенного Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула [14, 16]. Показана возможность низкоинтенсивного красного света изменять некоторые электрофизиологические параметры. В частности, ряд исследований свидетельствует о модуляции электрических характеристик кардиомиоцитов красным светом [3–7].

Обобщением всего накопленного экспериментального материала являются три фотохимических механизма, сформулированные Ю.А. Владимировым: 1) фотодинамическое действие лазерного излучения; 2) фотоактивация супероксиддисмутазы; 3) фотолиз соединений, содержащих NO [17, 18]. С.В. Москвиным была предложена термодинамическая модель действия низкоуровневой лазерной терапии, согласно которой пусковым механизмом фотоиндуцированных эффектов не является фотобиологическая реакция как таковая. Основной причиной он рассматривает кратковременный локальный термодинамический градиент на мембране, приводящий к выходу ионов Ca^{2+} в цитозоль [10].

Учитывая имеющиеся к настоящему времени работы, свидетельствующие об изменении энергетического потенциала и мембранного потенциала клеток при фотобиомодуляции, мы предположили возможным обнаружить наличие подобных эффектов в сердце после аритмий, вызванных адреналином.

В данном исследовании анализировались изменения параметров электрокардиограммы (ЭКГ) сердца крыс, обусловленные адреналиновой аритмией и эффекты их модуляции низкоинтенсивным красным светом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самцах аутбредных наркотизированных (золетил 100, 35 мг/кг, внутривенно) белых крыс с массой тела 150–200 г. Животные случайным образом были распределены на три группы: контрольную ($n = 10$) и две опытные ($n = 40$). В контрольной группе животных не подвергали никаким воздействиям, в опытных группах моделировали адреналиновую аритмию путем введения в подвздошную вену 10%-го раствора адреналина гидрохлорида в количестве 0.15 мл. Регистрацию электрических параметров сердца осуществляли с помощью ветеринарного электрокардиографа «Поли-Спектр 8В» (ООО «Нейрософт», Иваново) в течение 10 мин. В первой опытной группе, условно названной «Аритмия» ($n = 25$) регистрировали ЭКГ по истечении 5 мин после моделирования адреналиновой аритмии (после прекращения желудочковых экстрасистол, вызванных адреналином), световое воздействие отсутствовало. Во второй опытной группе, условно названной «Красный свет» ($n = 15$) через 5 мин после введения адреналина проводили облучение проекционной зоны сердца светом красного светодиода (спектральный центр 650 нм), интенсивность излучения 5 мВт/см², плотность энергии 0.9 Дж/см², площадь светового воздействия 2 см². ЭКГ регистрировали при одновременном облучении по той же схеме.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программы SPSS Statistic v. 21. Соответствие опытных данных нормальному распределению проверяли по критерию Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в виде медианы (*Me*) и интерквартильного диапазона (25%; 75%). Так как не все экспериментальные группы удовлетворяли нормальному закону распределения, для оценки межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при значении уровня значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ ЭКГ крыс через 5 мин после внутривенного введения адреналина в обеих опытных группах не показал каких-либо изменений амплитудных характеристик относительно контрольных значений. Статистически значимые изменения были найдены только для временных показателей. Значения этих показателей приведены в таблице. Адреналиновая аритмия характеризовалась статистически значимым снижением интервала QT в сравнении с контролем. При этом было показано снижение M_o (наиболее часто встречающегося значения R-R-интервала). Это

Временные показатели ЭКГ крыс после адреналиновой аритмии

Группа	Показатель	Медиана	Межквартильный диапазон	
			25%	75%
Контроль, $n = 10$	ЧСС, уд/мин	380	332	407
	QT, мс	63.8	59.5	65.9
	Qtc, мс	155.8	136.9	172.2
	Mo, с	0.157	0.1485	0.1845
	BP	1.135	0.62275	2.3375
	ВПР	3.88	2.465	12.09
Аритмия, $n = 25$	ЧСС, уд/мин	399.5	316	425.5
	QT, мс	56 *	46.8	63
	Qtc, мс	150.7	108.6	163.8
	Mo, с	0.1355 *	0.129	0.15275
	BP	0.805	0.44375	2.635
	ВПР	8.805	3.45	17.575
Красный свет, $n = 15$	ЧСС, уд/мин	412.5	310.75	448
	QT, мс	66.7**	58.4	73.7
	Qtc, мс	181.8	149.7	209.3
	Mo, с	0.144	0.13375	0.2035
	BP	0.5495 *	0.36925	0.943
	ВПР	12.8 *, **	6.9825	19.975

Примечание. * — Статистически значимые отличия с контролем, $p < 0.05$; ** — статистически значимые отличия с аритмией, $p < 0.05$.

может свидетельствовать о сдвиге сердечного ритма в область тахикардии, однако статистически значимых отклонений частоты сердечных сокращений (ЧСС) от контрольных значений не показано ни в одной из опытных групп (рис. 1).

Световое воздействие, в свою очередь, способствовало нормализации как QT-интервала, так и

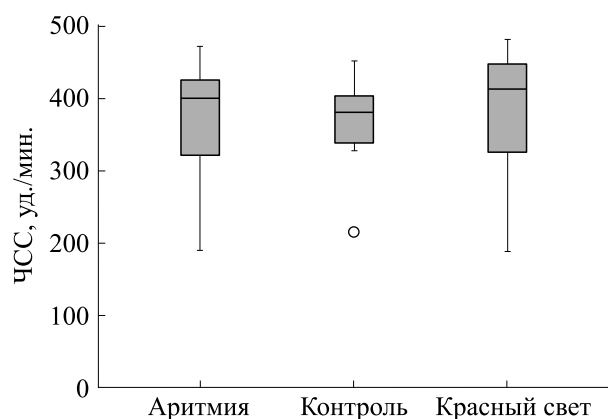


Рис. 1. Изменение ЧСС после адреналиновой аритмии.

Mo (рис. 2 и 3). Показательные различия в случае облучения зоны сердца красным светом относятся к характеристикам вариабельности сердечного

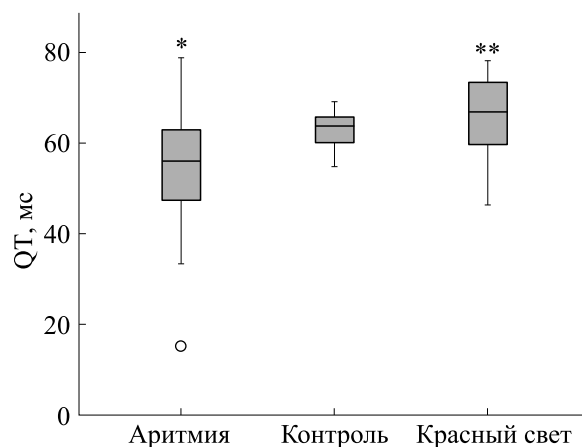


Рис. 2. Изменение QT-интервала после адреналиновой аритмии; * — статистически значимые отличия с контролем, $p < 0.05$; ** — статистически значимые отличия с аритмией, $p < 0.05$.

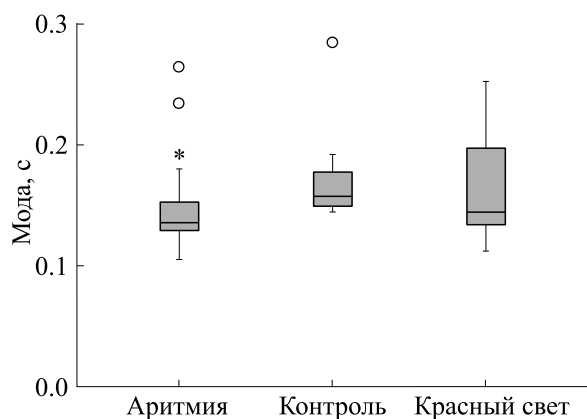


Рис. 3. Изменение моды после адреналиновой аритмии; * — статистически значимые отличия с контролем, $p < 0.05$.

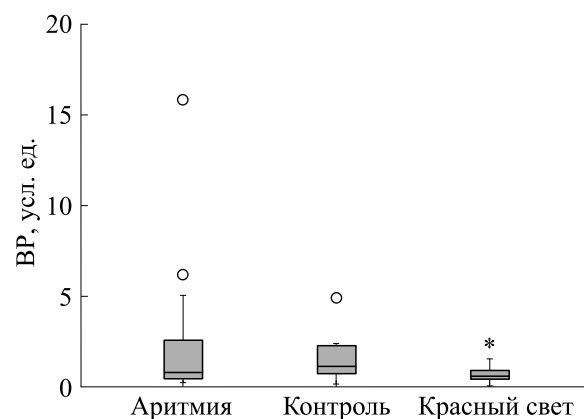


Рис. 4. Изменение ВР после адреналиновой аритмии; * — статистически значимые отличия с контролем, $p < 0.05$.

ритма. Так, было установлено значимое снижение такого показателя, как вариационный размах (ВР) (рис. 4). ВР характеризует разность между максимальным и минимальным R-R-интервалами, соответственно, это значение свидетельствует о вариативности сердечного ритма. Один из показателей оценки вегетативной регуляции, а именно вегетативный показатель ритма, $ВПР = 1/(Мо \cdot ВР)$ показал статистически значимое повышение в опыте, где проводился сеанс воздействия красным светом (рис. 5). В первой опытной группе, где световое воздействие было ложным, хотя и наблюдается увеличение этого показателя, но оно статистически не значимо. Предположительно, обусловленное светом повышение ВПР объясняется значительным снижением в ходе облучения ВР. Так как ВР стремится сузиться в результате приложения световой энергии, можно говорить о мягком управляющем воздействии красного света на основной водитель ритма (синоатриальный узел). Как известно [19], автоматизм синоатриального узла определяется характером фазы медленной диастолической деполяризации, скорость которой может быть значительно изменена внешними факторами.

В нашем случае в качестве первого внешнего фактора выступает адреналиновая стимуляция симпатического отдела вегетативной нервной системы в первой и второй опытных группах. Активация β -адренорецепторов в пейсмекерных клетках через цАМФ-путь увеличивает входящий не-селективный $Na^+ - K^+$ -ток, характеризующий фазу медленной диастолической деполяризации (I_f -ток), а также время открытого состояния Ca^{2+} -каналов L-типа, что приводит к повышению скорости деполяризации, т. е. к положительному хронотропному эффекту [20, 21]. Через 5 мин после введения адреналина ЧСС значимо

не отличается от нормы, значит можно говорить о нивелировании описанных реакций. Во второй опытной группе через 5 мин после адреналинового фактора воздействия подается второй внешний фактор — красный свет, который, как видно из результатов исследования, никак не влияет на ЧСС, однако значительно ограничивает вариативность сердечного ритма.

Опираясь на описанные в литературе данные о возможности красного света повышать внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , логично предположить влияние светового излучения на медленные Ca^{2+} токи Т- и L-типа. Очевидно, что I_f -токи не чувствительны к фотовоздействию, так как ЧСС не отличается от контрольных значений на фоне «жесткого» ритма, что свидетельствует о том, что фаза медленной диастолической деполяризации, скорость которой определяется этим то-

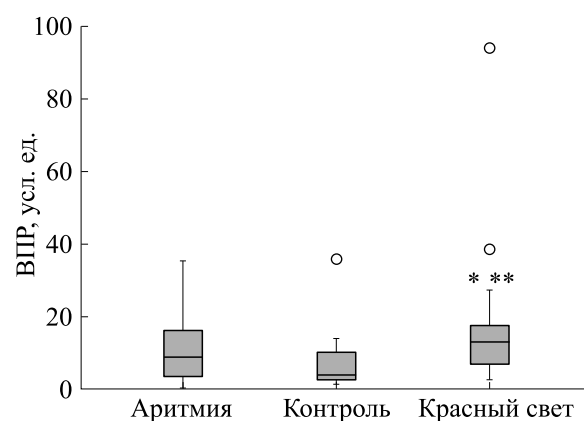


Рис. 5. Изменение ВПР после адреналиновой аритмии; * — статистически значимые отличия с контролем, $p < 0.05$; ** — статистически значимые отличия с аритмией, $p < 0.05$.

ком, не претерпевает значимых изменений. Вероятнее всего, свет способствует установлению особого устойчивого колебательного режима в системе, известной как «Ca-induced, Ca-release», которая представляет собой взаимодействие мембранного входящего Ca^{2+} -тока и Ca^{2+} -осциллятора, обеспечивающего пополнение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикула (CP) (Ca^{2+} -clock). Центральным звеном этой системы можно рассматривать крупное депо Ca^{2+} -CP. RYR-рецепторы (Ca^{2+} -каналы саркоплазматического ретикула) чувствительны к изменениям концентрации внутриклеточного Ca^{2+} и открываются только при превышении ее порогового значения. Адренергическая и холинергическая стимуляция могут регулировать работу Ca^{2+} -clock через цАМФ-пути управления скоростью обратного захвата Ca^{2+} через Ca^{2+} -АТФазы CP (SERCA) [19]. Логично предположить существование подобного адреналин-холинергическому эффекту регуляции эффекта «мягкого управления» Ca^{2+} -осциллятора красным светом. Кроме того, световое воздействие, возможно, активирует $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -насосы, являющиеся системами мембранного тока, повышающего внутриклеточный заряд. Нельзя не учитывать и активность store-operated Ca^{2+} -каналов на поверхности клеточных мембран. Скорее всего, красный свет, подстраивая «Ca-induced, Ca-release»-систему под регулярный колебательный режим функционирования, способен снижать вариабельность ритма, не изменяя при этом ЧСС.

Таким образом, основные выявленные в исследовании эффекты модуляции электрических характеристик сердца красным светом обусловлены, вероятнее всего, изменением Ca^{2+} -динамики кардиомиоцитов.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие красного света после аритмии способно нормализовать продолжительность QT интервала и значение Mo .
2. Синоатриальный узел, в пейсмекерной активности которого важную роль играют Ca^{2+} -токи, предположительно является наиболее чувствительной к красному свету мишенью.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (РК 208.094.01 121130100281-9).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с животными проводили в соответствии с нормативами, указанными в руководстве «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Research Council, 2011); а также с национальным стандартом РФ ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и с этическими принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ПИМУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. V. Heiskanen, M. Pfiffner, and T. Partonen, *Ageing Res. Rev.* **61**, 101089 (2020).
2. А. П. Баврина, В. А. Монич и С. Л. Малиновская, *Биофизика* **62** (5), 862 (2017).
3. G. M. Dittami, S. M. Rajguru, R. A. Lasher, et al., *J. Physiol.* **589** (6), 1295 (2011).
4. N. Kipshidze, V. Nikolaychik, M. Muckerheldi, et al., *Circulation* **104**, 1850 (2001).
5. J.C. Oishi, T.F. De Moraes, T.C. Buzinari, et al., *Life Sci.* **178**, 56 (2017).
6. S. Wang, L. Wu, Y. Zhai, et al., *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **30**, 1138 (2019).
7. G. Elbaz-Greener, M. Sud, O. Tzuman, et al., *J. Intervent. Cardiol.* **31**, 711 (2018).
8. T. Karu, *Photomedicine and Laser Surgery* **28** (2), 159 (2010).
9. C. Ferraresi, M. R. Hamblin, and N. A. Parizotto, *Photonics Lasers Med.* **1** (4), 267 (2012).
10. В. С. Улащик, *Здравоохранение (Минск)* **6**, 41 (2016).
11. Т. В. Мачнева, Д. М. Протопопов, Ю. А. Владимиров и А. Н. Осипов, *Биофизика* **53** (5), 894 (2008).
12. Т. В. Мачнева, *Источники и мишени свободных радикалов в крови человека* (ООО «МАКС Пресс», М., 2017).
13. Т. Й. Кару, *Успехи соврем. биологии* **121** (1), 110 (2001).
14. I. Golovynska, S. L. Golovynskyi, Y. V. Stepanov, et al., *J. Cell. Physiol.* **234** (9), 15989 (2019).
15. G. B. Kharkwal, S. K. Sharma, Y.-Y. Huang, et al., in *Proc. of SPIE Conf. BiOS, Mechanisms for Low-Light Therapy VI* (2011) 7887.
16. R. B. Oliveira, L. L. Petiz, R. Lim, et al., *J. Neurochem.* **149** (4), 471 (2019).
17. Ю. А. Владимиров, *Соровский образоват. журн.* **12**, 2 (1999).

18. Ю. А. Владимиров, Г. И. Клебанов, Г. Г. Борисенко и А. Н. Осипов, Биофизика **49** (2), 339 (2004).
19. A. R. Pérez-Riera, R. Barbosa-Barros, R. Daminello-Raimundo, et al., J. Electrocardiol. **57**, 112 (2019).
20. *Фундаментальная и клиническая физиология*, под ред. А. Г. Камкина и А. А. Каменского (Академия, М., 2004).
21. Е. И. Асташкин и М. Г. Глезер, Кардиоваскулярная терапия и профилактика **6** (8), 106 (2007).

Possibilities of Using Low-Intensity Red Light for Modulation of Post-Arrhythmia Processes in the Rat Heart

O.V. Drugova, A.P. Bavrina, N.V. Tiunova, V.V. Borzikov, and S.L. Malinovskaya

Privolzhsky Research Medical University, pl. Minina i Pozharskogo 10/1, Nizhny Novgorod, 603950 Russia

The study investigated the changes in the electrical characteristics of the rat heart caused by adrenaline-induced arrhythmia and the effects of their modulation by low-intensity red light. Three groups of experimental animals were examined: a control group of animals in which animals were not subjected to any procedure, and two groups of experimental animals in which animals were used as a model of adrenaline-induced arrhythmia. In one group of experimental animals, the electrocardiogram (ECG) recordings were obtained in animals for 10 minutes 5 min after simulation of adrenaline-induced arrhythmia. In the second experimental group, the ECG recordings were obtained in animals the heart projection areas of which were simultaneously exposed to red LED light (650 nm, the intensity of radiation 5 mW/cm²). Comparative analysis of heart rhythm variability after adrenaline-induced arrhythmia in two experimental groups revealed normalization of the modes and QT interval by red light against insignificant changes in the heart rate. However, light exposure contributed to a significant decrease in the variation range, thus suggesting the SA node as the most sensitive target for red light.

Keywords: photobiomodulation, red light, arrhythmia, heart rate