

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ МИОКАРДА, ВЫЗВАННЫХ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ, С ПОМОЩЬЮ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Монич В.А.¹, Баврина А.П.¹, Малиновская С.Л.¹, Яковлева Е.И.¹

¹ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия, e-mail: annavavr@rambler.ru

В экспериментах на беспородных белых крысах исследованы эффекты последовательного воздействия γ -излучением и низкоинтенсивным широкополосным красным светом на электрическую активность сердца крыс и на микроструктуру миокарда. Установлено положительное влияние низкоинтенсивного красного света на ряд показателей ЭКГ. Показана коррекция таких показателей, как QT и QTc, а также нормализация напряжения зубцов R и T. Нормализация параметров ЭКГ сопровождалась альтерацией микроструктуры мышечных волокон миокарда в контрольной группе животных по сравнению с опытной. Проведенное исследование показало, что экспонирование широкополосным красным светом проекционной области сердца крыс, подвергнутых воздействию γ -излучения, способствовало нормализации показателей электрической активности миокарда, а также снижало проявления лучевой болезни на суб- и клеточном уровнях.

Ключевые слова: ЭКГ, ионизирующие излучения, красный свет, ультраструктура миокарда

CORRECTION OF GAMMA RADIATION-INDUCED MALFUNCTION OF MYOCARDIUM BY LOW-INTENSIVE ELECTROMAGNETIC RADIATION

Monich V.A.¹, Bavrina A.P.¹, Malinovskaya S.L.¹, Yokovleva E.I.¹

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia, e-mail: annavavr@rambler.ru

In experiments on outbred white rats the effects of consequent exposure of the heart projection area of rats to gamma-rays and to low-intensive broadband red light on electrical activity of the heart and the myocardium ultrastructure have been investigated. Low-intensive red light had positive influence on the characteristics of the ECG records. Correction of the QT and QTc internals and also amplitudes of the R and T waves was shown. Normalization of the ECG characteristics was accompanied with alteration of the cardiac muscle ultrastructure in control group in comparison with trial one. The study showed that the exposure of a broadband red light projection area of the heart of rats exposed to γ -radiation, promoted normalization of the electrical activity of the myocardium, as well as reduced the symptoms of radiation sickness in the sub- and cellular levels.

Keywords: ECG, ionizing radiation, red light, ultrastructure of myocardium

Исследование влияния ионизирующей радиации на сердечно-сосудистую систему остается актуальной проблемой физиологии, радиобиологии и медицины. Сердце до недавнего времени рассматривали как радиорезистентный орган, основываясь главным образом на результатах гистологических исследований. Однако, впоследствии, с помощью электронно-микроскопического метода были обнаружены непосредственные и отдаленные изменения миокарда после локального облучения 5-10 Гр. При этом основную роль играло нарушение циркуляции вследствие облитерации капилляров [4]. В результате лучевой терапии может развиваться комплекс клинически значимых поражений тканей сердца – радиационно-индуцированная болезнь сердца [5], которая является существенным фактором ухудшения качества жизни и увеличения риска смертности [2]. В связи с этим актуальным представляется поиск эффективных радиопротекторов, способных снизить неблагоприятные последствия радиационного поражения сердца.

Цель исследования: изучение влияния широкополосного красного света на электрическую активность сердца и ультраструктуру миокарда крыс при развитии лучевой болезни.

Материалы и методы. Исследования проводились на беспородных белых крысах массой 180-250 грамм, которые были разделены на 4 группы. Первую группу (контроль) составили 14 крыс, получивших гамма-облучение проекционной области сердца с дозой 9 Гр. Облучение проводилось на установке «Луч-1» (энергия гамма-квантов, получаемых при распаде кобальта 60, имела два пика: 1,17 и 1,33 МэВ). Вторую группу (опыт) составили 10 крыс, также получивших локальную дозу облучения 9 Гр, но впоследствии проекционная область сердца которых была экспонирована низкоинтенсивным красным светом в течение 20 минут. Взятие образцов тканей миокарда у опытной и контрольной групп проводилось в день сеанса радиационного воздействия. В третью группу (хронический контроль) вошли 10 крыс, также получивших локальное облучение области сердца, но не подвергавшихся воздействию широкополосного красного света. Забор материала у данной группы производился на четвертые сутки, после развития радиационного поражения. Четвертую группу (хронический опыт) составили 10 крыс, получивших ту же дозу γ -излучения, но впоследствии ежедневно, в течение четырёх дней облучавшихся низкоинтенсивным красным светом. Время каждой экспозиции составляло 20 минут. Интенсивность света в зоне светового пятна была равна 5 мВт/см^2 . В эксперименте использовался широкополосный свет сверх яркого светодиода с максимумом спектрального диапазона 630 нм и шириной на полувысоте 20 нм. При прохождении через грудину интенсивность света снижалась на 20%. Забор материала у четвертой группы (хронический опыт) также производился на четвертые сутки. Кроме того, была выделена интактная группа животных, не подвергавшихся воздействию ни γ -излучением, ни светом. Запись электрокардиограммы производилась с помощью ветеринарного электрокардиографа Полиспектр-8/В. Обработка данных выполнялась с помощью программы Нейрософт.

Электрическую активность сердца оценивалась по следующим параметрам: частота сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин), максимальное обнаруженное расстояние между двумя следующими друг за другом QRS-комплексами (RR_{\max} , мс), минимальное расстояние между двумя следующими друг за другом QRS-комплексами (RR_{\min} , мс), среднее расстояние между QRS-комплексами ($RR_{\text{ср}}$, мс), длительность Q-волны (Q, мс), длительность R-волны (R, мс), интервал PR (мс), длительность QRS-комплекса (QRS, мс), интервал QT (мс), нормализованный интервал QT_c , вычисляемый по формуле Базетта (QT_c , мс), электрическая ось сердца (ось QRS), напряженность зубцов Q, R, S и T (мВ).

Для электронно-микроскопического исследования иссекалась сердечную ткань, которая фиксировалась в 2,5 % растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН=7,4) с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты, обезвоживанием в спиртах возрастающей концентрации с дальнейшей заливкой в смесь эпона с аралдитом [3]. Ультратонкие срезы готовились на ультратоме Leica UC7 и просматривались на трансмиссионном электронном микроскопе Morgagni 268D фирмы FEI. Морфометрия выполнялась с помощью программы AnalySIS.

Для статистической обработки результатов использовался пакет прикладных программ SPSS Statistics. Для определения различий между исследуемыми группами использовался t-критерий Стьюдента. Достоверными считались различия при $p \leq 0,05$. Результаты представлялись в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее значение, а σ – среднее квадратичное отклонение.

Результаты и их обсуждение. Анализ ЭКГ, полученных при облучении лабораторных животных ионизирующей радиацией, показал, что статистически значимые различия между группами наблюдались по QT- и QTс- интервалам ($p \leq 0,05$), отражающим процессы деполяризации и последующей реполяризации желудочков. Результаты по данным параметрам для всех групп лабораторных животных представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели QT и QTс в четырех исследуемых группах в сравнении с нормой

Группа	Итактная группа	Контроль	Хронический контроль	Опыт	Хронический опыт
QT, мс	297,8±25,3* **	597,3±24,9*** ****	611,3±59,05*****	491,4±32,1	280,4±25,6
QTс, мс	336,6±33,1* **	1179,8±31,4*** ****	787,3±30,0*****	464,4±23,2	230,0±9,93

Примечание: * - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между нормой и контролем;

** - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между нормой и хроническим контролем;

*** - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между контролем и опытом;

**** - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между контролем и хроническим опытом;

***** - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между хроническим контролем и хроническим опытом.

Исходя из данных таблицы 1, можно сделать вывод о постепенном увеличении QT- и QTс- интервалов после облучения миокарда γ -излучением, что свидетельствует об увеличении механической систолы. Этот эффект достигает максимума на четвёртый день после облучения (хронический контроль). Статистически значимые различия между группами наблюдались также при сравнении напряжения зубцов R и T (см. таблицу 2). Изменения напряжения зубцов ЭКГ и длительности интервалов можно связать с процессом развития ишемии миокарда, спровоцированным оксидативным стрессом после воздействия

ионизирующим излучением. Для синтеза АТФ необходим кислород, поэтому в ходе развития ишемии миокарда в первую очередь начинает страдать процесс реполяризации, и происходит изменение зубца Т. Нарушение реполяризации желудочков ведет к нарушениям метаболизма миокарда, острой его дистрофии и к наступлению кислородной недостаточности. Отклонение зубца Т от нормы обычно сопровождается удлинением интервала QT. Снижение напряжения зубцов Т в контрольной серии (см. таблицу 2) можно связать с появлением отрицательных значений зубцов, свидетельствующих о развитии ишемии миокарда уже на первые сутки после воздействия ионизирующим излучением. В группе «хронический контроль» наблюдалось достоверное увеличение напряжения Т-зубцов, что говорит о нарастании ишемии миокарда, которая развивалась в течение четырёх суток после воздействия ионизирующим излучением.

Последовательное воздействие низкоинтенсивным красным светом обеспечивало восстановление изучаемых характеристик ЭКГ до уровней, которые наблюдались в интактной группе (см. таблицы 1 и 2, данные для интактной группы и хронического опыта). Таким образом, спровоцированная гамма-излучением ишемия миокарда носила обратимый характер.

Таблица 2

Напряжения зубцов R и T в четырех исследуемых группах в сравнении с нормой

Группа	Интактная группа	Контроль	Хронический контроль	Опыт	Хронический опыт
R, мВ	0,450±0,071 [*] , **	0,508±0,07 ^{***} , ****	0,777±0,0066 *****	0,657±0,055	0,491±0,088
T, мВ	0,079±0,0034 [*] *	0,0586±0,017 ****	0,153±0,0012 *****	0,0635±0,0074	0,0814±0,0072

Примечания к данной таблице аналогичны примечаниям к таблице 1.

Электронно-микроскопическое исследование мышцы сердца животных контрольной группы показало наличие внутриклеточного отёка кардиомиоцитов от слабой до сильной степени. В участках просветления саркоплазмы митохондрии были набухшие, с деструкцией и дезориентацией крист, с просветлением и вымыванием матрикса, наличием в них вакуолей и в ряде случаев с нарушением целостности наружной мембраны (табл.3). Наблюдались также стаз, плазматизации капилляров с агрегацией и уменьшением аморфного осмиофильного материала (плазматических белков), присутствие в просвете их пузырей, мембранных структур вплоть до закрытия отдельных сосудов (Рис. 1а).

Таблица 3

Площадь митохондрий кардиомиоцитов

Группа животных	Площадь митохондрий, (мкм ²)	Количество митохондрий
Норма	0,55±0,042	n = 500
Контроль	0,6862±0,10*	n = 500
Опыт	0,61±0,035*	n = 500
Хронический опыт	0,42±0,035*	n = 500

Примечание: * - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$).

Исследование ультраструктуры миокарда животных группы «опыт» показало, что воздействие широкополосным красным светом способствовало уменьшению отёчности кардиомиоцитов и появлению значительного количества гранул гликогена (Рис.1б). В образцах группы «хронический опыт» наблюдалось уменьшение нарушений субмикроскопической структуры кардиомиоцитов по сравнению с контрольной группой. Для образцов этой группы была характерна гиперплазия митохондрий, что, по-видимому, связано с энергодефицитом, вызванным облучением, и является адаптивной реакцией организма (Рис.1в,г). Отметим, что несомненным признаком адаптации к гипоксии является увеличение массы митохондрий в тканях; появление новой популяции мелких митохондрий с набором ферментов, позволяющих им работать в этом новом режиме, при долговременной адаптации. Полученные результаты подтверждают литературные данные о том, что воздействие ионизирующей радиации на область сердца лабораторного животного приводит к патологическим изменениям кардиомиоцитов, а также к изменениям электрической активности сердца. Однако эти процессы оказались обратимыми при облучении образцов широкополосным красным светом в последовательном режиме.

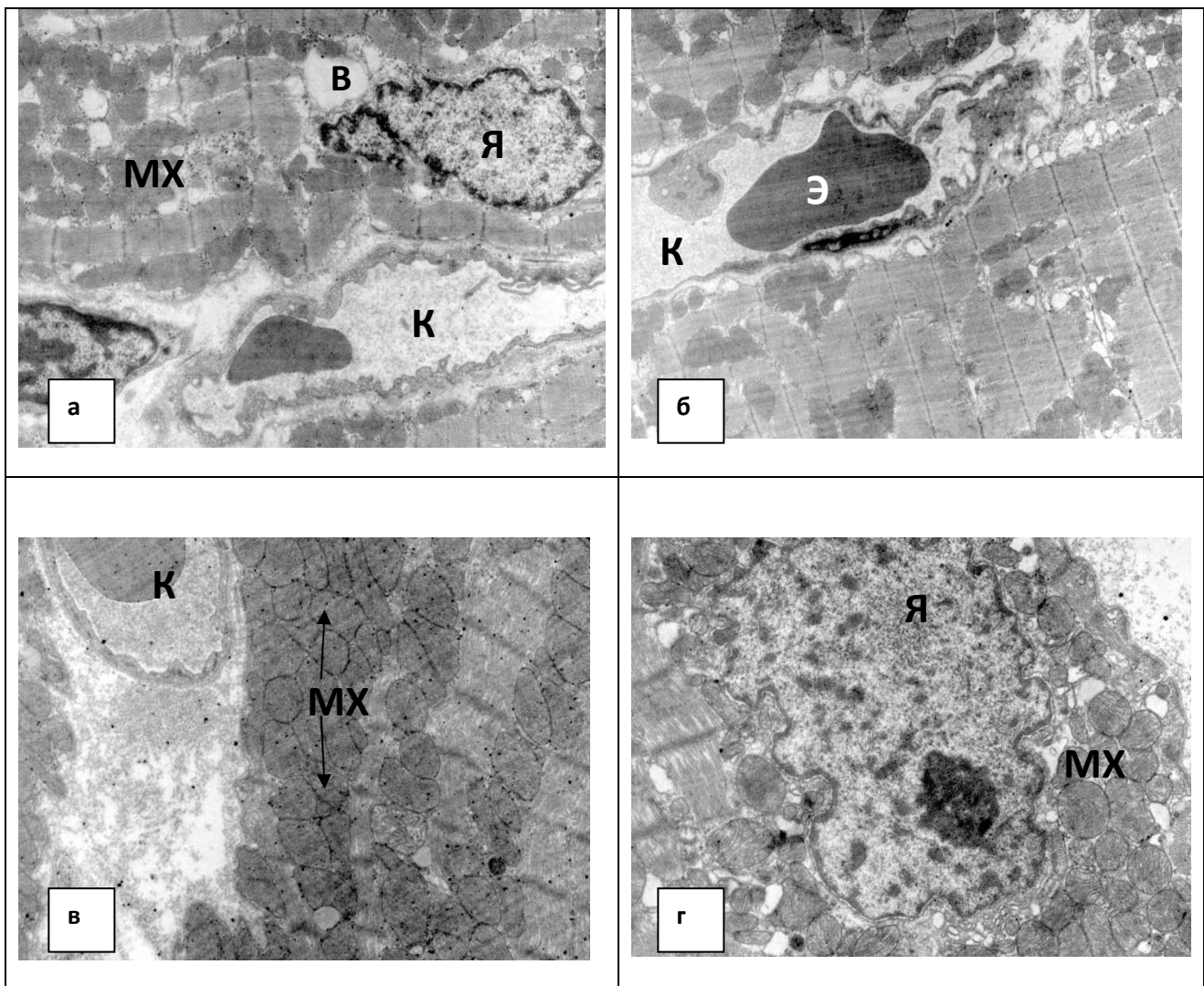


Рис. 1. Ультраструктура миокарда крыс

- а) контрольной группы: вакуолизация саркоплазмы, фрагментация и набухание ядра, сокращение миофибрилл, набухание митохондрий, в просвете капилляра уменьшенное содержание аморфного осмиофильного материала, везикулярный эндотелий, очаговое набухание базального слоя;*
- б) опытной группы: небольшое расширение саркоплазматического ретикулума, в просвете к обычная кровь;*
- в) хронической опытной группы: гиперплазия митохондрий, в просвете капилляра эритроцит и плазма;*
- г) хронической опытной группы: ядро с хорошо выраженным ядрышком.*
- В – вакуоль, К – капилляр, МХ – митохондрия, Э – эритроцит, Я – ядро.*

Наблюдавшиеся эффекты можно объяснить на основе имеющихся в настоящее время представлений о механизмах фотобиологического действия красного света. Активные формы кислорода, являющиеся продуктами радиолиза в живых тканях, вызывают оксидативный стресс и, как следствие, накопление продуктов перекисного окисления липидов, белков, модификацию активности ферментов антиоксидантной защиты и других биологически значимых молекул. Подобные эффекты можно наблюдать не только при воздействии ионизирующими излучениями, но и спровоцировать в миокарде после наложения экспериментальной ишемии и возобновлении перфузии [9], а также при наложении асфиксии [1]. В работах [7] было экспериментально показано, что последствия оксидативного стресса

могут быть полностью или частично компенсированы действием низкоинтенсивного красного света. При этом наблюдалось и восстановление сократительной активности мышцы изолированного сердца. В основе подобных эффектов, которые часто обозначают термином фотобиомодификация, находятся несколько фотохимических реакций. К ним относятся происходящие под действием красного света высвобождение окиси азота, связанной с цитохром с-оксидазой [10], модификация дыхательной цепи живой клетки, изменение активности супероксиддисмутазы и NO-синтазы [8] и другие. Каждая из этих реакций способна оказать существенное влияние на функциональную активность миокарда и, соответственно, на структуру ЭКГ. Например, окись азота, синтезируемая, митохондриальной NO-синтазой, ингибирует дыхание вследствие образования связи с цитохром с-оксидазой [6]. Фотолиз этих молекулярных комплексов приводит к выходу свободной окиси азота и к реактивации переносчиков электронов в дыхательной цепи. В конечном итоге происходит восстановление процессов дыхания и активация синтеза молекул АТФ. Кроме того, высвобождаемая окись азота, которая отвечает за расслабление гладких мышц сосудов, их расширение (вазодилатацию) и предотвращает агрегацию тромбоцитов и адгезию нейтрофилов к эндотелию, может способствовать увеличению просвета сосудов коронарной системы и улучшению микроциркуляции. Эти процессы, в свою очередь, обеспечивают снижение уровня процессов перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков, изменение микроструктуры кардиомицитов и электрической активности сердца.

Заключение. Проведенное исследование показало, что экспонирование широкополосным красным светом проекционной области сердца крыс, подвергнутых воздействию γ -излучения, способствовало нормализации показателей электрической активности миокарда, а также снижало проявления лучевой болезни на суб- и клеточном уровнях.

Список литературы

1. Баврина А.П. Коррекция нарушений работы сердца крыс при воздействии низкоинтенсивным красным светом после моделирования асфиксии / А.П. Баврина, В.А. Монич, Е.А. Дружинин, С.Л. Нестеров // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т.10, №.5. – С.44.
2. Ванюков Д.А. Радиационно-индуцированная болезнь сердца // Российский семейный врач. – 2010. – Т.14, №4. – С.33-37.
3. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: руководство. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

4. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных. – М.: Высш. Шк, 2004. – 549 с.
5. Heidenreich P. A. Radiation induced heart disease: systemic disorders in heart disease / P.A. Heidenreich, J.R. Kapoor // Heart.- 2009. №95.- P. 252–258.
6. Mason M.G. Nitric oxide inhibition of respiration involves both competitive (heme) and noncompetitive (copper) binding to cytochrome c oxidase / M.G. Mason, P. Nicholls, M.T. Wilson, C.E. Cooper // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 2006. №103.- P.708–713.
7. Monich V. Low-power light and isolated rat hearts after ischemia of myocardium / V. Monich, O. Drugova, V. Lazukin, A. Bavrina // Journal of Photochemistry and Photobiology.- 2011. №105.- P.21–24.
8. Moriyama Y. In vivo effects of low level lazer therapy on inducible nitric oxide synthase / Y. Moriyama, J. Nguyen, M. Akens, E.H. Moriyama, L. Lilge // Lasers Surg. Med.- 2009. №41.- P.227-231.
9. Ytrehus K. The ischemic heart-experimental models // Pharmacol. Res.- 2000. №42.- P.193-203.
10. Zhang R. Near infrared light protects cardiomyocytes from hypoxia and reoxygenation injury by a nitric oxide dependent mechanism / R. Zhang, Y. Mio, P.F. Pratt, N. Lohr, D.C. Warltier, H.T. Whelan, D. Zhu, E.R. Jacobs, M. Medhora, M. Bienengraeber // J. Mol. Cell. Cardiol.- 2009. №46.- P.4-14.

Рецензенты:

Корягин А.С., д.б.н., проф. кафедры биохимии и физиологии Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород;

Плескова С.Н., д.б.н., в.н.с. лаборатории биохимии и молекулярной биологии Томского государственного университета, г. Томск.