

Badanie wpływu niskoenergetycznego promieniowania laserowego na parametry hemodynamiczne izolowanego perfundowanego serca szczurzego poddanego niedokrwieniu – wyniki wstępne



Influence of low energy laser irradiation on hemodynamic parameters of isolated perfused rat's heart subjected to ischaemia – preliminary data

Dariusz Biały¹, Monika Skrzypiec-Spring², Jacek Arkowski¹, Magdalena Wawrzyńska¹, Bartosz Grotthus², Joanna Kwiatkowska², Andrzej Szelaąg², Walentyna Mazurek¹

¹Katedra i Klinika Kardiologii, Akademia Medyczna, Wrocław

²Katedra i Zakład Farmakologii, Akademia Medyczna, Wrocław

Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska 2006; 3 (1): 80–82

Streszczenie

Wstęp: Promieniowanie laserowe może modulować procesy biologiczne. Szczególne znaczenie wydaje się mieć jego wpływ na procesy zachodzące w mięśniu sercowym podczas niedokrwienia.

Cel: Ocena wpływu niskoenergetycznego promieniowania laserowego na parametry hemodynamiczne izolowanego perfundowanego serca szczura poddanego niedokrwieniu.

Materiał i metody: Izolowane serca szczurze, perfundowane roztworem Krebsa-Hanseleita, zostały poddane 20-minutowemu niedokrwieniu. Podczas niedokrwienia część serc była naświetlana niskoenergetycznym promieniowaniem laserowym.

Wyniki: Serca niedokrwione poddane naświetlaniu promieniowaniem laserowym wykazywały lepsze parametry hemodynamiczne (*rate pressure product* – RPP) od serc niepoddanych naświetleniu.

Wnioski: Niskoenergetyczne promieniowanie laserowe korzystnie wpływa na pracę izolowanego serca poddanego niedokrwieniu.

Słowa kluczowe: laser, niedokrwienie mięśnia sercowego.

Abstract

Background: Laser irradiation can modulate biological processes. Its influence on the processes taking place in heart muscle during ischaemia seems to be of particular importance.

Aim: Analysis of influence of low-energy laser irradiation on hemodynamic parameters of perfused rat's heart subjected to ischaemia.

Material and methods: Isolated rat hearts perfused with Krebs-Hanseleit solution were subjected to 20 minutes ischaemia. During the ischaemia some of the hearts were irradiated with low energy laser.

Results: The hearts which were irradiated with laser during ischaemia showed better hemodynamic function (*rate pressure product* – RPP) compared to the hearts that were not irradiated.

Conclusions: Low energy laser irradiation has a positive influence on hemodynamic function of isolated rat's heart subjected to ischaemia.

Key words: laser, myocardial ischaemia.

Wstęp

Naprawa mięśnia sercowego po okresie niedokrwienia jest procesem złożonym, obejmującym różnorodne czynniki stanu zapalnego, przebudowę macierzy pozakomórkowej oraz odpowiedź komórek mięśnia serca na niedokrwienie. Wykazano, że niskoenergetyczne promieniowanie laserowe może modulować przemiany biochemiczne zachodzące w komórkach. W poniższej pracy badano wpływ niskoenergetycznego promieniowania laserowego na parametry he-

modynamiczne izolowanego serca szczura poddanego niedokrwieniu.

Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu naświetlania niskoenergetycznym promieniowaniem laserowym na parametry hemodynamiczne (wyrażone jako *rate pressure product* – RPP) izolowanych perfundowanych serc szczurzych poddanych niedokrwieniu.

Adres do korespondencji: lek. Jacek Arkowski, Klinika Kardiologii, Akademia Medyczna, ul. Pasteura 4, 53-367 Wrocław, tel. +48 71 784 22 37, faks +48 71 327 09 38, e-mail: jacekarkowski@poczta.onet.pl

Materiał i metody

Opis procedury

Badania zostały przeprowadzone na szczurach rasy Wistar o masie 250–350 g. Klatka piersiowa zwierząt znieczulonych za pomocą preparatu Thiopental (w dawce 75 mg/kg masy ciała) została otwarta z nacięcia wzdłuż linii śródokowoobojczykowych. Wyizolowane serca zostały przepłukane w zimnym roztworze Krebsa-Hanseleita, a następnie poprzez aortę połączone z kaniulą do podawania płynu perfuzyjnego. W celu podtrzymania ich spontanicznej czynności skurczowej były one perfundowane pod stałym ciśnieniem 80 cm słupa wody roztworem Krebsa-Hanseleita o następującym składzie: NaCl (118 mM), KCl (4,7 mM), KH_2PO_4 (1,2 mM), MgSO_4 (1,2 mM), CaCl_2 (3,0 mM), NaHCO_3 (25 mM) oraz EDTA (0,5 mM). Temperatura roztworu wynosiła 36,7°C, a pH 7,4. Roztwór ten natleniano mieszaniną tlenu (95%) i dwutlenku węgla (5%). W trakcie perfuzji serca były umieszczone w komorze z płaszczem wodnym w celu utrzymania ich temperatury na poziomie 36,7°C. Do lewej komory serca został wprowadzony lateksowy balon połączony z aparatem do pomiaru ciśnienia.

Do eksperymentu wykorzystano serca osiągające częstotliwość rytmu większą niż 200 uderzeń na minutę i ciśnienie w lewej komorze serca większe niż 60 mmHg.

Serca szczurze poddano perfuzji tlenowej przez 25 min, następnie 20-minutowemu niedokrwieniu uzyskanemu poprzez wstrzymanie podawania płynu infuzyjnego. Grupa badana została poddana napromieniowaniu światłem lasera o długości 672 nm i gęstości energii 100 J/cm² w ciągu pierwszych 7,5 min niedokrwienia. Po okresie niedokrwienia serca perfundowano przez kolejne 30 min. Grupy kontrolne były poddawane perfuzji bez niedokrwienia, z naświetlaniem i bez naświetlenia światłem lasera oraz perfuzji z 20-minutowym niedokrwieniem bez naświetlenia światłem lasera.

W badaniu analizowano parametry hemodynamiczne pracującego serca: rejestrowano częstotliwość akcji serca, ciśnienie skurczowe w lewej komorze serca oraz prędkość przepływu buforu. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu komputerowego GraphPad Prism 4. Do obliczeń zastosowano test Bartletta, analizę jednoczynnikową ANOVA i test Tukeya.

Wyniki

Czynność serc wyrażono wzorem [ciśnienie x częstotliwość rytmu serca/1 000] (RPP). W grupie niepoddawanej naświetlaniu światłem lasera po okresie niedokrwienia RPP był istotnie niższy w porównaniu z grupą kontrolną perfundowaną tlenowo. Czynność serc w grupie poddawanej naświetlaniu światłem lasera po okresie niedokrwienia nie różniła się w sposób istotny statystycznie od grupy kontrolnej perfundowanej tlenowo (ryc. 1).

Dyskusja

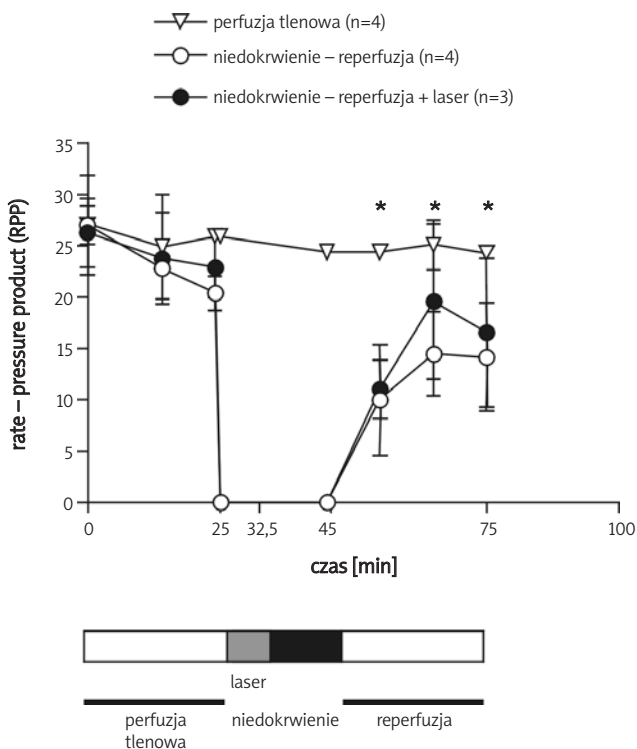
W przeprowadzonych do tej pory badaniach stwierdzono, że niskoenergetyczne promieniowanie laserowe (*low energy laser irradiation* – LELI) może być zewnętrznym

czynnikiem modulującym procesy biologiczne zachodzące na poziomie komórkowym [1–3].

Szczególnie interesujący wydaje się wpływ LELI na procesy biochemiczne zachodzące w mitochondrium – głównym magazynie energii w komórce. Zaobserwowano, że niskoenergetyczne promieniowanie laserowe zwiększa oddychanie mitochondrialne oraz syntezę ATP w niedokrwionych komórkach. Naświetlane laserem komórki w mniejszym stopniu ulegają degeneracji, ponieważ wzrasta w nich intensywność syntezy ATP [4, 5]. W eksperymentach na izolowanym sercu szczura stwierdzono, że promieniowanie laserowe zwiększa końcową aktywność katalazy (antyoksydanty) oraz końcowy zapas ATP [6].

W prezentowanym w niniejszej pracy eksperymencie autorzy również obserwowali lepszą funkcję tych niedokrwionych serc, które były naświetlane laserem. Autorzy nie analizowali mechanizmów biochemicznych leżących u podstawy analizowanego zjawiska. Ich wyjaśnienie wymaga dalszych badań.

Kolejną dziedziną zastosowania LELI jest wykorzystanie jego możliwego wpływu na procesy zachodzące podczas zawału mięśnia serca i następnego remodelingu w obszarze blizny pozawałowej [7]. Whitaker w eksperymentalnym modelu, polegającym na podwiązaniu jednej z tętnic wieńcowych obserwował zmniejszenie obszaru zawału oraz mniejszą objętość rozkurczową lewej komory w grupie zwierząt, u których zastosowano LELI, w porównaniu z grupą kontrolną [8].



* p<0,05; perfuzja tlenowa vs niedokrwienie - reperfuzyja, anova

Ryc. 1. Rozkład współczynnika RPP w czasie dla każdej z trzech badanych grup

Jednym z możliwych mechanizmów tego zjawiska może być zwiększenie poziomu białka szoku termicznego HSP 70 oraz stymulacja angiogenezy. Kolejnym proponowanym mechanizmem jest przyspieszenie i zwiększenie intensywności transformacji fibroblastów w mioblasty [9]. LELI zmniejszyło strefę objętą zawałem z 34–52% do 10–20% oraz zmniejszyło dysfunkcję lewej komory; szczególnie korzystne działanie zaobserwowano w przypadku przejściowego niedokrwienia z następową reperfuzyją [10].

Wnioski

Wyniki powyższego eksperymentu mogą świadczyć o korzystnym wpływie naświetlania niskoenergetycznym promieniowaniem laserowym na protekcję mięśnia sercowego poddanego niedokrwieniu.

Autorzy planują dalsze eksperymenty wyjaśniające biochemiczne podstawy obserwowanego zjawiska.

Praca była prezentowana na X Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, Kiekrz, 20–22.10.2005 r.

Piśmiennictwo

1. Galletti G, Bolognani L, Ussia G. *Laser Applications in Medicine and Surgery*. Monduzzi Editore. Bologna, Italy, 1992.
2. Conlan MJ, Rapley JW, Cobb CM. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 492-6.
3. Karu T. *The Science of Low-Power Laser Therapy*. Gordon and Breach. Amsterdam, The Netherlands, 1998.
4. Morimoto Y, Arai T, Kikuchi M, Nakajima S, Nakamura H. Effect of low-intensity argon laser irradiation on mitochondrial respiration. *Lasers Surg Med* 1994; 15: 191-9.
5. Yu W, Naim JO, McGowan M, Ippolito K, Lanzafame RJ. Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photochem Photobiol* 1997; 66: 866-71.
6. Zhu Q, Yu W, Yang X, Hicks GL, Lanzafame RJ, Wang T. Photo-irradiation improved functional preservation of the isolated rat heart. *Lasers Surg Med* 1997; 20: 332-9.
7. Oron U, Yaakobi T, Oron A, Hayam G, Gepstein L, Rubin O, Wolf T, Ben Haim S. Attenuation of infarct size in rats and dogs after myocardial infarction by low-energy laser irradiation. *Lasers Surg Med* 2001; 28: 204-11.
8. Whittaker P. Laser-mediated reversal of cardiac expansion after myocardial infarction. *Lasers Surg Med* 1999; 25: 198-206.
9. Pourreau-Schneider N, Ahmed A, Soudry M, Jacquemier J, Kopp F, Franquin JC, Martin PM. Helium-neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblasts. *Am J Pathol* 1990; 137: 171-8.
10. Yaakobi T, Shoshany Y, Levkovitz S, Rubin O, Ben Haim SA, Oron U. Long-term effect of low energy laser irradiation on infarction and reperfusion injury in the rat heart. *J Appl Physiol* 2001; 90: 2411-9.