

ВЛИЯНИЕ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В ТРЕНИРОВОЧНОМ ПРОЦЕССЕ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Р.В. Галлямутдинов¹, Е.С. Головнева^{1,2},

¹ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины», г. Челябинск;

²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск

Аннотация. Целью работы являлось изучение влияния лазерного воздействия на морфометрические показатели миосателлитоцитов и миоцитов при тренировке плаванием. Материал и методы. Эксперимент выполнен на 18 крысах, разделенных на группы: 1) контроль, 2) тренировки плаванием, 3) тренировки плаванием с инфракрасным лазерным воздействием на мышцы задних конечностей. Образцы двуглавой мышцы бедра фиксировали формалином и готовили гистологические срезы. Проводился морфометрический анализ цифрового изображения объектов. Результаты. Тренировки плаванием приводили к увеличению количества миосателлитов, площади ядер миосателлитов и миоцитов, а также поперечного сечения мышечных волокон. Лазерное воздействие на мышечную ткань в процессе тренировок способствовало достоверно большему увеличению исследуемых показателей и увеличению количества миоцитов. Выводы. Лазерное воздействие при тренировке плаванием стимулирует пролиферативные возможности мышечной ткани.

Ключевые слова: лазер, тренировки, скелетная мышечная ткань, миосателлиты, миоциты.

INFLUENCE OF LASER RADIATION ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF SKELETAL MUSCLE TISSUE IN THE TRAINING PROCESS (EXPERIMENTAL STUDY)

R. V. Gallyamutdinov¹, E. S. Golovneva^{1,2}

¹ FSBEI "Multidisciplinary Center of Laser Medicine", Chelyabinsk;

² FSBEI HE "South Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk

Abstract. The aim of the work was to study the effect of laser exposure on the morphometric parameters of myosatellitocytes and myocytes during swimming training. Material and methods. The experiment was performed on 18 rats, divided into groups: 1) control, 2) swimming training 3) swimming training with infrared laser action on the muscles of the hind limbs. Samples of the biceps femoris were fixed with formalin and histological sections were prepared. A morphometric analysis of the digital image of objects was carried out. Results. Swimming training led to an increase in the number of myosatellites, the area of the nuclei of myosatellites and myocytes, and the cross-section of muscle fibers. Laser effect on muscle tissue during training contributed to a significantly greater increase in the studied parameters and an increase in the number of myocytes. Findings. The laser effect during swimming training stimulates the proliferative capabilities of muscle tissue.

Keywords: laser, training, skeletal muscle tissue, myosatellites, myocytes.

Развитие цивилизации неминуемо сказывается на двигательной активности, так как для выполнения повседневных дел и перемещения в пространстве приходится прилагать все меньше усилий. По некоторым данным, физическая активность человека за последний век уменьшилась в 20 раз, что влечет за собой развитие так называемых «болезней цивилизации», к которым относятся сердечно-сосудистые заболевания, диабет, ожирение, нарушения со стороны опорно-двигательной системы [3]. Для противодействия этим негативным тенденциям идет популяризация

здорового образа жизни, население активно вовлекается в занятия физической культурой и спортом, реабилитация после многих заболеваний и оперативных вмешательств проводится с применением лечебной физкультуры, что подразумевает регулярные тренировки. Все виды физической активности и спорта подразумевают регулярные тренировки, однако остаются мало изученными морфологические изменения, происходящие в различных группах мышц при тренировке, особенности влияния различных видов физической нагрузки и возможности

стимуляции адаптивных изменений в мышечной ткани не фармакологическими методами [1].

Известно, что применение лазерной фотобиомодуляции для лечения заболеваний и травм мышц, сопровождающихся ишемическим и болевым синдромами, приводит к улучшению кровотока и активации репаративных процессов в поврежденных тканях [2, 9], но эффекты лазерного воздействия на морфологические характеристики нормальных мышц в процессе тренировки практически не изучались.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние лазерного воздействия на морфометрические показатели скелетного мышечного волокна двуглавой мышцы бедра крысы при аэробных тренировках плаванием.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 18 крысах-самцах (сток Wistar) на этапе онтогенеза от 5 до 7 месяцев, с массой тела от 260 до 410 г. Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствовали приказу Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199Н «Об утверждении правил надлежущей лабораторной практики». Животные были разделены на 3 группы по 6 особей. Особи первой группы служили контролем, второй – динамическим контролем (тренировки), третья группа подвергалась лазерному воздействию на мышцы бедренной кости обеих лап (двуглавая мышца бедра, полусухожильная мышца).

Модель тренировки соответствовала принципу благоприятного влияния нагрузки, чередуя тренировочное время с достаточным отдыхом [1]. Тренировочный процесс моделировался путем погружения животных в емкость с водой диаметром 60 см, высотой 85 см, емкостью 200 л. Во избежание опоры во время плавания глубина от поверхности воды составляла 50–55 см.

Тренировки проводились 3 раза в неделю, с увеличением времени плавания каждую неделю на 5 мин, в первую неделю время плавания составляло 30 мин, на последней неделе время плавания составляло 55 мин. Лазерное воздействие производилось каждый раз после тренировки в течение 1 мин на каждую заднюю конечность, сканирующими движениями в области бедра, захватывая соответствующие мышцы (двуглавая мышца бедра, полусухожильная мышца) задних конечностей. Фотомодуляцию осуществляли с помощью лазерного аппарата «ИРЭ Полюс» (Россия), мощностью 1 Вт, длиной волны 970 нм, в непрерывном режиме. Излучение подавалось через моноволоконный кварцевый световод

с диаметром светонесущей жилы 0,4 мм. Обработку раневой поверхности производили с расстояния 5 мм сканирующими движениями со скоростью продвижения 5 мм/с. Опыт проводился 6 недель, на следующий день после окончания эксперимента производилось выведение животных с забороном двуглавой мышцы бедра.

Для оценки морфофункционального состояния скелетной мышечной ткани препараты фиксировали 10%-м нейтральным забуференным формалином. После стандартной гистологической проводки, приготовления парафиновых блоков, срезы окрашивались гематоксилин-эозином.

Гистологические препараты изучали на микроскопе LEICA DMRXA (Германия), с помощью цифровой видеокамеры LEICA DFC 290 (Германия), сопряженной с ПК. Получившиеся изображения микропрепаратов в формате графических файлов TIFF в цветовом пространстве RGB, использовали в качестве объектов для морфометрических исследований. Для морфометрических исследований использовали лицензионную версию программы анализа изображений ImageScore M (Россия). Количество миосателлитоцитов и миоцитов рассчитывалось на увеличении 400 (об.×40; ок.×10), площадь ядер миосателлитоцитов и миоцитов с использованием функции «ручное выделение» на увеличении 1000 с использованием масляной иммерсии.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью лицензионного пакета прикладных программ: Excel 2020 и PAST версии 4.03. При обработке полученных данных использовались методы вариационной статистики. Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический метод Манна – Уитни. Данные представлены в виде среднего арифметического значения и его ошибки ($M \pm m$). Статистически значимыми считали различия $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют, что в группе животных, регулярно тренируемых принудительным плаванием в течение 40 суток без применения фотомодуляции, происходило увеличение площади ядер миоцитов и толщины мышечного волокна, количество миоцитов при этом снижалось (табл.). По результатам тренировочного цикла с дополнительным применением лазерной фотомодуляции, кроме роста вышеперечисленных показателей, также наблюдалось увеличение площади ядер миосателлитов, количества миосателлитов, миоцитов и площади

поперечного сечения скелетно-мышечного волокна. В группе лазерного воздействия отмечался более значимый прирост всех изученных морфометрических показателей.

Морфометрические показатели клеток и размеров скелетного мышечного волокна в исследуемых группах

Показатели	Контроль	Тренировки	Тренировки + лазер
Площадь ядер миосателлитов, мкм ²	30,66 ± 0,61	31,01 ± 0,94	34,08 ± 0,65#*
Площадь ядер миоцитов, мкм ²	14,65 ± 0,95	20,89 ± 0,82#	24,25 ± 1,13#*
Количество миосателлитов, п/мм ²	551,85 ± 45,29	604,29 ± 29,79	884,39 ± 26,22#*
Количество миоцитов, п/мм ²	1058,41 ± 46,48	877,24 ± 36,95#	1101,32 ± 32,18#*
Толщина волокна, мкм	26,05 ± 1,39	31,11 ± 0,72#	35,49 ± 0,71#*
Площадь поперечного сечения волокна, мкм ²	1450,00 ± 58,58	1514,29 ± 41,69	2065,39 ± 34,98#*

#p < 0,05 при сравнении опытной группы с группой контроля;

*p < 0,05 при сравнении опытных групп.

По данным литературы известно, что физическая нагрузка приводит к гипертрофии мышцы, что проявляется в увеличении площади ядер миосателлитов и миоцитов, их количества, а также толщины и площади мышечных волокон и является главной адаптивной реакцией [3]. Однако полученные нами данные демонстрируют достоверное снижение количества миоцитов в тренируемой принудительным плаванием группе по сравнению с контрольной, что может являться следствием гибели миоцитов, проявляющейся при интенсивной физической нагрузке [5, 6], и говорит о незавершенной адаптации. В группе животных с применением фотомодуляции количество миоцитов при тренировках увеличивается, что свидетельствует о положительном влиянии инфракрасного лазерного излучения на процессы приспособления мышцы к физическим нагрузкам.

Увеличение толщины и площади поперечного сечения мышечного волокна в тренируемых группах животных было больше выражено в группе с фотобиомодуляцией. Учитывая, что в этой группе животных происходило увеличение количества клеток в мышечном волокне, сопровождаемое увеличением площади ядер как зрелых клеток, так и миосателлитов, можно сделать вывод, что лазерное воздействие способствует как гипертрофии, так и гиперплазии двуглавой мышцы бедра, а значит более полноценной адаптации мышечной ткани к физической нагрузке в модели принудительного плавания [7].

В группе тренировки без лазерного воздействия также происходило достоверное увеличение толщины мышечного волокна, хотя и без увеличения площади поперечного сечения. Однако наблюдаемое при этом уменьшение количества миоцитов и отсутствие динамики количества миосателлитов может указывать на то, что определяющим фактором в изменении

размера мышечного волокна в процессе адаптации к физическим нагрузкам у крыс является гипертрофия зрелых клеток, что подтверждается увеличением площади их ядер.

Таким образом, увеличение площади ядер и количества миосателлитов и миоцитов на фоне увеличения поперечных размеров мышечного волокна является показателем завершенной адаптации к принудительному плаванию, а снижение количества миоцитов и отсутствие динамики количества миосателлитов можно трактовать как идущий процесс активной адаптации организма к физической нагрузке.

Ранее нами был исследован вопрос о действии лазерного излучения на посттравматическую регенерацию скелетных мышц [2], где влияние фотомодуляции проявлялось в активации клеток: увеличении их ядра, стимуляции пролиферации, увеличении количества миосателлитов и миоцитов, что приводило к более качественному восстановлению ткани. Сопоставимость данных, полученных при исследовании эффектов инфракрасной фотомодуляции в неповрежденной и поврежденной мышечной ткани, дает возможность сделать вывод, что механизмы, работающие при этом, сходны. Основными из них являются изменения транспорта кальция в клетках, активация синтеза сократительных и несократительных белков, изменение экспрессии генов, проявляющиеся в стимуляции роста и пролиферации клеток [2, 4, 6, 8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфракрасная фотобиомодуляция стимулирует процессы адаптации в мышцах бедра к физическим нагрузкам плаванием, что проявляется в увеличении площади ядер миосателлитов и миоцитов, их количества, толщины мышечных волокон, а также площади мышечного волокна в поперечном сечении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреевко Т.А., Ситникова М.И. Влияние оздоровительной физической культуры на организм // Наука-2020. – 2018. – № 5. – С. 41–44.
2. Галлямутдинов Р. В., Астахова Л. В., Головнева Е. С., Серышева О. Ю. Влияние лазерного инфракрасного излучения на некоторые морфофункциональные показатели регенерирующей скелетной мышцы в возрастном аспекте // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 24, № 2-3. – С. 90–94.
3. Качелаева Ю.В., Тахаутдинов Р.Р. Гиподинамия и здоровье человека // В мире научных открытий. – 2010. – № 4-14. – С. 26–27.
4. Корсаков И.Н., Самчук Д.П., Еремин И.И. Тканеинженерные конструкции для восстановления скелетной мышечной ткани // Гены и клетки. – 2017. – № 1. – С. 34–37.
5. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Вагапова В.Ш., Щербakov Д.А. Морфологические аспекты регенерации скелетной мышечной ткани, индуцированной аллогенным материалом // Практическая медицина. – 2019. – Т. 17, № 1. – С. 98–102.
6. Хабибуллин Р.М. и др. Биохимические показатели крови и морфологические изменения мышечной ткани у мышей после физической нагрузки на фоне применения левзеи сафлоровидной // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 238, № 2. – С. 215.
7. Шурыгин М.Г., Болбат А.В., А.В. Шурыгина А.В. Миосателлиты как источник регенерации мышечной ткани // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-8. – С. 1741–1746.
8. Beasi W.R., Toffoli L.V., Pelosi G.G., et al. Effects of photobiomodulation and swimming on gene expression in rats with the tibialis anterior muscle injury // Lasers Med Sci. – 2020 (Oct 27). – DOI: 10.1007/s10103-020-03168-y.
9. Ferraresi C., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Photobiomodulation in human muscle tissue: an advantage in sports performance? // J Biophotonics. – 2016. – No. 9 (11–12). – P. 1273–1299. – DOI: 10.1002/jbio.201600176.

REFERENCES

1. Andreenko T.A., Sitnikova M.I. Vliyanie ozdorovitel'noj fizicheskoy kul'tury na organizm [Influence of health-improving physical culture on the body]. *Nauka-2020* [Science-2020], 2018, no. 5, pp. 41–44. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Gallyamutdinov R.V., Astahova, L.V., Golovneva, E.S., Serysheva, O.Yu. Vliyanie lazernogo infrakrasnogo izlucheniya na nekotorye morfofunkcional'nye pokazateli regeneriruyushchej skeletnoj myshcy v vozrastnom aspekte [Influence of laser infrared radiation on some morphological and functional indicators of regenerating skeletal muscle in the age aspect]. *Lazernaya medicina* [Laser medicine], 2021, vol. 24, no. 2-3, pp. 90–94. (In Russ.; abstr. in Engl.).
3. Kachelaeva Yu.V., Tahautdinov R.R. Gipodinamiya i zdorov'e cheloveka [Physical inactivity and human health]. *V mire nauchnyh otkrytij* [In the world of scientific discoveries], 2010, no. 4-14, pp. 26–27. (In Russ.; abstr. in Engl.).
4. Korsakov I.N., Samchuk D.P., Eremin I.I. Tkaneinzhenernye konstrukcii dlya vosstanovleniya skeletnoj myshechnoj tkani [Tissue engineering structures for the restoration of skeletal muscle tissue]. *Geny i kletki* [Genes and cells], 2017, no. 1, pp. 34–37. (In Russ.; abstr. in Engl.).
5. Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Vagapova V.Sh., Shcherbakov D.A. Morfologicheskiye aspekty regeneratsii skeletnoj myshechnoj tkani, indutsirovannoy allogennym materialom [Morphological aspects of skeletal muscle tissue regeneration induced by allogeneic material]. *Prakticheskaya meditsina* [Practical medicine], 2019, vol. 17, no. 1, pp. 98–102. (In Russ.; abstr. in Engl.).
6. Habibullin R.M. et al. Biohimicheskie pokazateli krovi i morfologicheskie izmeneniya myshechnoj tkani u myshej posle fizicheskikh nagruzok na fone primeneniya levzei saflorovidnoj [Biochemical blood parameters and morphological changes in muscle tissue in mice after physical exertion against the background of the use of safflower leuzea]. *Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N.E. Baumana* [Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine], 2019, vol. 238, no. 2, p. 215. (In Russ.; abstr. in Engl.).
7. Shurygin M.G., Bolbat A.V., Shurygina I.A. Miosatellity kak istochnik regeneratsii myshechnoj tkani [Myosatellites as a source of muscle tissue regeneration]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research], 2015, no. 1-8, pp. 1741–1746. (In Russ.; abstr. in Engl.).
8. Beasi W.R., Toffoli L.V., Pelosi G.G., et al. Effects of photobiomodulation and swimming on gene expression in rats with the tibialis anterior muscle injury. *Lasers Med Sci*, 2020 (Oct 27). DOI: 10.1007/s10103-020-03168-y.
9. Ferraresi C., Hamblin M.R., Parizotto N.A. Low-level laser (light) therapy (LLL) on muscle tissue: performance, fatigue and repair benefited by the power of light. *Photonics & lasers in medicine*, 2012, vol. 1, no. 4, pp. 267–286.

Контактная информация

Галлямутдинов Ростислав Винерович – младший научный сотрудник отдела поисковых исследований, ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины», г. Челябинск, e-mail: rkenpachi@bk.ru