

# ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТИРЕОЦИТОВ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

И. В. Смелова<sup>1</sup> ✉, Е. С. Головнева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Многопрофильный центр лазерной медицины, Челябинск

<sup>2</sup> Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск

Лазерное воздействие представляет интерес в качестве метода терапии гипотиреоза и аутоиммунных тиреоидитов. Его эффективность зависит от применяемой дозы излучения. Дегрануляция стромальных тучных клеток щитовидной железы (мастоцитов) является дозозависимым процессом, а попадание содержимого клеточных гранул в окружающие ткани может привести к изменению микроциркуляции, повышению активности тиреоидного эпителия и усилению эндокринной функции железы. Целью исследования являлось изучение влияния инфракрасного лазерного облучения средней интенсивности при суммарной плотности дозы с поверхности кожи 112 и 450 Дж/см<sup>2</sup> на функциональное состояние тучных клеток и содержание гормонов щитовидной железы в сыворотке крови в норме и при гипотиреозе. Эксперимент провели на 78 беспородных половозрелых самцах крысы. Гипотиреоз моделировали пероральным введением «Мерказолила» («Акрихин», Россия) в дозе 25 мг/кг в течение 21 дня. Облучение производили с использованием аппарата «ИРЭ-Полус» с длиной волны 970 нм (НТО «ИРЭ-Полус», Россия) ежедневно в течение 5 дней. Животных выводили из эксперимента на 1, 7 и 30 сутки. Подсчитывали общее количество тучных клеток, количество дегранулированных мастоцитов, количество мастоцитов I, II и III степени дегрануляции, коэффициент дегрануляции, а также содержание в сыворотке крови тиреотропных гормонов. Показано, что тучные клетки интактной щитовидной железы малочувствительны к лазерному воздействию, но гормональный профиль изменяется в ранние сроки после облучения. При моделировании гипотиреоза тиамазолом (действующее вещество «Мерказолила») происходит активация тучных клеток в восстановительном периоде после прекращения дачи препарата. Моделирование гипотиреоза сопровождается изменением содержания в сыворотке крови гормонов ТТГ, Т<sub>4</sub> и Т<sub>3</sub>. При сравнении результатов воздействия двух режимов лазерного излучения на железу животных с экспериментальным гипотиреозом отмечается повышение функциональной активности мастоцитов и нормализация уровня гормональной секреции при суммарной плотности дозы 112 Дж/см<sup>2</sup> и снижение активности тучных клеток при суммарной плотности дозы 450 Дж/см<sup>2</sup>.

**Ключевые слова:** гипотиреоз, щитовидная железа, тучные клетки, мастоциты, дегрануляция, тиреотропный гормон, лазерное излучение

✉ Для корреспонденции: Смелова Ирина Викторовна  
ул. Потемкина, д. 14, кв. 65, г. Челябинск, 454081; spiral.siv@mail.ru

Статья получена: 28.11.2016 Статья принята к печати: 12.12.2016

## DYNAMICS OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF THYROCYTES IN THE SETTING OF CHANGING MORPHOFUNCTIONAL ACTIVITY OF MAST CELLS OF THE THYROID GLAND UPON INFRARED LASER THERAPY

Smelova IV<sup>1</sup> ✉, Golovneva ES<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Multi-specialty Center of Laser Medicine, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Exposure to laser radiation is an interesting method of treating hypothyroidism and autoimmune thyroiditis. Its effect depends on the applied radiation dose. Degranulation of stromal mast cells of the thyroid gland (mastocytes) is dose dependent; release of granular contents into the surrounding tissues may affect microcirculation, result in the increased activity of the thyroid epithelium or stimulate the thyroid. Our study aimed to investigate the effect of moderate-intensity infrared laser radiation at total surface doses of 112 and 450 J/cm<sup>2</sup> on the functional state of mast cells and blood serum levels of thyroid gland hormones in healthy and hypothyroid subjects. The experiment was carried out in 78 random-bred mature male rats. Hypothyroidism was modeled by *per os* administration of 25 mg/kg Mercazolil (Akrikhin, Russia) for 21 days. Radiation therapy was performed using a IRE-Polus laser with a wavelength of 970 nm (NTO IRE-Polus, Russia). The animals received radiation therapy for 5 days and were sacrificed 1, 7, and 30 days after the experiment. Subsequently, we calculated the total number of mast cells, degranulated mastocytes, mastocytes with degree 1, 2 and 3 degranulation, degranulation coefficient, and levels of TSH in blood serum. Mast cells of the intact thyroid gland demonstrated low sensitivity to laser radiation, but hormone levels changed soon after radiation was discontinued. In the animals with hypothyroidism induced by thiamazole (the active component of Mercazolil), activation of mast cells was observed in the recovery period after the drug was discontinued. Hypothyroidism was accompanied by changes in TSH, T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> levels in blood serum. Comparison of the effects of two laser therapy modes in the animals with induced hypothyroidism revealed increased functional activity of mastocytes and normalized levels of secreted hormones at a total dose of 112 J/cm<sup>2</sup> and reduced mast cell activity at a total dose of 450 J/cm<sup>2</sup>.

**Keywords:** hypothyroidism, thyroid gland, mast cells, mastocytes, degranulation, thyroid stimulating hormone, laser radiation

✉ Correspondence should be addressed: Irina Smelova  
ul. Potemkina 14, kv. 65, Chelyabinsk, Russia, 454081; spiral.siv@mail.ru

Received: 28.11.2016 Accepted: 12.12.2016

В последнее десятилетие в клинической практике все большее распространение получают новые методы терапии с применением лазерных технологий. Наряду с активным использованием низкоинтенсивных режимов лазеров [1], разрабатываются методики на основе лазерного воздействия повышенной мощности, позволяющего достигать терапевтических доз в глубине ткани [2, 3].

Щитовидная железа доступна для прямого лазерного воздействия с поверхности тела. Лазерное облучение щитовидной железы может изменять ее функцию, способствовать повышению уровня секреции гормонов, улучшать микроциркуляцию и влиять на репарацию тканей органа, поэтому применяется при лечении гипотиреоза и аутоиммунных тиреоидитов [4–7]. Существует точка зрения, что триггером структурных изменений тиреоидного эпителия является воздействие фотонов света на строму железы, в том числе на содержащиеся в ней иммунные клетки. Известно, что при низкоинтенсивном лазерном воздействии на щитовидную железу возрастает секреция тиреоидных гормонов [8].

Гормоны щитовидной железы, точкой приложения которых является ядерный аппарат клетки, участвуют в обменных процессах всех видов, влияют на активность ферментных систем, способствуют росту, развитию и дифференцировке всех тканей организма. Неоспоримо влияние тиреоидных гормонов на центральную и периферическую нервную систему и высшую нервную деятельность и другие железы внутренней секреции.

Основная функция тиреотропного гормона (ТТГ), продуцируемого клетками передней доли гипофиза, — регуляция синтеза и секреции гормонов щитовидной железы по принципу обратной связи. Функциональное состояние щитовидной железы оценивается по содержанию гормонов тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ) в сыворотке крови, причем концентрация их свободных фракций является более надежным параметром.

Стромальные тучные клетки щитовидной железы (мастоциты) обладают высокой функциональной активностью за счет продукции большого числа медиаторов, цитокинов и ферментов. Показано их участие в регуляции микроциркуляции и ангиогенеза, ответе тканей на повреждающие экстремальные воздействия, воспалительных и аллергических реакций [9]. Биологически активные вещества дегранулированных тучных клеток влияют на состояние микроциркуляторного русла и эпителия фолликулов, а также играют важную роль в репаративной регенерации железы и могут изменять ее функциональную активность [10]. Лазерное воздействие на ткани вызывает дегрануляцию мастоцитов [11, 12].

Остаются неизученными эффекты среднеинтенсивного лазерного воздействия на функциональную активность тучных клеток щитовидной железы в зависимости от дозы излучения. Целью работы являлось изучение влияния различных доз среднеинтенсивного инфракрасного лазерного облучения на функциональное состояние стромальных тучных клеток с оценкой по степени их дегрануляции и функциональное состояние тиреоцитов с оценкой по содержанию тиреоидных гормонов в сыворотке крови в норме и при экспериментальном гипотиреозе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент провели на 78 беспородных половозрелых самцах лабораторной крысы весом 200–220 г, содержащихся в условиях вивария в клетках по 2–3 особи ad libitum,

на сбалансированном рационе и при обычном световом режиме (день–ночь). Опыт проведен с соблюдением норм и правил гуманного обращения с животными, в том числе в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.09.77) и Хельсинкской декларацией 1964 г. с изменениями от 1975, 1983 и 1989 гг.

Животных разделили на 6 групп: 1) интактные животные; 2) животные с экспериментальным гипотиреозом; 3) интактные животные, для которых суммарная плотность дозы составила 112 Дж/см<sup>2</sup> (экспозиция — 45 с); 4) интактные животные, для которых суммарная плотность дозы составила 450 Дж/см<sup>2</sup> (экспозиция — 60 с) 5) животные с экспериментальным гипотиреозом, для которых суммарная плотность дозы составила 112 Дж/см<sup>2</sup> (экспозиция — 45 с); 6) животные с экспериментальным гипотиреозом, для которых суммарная плотность дозы составила 450 Дж/см<sup>2</sup> (экспозиция — 60 с). Лазером воздействовали в непрерывном режиме ежедневно в течение 5 дней, начиная со следующего дня после окончания моделирования гипотиреоза. Работали на аппарате «ИРЭ-Полюс» с длиной волны 970 нм (НТО «ИРЭ-Полюс», Россия). Режим лазерного воздействия с суммарной плотностью дозы 450 Дж/см<sup>2</sup> не вызывал термических повреждений тканей щитовидной железы.

Гипотиреоз моделировали ежедневным пероральным введением в течение 21 суток «Мерказолила» (действующее вещество — тиамазол; производство: «Акрихин», Россия) в дозе 25 мг/кг с помощью специального зонда [13]. Интактным животным по той же схеме перорально вводили 0,9 % физиологический раствор. Оценку гипотиреоза проводили по клиническим признакам: изменению массы тела, аппетита, состояния шерсти, температуры, — а также по морфологическому состоянию щитовидной железы и содержанию тиреоидных гормонов в сыворотке крови.

Выведение животных из эксперимента осуществляли под эфирным наркозом путем цервикальной дислокации через 1, 7 и 30 суток после окончания облучения.

Материал для морфологического исследования забирали в 10 % раствор нейтрального формалина, затем готовили стандартные гистологические парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином–эозином и толуидиновым синим (pH = 2,0). Микроскопические исследования проводили на микроскопе DMRXA (Leica, Германия). Результаты фиксировали с помощью программы анализа изображений «ДиаМорф Cito-W» (Россия), совмещенной с микроскопом. Морфометрический анализ гистологических срезов включал подсчет общего количества тучных клеток и тучных клеток в разной степени дегрануляции и расчет коэффициента дегрануляции. Подсчет тучных клеток проводили по 10 полям зрения в каждом препарате с последующим пересчетом на 1 мм<sup>2</sup>. По степени дегрануляции мастоциты разделили на 3 группы: 1) I ст. — 1–2 гранулы за пределами цитоплазмы; 2) II ст. — 3–10 гранул за пределами цитоплазмы; 3) III ст. — более 10 гранул за пределами цитоплазмы. Коэффициент дегрануляции рассчитывали как отношение количества дегранулированных клеток к общему количеству тучных клеток.

Содержание гормонов в сыворотке крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе Personal LAB (Adaltis, Италия) с использованием набора реагентов компании Cusabio Biotech (Китай) — для определения

содержания ТТГ и набора реагентов компании «Вектор-Бест» (Россия) — для определения содержания тироксина и трийодтиронина в свободной и связанной фракциях.

Статистическую обработку результатов провели при помощи программного обеспечения Microsoft Excel, SPSS Statistics 20 (IBM, США), используя непараметрические методы: вычисление медианы, верхнего и нижнего квартилей. Для оценки значимости различий при межгрупповом сравнении использовали критерий Манна-Уитни. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У животных с экспериментальным гипотиреозом, не проходивших облучение, общее количество тучных клеток щитовидной железы достоверно не отличалось от значения этого показателя у интактных животных (табл. 1). У животных, выведенных из эксперимента через 1 сутки после моделирования гипотиреоза, было отмечено снижение количества тучных клеток I степени дегрануляции в сравнении с интактными крысами (табл. 2). Сравнение этих же групп при выведении животных из эксперимента через месяц показало достоверное повышение количества мастоцитов II и III степени дегрануляции и увеличение значения коэффициента дегрануляции.

При сопоставлении значений содержания гормонов  $T_4$  и  $T_3$  в сыворотке крови интактных животных и животных с экспериментальным гипотиреозом у последних наблюдали статистически значимое снижение содержания свободной фракции  $T_4$  и повышение содержания ТТГ во все сроки выведения из эксперимента (табл. 3).

После лазерного облучения щитовидной железы интактных животных на ранних сроках (сутки и неделя) выведения из эксперимента изменения количества и активности мастоцитов не происходило независимо от суммарной плотности дозы, кроме снижения числа тучных клеток I степени дегрануляции через сутки выведения из эксперимента при дозе  $112 \text{ Дж/см}^2$  (табл. 2). На 30-е сутки после облучения дозой  $112 \text{ Дж/см}^2$  наблюдали увеличение общего количества дегранулированных мастоцитов, мастоцитов I и II степени дегрануляции, значения коэффициента дегрануляции и — снижение количества мастоцитов I степени дегрануляции. В этот же срок общее количество тучных клеток в щитовидной железе интактных животных после облучения достоверно не изменялось.

Лазерное облучение щитовидной железы интактных крыс при суммарной плотности дозы  $112 \text{ Дж/см}^2$  способствовало понижению сывороточной концентрации ТТГ и повышению содержания свободного  $T_4$ , свободного и общего  $T_3$  при заборе крови через сутки после выведения животных из эксперимента (табл. 3).

В подгруппе животных с экспериментальным гипотиреозом, получивших облучение в дозе  $112 \text{ Дж/см}^2$  и выведенных из эксперимента через сутки, наблюдали статистически значимое увеличение общего количества тучных клеток, общего количества дегранулированных мастоцитов, в том числе всех степеней дегрануляции, и значения коэффициента дегрануляции (при сравнении с крысами с гипотиреозом, не получивших облучения) (табл. 1, 2). Через месяц достоверно уменьшалось общее количество мастоцитов, общее количество дегранулированных тучных клеток и мастоцитов III степени дегрануляции. Также наблюдали статистически значимое изменение уровня гормональной секреции: уменьшение содержания ТТГ, уве-

личение содержания свободной и связанной фракций  $T_4$  и  $T_3$  через неделю и месяц после выведения животных из эксперимента.

При воздействии на щитовидную железу животных с экспериментальным гипотиреозом лазером в дозе  $450 \text{ Дж/см}^2$  через неделю наблюдали снижение содержания тучных клеток II степени дегрануляции, а через месяц — снижение общего количества дегранулированных мастоцитов, тучных клеток II и III степени дегрануляции, значения коэффициента дегрануляции и содержания гормонов (при сравнении с крысами с гипотиреозом, не получивших облучения) (табл. 1, 2).

При сравнении между собой групп животных с экспериментальным гипотиреозом, получивших облучение в разных дозах, обнаружили, что лазерное воздействие с суммарностью плотностью дозы  $450 \text{ Дж/см}^2$  приводило к уменьшению количества дегранулированных тучных клеток, значения коэффициента дегрануляции и снижению содержания гормонов во все сроки выведения животных из эксперимента.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Механизм действия тиамазола заключается в нарушении синтеза гормонов тиреоцитами щитовидной железы вследствие блокирования фермента пероксидазы, участвующей в йодировании тиронина с образованием  $T_3$  и  $T_4$ , что способствует развитию гипотиреоза. Тучные клетки принимают участие в паракринной регуляции в норме и при патологии за счет содержания большого количества биологически активных веществ в их гранулах. Дегрануляция мастоцитов может регулироваться цитокинами, гормонами, нейропептидами. Это позволяет предположить наличие взаимосвязи между функциональным состоянием стромальных тучных клеток и функциональным состоянием тиреоцитов. Гипотеза требует проверки.

Анализируя полученные данные, можем предположить, что отсутствие существенных изменений уровня дегрануляции тучных клеток через 1 сутки после выведения животных с гипотиреозом из эксперимента (в сравнении с интактными животными, не получивших облучения) является косвенным свидетельством тормозящего эффекта тиамазола в отношении функциональной активности не только тиреоцитов, но и мастоцитов. Повышение количества мастоцитов II и III степени дегрануляции и увеличение значения коэффициента дегрануляции через месяц после выведения животных из эксперимента (при сравнении этих же групп), вероятно, отражает регенеративные процессы в ответ на повреждающее воздействия тиреостатика и является одним из показателей усиления функциональной активности щитовидной железы [10].

Снижение содержания свободной фракции  $T_4$  и повышение содержания ТТГ во все сроки выведения из эксперимента у животных с экспериментальным гипотиреозом в сравнении с интактными крысами, отмеченные в нашем исследовании, подтверждают развитие гипотиреоза и угнетение компенсаторных механизмов организма. Увеличение содержания свободной фракции  $T_3$  в эти сроки, вероятно, свидетельствует о повышенном дейодировании  $T_4$  в периферических тканях для восстановления регуляторных функций.

Активация тучных клеток в щитовидной железе животных с гипотиреозом, получивших облучение в дозе  $112 \text{ Дж/см}^2$  и выведенных из эксперимента через сутки,

**Таблица 1.** Сравнительная характеристика групп животных по общему количеству тучных клеток, в том числе дегранулированных, и коэффициенту дегрануляции

Группа		Общее количество тучных клеток (мм <sup>2</sup> )	Количество дегранулированных тучных клеток (мм <sup>2</sup> )	Коэффициент дегрануляции
Группа 1: интактные животные		15,4 (7,48;21,78)	5,06 (4,07;10,56) <sup>#,1</sup>	0,53 (0,35;0,58) <sup>#,1</sup>
Группа 2: интактные животные; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 112 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	8,58 (7,32;15,02)	4,07 (3,52;6,44)	0,45 (0,38;0,55)
	ч/з 1 неделю	10,78 (7,59;16,61)	6,27 (4,84;11,66)	0,66 (0,53;0,73)
	ч/ 1 месяц	18,15 (15,90;23,05)	12,87 (10,45;15,62) <sup>#,°</sup>	0,71 (0,59;0,80) <sup>#,°</sup>
Группа 3: интактные животные; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 450 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	11,65 (9,96;11,88)	3,30 (2,64;6,11)	0,40 (0,23;0,57)
	ч/з 1 неделю	13,20 (7,87;16,34)	3,96 (3,69;11,72)	0,46 (0,30;0,72)
	ч/ 1 месяц	12,54 (8,36;19,03)	4,84 (2,42;8,36) <sup>°</sup>	0,36 (0,30;0,49) <sup>°</sup>
Группа 4: животные с экспериментальным гипотиреозом	ч/з 1 сутки	13,86 (8,75;14,19) <sup>*</sup>	5,83 (5,34;6,82) <sup>*</sup>	0,47 (0,40;0,71) <sup>*</sup>
	ч/з 1 неделю	12,87 (8,47;16,23)	6,60 (5,17;11,61)	0,67 (0,39;0,79)
	ч/ 1 месяц	17,60 (16,28;20,68) <sup>*</sup>	14,74 (11,66;15,62) <sup>1,*</sup>	0,84 (0,73;0,92) <sup>1,*</sup>
Группа 5: животные с экспериментальным гипотиреозом; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 112 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	18,81 (16,78;20,85) <sup>*</sup>	17,05 (15,24;18,87) <sup>°</sup>	0,91 (0,90;0,91) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	15,51 (13,59;18,59) <sup>*</sup>	12,21 (11,06;16,17) <sup>°</sup>	0,82 (0,78;0,87) <sup>°</sup>
	ч/ 1 месяц	12,32 (10,34;15,18) <sup>*</sup>	10,78 (9,57;12,87) <sup>°</sup>	0,86 (0,83;0,95) <sup>°</sup>
Группа 6: животные с экспериментальным гипотиреозом; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 450 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	10,34 (8,58;14,41) <sup>*</sup>	6,27 (4,57;8,31) <sup>°</sup>	0,55 (0,52;0,66) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	9,35 (6,44;10,29) <sup>*</sup>	5,28 (3,80;6,60) <sup>°</sup>	0,60 (0,55;0,65) <sup>°</sup>
	ч/ 1 месяц	15,18 (14,63;16,06)	5,17 (4,57;5,94) <sup>°</sup>	0,35 (0,29;0,40) <sup>°</sup>

**Примечание.** Данные представлены в виде: медиана (нижний квартиль; верхний квартиль).

<sup>1</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении группы 4 с группой 1;

<sup>#</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении групп 2 и 3 с группой 1;

<sup>\*</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении групп 5 и 6 с группой 4;

<sup>°</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении между собой групп 2 и 3 и групп 5 и 6.

**Таблица 2.** Сравнительная характеристика групп животных по количеству тучных клеток в зависимости от степени их дегрануляции

Группа		Кол-во тучных клеток I ст. дегрануляции	Кол-во тучных клеток II ст. дегрануляции	Кол-во тучных клеток III ст. дегрануляции
Группа 1: интактные животные		2,64 (2,31;4,40) <sup>#,1</sup>	1,54 (0,88;2,53) <sup>#,1</sup>	0,44 (0,33;4,40) <sup>1</sup>
Группа 2: интактные животные; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 112 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	1,21 (0,44;3,47) <sup>#</sup>	0,99 (0,44;1,38)	2,64 (1,49;3,41) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	3,96 (1,93;6,16)	2,64 (1,60;4,35)	1,87 (1,21;3,52)
	ч/ 1 месяц	5,06 (4,40;6,05) <sup>#,°</sup>	4,51 (2,86;5,45) <sup>#,°</sup>	3,19 (1,87;5,39)
Группа 3: интактные животные; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 450 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	1,76 (1,54;2,64)	2,42 (1,43;4,07)	0,22 (0,0;0,94) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	3,30 (2,15;4,68)	2,09 (1,27;3,08)	0,22 (0,17;4,24)
	ч/ 1 месяц	0,88 (0,55;1,43) <sup>#,°</sup>	1,98 (0,66;2,64) <sup>°</sup>	1,54 (1,21;4,51)
Группа 4: животные с экспериментальным гипотиреозом	ч/з 1 сутки	1,54 (1,16;1,93) <sup>1,*</sup>	2,42 (1,60;3,74) <sup>*</sup>	1,87 (0,99;2,75) <sup>*</sup>
	ч/з 1 неделю	3,63 (2,09;6,60)	2,42 (1,71;3,91) <sup>*</sup>	1,65 (1,21;3,30) <sup>*</sup>
	ч/ 1 месяц	3,52 (1,98;3,96)	4,84 (1,98;5,50) <sup>1,*</sup>	5,94 (5,06;10,12) <sup>1,*</sup>
Группа 5: животные с экспериментальным гипотиреозом; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 112 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	4,07 (3,14;5,01) <sup>°</sup>	4,73 (4,46;5,01) <sup>°</sup>	8,25 (7,32;9,19) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	4,29 (2,53;4,90) <sup>°</sup>	3,96 (2,75;6,82) <sup>°</sup>	4,07 (3,30;6,82) <sup>*</sup>
	ч/ 1 месяц	3,74 (3,41;4,18) <sup>°</sup>	3,30 (2,75;3,63) <sup>°</sup>	3,74 (2,31;6,16) <sup>*</sup>
Группа 6: животные с экспериментальным гипотиреозом; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 450 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	1,10 (0,94;1,76) <sup>°</sup>	1,98 (1,16;5,45) <sup>°</sup>	2,75 (2,64;5,83) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	1,87 (1,21;5,50) <sup>°</sup>	1,21 (0,88;1,71) <sup>°</sup>	2,86 (1,21;3,69)
	ч/ 1 месяц	1,65 (0,66;1,98) <sup>°</sup>	1,32 (0,88;5,39) <sup>°</sup>	2,75 (1,54;3,96) <sup>*</sup>

**Примечание.** Данные представлены в виде: медиана (нижний квартиль; верхний квартиль).

<sup>1</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении группы 4 с группой 1;

<sup>#</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении групп 2 и 3 с группой 1;

<sup>\*</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении групп 5 и 6 с группой 4;

<sup>°</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении между собой групп 2 и 3 и групп 5 и 6.

и уменьшение их активности через месяц, а также снижение содержания ТТГ и увеличение содержания свободной и связанной фракций  $T_4$  и  $T_3$  через неделю и через месяц после лазерного воздействия позволяют говорить о стимулирующем эффекте этой дозы в отношении мастоцитов и ее положительном влиянии на функциональную актив-

ность тироцитов при гипотиреозе. Напротив, значения изучаемых показателей при дозе 450 Дж/см<sup>2</sup> (менее интенсивная дегрануляция тучных клеток, снижение содержания гормонов) позволяют сделать вывод об ослаблении функциональной активности как мастоцитов, так и щитовидной железы в целом.



Таблица 3. Содержание тиреотропного гормона (ТТГ), общей (об) и свободной (svob) фракций тироксина (Т-4) и трийодтиронина (Т-3) в сыворотке крови животных

Группа		ТТГ (mU/l)	Т-4-svob (pmol/l)	Т-4-ob (nmol/l)	Т-3sv (pmol/l)	Т-3-ob (nmol/l)
Группа 1: интактные животные		0,28 (0,21;0,75) <sup>#,1</sup>	18,87 (14,32;20,93) <sup>#,1</sup>	64,29 (39,29;138,27) <sup>#,1</sup>	2,09 (1,64;2,59) <sup>#,1</sup>	1,30 (0,96;1,39) <sup>#,1</sup>
Группа 2: интактные животные; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 112 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	0,19 (0,12;0,25) <sup>°</sup>	27,07 (22,60;27,67) <sup>°</sup>	72,45 (69,90;78,06) <sup>°</sup>	4,63 (4,52;6,59) <sup>°</sup>	1,89 (1,51;2,02) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	0,21 (0,09;0,26) <sup>°</sup>	19,55 (18,87;21,67)	90,82 (76,53;91,33) <sup>°</sup>	4,48 (4,35;4,82) <sup>°</sup>	2,05 (1,81;2,47) <sup>°</sup>
	ч/ 1 месяц	0,42 (0,31;0,45) <sup>°</sup>	23,87 (23,40;24,80) <sup>°</sup>	77,36 (75,00;78,06)	4,21 (3,59;4,77) <sup>°</sup>	2,10 (2,05;2,46) <sup>°</sup>
Группа 3: интактные животные; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 450 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	0,72 (0,49;0,83) <sup>°</sup>	15,85 (12,60;24,54)	22,40 (19,09;44,41) <sup>#,°</sup>	2,53 (1,96;2,74) <sup>°</sup>	1,21 (0,94;1,74)
	ч/з 1 неделю	1,49 (1,22;1,57) <sup>°</sup>	20,40 (15,59;26,66)	58,02 (46,99;62,76) <sup>°</sup>	2,32 (2,21;2,48) <sup>°</sup>	2,03 (1,88;2,17) <sup>°</sup>
	ч/ 1 месяц	0,10 (0,06;0,20) <sup>°</sup>	22,00 (18,11;23,07) <sup>°</sup>	86,74 (75,00;93,37)	4,72 (4,62;4,95) <sup>°</sup>	2,10 (1,93;2,40) <sup>°</sup>
Группа 4: животные с экспериментальным гипотиреозом	ч/з 1 сутки	1,52 (1,27;1,75) <sup>1,*</sup>	10,39 (7,61;14,87) <sup>1,*</sup>	25,96 (19,59;35,04) <sup>1</sup>	3,23 (3,08;3,50) <sup>1,*</sup>	1,53 (1,21;1,78) <sup>1,*</sup>
	ч/з 1 неделю	1,24 (1,17;1,39) <sup>1,*</sup>	5,64 (4,62;7,78) <sup>1,*</sup>	23,83 (22,32;42,35) <sup>1,*</sup>	2,98 (2,39;3,14) <sup>1,*</sup>	1,44 (1,32;1,95) <sup>1,*</sup>
	ч/ 1 месяц	2,36 (2,32;2,44) <sup>1,*</sup>	5,41 (5,07;8,45) <sup>1,*</sup>	57,30 (41,51;77,48) <sup>*</sup>	2,74 (2,64;3,12) <sup>1,*</sup>	0,99 (0,81;1,00) <sup>*</sup>
Группа 5: животные с экспериментальным гипотиреозом; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 112 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	0,38 (0,20;0,63) <sup>*</sup>	6,92 (5,16;8,65)	30,24 (24,03;59,13)	2,96 (2,64;3,83)	1,56 (1,06;1,95) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	0,34 (0,30;0,45) <sup>°</sup>	10,41 (8,91;11,29) <sup>°</sup>	51,22 (43,83;60,20) <sup>°,*</sup>	3,89 (3,72;4,44) <sup>°</sup>	2,68 (2,49;2,71) <sup>°</sup>
	ч/ 1 месяц	0,19 (0,10;0,57) <sup>*</sup>	12,21 (11,80;12,97) <sup>°,*</sup>	30,42 (28,74;41,43) <sup>*</sup>	3,57 (3,40;4,07) <sup>°</sup>	1,77 (1,37;1,96) <sup>*</sup>
Группа 6: животные с экспериментальным гипотиреозом; суммарная плотность дозы лазерного воздействия — 450 Дж/см <sup>2</sup>	ч/з 1 сутки	0,61 (0,36;0,71) <sup>*</sup>	6,76 (6,46;7,68) <sup>*</sup>	38,33 (32,40;48,19)	3,76 (3,51;4,20) <sup>*</sup>	2,94 (2,65;3,44) <sup>°</sup>
	ч/з 1 неделю	0,51 (0,43;0,57) <sup>°</sup>	6,52 (4,57;8,33) <sup>°</sup>	13,92 (12,78;14,75) <sup>°,*</sup>	2,55 (2,49;2,71) <sup>°</sup>	2,14 (1,79;2,22) <sup>°</sup>
	ч/ 1 месяц	0,42 (0,31;0,70) <sup>*</sup>	9,26 (8,65;11,56) <sup>°</sup>	30,10 (29,14;34,64) <sup>*</sup>	2,96 (2,74;3,04) <sup>°</sup>	1,83 (1,77;2,10) <sup>*</sup>

Примечание. Данные представлены в виде: медиана (нижний квартиль; верхний квартиль).

<sup>1</sup> — p < 0,05 при сравнении группы 4 с группой 1;

<sup>#</sup> — p < 0,05 при сравнении групп 2 и 3 с группой 1;

<sup>\*</sup> — p < 0,05 при сравнении групп 5 и 6 с группой 4;

<sup>°</sup> — p < 0,05 при сравнении между собой групп 2 и 3 и групп 5 и 6.

В литературе описана дегрануляция тучных клеток в различных тканях как при низкоинтенсивном, так и при высокоинтенсивном лазерном воздействии [11–13], однако при этом высокоинтенсивное лазерное воздействие сопровождалось термическим повреждением тканей. Локальный нагрев ткани до температур, вызывающих коагуляцию белков, и выше являлся тем физическим фактором, который приводил к дегрануляции мастоцитов. Было показано, что охлаждение ткани во время высокоинтенсивного лазерного воздействия снижало дегрануляцию тучных клеток [14]. Использованный нами режим лазерного воздействия не вызывал термического повреждения тканей щитовидной железы, поэтому причиной наблюдаемого торможения дегрануляции мастоцитов, видимо, являлось превышение критических доз лазерной энергии в глубине тканей. Известно, что стимулирующие эффекты наблюдаются при дозах лазерной энергии, не превышающих 5 Дж/см<sup>2</sup>, а большие дозы обладают ингибирующим действием, однако это показано только для поверхностных ран и культур тканей [15]. По мере продвижения лазерного излучения в глубину ткани происходит рассеивание и поглощение фотонов, поэтому доза энергии, реально получаемая клетками, несопоставима с дозой на поверхности кожи [2].

Изменение микроциркуляции щитовидной железы при лазерном воздействии может происходить за счет процессов, связанных с локальным синтезом оксида азота [1, 4]. Непосредственным воздействием лазера на усиление дегрануляции тучных клеток с выбросом медиаторов и цитокинов, таких как гепарин, гистамин, ферменты, факторы роста, можно объяснить усиление кровотока щито-

видной железы, что является одним из условий активации синтеза йодсодержащих гормонов тиреоидным эпителием [8, 12, 14].

Эффекты лазерного воздействия обусловлены поглощением фотонов митохондриальными и мембранными хромофорами, соответствующими длине волны лазера, изменениями в окислительно-восстановительном потенциале клетки и процессами с участием вторичных мессенджеров, запускающих каскады внутриклеточной сигнализации [15, 16]. В частности, усиление дегрануляции тучных клеток после лазерного воздействия традиционно связывают с повышением внутриклеточной концентрации ионов кальция [11], следовательно, спад функциональной активности мастоцитов может быть связан со снижением проницаемости клеточных мембран для кальция, например из-за нарушения работы кальциевых каналов при воздействии высоких доз лазерной энергии.

## ВЫВОДЫ

Моделирование гипотиреоза введением тиамазола изменяет содержание циркулирующих в сыворотке крови ТТГ, Т<sub>4</sub> и Т<sub>3</sub>, однако не влияет на функциональную активность стромальных тучных клеток щитовидной железы: их реакция заметна только в период восстановления, после прекращения дачи препарата.

Воздействие лазера на щитовидную железу является дозозависимым и проявляется стимуляцией функциональной активности как тучных клеток, так и гормонпродуцирующей ткани щитовидной железы. Повышение функциональной активности мастоцитов и нормализация

содержания гормонов в сыворотке крови у животных с экспериментальным гипотиреозом отмечена при инфракрасном лазерном воздействии с суммарной плотностью дозы 112 Дж/см<sup>2</sup>. Тормозящие эффекты наблюдаются при дозе 450 Дж/см<sup>2</sup>.

Учитывая полученные нами результаты, лазерное инфракрасное воздействие с суммарной плотностью дозы на поверхности кожи 112 Дж/см<sup>2</sup> может быть дополнительно изучено с точки зрения возможности его использования для терапии гипотиреоза.

## Литература

1. Москвин С. В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». Т. 2. М.: Изд-во «Тверь»; 2015. 896 с.
2. Кравченко Т. Г., Зарезина А. С., Головнева Е. С. Оценка глубины проникновения лазерного излучения при терапевтическом воздействии методом компьютерного моделирования. Вестник новых медицинских технологий. 2007; 14 (2): 202–4.
3. Головнева Е. С., Кравченко Т. Г., Кудрина М. Г., Гужина А. О., Попов Г. К. Локальные эффекты системного лазерного облучения повышенной мощности. Вестник уральской академической науки. 2012; 2 (39): 126–127.
4. Hofling DB, Chavantes MC, Juliano AG, Cerri GG, Knobel M, Yoshimura EM, et al. As sessment of the effects of low-level laser therapy on the thyroid vascularization of patients with autoimmune hypothyroidism by color Doppler ultrasound. ISRN Endocrinol. 2012; 126720. DOI: 10.5402/2012/126720.
5. Hofling DB, Chavantes MC, Acencio MM, Cerry GG, Marui S, Yoshimura EM, et al. Effects of low-level laser therapy on the serum TGF- $\beta$  concentrations in individuals with autoimmune thyroiditis. Photomed Laser Surg. 2014 Aug; 32 (8): 444–9. DOI: 10.1089/pho.2014.3716.
6. Morcos N, Omran M, Ghanem H, Elahdal M, Kamel N, Attia E. Phototherapeutic Effect of Low-Level Laser on Thyroid Gland of Gamma-Irradiated Rats. Photochem Photobiol. 2015 Jul–Aug; 91 (4): 942–51. DOI: 10.1111/php.12465.
7. Weber JBB, Mayer L, Cenci RA, et al. Effect of three different protocols of low-level laser therapy on thyroid hormone production after dental implant placement in an experimental rabbit model. Laser Surg. 2014; 32 (11): 612–7.
8. Аристархов В. Г. Рекомендации по применению инфракрасного лазерного излучения у больных с патологией щитовидной железы. В сб.: Материалы научно-практической конференции ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России; 2014 г.; Рязань. Рязань: РИО РязГМУ; 2014.
9. Юшков Б. Г., Черешнев В. А., Климин В. Г., Арташян О. С. Тучные клетки. Физиология и патофизиология. М.: Изд-во «Медицина»; 2011. 240 с.
10. Арташян О. С., Храмуцова Ю. С., Юшков Б. Г. Участие тучных клеток в процессе репаративной регенерации щитовидной железы. Вестник уральской медицинской академической науки. 2013; 44 (2): 36–8.
11. Козель А. И., Соловьева Л. И., Попов Г. К. К механизму действия низкоинтенсивного лазерного излучения на клетку. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1999; 128 (10): 397–9.
12. Головнева Е. С., Козель А. И., Попов Г. К. Патофизиологический механизм ревазуляризации тканей с помощью воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения. Вестник Российской академии медицинских наук. 2003; (6): 23–6.
13. Isman CA, Yegen BC, Alican I. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis. J Endocrinol. 2003; 177 (3): 471–6.
14. Pinheiro AL, Browne RM, Frame JW, Matthews JB. Mast cells in laser and surgical wounds. Braz Dent J. 1995; 6 (1): 11–5.
15. Chaves ME, Araujo AR, Piancastelli AC, Pinotty M. Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED. An Bras Dermatol. 2014 Jul–Aug; 89 (4): 616–23.
16. Залеский В. Н. К 50-летию лазерной медицины: молекулярные механизмы лазерной биостимуляции. Украинский медицинский журнал. 2010; 5 (79): 52–8.
17. Москвин СВ. Эффективност' lazernoy terapii. Seriya «Effektivnaya lazernaya terapiya». Vol. 2. Moscow: Izd-vo «Tver»; 2015. 896 p. Russian.
18. Kravchenko TG, Zarezina AS, Golovneva ES. Otsenka glubiny proniknoveniya lazernogo izlucheniya pri terapevticheskom vozdeystvii metodom komp'yuternogo modelirovaniya. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2007; 14 (2): 202–4. Russian.
19. Golovneva ES, Kravchenko TG, Kudrina MG, Gughyna AO, Popov GK. [Local effects of systemic high intensive laser radiation]. Journal of Ural Medical Academic Science. 2012; 2 (39): 126–127.
20. Hofling DB, Chavantes MC, Juliano AG, Cerri GG, Knobel M, Yoshimura EM, et al. As sessment of the effects of low-level laser therapy on the thyroid vascularization of patients with autoimmune hypothyroidism by color Doppler ultrasound. ISRN Endocrinol. 2012; 126720. DOI: 10.5402/2012/126720.
21. Hofling DB, Chavantes MC, Acencio MM, Cerry GG, Marui S, Yoshimura EM, et al. Effects of low-level laser therapy on the serum TGF- $\beta$  concentrations in individuals with autoimmune thyroiditis. Photomed Laser Surg. 2014 Aug; 32 (8): 444–9. DOI: 10.1089/pho.2014.3716.
22. Morcos N, Omran M, Ghanem H, Elahdal M, Kamel N, Attia E. Phototherapeutic Effect of Low-Level Laser on Thyroid Gland of Gamma-Irradiated Rats. Photochem Photobiol. 2015 Jul–Aug; 91 (4): 942–51. DOI: 10.1111/php.12465.
23. Weber JBB, Mayer L, Cenci RA, et al. Effect of three different protocols of low-level laser therapy on thyroid hormone production after dental implant placement in an experimental rabbit model. Laser Surg. 2014; 32 (11): 612–7.
24. Aristarkhov VG. Rekomendatsii po primeneniyu infrakrasnogo lazernogo izlucheniya u bol'nykh s patologiyey shchitovidnoy zhelezy. In: Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii GBOU VPO RyazGMU Minzdrava Rossii; 2014; Ryazan, Russia. Ryazan: RIO RyazGMU; 2014. Russian.
25. Yushkov BG, Chereshnev VA, Klimin VG, Artashyan OS. Tuchnye kletki. Fiziologiya i patofiziologiya. Moscow: Izd-vo «Meditsina»; 2011. 240 p.
26. Artashyan OS, Khramtsova YuS, Yushkov BG. [Participation of mast cells in process of reparative regeneration of the thyroid]. Journal of Ural Medical Academic Science. 2013; 44 (2): 36–8. Russian.
27. Kozel AI, Soloveva LI, Popov GK. K mekhanizmu deystviya nizkointensivnogo lazernogo izlucheniya na kletku. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 1999; 128 (10): 397–9. Russian.
28. Golovneva ES, Kozel AI, Popov GK. [Pathophysiological mechanism of tissue revascularization by using an impact of a high-intensity laser irradiation]. Annals of the Russian academy of medical sciences. 2003; (6): 23–6. Russian.
29. Isman CA, Yegen BC, Alican I. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis. J Endocrinol. 2003; 177 (3): 471–6.
30. Pinheiro AL, Browne RM, Frame JW, Matthews JB. Mast cells in laser and surgical wounds. Braz Dent J. 1995; 6 (1): 11–5.
31. Chaves ME, Araujo AR, Piancastelli AC, Pinotty M. Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED. An Bras Dermatol. 2014 Jul–Aug; 89 (4): 616–23.
32. Zalesskiy VN. K 50-letiyu lazernoy meditsiny: molekulyarnye mekhanizmy lazernoy biostimulyatsii. Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal. 2010; 5 (79): 52–8. Russian.