

**ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ ТИРОЛИБЕРИН ИНТЕГРАТОРОМ ПРОЛАКТИН-  
И ОКСИТОЦИН-ЗАВИСИМЫХ ПРОЦЕССОВ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ  
И РОДИТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ ВО ВРЕМЯ ЛАКТАЦИИ У МЫШЕЙ?**

© 2021 г. А. Г. Марков<sup>1</sup>\*, Л. В. Шадрин<sup>2</sup>, Н. М. Круглова<sup>1</sup>, А. А. Федорова<sup>1</sup>,  
И. А. Разговорова<sup>1</sup>, М. П. Чернышева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Кафедра общей физиологии, Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*Общеуниверситетская Кафедра физической культуры и спорта,  
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

\*E-mail: a.markov@spbu.ru

Поступила в редакцию 09.06.2021 г.

После доработки 02.08.2021 г.

Принята к публикации 10.08.2021 г.

Вскармливание самкой потомства секретом молочной железы является отличительным признаком млекопитающих. Определение вклада нейропептидов в нейроэндокринную регуляцию функций молочной железы и родительского поведения у млекопитающих и человека является приоритетным направлением для понимания этих процессов. Поскольку у лактирующих самок стимул сосания детенышами вызывает залповую секрецию пролактина, окситоцина и тиролиберина, в работе исследуется возможность влияния тиролиберина на пролактин-зависимый лактогенез и окситоцин-обусловленные рефлексывыведения молока, а также на компоненты материнского поведения. Установлено, что билатеральные интраназальные инфузии тиролиберина лактирующим самкам мышей специфически облегчают по сравнению с контролем лактационное поведение, но не пищевое или питьевое. Тиролиберин увеличивал продолжительность периодов кормления и число рефлексывыведения молока в ответ на сосание детенышей, увеличивая одновременно длительность интервалов между ними. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследования показали достоверное изменение эпителиоцитов альвеол молочных желез, свидетельствующее об увеличении синтеза секрета молочной железы под влиянием трипептида. Это подтверждают более высокая скорость роста массы тела мышат и их лучшая выживаемость по сравнению с контролем. Отсутствие после хронических инфузий тиролиберина в низких дозах изменения концентрации тироксина и трийодтиронина в плазме крови самок, определенных иммуноферментным анализом, свидетельствует о неизменности их тиреоидного статуса. Предполагается, что тиролиберин включен в согласование механизмов формирования паттерна нейроэндокринного рефлексывыведения молока, поведенческих актов со стороны самки и усиление синтетической деятельности в молочной железе.

*Ключевые слова:* лактация, тиролиберин, материнское поведение, лактационное поведение, рефлексывыведения молока

DOI: 10.31857/S0869813921100071

## ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим условием выживания млекопитающих является вскармливание самкой своего потомства молоком. Нейроэндокринное обеспечение секреции молока и его выведения из молочной железы должно быть согласовано с лактационным поведением самки. Родительское поведение, в частности процесс вскармливания детенышей, обеспечивается комплексом биохимических и нейрофизиологических процессов, а также специализированными поведенческими актами [1]. Определение вклада нейропептидов в нейроэндокринную регуляцию функций молочной железы и родительского поведения у млекопитающих и человека является приоритетным для понимания этих процессов [2–4]. Среди различных нейропептидов, вовлеченных в регуляцию лактации, изучение вклада трипептида тиролиберина (тиротропин-релизинг гормон) в этот процесс является одним из актуальных направлений. Предпосылками для повышенного внимания к участию тиролиберина в регуляции лактации и материнского поведения является его включенность в различные нейроэндокринные оси гипоталамо-гипофизарной системы и обширное распределение тиролиберинергических нейронов в мозге.

Мелкоклеточные зоны паравентрикулярных ядер гипоталамуса относятся к структурам мозга, в которых расположено большинство тиролиберинергических нейронов [5]. Тиролиберин как нейрогормон включен в реализацию гипоталамо-гипофизарной пролактиновой оси, направленной на поддержание, в первую очередь, синтетической активности молочной железы [6]. Раздражение механорецепторов молочной железы при кормлении детенышей приводит к увеличению мРНК тиролиберина в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. Этот ответ связан с повышенным уровнем пролактина в кровотоке [7, 8]. Напротив, у мышей нокаутных по тиролиберину во время лактации уровень мРНК пролактина в гипофизе и в сыворотке крови был значительно снижен по сравнению с мышами дикого типа. Восстановление уровня пролактина произошло при заместительном введении трипептида [9].

Тиролиберин действует как пролактолиберин двумя путями. Гипофизотропные нейроны секретируют в перикапиллярное пространство внешней зоны срединного возвышения тиролиберин, который с током крови достигает аденогипофиза, стимулируя секрецию пролактина [10]. Кроме этого, выделение тиролиберина в тубероинфундибулярной области гипоталамуса снижает активность дофаминергических нейронов, обеспечивающих хроническое торможение секреции пролактина [11]. Наличие феномена дендритно-соматического взаимодействия между различными популяциями нейронов в гипоталамусе, основанного на секреции тиролиберина в пределах паравентрикулярного ядра, может усиливать активность окситоцинергических нейронов крупноклеточных зон этого ядра [12, 13]. Электрофизиологические данные показывают, что нейросекреторная популяция окситоцинергических нейронов запускает высокочастотный разряд потенциалов действия, что приводит к высвобождению окситоцина из нервных окончаний в нейрогипофизе [14] и сокращению миоэпителиальных клеток молочной железы [15]. Следовательно, нейроэндокринный рефлекс выведения молока у самки, а также поведенческие акты его обуславливающие, является ключевым событием доступности молока для потомства. Окситоцин важен для социального взаимодействия и материнского поведения [16].

Вместе с тем неизвестно, каков механизм обеспечения взаимодействия пролактин- и окситоцин-зависимых процессов лактации и родительского поведения. Одним из нейропептидов, включенных в регуляцию этих процессов, может быть нейропептид тиролиберин, известный своей полифункциональностью [17]. Этот трипептид способен избирательно влиять на различные компоненты поведения, в частности, на поведение при неизбежном стрессе [18]. Поскольку в ответ на стимулы сосания и механическое раздражение молочной железы доступность для

потомства секрета молочной железы обеспечивается выделением пролактина из аденогипофиза [19] и окситоцина из нейрогипофиза [6, 14], можно предположить, что тиролиберин одновременно включен в регуляцию лактационного процесса и материнского поведения. Однако этот вопрос остается неисследованным.

Одним из адекватных способов изучения роли нейропептидов в регуляции функций мозга является интраназальный способ их введения [18, 20, 21]. Исследования показывают, что использование этого методического подхода позволяет обойти гематоэнцефалический барьер, а также влиять на деятельность нейронов различных отделов головного мозга [21, 22]. Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния тиролиберина на лактационное поведение и функцию молочной железы мышей при его интраназальном введении.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Экспериментальные животные*

В экспериментах использовали самок мышей (масса тела 30–40 г,  $n = 16$ ), полученных из питомника лабораторных животных “Рапполово” Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”. Животных содержали на стандартном рационе вивария при свободном доступе к пище и воде. Каждая самка с потомством содержалась в отдельной клетке при температуре воздуха  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  в условиях фиксированного стандартного освещения (12 ч свет/12 ч темнота). Протокол эксперимента соответствовал требованиям Директивы ЕС 2010/63/EU для экспериментов на животных и был одобрен этическим комитетом Санкт-Петербургского государственного университета (опубликован 13 декабря 2017 г.).

Животных разбивали на группы, которые были подобраны по количеству мышат в гнезде. В контрольной группе ( $n = 4$ ) мыши вскарммливали потомство без введения каких-либо препаратов. В группе плацебо ( $n = 4$ ) самкам билатерально апплицировали (10 мкл) в носовую полость физиологический раствор (0.9%-ный раствор NaCl), в опытных группах – тиролиберин в дозе 120 нг/кг ( $n = 4$ ) и 0.012 нг/кг ( $n = 4$ ).

### *Общая схема эксперимента*

В экспериментах было исследовано влияние длительного интраназального введения тиролиберина на лактационное поведение самок, изменение массы тела мышат, а также на потребление воды и корма самками. Введение нейропептида начинали на следующий день после родов, принимая его как первый день эксперимента. Аппликацию растворов осуществляли в течение десяти дней в утренние часы (10.00–12.00). В течение двух дней после заключительной аппликации тиролиберина регистрировали параметры лактационного поведения. После завершения поведенческих опытов на 12-е сутки эксперимента (2-е сутки после последней аппликации тиролиберина) у самок собирали (10.00–12.00) кровь, в сыворотке которой определяли концентрации тироксина и трийодтиронина. Выбор доз тиролиберина был основан на анализе его влияния на поведение при его интраназальном введении [23].

### *Изучение лактационного поведения*

Наблюдение за поведением самок каждой группы осуществлялось в течение двух дней после последней аппликации тиролиберина: первый день – с 13.00 до 16.00, во второй день – с 10.00 до 13.00. В эти часы осуществляется наибольшее количество поведенческих актов лактационного поведения [24]. Для оценки поведения животных в период лактации были выделены следующие поведенческие акты. Лактационное поведение – поведенческая и физиологическая активность самки,

направленная на обеспечение выхаживания потомства и доступности секрета молочной железы для детенышей. Этот процесс состоит из двух поведенческих реакций – “забота о потомстве” и “вскармливание”. “Забота о потомстве” относится к формам лактационного поведения, направленным на поддержание условия кормления и сохранение потомства. Для оценки степени заботы самки о потомстве регистрировали частоту и продолжительность активности самки по строительству и поддержанию гнезда, груминг мышат, контактный отдых самки с мышатами без процесса кормления. Вскармливание потомства – поведенческие акты самки, направленные на получение детенышами секрета молочной железы. Они включают в себя периоды кормления и перерывы между ними и характеризуются определенной динамикой осуществления рефлексов выведения молока. Частота возникновения рефлексов выведения молока, латентный период первого рефлекса, периодичность этих рефлексов отражают индивидуальный нейроэндокринный статус самки, направленный на получение молока потомством. Кормление считалось начавшимся в тот момент, когда более половины мышат после активного поиска прикреплялось к соскам, и закончившимся, когда самка освобождалась от детенышей, покидая гнездо. Латентный период первого рефлекса выведения молока также отсчитывался с момента прикрепления не менее половины детенышей к соскам. Показателем осуществления рефлекса выведения молока является характерная синхронизированная двигательная активность детенышей. Момент ее осуществления соответствует повышению концентрации окситоцина в крови самки [25].

#### *Измерение массы тела у мышат*

По динамике массы тела потомства судили об успешности кормления, так как известно, что между количеством полученного молока и массой тела детеныша существует пропорциональная зависимость с высоким положительным коэффициентом корреляции. Поэтому этот метод позволяет оценивать эффективность процесса кормления и широко используется в исследованиях лактации [26]. Определение массы тела потомства проводили ежедневно, процедуру взвешивания проводили трехкратно на весах Sartorius-1602 MP (Германия). Для сравнения эффективности процесса кормления и интенсивности получения молока мышатами у самок с разным количеством детенышей рассчитывалось увеличение массы тела одного детеныша за сутки. Сравнивали увеличение массы тела мышат между первым и вторым днем с увеличением этого показателя между девятым и десятым днем введения тиролиберина.

#### *Иммуноферментный анализ*

После проведения цервикальной дислокации брали кровь для определения концентрации свободных тироксина и трийодтиронина. Пробы крови отстаивали и затем центрифугировали в течение 10 мин при 220 g (Eppendorf AG, США). Сыворотку хранили в замороженном состоянии при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Тироксин и трийодтиронин определяли с помощью наборов реактивов для твердофазного иммуноферментного анализа “ТироидИФА-свободный T4” и “ТироидИФА-свободный T3” (АлкорБио, Россия), на автоматическом анализаторе (Alisei, Италия) по методике соответствующих тест-систем. Чувствительность при определении FT4 составляла 1 пмоль/л, а для FT3 – 0.5 пмоль/л.

#### *Гистологические методы исследования ткани молочной железы.*

##### *Электронная микроскопия*

В целях стандартизации условий эксперимента для проведения морфометрического анализа и электронной микроскопии мастэктомии подвергались паховые (*inguinal*)

*mammary gland*) молочные железы самок. Фрагменты ткани молочной железы, взятые для исследования, подвергались обработке по следующей схеме: префиксация в 2.5%-ном растворе глутаральдегида на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.4) с хлоридом кальция (1%), в течение 2 ч при температуре 4°C; постфиксация в 2%-ном растворе четырехоксида осмия ( $\text{OsO}_4$ ) на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.4) в течение 2 ч при температуре 4°C; промывка и обезвоживание в серии спиртов возрастающей концентрации. Затем следовало пропитывание заливочной средой и переход к следующим этапам: заливке в отвердевающую смолу “Эпон” и помещению блоков в термостат для полимеризации. Режим полимеризации проходил при возрастающей температуре: 1) при температуре 35°C – 24 ч; 2) 45°C – 24 ч; 3) 60°C – 24 ч. Для выявления зон, оптимальных для электронно-микроскопического исследования, получали полутонкие срезы на ультратоме LKB-V (Швеция). Затем срезы помещали на предметное стекло и окрашивали толуидиновым синим. Препараты смотрели под микроскопом JEM-1400, и, отметив область, пригодную для электронно-микроскопического исследования, переходили к ультратонким срезам. Окраска срезов проводилась уранилацетатом и цитратом свинца. Препараты просматривали в трансмиссионном (просвечивающем) электронном микроскопе JEM-100C (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Морфометрический анализ полутонких срезов гистологических препаратов проводили с помощью компьютерной системы интерактивного анализа изображения “ВидеоТест” (“ИСТА-ВидеоТест”, Россия). Увеличение микроскопа при измерении диаметров составляло  $\times 250$ , а при измерении высоты лактоцитов –  $\times 400$ . Подсчеты производились только на поперечных срезах альвеол с использованием двойного слепого метода. Для проведения морфометрии брали по два образца молочной железы от одной самки. Срезы с каждого образца в количестве от 5 до 10 штук монтировали на два предметных стекла. Количественные показатели альвеол измеряли в десяти случайно выбранных полях зрения. При изучении влияния тиролиберина на строение железистого эпителия альвеолы молочной железы оценивали диаметр альвеол ( $D$ ) и высоту секреторного эпителия ( $W$ ), так как эти показатели отражают функциональную активность секреторных клеток.

Для оценки  $D$  измеряли у альвеолы ее максимальный диаметр ( $d_1$ ) (наибольшее расстояние между двумя точками окружности) и минимальный диаметр ( $d_2$ ) (наименьшее расстояние между двумя точками окружности). На каждом препарате подсчитывался диаметр 15–20 альвеол. Геометрическая конфигурация альвеолы соответствует эллипсу, поэтому средний  $D$  вычислялся как квадратный корень из произведения обоих диаметров альвеолы (эллипса) молочной железы:  $D = \sqrt{d_1 d_2}$ .  $W$  измерялась путем вычисления расстояния между точками, находящимися на базальной и апикальной мембранах. На основании этих показателей вычислялась площадь поверхности и объем полости альвеолы молочной железы. Площадь поверхности альвеолы (эллипса) вычислялась как произведение двух диаметров альвеолы (без поправки на отношение  $4/\pi$  ( $\pi = 3.14$ )):  $S = d_1 d_2$ . Объем полости альвеолы молочной железы вычислялся по формуле  $V = 4/3 \pi r^3$ , где  $r$  – радиус альвеолы, который рассчитывается как  $D/2 - W$ .

#### *Состав растворов и концентрации физиологически активных веществ*

Для приготовления растворов использовали реактивы фирмы Sigma Aldrich (Германия). Для интраназального введения использовали тиролиберин в дозе 120 и 0.012 нг/кг массы тела животного (Sigma, США).

**Таблица 1.** Частота и длительность поведенческих актов, характеризующих “Заботу о потомстве” после интраназального введения тиролиберина самкам

Группы животных	Строительство гнезда		Груминг мышат		Контактный отдых	
	кол-во	время, мин	кол-во	время, мин	кол-во	время, мин
Интактные	6	4.2 ± 0.7	7	3.0 ± 0.6	15	8.0 ± 1.5
Плацебо	7	4.1 ± 0.6	6	3.3 ± 0.9	14	6.0 ± 1.1
Тиролиберин 120 нг/кг	10	3.2 ± 0.6	5	6.3 ± 1.5	13	6.2 ± 1.5
Тиролиберин 0.012 нг/кг	9	3.0 ± 0.6	8	4.2 ± 1.5	13	7.2 ± 1.1

*Статистическая обработка результатов исследований*

Статистическая обработка результатов проводилась общепринятыми методами с использованием компьютерной статистической программы GraphPad Prism 8 (GraphPad; San Diego, CA, США). Для обработки данных использовали тест One-Way ANOVA с поправкой Даннета. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Д’Агостино–Пирсона. Уровень достоверности  $p < 0.05$  был принят как статистически значимый. Данные представлены в виде средней арифметической ± стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ).

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

*Радиоиммунное определение свободного тироксина и трийодтиронина*

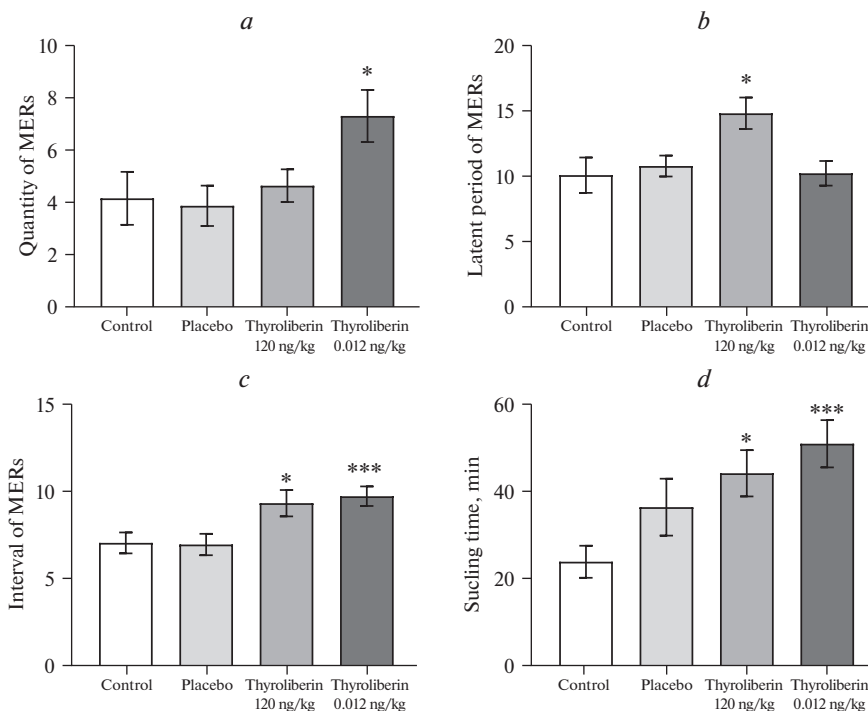
В сыворотке крови контрольной и опытных групп животных радиоиммунным методом была определена концентрация свободного трийодтиронина и тироксина. В контрольной группе концентрация этих гормонов составила  $2.8 \pm 0.2$  и  $66 \pm 10$  нМ ( $n = 4$ ) соответственно. Применение тиролиберина в дозе 120 и 0.012 нг/кг не привело к достоверному изменению концентрации этих гормонов. Их величина была равна  $2.9 \pm 0.1$  и  $75 \pm 5$ , а также  $3.0 \pm 0.2$  и  $80 \pm 6$  нМ ( $n = 4$  для всех групп;  $p > 0.05$ ) соответственно.

*Изучение влияния тиролиберина на лактационное поведение самок мышей*

Количество и продолжительность поведенческих актов, характеризующих признаки поведения “Забота о потомстве”, у самок мышей при введении тиролиберина не изменились по сравнению с контрольной группой и группой плацебо (табл. 1).

*Динамика рефлексов выведения молока и продолжительность кормления*

Интраназальное введение тиролиберина вызывало изменения в процессе кормления. Вскармливание потомства в первую очередь определяется динамикой осуществления рефлексов выведения молока, в это время действие окситоцина вызывает сокращение миоэпителиальных клеток альвеол и, таким образом, обеспечивает доступность секрета детенышам [15]. Применение тиролиберина в дозе 0.012 нг/кг привело к достоверному повышению количества рефлексов по сравнению с контролем ( $7 \pm 1$  и  $4 \pm 1$  рефлекс,  $n = 7$ ,  $p < 0.05$ ) (рис. 1a). Латентный период первого рефлекса выведения молока достоверно увеличился при применении тиролиберина в дозе 120 нг/кг ( $n = 17$ ;  $p < 0.05$ ) (рис. 1b), однако интервал между рефлексами увеличился. В контрольной группе он составлял  $7.0 \pm 0.6$  мин ( $n = 40$ ), в



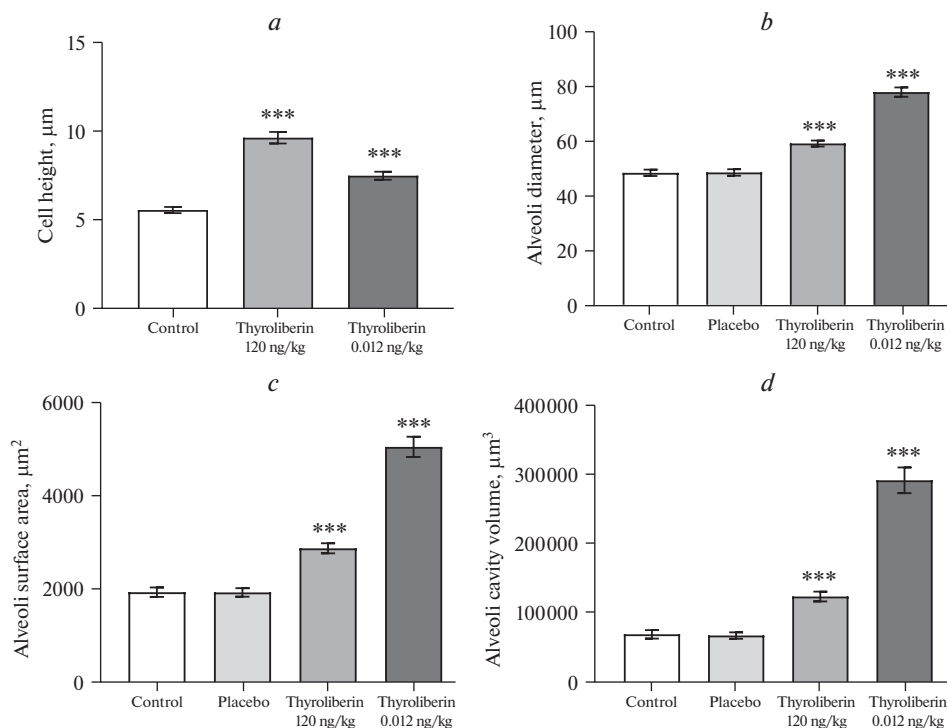
**Рис. 1.** Параметры лактационного поведения самки мышей при интраназальном введении тиролиберина. MER (Milk Ejection Reflex) – рефлекс выведения молока.

\* –  $p < 0.05$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  по сравнению с контрольной группой.

группе тиролиберин в дозе 120 нг/кг –  $9.4 \pm 0.9$  мин ( $n = 30$ ,  $p = 0.015$ ) (рис. 1b). В опытных группах, в соответствии с увеличением рефлексов и интервалом между ними, увеличилось время кормления. Так, тиролиберин в дозе 0.012 нг/кг увеличивал продолжительность кормления в два раза – с  $24 \pm 4$  мин ( $n = 9$ ) в контрольной группе до  $51 \pm 5$  мин ( $n = 19$ ) в опытной (рис. 1d). Достоверной разницы между группами контроль и плацебо так же, как между двумя опытными группами, обнаружено не было. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что интраназальное введение тиролиберина в первую очередь оказывает влияние на параметры поведения, связанные с кормлением самкой потомства.

#### *Изменение массы тела детенышей*

Количество детенышей в гнездах у самок мышей после родов было различным и составляло от 2 до 10 мышат. В процессе вскармливания потомства обычно происходит гибель некоторого количества мышат. Сохранение численности потомства также является характеристикой успешности лактации. В контрольной группе погибло в общей совокупности семь детенышей, в группе плацебо – три, в группе тиролиберин – 120 нг/кг – один, в то время как в группе тиролиберин – 0.012 нг/кг не погибло ни одного мышонка. Таким образом, в группах, которым вводили тиролиберин, гибель детенышей была существенно ниже или отсутствовала по сравнению с контрольной группой и группой плацебо. Во всех группах регистрировалось постоянное увеличение массы тела потомства. Суммарная прибавка массы одного



**Рис. 2.** Морфометрия альвеолы молочной железы мыши при интраназальном применении тиролиберина.  
\* –  $p < 0.05$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  по сравнению с контрольной группой.

мышонка в контрольной группе составила  $0.4 \pm 0.1$  г ( $n = 12$ ), а в группе плацебо –  $0.5 \pm 0.1$  г ( $n = 14$ ). Так как отсутствовала достоверная разница в показателях этих групп, их значения были объединены, и они рассматривались как единая контрольная группа. В группе с введением самкам тиролиберина в дозе 120 нг/кг прирост массы тела мышонка составил  $0.7 \pm 0.1$  г ( $n = 28$ ), и он не отличался от контрольной группы ( $p > 0.05$ ). Инфузия самкам тиролиберина в дозе 0.012 нг/кг привела к достоверному увеличению прироста массы тела детеныша по сравнению с контрольной группой до  $0.8 \pm 0.2$  г ( $n = 32$ ,  $p < 0.05$ ).

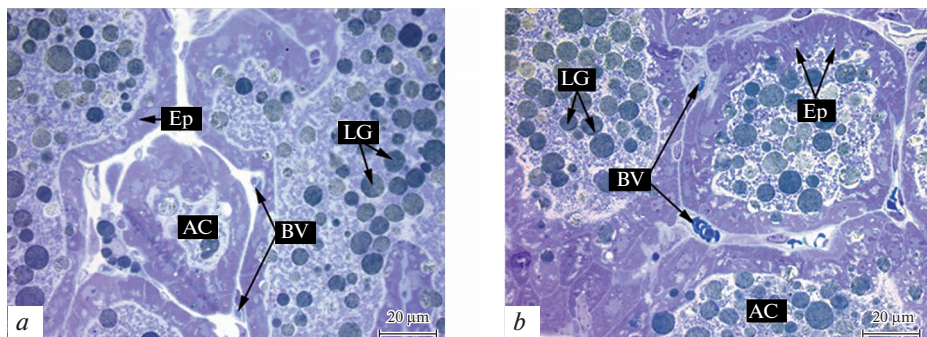
*Влияние тиролиберина на потребление пищи и воды*

В интактной группе и группе плацебо показатели потребления воды и корма не отличались, поэтому были объединены в одну контрольную группу. Введение тиролиберина в обеих дозах не привело к каким-либо изменениям в потреблении корма и воды по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

**Таблица 2.** Потребление корма и воды самками после интраназального введения тиролиберина

Группа	Потребление корма, г	Потребление воды, г
Контрольная группа ( $n = 8$ )	$14.2 \pm 2.0$	$15.2 \pm 1.8$
Тиролиберин в дозе 120 нг/кг ( $n = 4$ )	$11.4 \pm 1.6$	$11.1 \pm 1.3$
Тиролиберин в дозе 0.012 нг/кг ( $n = 4$ )	$12.4 \pm 1.7$	$14.3 \pm 1.5$





**Рис. 3.** Гистология альвеолы молочной железы контрольной (а) и опытной (б) групп животных (полутонкие срезы, окраска толуидиновым синим).

Ep – эпителий, BV – кровеносный сосуд, AC – полость альвеолы, LG – липидные капли.

#### *Морфометрический анализ размеров альвеол молочной железы*

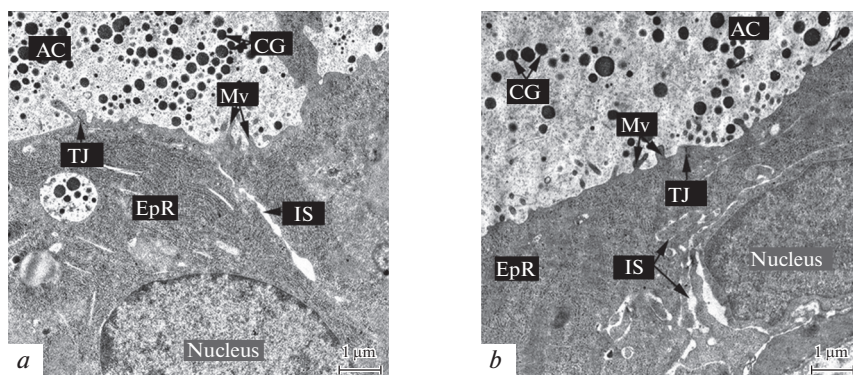
Величина морфометрических параметров в интактной группе и группе плацебо не отличались, поэтому эти данные были объединены в общую контрольную группу. Общим результатом применения тиролиберина стало увеличение всех параметров, характеризующих размеры альвеолы. Высоты секреторных клеток достоверно увеличилась с  $5.6 \pm 0.2$  мкм ( $n = 198$ ) в контроле до  $9.7 \pm 0.3$  ( $n = 199$ ,  $p < 0.001$ ) и  $7.5 \pm 0.2$  мкм ( $n = 197$ ,  $p < 0.001$ ) при применении тиролиберина в дозе 120 и 0.012 нг/кг соответственно (рис. 2а). Диаметр альвеол также увеличивался при применении тиролиберина; контрольные значения составили  $48.2 \pm 1.1$  мкм ( $n = 177$ ), при применении тиролиберина в дозе 120 нг/кг –  $58.9 \pm 1.1$  мкм ( $n = 150$ ) и при применении тиролиберин в дозе 0.012 нг/кг –  $77.7 \pm 1.7$  мкм ( $n = 132$ ,  $p < 0.001$ ) (рис. 2б). Расчетные параметры, а именно площадь альвеолы и объем полости альвеол, показали, что тиролиберин в дозе 0.012 нг/кг оказал выраженный стимулирующий эффект. Так, площадь альвеолы увеличилась почти в три раза для тиролиберина в дозе 0.012 нг/кг, достигая величины  $5040 \pm 216$  мкм<sup>2</sup> ( $n = 132$ ) по сравнению с контролем –  $1926 \pm 101$  мкм<sup>2</sup> ( $n = 177$ ,  $p < 0.001$ ) (рис. 2с). Объем полости альвеолы при применении тиролиберина в дозе 0.012 нг/кг увеличился в несколько раз, составив  $292981$  мкм<sup>3</sup> ( $n = 132$ ,  $p < 0.001$ ) по сравнению с контрольной группой –  $69335$  мкм<sup>3</sup> ( $n = 177$ ,  $p < 0.001$ ) (рис. 2д).

#### *Светооптическая микроскопия*

Светооптическая микроскопия подтверждает увеличение размеров клеток секреторного эпителия и диаметра альвеол при действии тиролиберина (рис. 3). Остальные элементы ткани молочной железы не имеют видимых отличий в контрольной и опытных группах животных. Альвеолы разделены между собой слоями соединительной ткани, пронизанной кровеносными сосудами. В полости альвеол расположены липидные капли.

#### *Изменение ультраструктуры секреторных клеток*

Особенности ультраструктуры секреторного эпителия молочной железы позволяют четко идентифицировать на электронограммах апикальную и базальную часть эпителиальных клеток. Апикальная мембрана обращенных в просвет альвеол



**Рис. 4.** Ультраструктура секреторного эпителия молочной железы контрольной (а) и экспериментальной (б) групп животных.

АС – полость альвеолы, TJ – плотный контакт, Mv – микроворсинки, CG – гранулы казеина, IS – межклеточное пространство, EpR – эндоплазматический ретикулум.

покрыта микроворсинками. На всех электронограммах альвеол хорошо видны плотные контакты, которые расположены в апикальных областях соседних эпителиоцитов. Нарушения целостности альвеол при действии тиролиберина не обнаружено, тканевой барьер между полостью альвеолы и межклеточным пространством не изменен. Цитоплазма секреторных клеток содержала большое количество рибосом, которые располагались свободно в цитоплазме или локализовались на поверхности хорошо развитого эндоплазматического ретикулума. В секреторных клетках молочной железы присутствовало множество секреторных везикул, которые обнаружены в апикальной области и полностью отсутствовали в базальной области секреторных клеток. Ядра в клетках секреторного эпителия смещены к базальной области, имели в основном вытянутую форму. При анализе электронограмм обращает на себя внимание увеличение межклеточного пространства при действии тиролиберина. В контрольной группе межклеточное пространство ориентировано в апико-базальном направлении, в то время как в экспериментальной группе межклеточное пространство между эпителиоцитами имеет спиралевидную форму, подчеркивая изменение в пространственной конфигурации эпителиоцитов (рис. 4).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нейропептиды, действующие как нейрогормоны и нейромедиаторы, возможно, играют роль интеграторов поведенческих реакций животного и физиологических процессов в его организме. Хорошо известно, что тиролиберин выполняет также функцию пролактолиберина, обеспечивая синтетическую активность эпителиоцитов молочной железы в ходе лактации [6, 9]. Межклеточное взаимодействие тиролиберинергических нейронов с крупноклеточными окситоцинергическими нейронами гипоталамуса служит той основой [12, 13], которая позволяет рассматривать этот трипептид в качестве модулятора поведенческих реакций самки при кормлении. Именно это предположение было взято в качестве рабочей гипотезы, которую проверяли при интраназальном введении тиролиберина, моделируя таким образом его действие на структуры головного мозга. В результате было установлено: 1) тиролиберин оказывает действие на синтетические процессы в молочной железе и изменяет параметры лактационного поведения самки; 2) трипептид оказывает различное влияние на отдельные компоненты материнского поведения; 3) тиролибе-

рин в примененных дозах не изменяет процессы и поведение, связанные с поддержанием энергетического состояния животного. Отсутствие изменения концентрации гормонов щитовидной железы в плазме крови указывает на то, что наблюдаемые изменения являются результатом физиологических эффектов тиролиберина.

В нашем исследовании тиролиберин вызывал изменения высоты клеток, диаметра альвеол, объема их полости, которые можно рассматривать как признаки усиления синтетической деятельности альвеолы молочной железы. Изменение парацеллюлярного пространства, показанное электронной микроскопией, также характерно при активации секреции в эпителии [27, 28]. Увеличение прибавки в массе тела детенышей дополнительно свидетельствует об усиленной синтетической деятельности молочной железы. Однако не стоит считать, что данные изменения являются результатом прямого действия тиролиберина на секреторные клетки альвеол молочной железы. Интраназальный способ введения и применяемые дозы тиролиберина исключают такую возможность.

Известно, что длительная механическая стимуляция механорецепторов соска при сосании вызывает повышение в плазме крови самки не только уровня пролактина [10, 29] и окситоцина [14], но и тиролиберина [5, 7]. Это позволяет предположить возможность модуляции эффектов пролактина и окситоцина интраназально вводимым трипептидом. Подтверждением тому является двоякое проявление функции тиролиберина как пролактолиберина: трипептид усиливает синтез пролактина в аденогипофизе [9] и тормозит при сосании секрецию допамина, ингибитора пролактина [11]. Важно подчеркнуть, что окситоцин синергично воздействует на эту же группу допаминергических нейронов гипоталамуса [30], увеличивая синтез пролактина в лактотропоцитах. В молочных железах окситоцин, как известно, вызывает сокращение миоэпителиальных клеток протоков и оказывает влияние на выведение молока [15]. Анализ результатов светооптического и электронно-микроскопического исследований структуры альвеол свидетельствует об увеличении уровня секреторной активности эпителиоцитов альвеол молочной железы после интраназального введения трипептида, что можно трактовать как свидетельство усиления эффектов пролактина. На рост уровня секреции молока указывает также увеличение продолжительности периодов кормления и массы тела детенышей. Поскольку отмечено и повышение числа рефлексов выведения молока, то в нейроэндокринный паттерн обеспечения лактации, формируемый тиролиберин, можно включить не только пролактин, но и окситоцин. Можно предположить, что формирование паттерна тиролиберин/окситоцин/пролактин в ответ на сосание представляет собой механизм селекции определенных функций каждого из этих полифункциональных гормонов в нейроэндокринном профиле организма самки в ходе лактации. Действительно, тиролиберин, способный у самок вне лактации вызвать секрецию тиреотропина, соматотропина и пролактина [5, 17, 31], в период лактации, как показали наши результаты, не увеличивает концентрацию тиреоидных гормонов и не изменяет аппетита. Заметим, что у лактирующих животных потребность в пище и воде может быть повышена. Однако вне лактации аппетит активируется орексигенными нейронами аркуатного ядра под влиянием ряда периферических и гипоталамических гормонов [32].

Материнское поведение в период лактации можно разделить на поведенческие акты, различающиеся по исходной мотивации и имеющие различную моторную составляющую (“забота о потомстве”), а также на те, что связаны с процессом получения молока детенышами. Тиролиберин оказал дифференцированное влияние на поведение во время лактации. Формы поведения, которые определены как “забота о потомстве”, оказались не восприимчивы к действию трипептида. Следовательно, тиролиберин не включен в модуляцию сложных и разнообразных форм материнского поведения.

Поскольку лактационное поведение является одной из хорошо документированных функций пролактина и окситоцина [16, 33], то представляет интерес анализ изменений его компонентов поведения при интраназальном введении тиролиберина. Основной эффект введения тиролиберина сводится к изменению временного паттерна поведения самок, связанного со вскармливанием. Динамика рефлексов выведения молока, осуществляющихся в период кормления, является той физиологической основой, которая обеспечивает получение молока детенышами. Основным эффектом тиролиберина проявляется в увеличении продолжительности всех элементов вскармливания. Происходит увеличение латентного периода первого рефлекса выведения молока, интервала между рефлексами, общего времени кормления. Увеличение количества рефлексов выведения молока может быть связано с удлинением времени кормления и, как следствие, увеличением их числа. Особенно стоит отметить увеличение интервала между рефлексами выведения молока. Установлено, что именно этот параметр практически не меняется во время кормления, при отсутствии внешних помех при кормлении детенышей рефлексы выведения молока возникают с автоматической точностью [25]. Следовательно, на центральном уровне, скорее всего на уровне гипоталамуса, тиролиберин способен влиять на механизмы формирования паттерна нейроэндокринного рефлекса выведения молока.

Стоит обратить внимание на то, что при применении доз тиролиберина, различающихся на четыре порядка, был получен сходный физиологический ответ. Мы предполагаем, что интраназальный способ доставки тиролиберина к структурам ЦНС не является специфическим путем регуляции функций мозга. Тем не менее, показано непосредственное регулирующее влияние тиролиберина на уровне плазматической мембраны нейронов дыхательного центра [33]. Возможно, что при поступлении тиролиберина в пороговой концентрации в мозг происходит изменение функций нейронов. Это изменение может являться триггером к изменению активности мозговых структур и не зависеть от концентрации нейропептида.

В исследованиях материнского поведения в настоящее время можно проследить несколько направлений: выявление генов, связанных с родительской заботой, изучение совокупности структур ЦНС и нейроэндокринного базиса материнского поведения, а также исследование его компонентов. Такой разносторонний подход оказался чрезвычайно плодотворным. Так, созданы постоянно расширяющиеся схемы/карты структур ЦНС, участвующих в регуляции родительского поведения [1, 2, 35]. Заметим, что повреждение паравентрикулярных ядер блокировало запуск материнского поведения [36]. В геноме мышей выделены 12 областей, связанных с родительской заботой [37]. К числу гормонов, участвующих в регуляции материнского поведения и лактационного процесса, сегодня, помимо пролактина и окситоцина, отнесены галактин [4, 38], инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) и связывающий его белок (IGF1-Binding Protein3; IGF1-BP3) [22] и тубероинфундибулярный пептид 39 (TIP39) [39]. Наше исследование позволяет предполагать, что на уровне гипоталамуса тиролиберин может влиять на механизмы формирования паттерна нейроэндокринного рефлекса выведения молока, обеспечивая согласование усиления синтетической деятельности в молочной железе и необходимых поведенческих актов со стороны самки.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана Санкт-Петербургским государственным университетом.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование экспериментов (М.А.Г.), получение экспериментальных данных (М.А.Г., Ш.Л.В., К.Н.М.), обработка результатов (М.А.Г., Ш.Л.В., К.Н.М., Ф.А.А., Р.И.А.), написание и редактирование рукописи статьи (М.А.Г., Ш.Л.В., К.Н.М., Ф.А.А., Р.И.А., Ч.М.П.).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kohl J, Babayan BM, Rubinstein ND, Autry AE, Marin-Rodriguez B, Kapoor V, Miyamishi K, Zweifel LS, Luo L, Uchida N, Dulac C (2018) Functional circuit architecture underlying parental behaviour. *Nature* 556: 326–331.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-018-0027-0>
2. Numan M, Insel TR (2011) *The Neurobiology of Parental Behavior*. Springer. New York.
3. Cservenák M, Szabó ÉR, Bodnár I, Lékó A, Palkovits M, Nagy GM, Usdin TB, Dobolyi A (2013) Thalamic neuropeptide mediating the effects of nursing on lactation and maternal motivation. *Psychoneuroendocrinology* 38: 3070–3084.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.09.004>
4. Cservenák M, Kis V, Keller D, Dimén D, Menyhárt L, Oláh S, Szabó ÉR, Barna J, Renner É, Usdin TB, Dobolyi A (2017) Maternally involved galanin neurons in the preoptic area of the rat. *Brain Struct Funct* 222: 781–798.  
<https://doi.org/10.1007/s00429-016-1246-5>
5. Fekete C, Lechan RM (2014) Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. *Endocrin Rev* 35: 159–194.  
<https://doi.org/10.1210/er.2013-1087>
6. Crowley WR (2015) Neuroendocrine regulation of lactation and milk production. *Compr Physiol* 5: 255–291.  
<https://doi.org/10.1002/cphy.c140029>
7. Uribe RM, Redondo JL, Charli JL, Joseph-Bravo P (1993) Suckling and cold stress rapidly and transiently increase TRH mRNA in the paraventricular nucleus. *Neuroendocrinology* 58: 140–145.  
<https://doi.org/10.1159/000126523>
8. Sánchez E, Uribe RM, Corkidi G, Zoeller RT, Cisneros M, Zacarias M, Morales-Chapa C, Charli JL, Joseph-Bravo P (2001) Differential responses of thyrotropin-releasing hormone (TRH) neurons to cold exposure or suckling indicate functional heterogeneity of the TRH system in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 74: 407–422.  
<https://doi.org/10.1159/000054707>
9. Yamada M, Shibusawa N, Ishii S, Horiguchi K, Umezawa R, Hashimoto K, Monden T, Satoh T, Hirato J, Mori M (2006). Prolactin secretion in mice with thyrotropin-releasing hormone deficiency. *Endocrinology* 147: 2591–2586.  
<https://doi.org/10.1210/en.2005-1326>
10. Rodríguez-Rodríguez A, Lazcano I, Sánchez-Jaramillo E, Uribe RM, Jaimés-Hoy L, Joseph-Bravo P, Charli JL (2019) Tanycytes and the Control of Thyrotropin-Releasing Hormone Flux Into Portal Capillaries. *Front Endocrinol (Lausanne)* 10: 401.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00401>
11. Thörn Pérez C, Ferraris J, van Lunteren JA, Hellysaz A, Iglesias MJ, Broberger C (2020) Adaptive Resetting of Tuberoinfundibular Dopamine (TIDA) Network Activity during Lactation in Mice. *J Neurosci* 40: 3203–3216.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1553-18.2020>
12. Son SJ, Filosa JA, Potapenko ES, Biancardi VC, Zheng H, Patel KP, Tobin VA, Ludwig M, Stern JE (2013) Dendritic peptide release mediates interpopulation crosstalk between neurosecretory and preautonomic networks. *Neuron* 78: 1036–1049.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.04.025>
13. Stern JE (2015) Neuroendocrine-autonomic integration in the paraventricular nucleus: novel roles for dendritically released neuropeptides. *J Neuroendocrinol* 27: 487–497.  
<https://doi.org/10.1111/jne.12252>
14. Wakerley JB, Dyball RE, Lincoln DW (1973) Milk ejection in the rat: the result of a selective release of oxytocin. *J Endocrinol* 57: 557–558.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.0570557>
15. Марков АГ (2001) Исследование сократительных реакций миоэпителиальных клеток молочной железы мышей *in situ*. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 87: 1656–1661. [Marikov AG (2001) Contractile responses of the myoepithelial cells of the mouse mammary gland *in situ*. *Russ J Physiol* 87: 1656–1661. (In Russ)].
16. Marlin BJ, Mitre M, D'amour JA, Chao MV, Froemke RC (2015) Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* 520: 499–504.  
<https://doi.org/10.1038/nature14402>

17. *Ашмарин ИП* (2001) Прогнозируемые и неожиданные физиологические эффекты олигопептидов (гликопролинов, аналогов АКТГ4-10, тафцина и тиролиберина). Рос физиол журн 87: 1471–1476. [*Ashmarin IP* (2001) Anticipated and unexpected physiological effects of oligopeptides (glyprolines, АСТН (4-10) analogs, taftsin, and thyroliberin). Russ J Physiol 87: 1471–1476. (In Russ)].
18. *Виноградова ЕП, Карин АВ, Жуков ДА, Марков АГ* (2014) Влияние тиролиберина на поведенческий компонент стрессорного ответа у крыс Вистар. Журн. высш нерв деят им ИП Павлова 64: 660–667. [*Vinogradova EP, Kargin AV, Zhukov DA, Markov AG* (2014) Intranasal application of a thyrotropin-releasing hormone attenuates state-anxiety of the rats. Zh Vyssh Nerv Deiat Im IP Pavlova 64: 660–667. (In Russ)].
19. *Alekseev NP, Ilyin VI, Yaroslavski VK, Gaidukov SN, Tikhonova TK, Specivcev YA, Omelyanjuk EV, Tkachenko NN* (1998) Compression stimuli increase the efficacy of breast pump function. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 77: 131–139. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(97\)00269-8](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(97)00269-8)
20. *Sukhov IB, Lebedeva MF, Zakharova IO, Derkach KV, Bayunova LV, Zorina II, Avrova NF, Shpakov AO* (2020) Intranasal Administration of Insulin and Gangliosides Improves Spatial Memory in Rats with Neonatal Type 2 Diabetes Mellitus. Bull Exp Biol Med 168: 317–320. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04699-8>
21. *Yeomans DC, Hanson LR, Carson DS, Tunstall BJ, Lee MR, Tzabazis AZ, Jacobs D, Frey 2nd WH* (2021) Nasal oxytocin for the treatment of psychiatric disorders and pain: achieving meaningful brain concentrations. Transl Psychiatry 11: 388. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01511-7>
22. *Thorne RG, Pronk GJ, Padmanabhan V, Frey 2nd WH* (2004) Delivery of insulin-like growth factor-I to the rat brain and spinal cord along olfactory and trigeminal pathways following intranasal administration. Neuroscience 127: 481–496. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.05.029>
23. *Ашмарин ИП, Асанова ЛМ, Аббасова КР, Чепурнова НЕ, Коссова ГВ, Чепурнов СА, Инишкин АН, Гончаров ОБ* (2003) Нейропептид тиролиберин – противосудорожная защита мозга в сверхмалых дозах. Радиационная биология. Радиоэкология. 43(3): 324–327. [*Ashmarin IP, Asanova LM, Abbasova KR, Chepurnova NE, Kossova GV, Chepurnov SA, Iniushkin AN, Goncharov OB* (2003) Neuropeptide thyroliberin in ultra low doses—anticonvulsant defense of the brain. Radiats Biol. Radioecol 43: 324–327. (In Russ)].
24. *Марков АГ* (1991) Изучение продолжительности кормлений и перерывов между ними у мышей в период установившейся лактации. Физиол журн СССР им ИМ Сеченова. 77: 142–148. [*Markov AG* (1991) The duration of feedings and the intervals between them in mice during established lactation. Fiziol Zh SSSR im IM Sechenova 77: 142–148. (In Russ)].
25. *Марков АГ, Ландграф Р* (1989) Особенности поведения детенышей мыши при сосании. Уровень окситоцина в крови самок при кормлении. Физиол. журн. СССР им ИМ Сеченова 75: 1089–1094. [*Markov AG, Landgraf R* (1989) Behavioral characteristics of mouse pups during suckling. The oxytocin level in the blood of females during nursing. Fiziol Zh SSSR im IM Sechenova 75: 1089–1094. (In Russ)].
26. *Yoneda N, Irahara M, Saito S, Uemura H, Aono T* (1995) Usefulness of recombinant human prolactin for treatment of poor puerperal lactation in a rat model. Eur J Endocrinol 133(5): 613–617. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1330613>
27. *Bachmann O, Heinzmann A, Mack A, Manns MP, Seidler U* (2007) Mechanisms of secretion-associated shrinkage and volume recovery in cultured rabbit parietal cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 292: G711–G717. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00416.2006>
28. *Markov AG, Falchuk EL, Kruglova NM, Rybalchenko OV, Fromm M, Amasheh S* (2014) Comparative analysis of theophylline and cholera toxin in rat colon reveals an induction of sealing tight junction proteins. Pflugers Arch 466(11): 2059–2065. <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1460-z>
29. *Alekseev NP* (2021). Physiology of human female lactation. Springer.
30. *Scott N, Prigge M, Yizhar O, Kimchi T* (2015) A sexually dimorphic hypothalamic circuit controls maternal care and oxytocin secretion. Nature 525: 519–522. <https://doi.org/10.1038/nature15378>
31. *Bravo PJ, Hoy, LJ, Uribe R-M, Charli J-L* (2015) 60 years of neuroendocrinology: TRH, the first hypophysiotropic releasing hormone isolated: control of the pituitary-thyroid axis. J Endocrinol 226: T85–N100. <https://doi.org/10.1530/JOE-15-0124>
32. *Чернышева МП, Ноздрачев АД* (2017) Нейроэндокринный гипоталамус как гомеостат эндогенного времени. Журн эволюц биохим физиол им ИМ Сеченова 53: 3–15. [*Chernysheva MP, Nozdachev AD* (2017) Neuroendocrine hypothalamus as a homeostat of endogenous time. Zh Evol Biokhim Fiziol 53: 3–15. (In Russ)].
33. *Bridge RS* (2015) Neuroendocrine regulation of maternal behavior. Front Neuroendocrinol 36: 178–196. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.11.007>

34. *Инюшкин АН* (2002) Влияние тиреолиберина на мембранный потенциал и паттерн спонтанной дыхательной активности нейронов дыхательного центра *in vitro* у крыс. Рос физиол журн им ИМ Сеченова 88: 1467–1476. [*Iniushkin AN* (2002) Effect of thyroliberin on membrane potential and pattern of spontaneous activity of neurons of the respiratory center in rats *in vitro*. Russ J Physiol 88: 1467–1476. (In Russ)].
35. *Dulac C, O'Connell LA, Wu Z* (2014) Neural control of maternal and paternal behaviors. Science 345: 765–770.  
<https://doi.org/10.1126/science.1253291>
36. *Insel TR, Harbaugh CR* (1989) Lesions of the hypothalamic paraventricular nucleus disrupt the initiation of maternal behavior. Physiol Behav 45: 1033–1041.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(89\)90234-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(89)90234-5)
37. *Bendesky A, Kwon YM, Lassance JM, Lewarch CL, Yao S, Peterson BK, He MX, Dulac C, Hoekstra HE* (2017) The genetic basis of parental care evolution in monogamous mice. Nature. 544: 434–439.  
<https://doi.org/10.1038/nature22074>
38. *Wu Z, Autry AE, Bergan JF, Watabe-Uchida M, Dulac CG* (2014) Galanin neurons in the medial preoptic area govern parental behaviour. Nature 509: 325–330.  
<https://doi.org/10.1038/nature13307>
39. *Dobolyi A* (2011) Novel potential regulators of maternal adaptations during lactation: tuberoinfundibular peptide 39 and amylin. J Neuroendocrinol 23: 1002–1008.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02127.x>

### **Is Thyroliberin an Integrator of Prolactin- and Oxytocin-Dependent Processes in the Breast and Parental Behavior during Lactation in Mice?**

**A. G. Markov<sup>a, \*</sup>, L. V. Shadrin<sup>b</sup>, N. M. Kruglova<sup>a</sup>, A. A. Fedorova<sup>a</sup>,  
I. A. Razgovorova<sup>a</sup>, and M. P. Chernysheva<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Department of General Physiology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>b</sup> University Department of Physical Culture and Sports, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

\*e-mail: a.markov@spbu.ru

Feeding a female offspring with a secretion of the mammary gland is a hallmark of mammals. Determination of the contribution of neuropeptides to the neuroendocrine regulation of mammary gland functions and parental behavior in mammals and humans is a priority for understanding these processes. Since in lactating females the stimulus to suckling by pups induces burst secretion of prolactin, oxytocin, and thyroliberin, the study investigates the possibility of the effect of thyroliberin on prolactin-dependent lactogenesis and oxytocin-mediated reflexes of milk excretion, as well as on components of maternal behavior. It was found that bilateral intranasal infusions of thyroliberin in lactating female mice specifically facilitate, in comparison with control, lactation behavior, but not food or drink. Thyroliberin increased the duration of the feeding periods and the number of milk withdrawal reflexes in response to sucking of the pups, while simultaneously increasing the duration of the intervals between them. Light-optical and electron microscopic studies showed a significant change in the epithelial cells of the alveoli of the mammary glands, indicating an increase in the synthesis of components and the volume of milk under the influence of the tripeptide. This is confirmed by the higher rate of body weight growth in the mice and their better survival compared to the control. The absence after chronic infusions of thyroliberin in low doses of changes in the concentration of thyroxine and triiodothyronine in the blood plasma of females, determined by enzyme immunoassay, indicates the invariability of their thyroid status. We assume that thyroliberin is included in the coordination of the mechanisms of the formation of the pattern of the neuroendocrine milk ejection reflex, behavioral acts on the part of the female, and the enhancement of synthetic activity in the mammary gland.

**Keywords:** lactation, thyroliberin, maternal behavior, lactation behavior, milk ejection reflex