

# ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИЗМЕНЕННОГО ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА НА ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКУЮ АКТИВНОСТЬ И АНГИОГЕНЕЗ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ САМОК МЫШЕЙ ЛИНИИ СЗН-А

УДК 612.444+ 612.821

© Р. И. Глушаков<sup>1</sup>, Е. В. Козырко<sup>2</sup>, Г. А. Раскин<sup>1</sup>, И. В. Карпова<sup>3</sup>, А. А. Лебедев<sup>4</sup>, В. В. Михеев<sup>2</sup>, Н. И. Тапильская<sup>1</sup>, С. Н. Прошин<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ;

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ;

<sup>4</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург;

<sup>5</sup> ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург

## Ключевые слова:

мыши СЗН-А; экспериментальный гипертиреоз; открытое поле; иммуногистохимические маркеры ангиогенеза.

## Резюме

Исследование выполнено на 33 половозрелых девственных самках мышей инбредной линии СЗН-А. Животные были рандомизированы в следующем соотношении 3:2:2, соответствующим экспериментальным группам: первая — гипертиреодная ( $n_1=15$ ), вторая — гипотиреодная ( $n_2=10$ ) и третья — эутиреодная, или контрольная ( $n_3=8$ ). Результаты исследования индивидуального поведения на 18-й и 40-й неделе эксперимента в тесте «открытое поле» выявили, что количественные показатели практически всех компонентов исследовательской активности у гипертиреодных мышей выше, чем у остальных двух групп на протяжении эксперимента. Обнаружено постепенное снижение исследовательской деятельности в гипотиреодной группе на протяжении всего эксперимента, что наиболее выражено для норкового рефлекса. В отношении элементов поведения, характеризующих эмоциональное напряжение, наблюдаемая картина была несколько иной. Показатели для гипотиреодных и эутиреодных мышей практически не различались на протяжении всего эксперимента, тогда как показатели эмоциональности у гипертиреодных мышей были выше относительно остальных двух групп также на протяжении всего эксперимента. Результаты иммуногистохимического исследования свидетельствуют, что уровень экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в неокортексе и области гиппокампа CA1 преобладает в группе гипертиреодных мышей с наименьшими показателями степени экспрессии в неокортексе и гиппокампе гипотиреодных мышей ( $p < 0,05$ ). Уровень экспрессии глиального фибриллярного кислого белка был также ниже в группе гипотиреодных животных ( $p < 0,05$ ). Напротив, уровень экспрессии альфа-

рецептора к фактору роста тромбоцитов значительно преобладал в исследуемых областях ЦНС у мышей с депривацией по тироксину ( $p < 0,05$ ). Полученные данные подтверждают роль тиреоидных гормонов в регуляции клеточных взаимоотношений не только в развивающейся, но и уже сформированной ЦНС.

## ВВЕДЕНИЕ

Заболевания щитовидной железы (ЩЖ) занимают первое место среди всех болезней эндокринной системы, причем женщины болеют в 5–10 раз чаще мужчин [2]. По данным исследователей, в будущем следует ожидать роста заболеваемости и распространенности числа пациентов с заболеваниями ЩЖ [1, 13]. Среди заболеваний ЩЖ на первом месте по распространенности доминируют аутоиммунный тиреоидит (АИТ) и диффузный токсический зоб (ДТЗ), которые сопровождаются изменением тиреоидного статуса.

Тиреоидные гормоны (ТГ) имеют широкий спектр воздействий на весь организм. Известно, что посредством реализации геномных и негеномных эффектов ТГ оказывают влияние на пластический и энергетический обмен, клеточную пролиферацию, миграцию и ангиогенез, а также психоэмоциональную сферу. Как при избытке, так и при дефиците гормонов ЩЖ отмечаются расстройства центральной и периферической нервной системы. В частности, гипопункция щитовидной железы у детей является самой распространенной причиной умственной отсталости и неврологических расстройств [3], а пациенты психиатрического профиля, страдающие униполярной и биполярной депрессией, часто имеют нарушения гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы [5, 11]. Однако морфофункциональные механизмы данных нарушений изучены недостаточно.

Данная работа посвящена изучению особенностей экспрессии маркеров ангиогенеза и глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) в головном мозге мышей при экспериментально измененном тиреоидном статусе, а также влиянию на поведение лабораторных животных при длительно протекающем гипер- и гипотиреозе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 33 половозрелых девственных самках мышей инбредной линии СЗ Н-А (питомник РАМН «Рапполово», Ленинградская область, Рапполово). В начале исследования возраст лабораторных животных в среднем составлял 40 сут. с несущественной вариабельностью по массе — 18–20 г. Эксперимент проводили в течение 44 недель с 1 октября 2011 года по 5 августа 2012 года. После получения из питомника до начала эксперимента животные проходили 18-суточный акклиматизационный период, на протяжении которого дважды в сутки оценивали поведение и общее состояние каждого животного. Перед началом исследования животные были распределены случайным образом по трём клеткам в соотношении 3 : 2 : 2, соответствующим экспериментальным группам: первая — гипертиреоидная ( $n_1 = 15$ ), вторая — гипотиреоидная ( $n_2 = 10$ ) и третья — эутиреоидная, или контрольная ( $n_3 = 8$ ). Клетки с животными были размещены в одной комнате. Температура воздуха в помещении составляла 19–22 °С, относительная влажность — 50–70 %. Температуру и влажность воздуха регистрировали ежедневно. На протяжении эксперимента мыши содержались на стандартном пищевом рационе (приказ МЗ СССР № 1179 от 10 октября 1983 г. «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник»).

Животные первой (основной, гипертиреоидной) и третьей (контрольной, эутиреоидной) группы получали чистую воду из автопоилок *ad libitum*.

На лабораторных животных первой группы (15 самок) воспроизведена модель экспериментального гипертиреоза посредством хронического внутрибрюшинного введения L-тироксина в дозе 200 мкг на 100 г веса. Препарат разводили физиологическим раствором и вводили на протяжении всего эксперимента через день, при этом объем каждой инъекции составлял около 0,4–0,6 мл в зависимости от веса животного. L-тироксин был предоставлен РУП «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь, г. Минск) в количестве 1,0 г сухого вещества.

На лабораторных животных второй (гипотиреоидной) группы воспроизведена модель экспериментального пропилтиоурацилового гипотиреоза путем замены воды в автопоилке на 0,5%-й раствор пропилтиоурацила. Пропилтиоурацил был закуплен у компании «Merck» (Германия). По расчет-

ным данным, каждое животное получало примерно 1,9–2,2 мг пропилтиоурацила на 100 г массы тела в сутки.

Для корректности эксперимента животным второй и третьей (контрольной) групп вводили около 0,4 мл 0,9%-го физиологического раствора 1 раз в течение двух сут. Учитывая гибель животных во время проведения эксперимента, количество животных в каждой группе сокращалось. На 18-й ( $n_1 = 15$ ,  $n_2 = 10$ ,  $n_3 = 8$ ), 26-й ( $n_1 = 14$ ,  $n_2 = 10$ ,  $n_3 = 8$ ), 34-й ( $n_1 = 12$ ,  $n_2 = 9$ ,  $n_3 = 8$ ) и 40-й ( $n_1 = 11$ ,  $n_2 = 8$ ,  $n_3 = 7$ ) неделе после начала фармакологического воздействия исследовали индивидуальное поведение мышей. В качестве модели использовали тест «открытое поле». Эта методика широко применяется для анализа исследовательской активности и уровня эмоциональной реактивности грызунов. Установка «открытое поле» представляла собой квадратную площадку размером 60 × 60 см с бортиками высотой 25 см, разделенную на 16 квадратов. По всей площади «открытого поля» равномерно располагались 9 отверстий (норки) диаметром 20 мм, предназначенных для выявления видоспецифического компонента исследовательской активности у грызунов (норковый рефлекс). Тестирование проводили в звукоизолированной комнате при дневном освещении. Продолжительность одного опыта составляла 3 мин.

На основании поведенческого атласа для грызунов был выбран ряд элементарных двигательных актов и поз, совокупность которых характеризует целостное поведение животного в «открытом поле». В начале тестирования животное помещали в центр «открытого поля». В процессе визуального наблюдения регистрировали следующие показатели поведения: количество пересеченных квадратов (горизонтальная двигательная активность, или локомоция), число подъёмов на задние лапы, или вертикальная двигательная активность (стойка на задних лапах с опорой на стенку или без опоры), которая считается показателем исследовательской активности; количество актов «груминга» (чистка собственного тела: чесание, вылизывание и выкусывание); число заглядываний в отверстие (частота проявления норкового рефлекса).

По окончании эксперимента проводилась эвтаназия животных методом декапитации. Далее осуществлялось посмертное выделение головного мозга лабораторных животных, который после извлечения помещали на 3 сут в 10%-й формалин. Для гистологического анализа головной мозг заливали парафином. С каждого парафинового блока с помощью микротомы Leica SM 2000R (Sliding Microtome for Routine Applications) были получены срезы толщиной 4 микрона. Парафиновые срезы были направлены в водяной бане Гистобат LEICA HI1210. После этого они были нанесены на стекла с поли-L-лизинным покрытием фирмы Menzel и высушены при температуре 35–35 °С в течение одного часа.

■ Таблица 1. Разведение первых антител

Антитело	Клон	Рабочее разведение	Фирма-производитель
VEGF	Rabbit poly	RTU	Abcam
GFAP	Rabbit poly	RTU	DAKO
PDGFR- $\alpha$	Rabbit poly	1:200	Abcam

Затем срезы подвергались депарафинизации в растворе о-ксилола (2х по 2 мин), обезвожены в 96%-м спирте (2х по 5 мин) и в 70%-м спирте однократно в течение 10 минут. В дальнейшем стёкла промывали в дистиллированной воде и подвергали демаскировке антигенов в цитратном буфере фирмы DAKO (Target Retrieval Solution pH 6.0, код S169984–2) на водяной бане при температуре 95 °С в течение 40 минут. После этого стекла остывали до комнатной температуры вместе с буфером, в котором проводилась демаскировка, затем их промывали в Трис-буфере в течение 10 минут. Далее «поле» для иммуногистохимического исследования маркировали карандашом (DakoCytomation Pen, код S200230–2), повторно помещали в Трис-буфер (TBS pH 7.4) на 10 минут, и подвергали обработке 3%-й перекисью водорода для подавления эндогенной пероксидазы в течение 20 минут. Затем срезы промывали в Трис-буфере.

Первые антитела разводили в буфере (Antibody Diluent with Background Reducing Components фирмы DakoCytomation, code S3022) для разведения антител с компонентом, препятствующим неспецифическому связыванию антител. Разведение, специфичность и производители первых антител указаны в таблице 1. Экспозиция первых антител составляла 1 час при постоянной температуре 30 °С, поддерживаемой при помощи нагревательной плиты (Гистоплата) LEICA HI1220, затем стекла со срезами промывали в Трис-буфере в течение 10 минут.

Система визуализации представлена набором EnVision (Dako, Дания), в качестве хромогена использовали диаминобензидин. После реакции с диаминобензидином срезы промывали в дистиллированной воде и подвергали подкрашиванию с помощью гематоксилина Майера в течение 1–2 минут, затем оставляли в горячей воде на 15 минут. Дегидрати-

ровали в 96% спирте (2х в течение 10 мин), освещали при помощи карбол-ксилола в течение 5 минут и ксилола в течение 5 минут. Срезы заключали в среду Ultramount (BioOptica, Италия).

Частоту клеток, позитивных в иммуногистохимической реакции с моноклональными антителами, выражали в процентах (%). Оценивали не менее 10 полей зрения (при увеличении  $\times 250$ ).

*Статистика.* В случае распределения, близкого к нормальному, достоверность различий определяли, используя параметрический критерий Стьюдента. В остальных случаях использовали непараметрический критерий Вилкоксона–Манна–Уитни).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Открытое поле.* Результаты исследования индивидуального поведения на 18-й и 40-й неделях эксперимента в тесте «открытое поле» представлены в таблицах 2 и 3 соответственно.

Все зарегистрированные элементы поведения сгруппированы нами в две категории, одна из которых характеризует исследовательскую активность мышей, а вторая — их эмоциональность. Сразу следует отметить, что груминг чаще всего относят к мотивационной категории «самообеспечение». Однако этот элемент поведения, часто появляющийся у животных в незнакомой стрессорирующей ситуации, иногда трактуют как «смещённую активность». В данном конкретном случае мы склонны считать груминг именно «смещённым», неадекватным ситуации элементом поведения, который наряду с уриной и дефекацией отражает повышенное эмоциональное напряжение животных.

Обращает на себя внимание тот факт, что количественные показатели практически всех компо-

■ Таблица 2. Количество проявлений различных элементов поведения в открытом поле за 3 мин у самок мышей линии СЗН-А с различным тиреоидным статусом на 18-й неделе эксперимента

Показатель	Эутиреоидные животные ( $n_1 = 15$ )	Гипотиреоидные животные ( $n_2 = 10$ )	Гипертиреоидные животные ( $n_3 = 8$ )
Локомоция	47,3 $\pm$ 3,1	54,7 $\pm$ 2,4	63,3 $\pm$ 1,9 “”, **
Подъём на задние лапы	7,0 $\pm$ 1,3	17,3 $\pm$ 2,1**	20,4 $\pm$ 3,4***
Заглядывания в отверстия	3,1 $\pm$ 0,9	4,7 $\pm$ 0,5	6,6 $\pm$ 0,4*, “
<b>Исследовательская активность</b>	<b>57,4</b>	<b>76,7</b>	<b>90,3</b>
Груминг	3,4 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 0,6	5,4 $\pm$ 0,4*, “
Уринация	0,6 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,3
Дефекация	1,7 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,5
<b>Эмоциональность</b>	<b>5,7</b>	<b>5,0</b>	<b>8,5</b>

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,005$  в сравнении с эутиреоидными мышами. “ —  $p < 0,05$ , “” —  $p < 0,01$  в сравнении с гипотиреоидными мышами

■ Таблица 3. Количество проявлений различных элементов поведения в открытом поле за 3 мин у самок мышей линии СЗН-А с различным тиреоидным статусом на 40-й неделе эксперимента

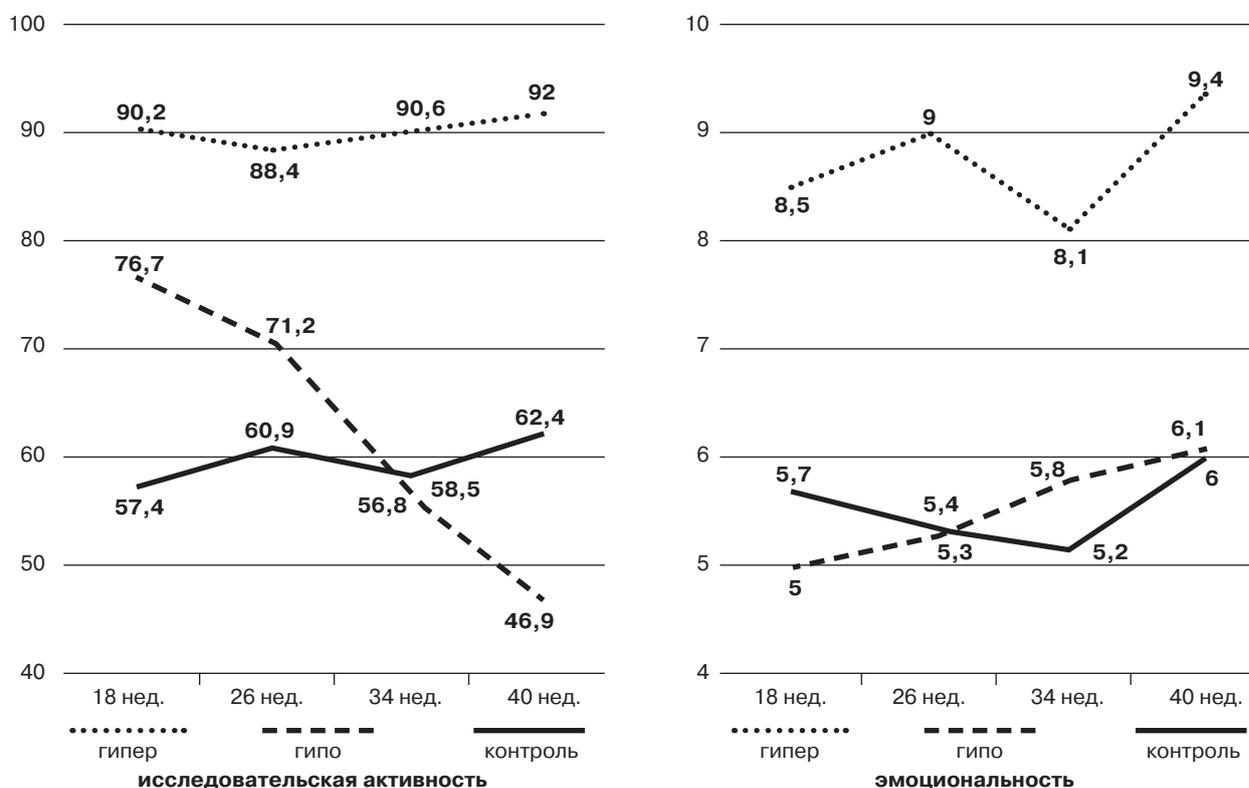
Показатель	Эутиреоидные животные (n <sub>1</sub> = 11)	Гипотиреоидные животные (n <sub>2</sub> = 8)	Гипертиреоидные животные (n <sub>3</sub> = 7)
Локомоция	48,1±4,2	38,2±3,2	65,9±2,1 **,""
Подъём на задние лапы	9,2±1,6	7,4±2,3	19,3±2,9 **,""
Заглядывания в отверстия	5,1±1,4	1,3±0,6	6,8±0,8 "
<b>Исследовательская активность</b>	<b>62,4</b>	<b>46,9</b>	<b>92,0</b>
Груминг	3,4±0,9	4,4±0,6	5,4±0,4 *
Уринация	0,9±0,2	0,8±0,4	2,2±0,6*,"
Дефекация	1,7±0,6	0,9±0,3	1,8±0,4 "
<b>Эмоциональность</b>	<b>6,0</b>	<b>6,1</b>	<b>9,4</b>

\* — p < 0,05, \*\* — p < 0,01, \*\*\* — p < 0,005 в сравнении с эутиреоидными мышами. " — p < 0,05, "" — p < 0,01 в сравнении с гипотиреоидными мышами

нентов исследовательской активности у гипертиреоидных мышей выше, чем у остальных двух групп на протяжении эксперимента (табл. 2). Данная закономерность наиболее выражена для локомоции (горизонтальной исследовательской активности), в меньшей степени — для подъёмов на задние лапы (вертикальная исследовательская активность) и в ещё меньшей степени — для заглядываний в отверстия (норковый рефлекс) (табл. 3). Обращает на себя внимание постепенное снижение исследовательской деятельности в гипотиреоидной группе на протяжении всего эксперимента (рис. 1), что более всего выражено для норкового рефлекса (табл. 2 и 3).

В отношении элементов поведения, на наш взгляд характеризующих эмоциональное напряжение, наблюдаемая картина была несколько иной. Показатели для гипотиреоидных и эутиреоидных мышей практически не различались на протяжении всего эксперимента, тогда как показатели эмоциональности у гипертиреоидных мышей были выше относительно остальных двух групп также на протяжении всего эксперимента (табл. 2 и 3, рис. 1).

*Экспрессия иммуногистохимических маркеров.* Уровни экспрессии маркеров ангиогенеза, а также (глиального фибриллярного кислого белка) в неокортексе и зоне CA1 гиппокампа головного мозга мышей линии СЗН-А представлены в таблице 4.



■ Рисунок 1. Динамика исследовательской активности и эмоциональности у мышей линии СЗН-А при различном тиреоидном статусе

■ Таблица 4. Уровни экспрессии маркеров ангиогенеза и GFAP в головном мозге самок мышей линии СЗН-А с различным тиреотидным статусом на 40-й неделе эксперимента

	Эутиреотидные животные (n=7)		Гипотиреотидные животные (n=8)		Гипертиреотидные животные (n=11)	
	Уровень экспрессии, %		Уровень экспрессии, %		Уровень экспрессии, %	
	Неокортекс	Гиппокамп СА1	Неокортекс	Гиппокамп СА1	Неокортекс	Гиппокамп СА1
VEGF	48,6±32,3	44,3±25,6	23,8±18,0	26,3±14,9	72,7±19,1 <sup>“</sup>	79,1±19,3 <sup>“</sup>
GFAP	20,9±11,6	32,3±18,9	9,3±4,9	10,7±6,2	30±16,6 <sup>“</sup>	38,8±15,4 <sup>“</sup>
PDGFR- $\alpha$	5,0±4,6	4,3±4,2	26,9±13,3 <sup>*</sup>	27,5±14,8 <sup>*</sup>	5,9±3,6 <sup>“</sup>	4,6±4,5 <sup>“</sup>

\* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,005$  в сравнении с эутиреотидными мышами; <sup>“</sup> —  $p < 0,05$ , <sup>““</sup> —  $p < 0,01$  в сравнении с гипотиреотидными мышами

Как следует из представленной таблицы, уровень экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в неокортексе и области гиппокампа СА1 преобладает в группе гипертиреотидных мышей и в наименьшей степени экспрессировался в неокортексе и гиппокампе гипотиреотидных мышей (различия достоверны при  $p < 0,05$ ). Уровень экспрессии глиального фибриллярного кислого белка также ниже, а группе гипотиреотидных животных ( $p < 0,05$ ). Напротив, уровень экспрессии альфа рецептора к фактору роста тромбоцитов значимо преобладает в исследуемых областях ЦНС у мышей с депривацией по тироксину ( $p < 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Йодотиронины имеют широкий спектр воздействия на нейральные клетки, однако именно глиальные клетки являются их главной мишенью. ТГ влияют на пролиферацию и дифференцировку как неизмененных [8], так и злокачественно трансформированных клеток глии [17]. Как известно, клетки нейроглии определяют гомеостаз нервной ткани, ее защиту от повреждений, предотвращая развитие патологических процессов. Гормоны ЩЖ влияют на экспрессию генов миелина [12], белка S100 $\beta$  [8], а также обуславливают взаимодействие глиальных клеток с белками внеклеточного матрикса (ВКМ), такими как ламинин и фибронектин [20]. Немаловажным является, что протеин S100 $\beta$ , действующий как нейротрофический фактор, содействует выживанию нейронов в условиях стресса и росту аксонов [10] и противодействует стимулирующему воздействию нейротоксинов на секрецию клетками микроглии TNF- $\alpha$  [18]. На уровне всего организма ТГ оказывают системное селективное иммуномодулирующее воздействие, которое проявляется в системном ингибирующем действии на иммунную систему (подавляя хемотаксис, фагоцитоз, синтез цитокинов и активных форм кислорода в моноцитах, макрофагах, лейкоцитах, натуральных киллерах и лимфоцитах), с другой стороны, в неиммунных клетках йодотиронины активируют синтез тканеспецифичных провоспалительных генов и активируют неоангиогенез [7].

Также уровень ТГ определяет характер поведения животных в новой обстановке. Так, крысы с исходно высоким уровнем тироксина проявляют повышенную активность в открытом поле. Наши исследования также показали, что гипертиреотидные мыши проявляют повышенную исследовательскую активность и эмоциональность по сравнению с эутиреотидными животными. Снижение исследовательской активности в группе индуцированного гипотиреоза, возможно коррелирует с полученными в опыте нейроморфологическими изменениями.

Однако, несмотря на универсальное нейротрофическое воздействие ТГ, различные отделы ЦНС по-разному реагируют на их воздействие. Так, в фундаментальных исследованиях Эдвина Гоулда с коллегами продемонстрировано, что только базальные отделы коры головного мозга и гиппокамп наиболее быстро отвечают на стимуляцию тиреотидными гормонами в виде повышения экспрессии GFAP и виментина [9]. Поэтому в нашем исследовании для определения уровней экспрессии отмечены именно эти 2 анатомические области как наиболее чувствительные к стимуляции избыточных концентраций ТГ. По данным некоторых авторов, даже при непродолжительном, но выраженном гипертиреозе у крыс отмечается значительное увеличение продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гиппокампе и коре головного мозга, однако только в гиппокампе отмечается достоверное увеличение экспрессии GFAP в растворимых и нитчатых фракциях. В поведении лабораторных животных в этом исследовании отмечалось ухудшение памяти. В нашем исследовании также получено достоверное снижение экспрессии GFAP в гипотиреотидной группе мышей линии СЗН-А, однако достоверного увеличения экспрессии данного белка в гипертиреотидной группе не получено. Возможно, это объясняется снижением чувствительности клеток-мишеней вследствие крайне длительного тиреотоксикоза. Схожие результаты получены при индукции экспериментального гипотиреоза у крыс, где наряду со снижением экспрессии GFAP отмечалось снижение экспрессии глиальных переносчиков глутамата (GLAST и GLT-1) [21]. Следует отметить, что мутация в гене

GFAP является патогенетическим звеном болезни Александера, характеризующейся накоплением астроглией нерастворимых включений (волокон Розенталя) и клинически проявляющейся мышечной слабостью, гиперрефлексией, бульбарными и псевдобульбарными симптомами, а в детском возрасте выраженной задержкой психомоторного развития и интеллектуальными нарушениями [4]. В целом, эти данные свидетельствуют о тиреоид-зависимой перестройке глиального цитоскелета [16].

Гормоны ЩЖ и их аналоги демонстрируют выраженные проангиогенные свойства [6]. Японские исследователи еще раз подтвердили предположение, что в головном мозге мышей процессы ангиогенеза в основном являются VEGFR- и PDGFR-зависимыми [15]. В одном исследовании при модулировании церебральной ишемии у нокаутированных по гену PDGFR- $\beta$  мышей отмечалось снижение процессов репарации и увеличение объема инфаркта [19].

В нашей работе при изучении влияния действия ТГ на ангиогенез в качестве маркеров использовались менее изученные непосредственно VEGF, секретируемый основной мишенью йодотиронинов — глиальными клетками, и PDGFR- $\alpha$  как менее специфичный рецептор для соответствующего семейства лигандов, тогда как в большинстве работ используется более специфичный PDGFR- $\beta$ . Постулируя проканцерогенное действие избыточных концентраций гормонов ЩЖ, именно  $\alpha$ -изоформа PDGFR экспрессируется на злокачественно измененных астроцитах и является ранним прекурсором опухолевой трансформации нейральных клеток [11].

В отношении проканцерогенных свойств йодотиронинов и их влияния на повышение экспрессии PDGFR- $\alpha$ , то в нашем исследовании получены противоположные данные. Это можно объяснить ролью вирусной инфекции, в частности цитомегаловируса, в индукции опухолевой трансформации нейральных клеток [14], а ТГ способствуют увеличению IFN- $\gamma$ -индуцированной HLA-DR экспрессии клетками моноцитарно-макрофагальной системы, отвечающих за представление (презентацию) антигенных детерминант иммунокомпетентным лимфоцитам [16]. Возможно, при гипотиреозе наблюдается снижение IFN- $\gamma$ -индуцированной экспрессии HLA-DR иммунокомпетентными клетками, следствием чего является пониженная способность организма развивать специфический иммунный ответ. С другой стороны, повышение экспрессии PDGFR- $\alpha$  в гипотиреоидной группе является определенным механизмом компенсаторной реакцией на длительно протекающую гипоксию, связанную со снижением тиреоид-зависимых процессов ангиогенеза.

В целом, наши данные подтверждают роль ТГ в регуляции клеточных взаимоотношений не только в развивающейся, но уже сформированной ЦНС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Фундаментальная и клиническая тиреоидология. — М.: Медицина, 2007. — 816 с.
2. Павлов А. А., Алексеева Т. И., Стрелюхов А. А. Наиболее распространенные заболевания щитовидной железы в общей врачебной практике // Вест. сем. мед. — 2006. — № 4. — С. 12–19.
3. Таранушенко Т. Е., Дагадин С. А., Панфилов А. Я. с соавт. Оценка тяжести йодного дефицита в Красноярском крае // Проб. эндокринологии. 1999. — № 2. — С. 19–24.
4. Alexander W. S. Progressive fibrinoid degeneration of fibrillary astrocytes associated with mental retardation in a hydrocephalic infant // Brain (Oxford). — 1949. — Vol. 72. — P. 373–381.
5. Bauer M., Whybrow P. C. Thyroid hormone, neural tissue and mood modulation // World J. Biol. Psychiatry — 2001. — Vol. 2, N 2. — P. 59–69.
6. Davis P. J., Davis F. B., Mousa S. A. Thyroid hormone-induced angiogenesis // Curr. Cardiol. Rev. — 2009. — Vol. 5, N 1. — P. 12–16.
7. De Vito P., Incerpi S., Pedersen J. Z. et al. Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level // Thyroid. — 2011 — Vol. 21, N 8. — P. 879–890.
8. Dezonne R. S., Stipursky J., Gomes F. C. Effect of thyroid hormone depletion on cultured murine cerebral cortex astrocytes // Neurosci. Lett. — 2009. — Vol. 467, N 2. — P. 58–62.
9. Gould E., Frankfurt M., Westlind-Danielsson A. et al. Developing forebrain astrocytes are sensitive to thyroid hormone // Glia. — 1990. — Vol. 3, N 4. — P. 283–292.
10. Huttunen H. J., Kuja-Panula J., Sorci G. et al. Coregulation of neurite outgrowth and cell survival by amphoterin and S100 proteins through RAGE activation // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275. — P. 40 096–40 105.
11. Jackson E. L., Garcia-Verdugo J. M., Gil-Perotin S. et al. PDGFR alpha-positive B cells are neural stem cells in the adult SVZ that form glioma-like growths in response to increased PDGF signaling // Neuron. — 2006. — Vol. 51, N 2. — P. 187–199.
12. Jones S. A., Jolson D. M., Cuta K. K. et al. Triiodothyronine is a survival factor for developing oligodendrocytes // Mol. Cell. Endocrinol. — 2003. — Vol. 199, N 1/2. — P. 49–60.
13. Krassas G. E., Poppe K., Glinoer D. Thyroid function and human reproductive health // Endocr. Rev. — 2010. — Vol. 31, N 5. — P. 702–755.
14. Lin H. Y., Martino L. J., Wilcox B. D. et al. Potentiation by thyroid hormone of human IFN-gamma-induced HLA-DR expression // J. Immunol. — 1998. — Vol. 161, N 2. — P. 843–849.
15. Morita S., Ukai S., Miyata S. VEGF-dependent continuous angiogenesis in the median eminence of adult mice // Eur. J. Neurosci. — 2013. — Vol. 37, N 4. — P. 346–352.
16. Nedzvetskyi V. S., Nerush P. O. The effect of hyperthyroidism on the cognition processes and the state of the glial intermediate filaments in the rat brain // Fiziol. Zh. — 2010. — Vol. 56, N 6. — P. 100–107.
17. Paul S., Das S., Poddar R., Sarkar P. K. Role of thyroid hormone in the morphological differentiation and maturation of astrocytes: temporal correlation with synthesis and organization of actin // Eur. J. Neurosci. — 1996. — Vol. 8, N 11. — P. 2361–2370.
18. Reali C., Scintu F., Pillai R., Donato R., Michetti F., Soggos V. S100B counteracts effects of the neurotoxicant trimethyltin on astrocytes and microglia // J. Neurosci. Res. — 2005. — Vol. 81. — P. 677–686.
19. Shen J., Ishii Y., Xu G. et al. PDGFR- $\beta$  as a positive regulator of tissue repair in a mouse model of focal cerebral ischemia // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 2012. — Vol. 32, N 2. — P. 353–367.
20. Trentin A. G., De Aguiar C. B., Garcez R. C., Alvarez-Silva M. Thyroid hormone modulates the extracellular

matrix organization and expression in cerebellar astrocyte: effects on astrocyte adhesion // *Glia*. — 2003. — Vol. 42. — P. 359–369.

21. Zamoner A., Heimfarth L., Pessoa-Pureur R. Congenital hypothyroidism is associated with intermediate filament misregulation, glutamate transporters down-regulation and MAPK activation in developing rat brain // *Neurotoxicology*. — 2008. — Vol. 29, N 6. — P. 1092–1099.

#### THE INFLUENCE OF EXPERIMENTALLY CHANGED THYROID STATUS ON COGNITIVE ACTIVITY AND ANGIOGENESIS IN THE BRAIN OF FEMALE INBRED C3H-A MICE

Glushakov R. I., Kozyrko Ye. V., Raskin G. A., Karpova I. V., Lebedev A. A., Mikheyev V. V., Tapilskaya N. I., Proshin S. N.

◆ **Summary:** The study was performed using 33 virgin females of inbred C3H-A mice. The animals were randomized as follows 3:2:2. The first group was hyperthyroid ( $n_1=15$ ), the second hypothyroid ( $n_2=10$ ) and the third euthyroid (control) ( $n_3=8$ ). The results of individual behavior investigation as to 18 and 40 weeks of our experiment in “open field” test clarified that quantitative traces of almost whole compo-

nents of cognitive activity was much higher in hyperthyroid mice as compared to other groups (control and hypothyroid ones). The cognitive behavior activity has gradually been decreasing in hypothyroid group especially in connection to burrow reflex. As to those elements of behavior which are of characteristics of emotions the results were a bit different. The emotional characteristics were more expressed in hyperthyroid group as compared to control and hypothyroid ones. The immunohistochemical investigations clearly showed that expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in neocortex and hippocampus prevails in hyperthyroid mice and less expressed in animals deprived of thyroid hormones ( $p<0.05$ ). The level of glial fibrillar acidic protein (GFAP) expression was significantly lower in brain of hypothyroid animals ( $p<0.05$ ). Otherwise the level of platelet derived growth factor receptor- $\alpha$  (PDGF-R $\alpha$ ) expression was much higher in brain of hypothyroid mice ( $p<0.05$ ). Our results presented for this paper confirmed the key role of thyroid hormones in regulation of cell interaction not only for developing neural cells but also for adult central nerve system.

◆ **Key words:** inbred female mice C3H-A, experimental hyperthyroid status, “open field”, immunohistochemical markers of angiogenesis.

#### ◆ Информация об авторах

Глушаков Руслан Иванович — к. м. н., врач онколог-гинеколог, ГБОУ ВПО «Государственная медицинская педиатрическая академия» МЗ РФ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Кантемировская, д. 16. E-mail: glushakovruslan@gmail.com.

Козырко Елена Васильевна — студентка VII факультета, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6.

Раскин Геннадий Александрович — врач-патологоанатом, ГБОУ ВПО «Государственная медицинская педиатрическая академия» МЗ РФ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Кантемировская, д. 16.

Карпова Инесса Владимировна — к. б. н., доцент кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Государственный медицинский университет им. Акад. И. П. Павлова» МЗ РФ. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8. E-mail: inessa.karpova@gmail.com.

Лебедев Андрей Андреевич — д. б. н., профессор, ст. научный сотрудник отдела фармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12.

Михеев Владимир Владимирович — д. б. н., старший преподаватель кафедры фармакологии, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6.

Тапильская Наталья Игоревна — д. м. н., профессор кафедры акушерства и гинекологии с онкологией, ГБОУ ВПО «Государственная медицинская педиатрическая академия» МЗ РФ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Кантемировская, д. 16.

Прошин Сергей Николаевич — д. м. н., доцент кафедры фармакологии, ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» МЗ РФ. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр-т, д. 47/33. E-mail: psnjsn@rambler.ru.

Glushakov Ruslan Ivanovich — PhD, Oncologist, State Pediatric Medical University of St.Petersburg. 194100, St. Petersburg, Kantemirovskaya St., 16, Russia. E-mail: glushakovruslan@gmail.com.

Kozyrko Yelena Vasilyevna — student, Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation. 194044, St. Petersburg, Acad. Lebedev St., 6, Russia.

Raskin Gennadiy Aleksandrovich — Patologist, State Pediatric Medical University of St.Petersburg. 194100, St. Petersburg, Kantemirovskaya St., 16, Russia.

Karpova Inessa Vladimirovna — PhD, Dozent, Dept. of Normal Physiology, Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Ministry of Health Care of the Russian Federation. 197022, St. Petersburg, Lev Tolstoi St., 6/8, Russia. E-mail: inessa.karpova@gmail.com.

Lebedev Andrey Andreyevich — Dr. Biol. Sci., Professor, Leading Researcher, Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia.

Mikheyev Vladimir Vladimirovich — Dr. Biol. Sci., Assistant Professor, dept. of Pharmacology, Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation. 194044, St. Petersburg, Acad. Lebedev St., 6, Russia.

Tapilskaya Natalya Igorevna — Dr. Med. Sci., Professor, Dept. of Obstetrics and Gynecology, State Pediatric Medical University of St.Petersburg. 194100, St. Petersburg, Kantemirovskaya St., 16, Russia.

Proshin Sergey Nikolayevich — Dr. Med. Sci., Docent, Dept. of Pharmacology, Mechnikov North-West State Medical University of St. Petersburg, Ministry of Health Care of the Russian Federation. 195067, St. Petersburg, Piskarevskiy prospect, 47/33, Russia. E-mail: psnjsn@rambler.ru.