

**ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ V_{1a} -РЕЦЕПТОРОВ НА ОСМОРЕГУЛИРУЮЩУЮ
ФУНКЦИЮ ПОЧЕК У ГИПЕРТИРЕОИДНЫХ КРЫС
С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВАЗОПРЕССИНА В КРОВИ**

© 2022 г. П. Д. Правикова¹, *, Л. Н. Иванова¹

¹*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

**E-mail: PollyPravi@yandex.ru*

Поступила в редакцию 21.06.2022 г.

После доработки 19.07.2022 г.

Принята к публикации 19.07.2022 г.

Исследовано влияние блокады V_{1a} -рецепторов ($V_{1a}R$) вазопрессина (ВП) на осморегулирующую функцию почек у крыс линии WAG и у вазопрессин-дефицитных крыс линии Brattleboro в условиях моделирования гипертиреоза при потреблении раствора L-тироксина. Установлено, что у крыс обеих линий гипертиреоз на фоне ускорения скорости клубочковой фильтрации приводит к развитию диуретического ответа. У крыс Brattleboro, в отличие от особей WAG, увеличение скорости мочеотделения обусловлено снижением реабсорбции осмотически свободной воды относительно контроля. Направленность изменений натрийуретической функции почек при потреблении L-тироксина определяется уровнем эндогенного ВП в крови: у гипертиреоидных крыс WAG фиксируется натрийуретическая реакция, в то время как у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro выявлен антинатрийурез вследствие прямого стимулирующего влияния тиреоидных гормонов на реабсорбцию натрия. Торможение реабсорбции натрия у крыс WAG при моделировании гипертиреоза устранялось блокадой ($V_{1a}R$). Предполагается, что стимуляция $V_{1a}R$ на фоне гипертиреоза играет ключевую роль в торможении реабсорбции натрия, тогда как ВП-независимый эффект тиреоидных гормонов направлен на активацию транспорта натрия и подавление реабсорбции воды.

Ключевые слова: тироксин, гипертиреоз, $V_{1a}R$, вазопрессин, линии крыс WAG и Brattleboro, осморегулирующая функция почек

DOI: 10.31857/S0869813922080064

В системе регуляции осмотического гомеостаза у млекопитающих главная роль принадлежит почке, способной в широких пределах варьировать реабсорбцию воды и натрия благодаря действию ряда системных гормонов при изменении объема или осмолярности внеклеточной жидкости [1]. Вазопрессин (ВП) является основным фактором в системе регуляции процесса осмотического концентрирования у млекопитающих, определяющим интенсивность трансэпителиального транспорта воды и ионов натрия в собирательных трубках почки [2, 3]. Щитовидная железа, секретирующая тиреоидные гормоны, участвует в регуляции водно-электролитного гомеостаза, влияя на почечную гемодинамику [4, 5], а также на экскрецию солей и воды [6]. Дисфункция щитовидной железы является причиной значительных изменений в регуляции концентрирующей функции почек, механизмы которых недостаточно изучены [7]. В условиях гипертиреоза на фоне ускорения клубочковой

фильтрации [8] установлено снижение эффективности осмотического концентрирования [9], несмотря на увеличение концентрации ВП в крови [10, 11]. При значительном увеличении секреции ВП, как известно, достигается порог активации V_{1a} -рецепторов ($V_{1a}R$), трансдукция сигнала которых приводит к торможению реабсорбции натрия [12, 13] и воды [14], снижая, тем самым, концентрирующую функцию почек. Предполагается, что осмотический диурез, фиксируемый при гиперсекреции щитовидной железы [15], обусловлен стимуляцией $V_{1a}R$ вследствие увеличения секреции эндогенного ВП. Целью настоящей работы явилось исследование участия V_{1a} -рецепторов в регуляции процесса осмотического концентрирования при моделировании гипертиреоза у крыс с различным уровнем ВП в крови.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В опытах использованы крысы в возрасте 60 дней и массой 150–200 г из вивария конвенциональных животных Института цитологии и генетики СО РАН, содержащиеся в условиях стандартного рациона со свободным доступом к питьевой воде и сухому корму. Эксперименты проведены на крысах инбредной линии WAG (Wistar Albino Glaxo) с высоким уровнем ВП в крови, а также на гомозиготных крысах Brattleboro, лишенных ВП вследствие мутации гена, кодирующего предшественник гормона [16]. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ (Приложение к Приказу Министерства здравоохранения РФ № 267 от 19.06.2003), а также с учетом международных рекомендаций по работе с экспериментальными животными.

Животные каждой линии были разделены на 4 экспериментальные группы (по 9 особей в каждой): 1) контрольная группа крыс, получавшая для питья дистиллированную воду; 2) крысы в условиях моделирования гипертиреоза путем замены питьевой воды на раствор L-тироксина; 3) крысы, потреблявшие дистиллированную воду, которым вводили селективный антагонист $V_{1a}R$; 4) гипертиреоидная группа крыс с блокадой $V_{1a}R$. При моделировании гипертиреоза крысы WAG потребляли в течение 21 дня раствор (LT4, эутирокс, Merck, Германия) с концентрацией 12 мг/л L-тироксина [17]. Учитывая межлинейные различия в суточном объеме потребляемой жидкости, для уравнивания суточной дозы препарата особи Brattleboro, характеризовавшиеся полидипсией, получали для питья раствор L-тироксина с концентрацией 1.6 мг/л. Для выявления роли $V_{1a}R$ в регуляции процесса осмотического концентрирования при моделировании гипертиреоза крысам, потреблявшим L-тироксин, в течение последних экспериментальных суток внутрибрюшинно вводили селективный антагонист $V_{1a}R$ [$d(CH_2)_5Tyr(Me^2)]AVP$ (V-2255, Sigma, США), дважды в дозе 2 мкг/100 г массы тела [18]. Вместе с тем для исследования эффекта влияния $V_{1a}R$ на концентрирующую функцию почек в зависимости от уровня активности тиреоидной системы селективный антагонист $V_{1a}R$ вводился особям обеих линий, содержащихся в условиях стандартного потребления воды. У крыс обеих линий, потреблявших как дистиллированную воду, так и раствор L-тироксина, контролем к введению антагониста $V_{1a}R$ служило внутрибрюшинное введение раствора хлорида натрия для инфузий объемом 0.1 мл/100 г массы тела, дважды в течение последнего экспериментального дня.

В течение всего экспериментального периода ежедневно подсчитывали объем выпитой жидкости. Каждую неделю животных взвешивали и на 2 ч помещали в индивидуальные клетки с проволочным дном для сбора спонтанно экскретированной мочи. Через 30 мин после последней инъекции животных помещали в индивидуальные клетки с проволочным дном для сбора спонтанно выделяющейся мочи и

оценки функции почек. По окончании эксперимента животных анестезировали тиопенталом натрия (10 мг/100 г массы тела, внутривенно) и забирали пробы крови.

Осмоляльность мочи и сыворотки крови измеряли криоскопическим методом (миллиосмометр ОСКР-1М КИВИ, Россия). Концентрацию креатинина в моче и сыворотке крови определяли методом Яффе на спектрофотометре (BioPhotometr plus, Eppendorf, Германия, 490 нм), скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывали по клиренсу эндогенного креатинина. Концентрацию общего уровня тетраiodтиронина (Т4) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом (Rat thyroxine (T4) ELISA Kit, Cusabio, CSB-E05082r). Содержание катионов натрия в пробах мочи и сыворотке крови измеряли методом пламенной фотометрии (Flame photometer 410 Sherwood, Великобритания). По стандартным формулам рассчитывали клиренс осмотически активных веществ ($C_{осм}$), максимальную реабсорбцию осмотически свободной ($T_{H_2O}^C$), воды экскрецию натрия (E_{Na}) и экскретируемую фракцию натрия (FE_{Na}). Все параметры вычисляли по стандартным формулам на 100 г массы тела.

Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего ($M \pm SEM$). Достоверность различий оценивали в программе Statistica 8.0 с помощью апостериорного LSD критерия Фишера для множественных сравнений. Для парного сравнения средних между линиями крыс применялся критерий Стьюдента для независимых выборок. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс WAG, содержащихся в течение 3-х недель в условиях потребления раствора L-тироксина, было выявлено значительное увеличение общего уровня Т4 (рис. 1). Учитывая ранее выявленный увеличенный уровень секреции ВП при гиперфункции щитовидной железы [11], для оценки значимости ВП в регуляции процесса осмотического концентрирования при гипертиреозе была предпринята серия экспериментов на гомозиготных ВП-дефицитных крысах Brattleboro. Базальный уровень Т4 в сыворотке крови у контрольных групп WAG и Brattleboro был достаточно высоким и не имел межлинейных различий (рис. 1), тогда как при моделировании гипертиреоза увеличение общего уровня Т4 было более выражено у ВП-дефицитных крыс Brattleboro (рис. 1).

У контрольных крыс линии WAG и Brattleboro, а также у гипертиреозидных особей обеих линий был зафиксирован прогрессирующий рост массы тела (рис. 2). У крыс WAG динамика массы тела в течение трех недель моделирования гипертиреоза была аналогична группе, потреблявшей дистиллированную воду (рис. 2a), тогда как у гипертиреозидных ВП-дефицитных крыс Brattleboro рост массы тела был существенно замедлен по сравнению с контрольными особями (рис. 2b). В то же время масса тела в группах крыс с гипертиреозом по истечении 3 недель эксперимента не имела межлинейных различий (рис. 2).

Использованные в экспериментах крысы Brattleboro потребляли за сутки более 80 мл жидкости, что характерно для ВП-дефицитных гомозигот [19]. В то же время крысы WAG с нормальным уровнем ВП в крови выпивали за сутки не более 12 мл воды. У крыс этой линии при моделировании гипертиреоза на второй неделе было выявлено достоверное увеличение суточного потребления жидкости, которое достигло максимума к окончанию эксперимента (рис. 3a). Вместе с тем у гипертиреозидной группы ВП-дефицитных особей линии Brattleboro потребление жидкости в сутки существенно возросло уже по истечении первой недели, и этот уровень сохранился до конца эксперимента (рис. 3b).

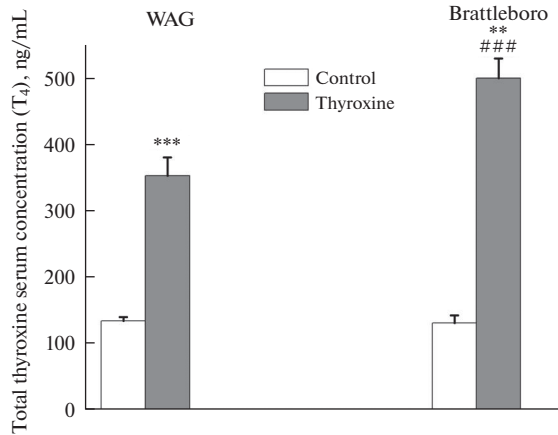


Рис. 1. Концентрация гормона T₄ в сыворотке крови крыс линии WAG и ВП-дефицитной линии Brattleboro в контрольных условиях и при потреблении раствора L-тироксина (гипертиреоз). Достоверность различий: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольными показателями крыс WAG; ### $p < 0.001$ – сравнение с контрольными показателями крыс Brattleboro.

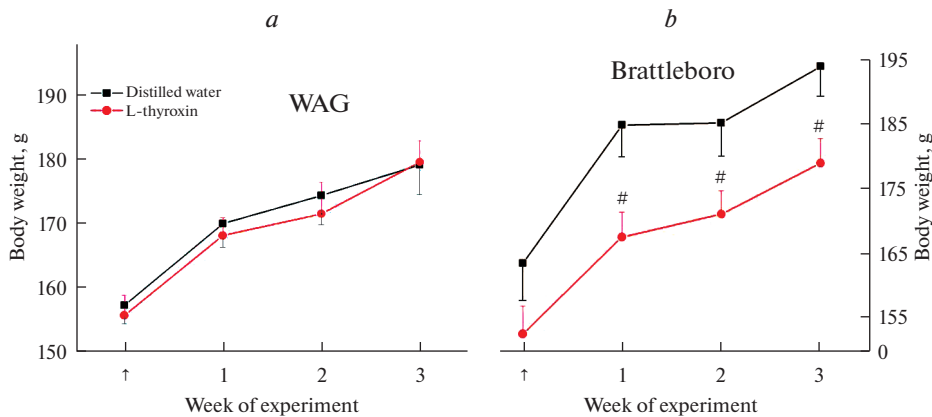


Рис. 2. Динамика массы тела в течение 3 нед. у крыс линии WAG (a) и ВП-дефицитной линии Brattleboro (b) в условиях потребления раствора L-тироксина по сравнению с контрольными особями. Достоверность различий: # $p < 0.05$ – сравнение с контрольными показателями крыс линии Brattleboro.

Гидруретическая функция почек у контрольных крыс линий WAG и крыс Brattleboro существенно различалась (табл. 1). Крысы WAG характеризовались низкой скоростью мочеотделения и положительными значениями показателей реабсорбции осмотически свободной воды, отражающими высокий уровень эндогенного ВП. В то же время контрольные ВП-дефицитные особи линии Brattleboro характеризовались увеличенным диурезом вследствие высокого уровня скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и отрицательных показателей реабсорбции осмотически свободной воды (табл. 1). Нарушение питьевого поведения, наблюдаемое у крыс обеих линий при потреблении L-тироксина, отразилось на параметрах гидрурети-

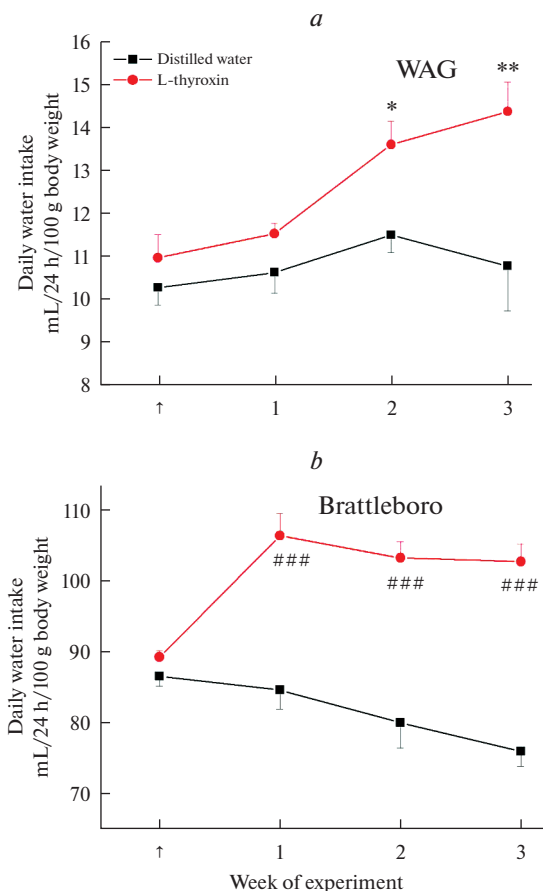


Рис. 3. Изменение суточного потребления жидкости в течение 3 нед. у крыс линии WAG (a) и ВП-дефицитной линии Brattleboro (b) в условиях потребления раствора L-тироксина по сравнению с контрольными особями.

Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ — сравнение с контрольными показателями крыс WAG; ### $p < 0.001$ — сравнение с контрольными показателями крыс линии Brattleboro.

ческой функции (рис. 4). Моделирование гипертиреоза у крыс WAG привело к увеличению скорости мочеотделения и СКФ без существенных изменений параметров реабсорбции воды (рис. 4, 5). В то же время у ВП-дефицитных крыс Brattleboro диуретический ответ (рис. 4а), зафиксированный на фоне увеличения СКФ (рис. 5), сопровождался снижением показателей реабсорбции осмотически свободной воды (рис. 4b).

Принимая во внимание увеличение концентрации ВП в крови при гипертиреозе [11], исследована роль $V_{1a}R$ в регуляции концентрирующей функции почек, поскольку при значительном увеличении уровня секреции ВП достигается порог активации этих рецепторов [12]. Устранение действия $V_{1a}R$ у гипертиреоидных крыс WAG приводило к достоверному снижению диуреза без существенных изменений показателя реабсорбции осмотически свободной воды (рис. 4), тогда как блокада $V_{1a}R$ в условиях эутиреоза не влияла на параметры гидруретической функции

Таблица 1. Влияние блокады V_{1a}R на скорость клубочковой фильтрации и гидруретическую функцию почек у крыс линий WAG и Brattleboro

Параметр	Экспериментальные группы			
	WAG		Brattleboro	
	контроль	V _{1a} R антагонист	контроль	V _{1a} R антагонист
Диурез (V), мкл/мин	1.72 ± 0.23	1.18 ± 0.27	8.0 ± 1.58***	15.35 ± 1.83
Скорость клубочковой фильтрации (СКФ), мл/мин	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.04	0.36 ± 0.04***	0.47 ± 0.06
Реабсорбция осмотически свободной воды (T _{H₂O} ^C), мкл/мин	6.74 ± 0.83	5.18 ± 0.9	-4.63 ± 1.04***	-3.78 ± 1.33

Все значения представлены как среднее ± ошибка среднего. Достоверность различий: *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой крыс линии WAG.

(табл. 1). Вместе с тем введение селективного антагониста V_{1a}R ВП-дефицитным крысам Brattleboro закономерно не вызывало значимых изменений параметров гидруреза как в условиях гипертиреоза (рис. 4), так и на фоне нормального уровня секреции Т4 (табл. 1).

Контрольные показатели натрийуретической функции имели существенные межлинейные различия (табл. 2). У ВП-дефицитных крыс Brattleboro клиренс осмотически активных веществ, а также экскретируемая фракция натрия и скорость его экскреции были существенно выше аналогичных показателей у крыс WAG с высоким уровнем ВП в крови. Вместе с тем введение антагониста V_{1a}R способствовало у крыс WAG снижению уровня осмоляльного очищения вследствие уменьшения экскретируемой фракции и скорости экскреции натрия, тогда как параметры натрийуреза у крыс Brattleboro оставались без изменений (табл. 2).

Потребление раствора L-тироксина приводило к изменению параметров натрийуретической функции, направленность которых зависела от уровня эндогенного ВП в крови (рис. 6). У крыс WAG на фоне гипертиреоза был зафиксирован рост клиренса осмотически активных веществ в результате увеличения скорости экскреции натрия, а также его экскретируемой фракции, что указывает на торможение реабсорбции катиона. В то же время у ВП-дефицитных особей Brattleboro была установлена антинатрийуретическая реакция вследствие усиления реабсорбции натрия, о чем свидетельствовало снижение его экскреции и экскретируемой фракции. Результаты позволяют заключить, что высокий уровень эндогенного ВП, характерный для гипертиреоза [11], способствует торможению реабсорбции натрия. Предполагалось, что установленный осмотический диурез при моделировании гипертиреоза у крыс WAG обусловлен стимуляцией V_{1a}R вследствие увеличения секреции эндогенного ВП. Селективная блокада V_{1a}R вызвала принципиально иную реакцию почек у гипертиреоидных крыс WAG: на фоне введения антагониста V_{1a}R было зафиксировано снижение клиренса осмотически активных веществ вследствие снижения экскретируемой фракции натрия и скорости его экскреции (рис. 6). Вместе с тем устранение действия V_{1a}R у ВП-дефицитных крыс Brattleboro, потреблявших раствор L-тироксина, не вызывало значимых изменений параметров натрийуретической функции (рис. 6).

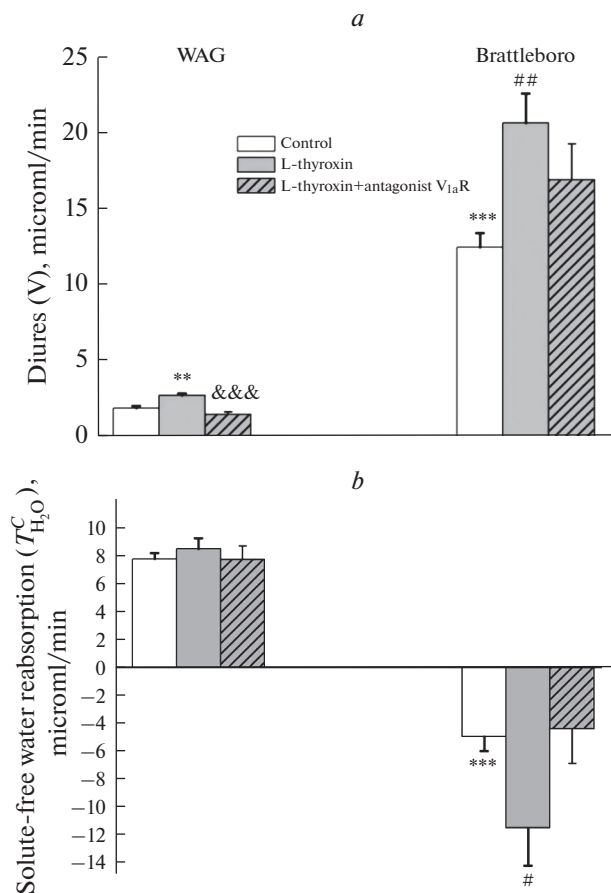


Рис. 4. Эффект блокады V_{1a}R на параметры гидруретической функции почек при моделировании гипертиреоза L-тироксином у крыс WAG и Brattleboro ($M \pm SEM$)/a – скорость мочеотделения, диурез (V);

b – реабсорбция осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^C$).

Достоверность различий: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольными показателями крыс WAG; &&& $p < 0.001$ – сравнение с гипертиреоидной группой WAG; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$ – сравнение с контрольными показателями линии Brattleboro.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основная функция тиреоидных гормонов – поддержание уровня основного обмена, а также участие в регуляции роста и развития организма как в условиях пренатального развития, так и в постнатальном периоде [20, 21]. У крыс WAG потребление раствора L-тироксина, сопровождавшееся ростом концентрации Т4 в сыворотке крови, не привело к изменениям динамики массы тела по сравнению с контрольными особями WAG. В то же время у гипертиреоидных ВП-дефицитных крыс Brattleboro рост массы тела был существенно замедлен по сравнению с контролем внутри линии. Учитывая более существенное увеличение концентрации общего Т4 в сыворотке крови у крыс Brattleboro по сравнению с особями WAG,

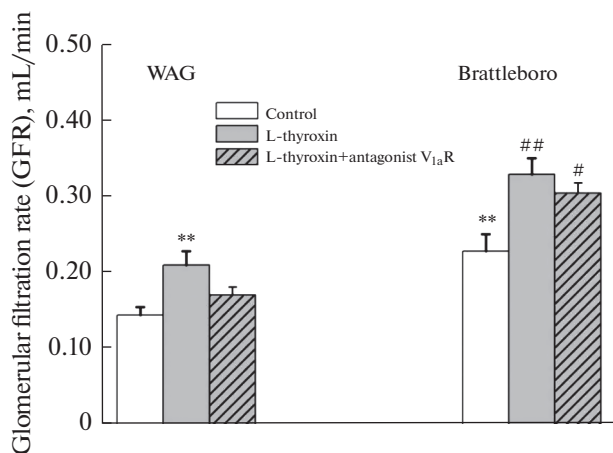


Рис. 5. Эффект блокады V_{1a}R на скорость клубочковой фильтрации (СКФ) при моделировании гипертиреоза L-тироксина у крыс WAG и Brattleboro ($M \pm SEM$).

Достоверность различий: ** $p < 0.01$ – сравнение с контрольными показателями крыс WAG; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$ – сравнение с контрольными показателями линии Brattleboro.

сниженный темп изменения массы тела у этой линии является следствием стимулирующего влияния Т4 на скорость основного обмена [21]. Гипертиреоз, как известно, характеризуется снижением массы тела на фоне увеличения скорости липолиза и глюконеогенеза [20, 22]. Кроме того, принимая во внимание изменения у крыс Brattleboro количества рецепторов соматотропного гормона (СТГ) в печени, а также снижение активности в плазме крови фактора, опосредующего действие СТГ, соматомедина [23], можно предположить, что данная линия более чувствительна к любым изменениям регуляции роста. Вместе с тем у крыс WAG наличие эндогенного ВП в крови, по-видимому, явилось фактором, компенсирующим усиление скорости основного обмена организма на фоне потребления раствора L-тироксина.

Таблица 2. Влияние блокады V_{1a}R на натрийуретическую функцию почек у крыс линий WAG и Brattleboro

Параметр	Экспериментальные группы			
	WAG		Brattleboro	
	контроль	V _{1a} R антагонист	контроль	V _{1a} R антагонист
Клиренс осмотически активных веществ (C _{осм}), мкл/мин	8.91 ± 0.69	4.95 ± 0.82**	14.02 ± 1.61**	12.94 ± 2.53
Скорость экскреции натрия (E _{Na}), мкл/мин	0.03 ± 0.007	0.008 ± 0.002**	0.16 ± 0.02**	0.12 ± 0.06
Экскретируемая фракция натрия (FE _{Na}), %	0.14 ± 0.03	0.03 ± 0.01*	0.27 ± 0.03*	0.18 ± 0.07

Все значения представлены как среднее ± ошибка среднего. Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой крыс линии WAG.

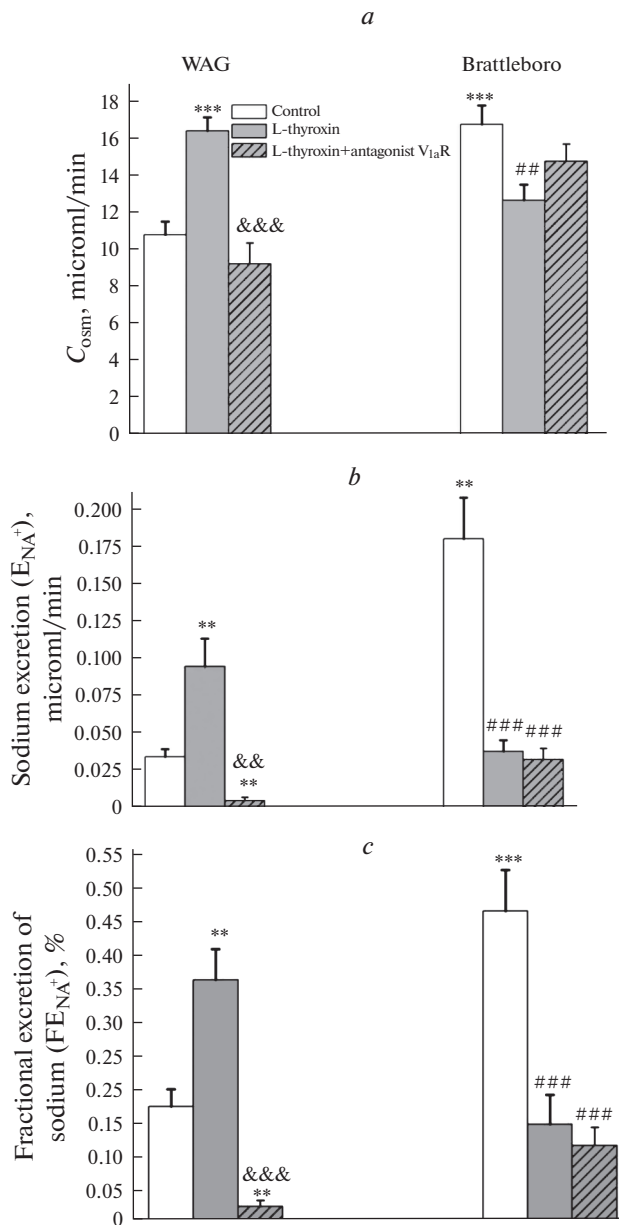


Рис. 6. Эффект блокады $V_{1a}R$ на параметры натрийуретической функции почек в условиях моделирования гипертиреоза L-тироксина у крыс WAG и Brattleboro ($M \pm SEM$).

a – показатель осмотического очищения ($C_{осм}$); *b* – скорость экскреции натрия (E_{Na}); *c* – экскретируемая фракция натрия (FE_{Na}).

Достоверность различий: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольными показателями крыс WAG; && $p < 0.01$; &&& $p < 0.001$ – сравнение с гипертиреоидной группой WAG; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ – сравнение с контрольными показателями крыс линии Brattleboro.

Гормоны щитовидной железы участвуют в регуляции концентрирующей функции почек, и нарушения уровня их секреции приводят к существенным перестройкам процесса осмотического концентрирования вследствие изменения экскреции солей и воды [6, 24], а также почечной гемодинамики [8]. Ранее было установлено, что при гиперфункции щитовидной железы наблюдается стимуляция чувства жажды при увеличенном уровне секреции ВП [25]. Вместе с тем вне зависимости от базального уровня эндогенного ВП в крови у гипертиреоидных крыс WAG и Brattleboro установлено увеличение суточного потребления жидкости, что, по всей видимости, явилось следствием активации гипоталамического центра жажды при нарастании гипертоничности жидкости внеклеточного пространства [26]. Нарушение питьевого поведения у крыс линий WAG и Brattleboro отразилось на параметрах гидруретической функции при потреблении L-тироксина. Моделирование гипертиреоза у крыс WAG привело к увеличению скорости мочеотделения вследствие ускорения СКФ без существенных изменений реабсорбции воды в связи с преобладающим влиянием ВП на параметры осмотического концентрирования. Вместе с тем у ВП-дефицитных крыс Brattleboro зафиксированный на фоне ускорения СКФ диуретический ответ был обусловлен снижением реабсорбции осмотически свободной воды вследствие тонического ингибирующего влияния тиреоидных гормонов на концентрирующую функцию почек. Выявленное усиление диуретической реакции у крыс Brattleboro в условиях гипертиреоза подтверждает ранее установленные данные о развитии полиурии, которая была следствием снижения экспрессии аквапоринов AQP1 и AQP2 в корковом и мозговом веществе почки на фоне хронического потребления тироксина [15]. Ингибирующий эффект гипертиреоза на реабсорбцию воды согласуется с ранее установленным усилением эффективности осмотического концентрирования у ВП-дефицитных крыс Brattleboro при подавлении секреции T4 [27].

Реабсорбция натрия осуществляется эпителием всех сегментов нефрона и собирательных трубок и находится под контролем комплекса гормональных факторов [28]. Известно, что тиреоидные гормоны регулируют работу многих ионных транспортеров, преимущественно в проксимальном сегменте нефрона, усиливая как активность Na-P-котранспортера [29], Na-H-обменника [30] и Na/K-насоса [31], а также стимулируя экспрессию NKCC2-котранспортера в толстом восходящем колоне петли Генле [15]. Установлено, что направленность изменений параметров натрийуретической функции почек в условиях моделирования гипертиреоза применением L-тироксина зависит от уровня эндогенного ВП в крови. У крыс WAG с высоким базальным уровнем эндогенного ВП в условиях гипертиреоза был зафиксирован натрийуретический ответ вследствие торможения реабсорбции натрия, в то время как у ВП-дефицитных особей Brattleboro, напротив, установлена антинатрийуретическая реакция. По всей видимости, зафиксированное усиление реабсорбции натрия у крыс линии Brattleboro в условиях моделирования гипертиреоза было обусловлено прямым стимулирующим влиянием T4 на активность и экспрессию натриевых каналов, в том числе в дистальных сегментах нефрона [9, 15]. Вместе с тем известно, что при гиперсекреции щитовидной железы подавляется по принципу обратной связи секреция тиреотропного гормона (ТТГ) [32]. Почечная ткань является одной из мишеней действия ТТГ, поскольку в ней экспрессируются рецепторы к этому гормону (TSHR): в сосудах, включая артериолы клубочка, а также в эпителии почечных канальцев [33, 34]. При связывании лиганда с TSHR передача сигнала может проходить при стимуляции как G_s -, так и G_q -белка: при низких концентрациях ТТГ активируется цАМФ-путь, тогда как при высоких концентрациях гормона трансдукция сигнала идет по инозитол-фосфатному сигнальному пути [35, 36]. Таким образом, подавление секреции ТТГ у гипертиреоидных крыс Brattleboro, приводящее к активации цАМФ-зависимого сигнального каскада [37], способствовало, по всей видимости, стимуляции транспорта натрия в эпителии

почечных канальцев. Известно, что активация цАМФ-зависимого пути усиливает транспорт натрия, стимулируя экспрессию эпителиального натриевого канала, ENaC [38], а также NKCC2-котранспортера в толстом восходящем колоне петли Генле [39]. В то же время у гипертиреоидных крыс WAG выявленное торможение реабсорбции натрия, как предполагалось, было обусловлено увеличением уровня секреции ВП [11] и интеграцией эффектов, опосредованных его рецепторами. ВП оказывает существенное влияние на транспорт натрия в эпителии почечных канальцев [38, 40], направленность которого зависит от концентрации гормона в крови и определяется стимуляцией определенного типа рецептора ВП [13, 38]. Известно, что при увеличении секреции ВП, например, в условиях дегидратации, активируются на апикальной мембране эпителиоцитов собирательных трубок почек V_{1a} -рецепторы, трансдукция сигнала которых по фосфолипазному пути [41] приводит к торможению реабсорбции натрия и усилению скорости его выведения [12]. Принимая во внимание, что обнаруженный осмотический диурез у гипертиреоидных крыс WAG, очевидно, был обусловлен стимуляцией V_{1a} R, ускоряющих выведение натрия [12], была предпринята серия экспериментов с селективной блокадой V_{1a} R на фоне моделирования гипертиреоза. Блокада V_{1a} R у крыс WAG при повышенном уровне Т4, в отличие от крыс Brattleboro, привела к устранению ингибирующего эффекта гипертиреоза на реабсорбцию натрия, а также к снижению скорости мочеотделения. Вместе с тем торможение реабсорбции натрия при устранении действия V_{1a} R было обнаружено у крыс WAG как при гиперфункции щитовидной железы, так и при нормальном уровне секреции Т4, что указывает на натрийуретический эффект стимуляции V_{1a} R вне зависимости от эффективности работы щитовидной железы. В то же время независимо от уровня ВП в крови устранение действия V_{1a} R при гипертиреозе не приводило к изменениям параметров факультативной реабсорбции воды, что подтверждает преимущественную роль V_{1a} R в регуляции натрийуретической функции почки [12, 13].

Таким образом, при моделировании гипертиреоза установлено ВП-независимое подавление реабсорбции воды, тогда как наличие эндогенного ВП в крови устраняет ингибирующий эффект Т4 на реабсорбцию осмотически свободной воды. Вместе с тем направленность изменений параметров натрийуретической функции почек в условиях гипертиреоза зависит от уровня ВП в крови, что указывает на его существенную роль в подавлении реабсорбции натрия при гиперфункции щитовидной железы. Предполагается, что торможение реабсорбции натрия, несмотря на прямой стимулирующий эффект Т4 на транспорт натрия, определяется уровнем ВП в крови и преобладанием эффектов V_{1a} -рецепторов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 20-04-00298 А), а также за счет средств бюджетного финансирования по государственному заданию № FWNR-2022-0007.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы (Л.Н.И.), планирование эксперимента (Л.Н.И., П.Д.П.), сбор данных (П.Д.П.), обработка данных (П.Д.П.), написание манускрипта (Л.Н.И., П.Д.П.), редактирование манускрипта (Л.Н.И.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Schrier RW* (2008) Vasopressin and aquaporin 2 in clinical disorders of water homeostasis. *Semin Nephrol* 28: 289–296.
<https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2008.03.009>
2. *Agre P, King L., Yasui M, Guggino WmB, Ottersen OP, Fujiyoshi Y, Engel A, Nielsen S* (2002) Aquaporin water channels – from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol* 542: 3–16.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.020818>
3. *Pearce D, Soundararajan R, Trimpert C, Kashlan OB, Deen PMT, Kohan DE* (2015) Collecting duct principal cell transport processes and their regulation. *Clin J Am Soc Nephrol* 10: 135–146.
<https://doi.org/10.2215/CJN.05760513>
4. *Syme HM* (2007) Cardiovascular and renal manifestations of hyperthyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 4: 723–743.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2007.05.011>
5. *Vargas F, Moreno JM, Rodriguez-Gomez I, Wangensteen R, Osuna A, Alvarez-Guerra M, García-Estañ J* (2006) Vascular and renal function in experimental thyroid disorders. *Eur J Endocrinol* 2: 197–212.
<https://doi.org/10.1530/eje.1.02093>
6. *Iglesias P, Bajo MA, Selgas R, Díez JJ* (2009) Thyroid dysfunction and kidney disease. *Eur J Endocrinol* 160: 503–515.
<https://doi.org/10.1007/s11154-016-9395-7>
7. *Iglesias P, Bajo MA, Selgas R, Díez JJ* (2017) Thyroid dysfunction and kidney disease: An update. *Rev Endocr Metab Disord* 18(1): 131–144.
<https://doi.org/10.1007/s11154-016-9395-7>
8. *den Hollander JG, Wulkan RW, Mantel MJ, Berghout A* (2005) Correlation between severity of thyroid dysfunction and renal function. *Clin Endocrinol* 62: 423–427.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02236.x>
9. *Basu G, Mohapatra A* (2012) Interactions between thyroid disorders and kidney disease. *Indian J Endocrinol Metab* 16(2): 204–213.
<https://doi.org/10.4103/2230-8210.93737>
10. *Marcisz C, Jonderko G, Kucharz EJ* (2001) Changes of plasma arginine–vasopressin level in patients with hyperthyroidism during treatment. *Med Sci Monit* 7: 409–414.
11. *Mogulkoc R, Baltaci AK* (2010) Effect of melatonin supplementation on plasma vasopressin response to different conditions in rats with hyperthyroidism induced by L-thyroxine. *Regul Pept* 61(1–3): 38–42.
<https://doi.org/10.1016/j.regpep.2009.12.018>
12. *Perucca J, Bichet DG, Bardoux P, Bouby N, Bankir L* (2008) Sodium excretion in response to vasopressin and selective vasopressin receptor antagonists. *J Am Soc Nephrol* 19: 1721–1731.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2008010021>
13. *Golosova DV, Karavashkina TA, Kutina AV, Marina AS, Natochin YV* (2016) Effects of Selective Agonists of V_{1a}, V₂, and V_{1b} Receptors on Sodium Transport in Rat Kidney. *Bull Exp Biol Med* 160(6): 751–754.
<https://doi.org/10.1007/s10517-016-3301-x>
14. *van Balkom BW, Savelkoul PJ, Markovich D, Hofman E, Nielsen S, van der Sluijs P, Deen PM* (2002) The role of putative phosphorylation sites in the targeting and shuttling of the aquaporin-2 water channel. *J Biol Chem* 277: 41473–41479.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M207525200>
15. *Wang W, Li C, Summer SN, Falk S, Schrier RW* (2007) Polyuria of thyrotoxicosis: Downregulation of aquaporin water channels and increased solute excretion. *Kidney Int* 72: 1088–1094.
<https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002475>
16. *Valtin H, Schroeder HA* (1997) Familial hypothalamic diabetes insipidus in rats (Brattleboro rat). 1964 [classical article]. *J Am Soc Nephrol* 8: 1333–1341.
<https://doi.org/10.1681/ASN.V881333>
17. *Jeddi S, Gholami H, Gheibi S, Kashfi K, Ghasemi A* (2019) Altered gene expression of hydrogen sulfide-producing enzymes in the liver and muscles tissues of hyperthyroid rats. *J Cell Physiol* 234(10): 17937–17945.
<https://doi.org/10.1002/jcp.28426>
18. *Picker O, Schwarte LA, Roth HJ, Greve J, Scheeren TW* (2004) Comparison of the role of endothelin, vasopressin and angiotensin in arterial pressure regulation during sevoflurane anaesthesia in dogs. *Br J Anaesth* 92(1): 102–108.
<https://doi.org/10.1093/bja/ach025>
19. *Khegay II* (2003) Phenotypic expression of the mutant gene diabetes insipidus in rats and criteria of genotyping by phenotype. *Genetika* 39(1): 70–74.
20. *Brent GA* (2008) Clinical practice. Graves' disease. *N Engl J Med* 358: 2594–2605.
<https://doi.org/10.1056/NEJMcp0801880>

21. Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ (2010) Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev* 31: 139–170.
<https://doi.org/10.1210/er.2009-0007>
22. Motomura K, Brent GA (1998) Mechanisms of thyroid hormone action. Implications for the clinical manifestation of thyrotoxicosis. *Endocrinol Metab Clin N Am* 27: 1–23.
[https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(05\)70294-2](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(05)70294-2)
23. Bullier-Picard F, Wolf BA, Hugues JN, Durand D, Voirol MJ, Charrier J, Czernichow P, Postel-Vinay MC (1985) The Brattleboro rat: normal growth hormone secretion, decreased hepatic growth hormone receptors and low plasma somatomedin activity. *Mol Cell Endocrinol* 45(1): 49–56.
[https://doi.org/10.1016/0303-7207\(86\)90081-X](https://doi.org/10.1016/0303-7207(86)90081-X)
24. Mariani LH, Berns JS (2012) The renal manifestations of thyroid disease. *J Am Soc Nephrol* 23(1): 22–26.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2010070766>
25. Harvey JN, Nagi DK, Baylis PH, Wilkinson R, Belchetz PE (1991) Disturbance of osmoregulated thirst and vasopressin secretion in thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 35(1): 29–33.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1991.tb03492.x>
26. Egan G, Silk T, Zamarripa F, Williams J, Federico P, Cunnington R, Carabott L, Blair-West J, Shade R, McKinley M, Farrell M, Lancaster J, Jackson G, Fox P, Denton D (2003) Neural correlates of the emergence of consciousness of thirst. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 15241–15246.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2136650100>
27. Pravikova PD, Ivanova LN (2021) Effect of NO Synthesis Blockade on Renal Osmoregulatory Function in Methimazole-Induced Hypothyroid Rats with Different Vasopressin Blood Level. *J Evol Biochem Phys* 57: 1461–1470.
<https://doi.org/10.1134/S0022093021060223>
28. Palmer LG, Schnermann J (2015) Integrated control of Na transport along the nephron. *Clin J Am Soc Nephrol* 10(4): 676–687.
<https://doi.org/10.2215/CJN.12391213>
29. Alcalde AI, Sarasa M, Raldúa D, Aramayona J, Morales R, Biber J, Murer H, Levi M, Sorribas V (1999) Role of thyroid hormone in regulation of renal phosphate transport in young and aged rats. *Endocrinology* 140(4): 1544–1551.
<https://doi.org/10.1210/endo.140.4.6658>
30. Baum M, Dwarakanath V, Alpern RJ, Moe OW (1998) Effects of thyroid hormone on the neonatal renal cortical Na⁺/H⁺ antiporter. *Kidney Int* 5: 1254–1258.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00879.x>
31. Wijkhuisen A, Djouadi F, Vilar J, Merlet-Benichou C, Bastin J (1995) Thyroid hormones regulate development of energy metabolism enzymes in rat proximal convoluted tubule. *Am J Physiol* 4(2): F634–F642.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.1995.268.4.F634>
32. Allen MD, Neumann S, Gershengorn MC (2011) Occupancy of both sites on the thyrotropin (TSH) receptor dimer is necessary for phosphoinositide signaling. *FASEB J* 25: 3687–3694.
<https://doi.org/10.1096/fj.11-188961>
33. Beau I, Misrahi M, Gross B, Vannier B, Loosfelt H, Hai MT, Pichon C, Milgrom E (1997) Basolateral localization and transcytosis of gonadotropin and thyrotropin receptors expressed in Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem* 272: 5241–5248.
<https://doi.org/10.1074/jbc.272.8.5241>
34. Sellitti DF, Akamizu T, Doi SQ, Kim GH, Kariyil JT, Kopchik JJ, Koshiyama H (2000) Renal expression of two ‘thyroid-specific’ genes: thyrotropin receptor and thyroglobulin. *Exp Nephrol* 8: 235–243.
<https://doi.org/10.1159/000020674>
35. Neumann S, Malik SS, Marcus-Samuels B, Eliseeva E, Jang D, Klubo-Gwiedzinska J, Krieger CC, Gershengorn MC (2020) Thyrotropin Causes Dose-dependent Biphasic Regulation of cAMP Production Mediated by Gs and Gi/o Proteins. *Mol Pharmacol* 97(1): 2–8.
<https://doi.org/10.1124/mol.119.117382>
36. Boutin A, Krieger CC, Marcus-Samuels B, Klubo-Gwiedzinska J, Neumann S, Gershengorn MC (2020) TSH Receptor Homodimerization in Regulation of cAMP Production in Human Thyrocytes *in vitro*. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11: 276.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00276>
37. Pracyk JB, Slotkin TA (1991) Thyroid hormone differentially regulates development of beta-adrenergic receptors, adenylate cyclase and ornithine decarboxylase in rat heart and kidney. *J Dev Physiol* 16(4): 251–261.
38. Bankir L, Bichet DG, Bouby N (2010) Vasopressin V2 receptors, ENaC, and sodium reabsorption: a risk factor for hypertension? *Am J Physiol Renal Physiol* 299: F917–F928.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00413.2010>

39. *Ares GR, Caceres PS, Ortiz PA* (2011) Molecular regulation of NKCC2 in the thick ascending limb. *Am J Physiol Renal Physiol* 301: 1143–1159. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00396.2011>
40. *Cheng CY, Chu JY, Chow BK* (2009) Vasopressin-independent mechanisms in controlling water homeostasis. *J Mol Endocrinol* 43: 81–92. <https://doi.org/10.1677/JME-08-0123>
41. *Koshimizu T, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, Tanoue A* (2012) Vasopressin V_{1a} and V_{1b} receptors: from molecules to physiological systems. *Physiol Rev* 92: 1813–1864. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2011>

Effect of V_{1a}-Receptor Blockade on Renal Osmoregulatory Function in L-Thyroxine-Induced Hyperthyroid Rats with Different Blood Vasopressin Levels

P. D. Pravikova^a, * and L. N. Ivanova^a

^a *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

**e-mail: PollyPravi@yandex.ru*

The effect of V_{1a} receptor (V_{1a}R) blockade on the renal osmoregulatory function was studied in WAG and Brattleboro rats under L-thyroxine-induced hyperthyroidism. It was established that in both strains of rats hyperthyroidism promoted the development of a diuretic response due to an increase in glomerular filtration rate. In vasopressin-deficient Brattleboro rats, in contrast to the WAG strain, an increase in urinary flow rate is also due to a decrease in solute-free water reabsorption relative to control. The direction of changes in the renal natriuretic function with consumption of L-thyroxine is determined by blood AVP level: in hyperthyroid WAG rats a natriuretic reaction was established, while in vasopressin-deficient Brattleboro rats, antinatriuresis was detected due to direct stimulating effect of thyroid hormones on sodium reabsorption. Inhibition of sodium transport in WAG rats under hyperthyroidism was eliminated by blockade of V_{1a}R. It is assumed that stimulation of V_{1a}R plays a key role in the inhibition of sodium reabsorption in L-thyroxine-induced hyperthyroidism, while the direct AVP-independent effect of the thyroid system is aimed at activation of sodium transport and suppression of water reabsorption.

Keywords: thyroxine, hyperthyroidism, vasopressin, V_{1a}-receptors, WAG, Brattleboro, renal osmoregulatory function