

УДК 616.441-008.64-036.12-06:57.052.6]-092.9  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-4-23-32>

Для цитирования: Гайнуллина Д.К., Селиванова Е.К., Шарова А.П., Тарасова О.С. Повышение констрикторного влияния Rho-киназы в артериях скелетных мышц и сердца при хроническом гипотиреозе у крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 23–32.

## Повышение констрикторного влияния Rho-киназы в артериях скелетных мышц и сердца при хроническом гипотиреозе у крыс

Гайнуллина Д.К.<sup>1,2</sup>, Селиванова Е.К.<sup>1,2</sup>, Шарова А.П.<sup>2</sup>, Тарасова О.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет (МГУ) имени М.В. Ломоносова  
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, 1

<sup>2</sup> Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем  
Российской академии наук (ГНЦ РФ – ИМБП РАН)  
Россия, 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, 76А

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Известно, что снижение секреторной активности щитовидной железы может сопровождаться повышением общего периферического сопротивления сосудов. Данная работа была направлена на проверку гипотезы, что хронический гипотиреоз приводит к увеличению вазоконстрикторного влияния Rho-киназы в резистивных артериях скелетных мышц и сердца взрослых крыс.

**Материалы и методы.** Самцы крыс линии Вистар получали тиреостатик пропилтиоурацил (0,025%) в питьевой воде, начиная с 10-недельного возраста ( $n = 10$ ). Крысы контрольной группы пили воду без тиреостатика ( $n = 10$ ). Через 14 нед проводили регистрацию в изометрическом режиме сократительных реакций артерий икроножной мышцы (на агонист  $\alpha_1$ -адренорепторов метоксамин) и перегородочной артерии сердца (на агонист рецепторов тромбоксана A2 U46619). Влияние Rho-киназы на сокращение артерий оценивали с использованием ее ингибитора Y27632 (3 мкМ).

**Результаты.** Потребление пропилтиоурацила сопровождалось выраженным снижением содержания тиреоидных гормонов и повышением содержания общего холестерина в сыворотке крови животных, а также уменьшением массы тела и максимальной силы сокращения исследуемых артерий. Однако базальный тонус и реактивность в ответ на умеренные концентрации агонистов в артериях крыс с гипотиреозом были увеличенными по сравнению с контрольными животными. Действие Y27632 значительно ослабляло сократительные ответы артерий икроножной мышцы и сердца и нивелировало различия между двумя группами крыс.

**Заключение.** Хронический гипотиреоз приводит к повышению активности сигнального пути Rho-киназы в артериях скелетной мышцы и сердца, что проявляется в увеличении спонтанного тонуса этих артерий и их реактивности на агонисты.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, пропилтиоурацил, мелкие артерии,  $\alpha_1$ -адренорепторы, рецепторы тромбоксана A2.

✉ Тарасова Ольга Сергеевна, e-mail: ost.msu@gmail.com.

## ВВЕДЕНИЕ

Гормоны щитовидной железы регулируют многие процессы в организме человека и животных, в том числе развитие кровеносной системы и ее работу во взрослом возрасте [1]. В связи с этим нарушения тиреоидной оси, которые относятся к числу наиболее распространенных эндокринных расстройств [2], сопровождаются патологическими изменениями кровообращения. Общее периферическое сопротивление сосудов при гипотиреозе растет [3, 4], что указывает на повышение тонуса резистивных сосудов (мелких артерий и артериол), которые являются ключевыми регуляторами кровоснабжения жизненно важных органов.

В подавляющем большинстве ранее опубликованных работ оценивалось влияние хронического гипотиреоза лишь на артерии эластического типа. Подавление тиреоидной функции сопровождалось уменьшением сократительных ответов аорты при адренергической стимуляции [5–9]. На резистивном участке сосудистого русла эффекты тиреоидного дефицита описаны только для висцеральных органов. Было показано, что гипотиреоз уменьшает адренергические вазоконстрикторные ответы в почке [7], хотя не изменяет их в тонком кишечнике [10].

Следует отметить, что анализ сосудистых эффектов при тиреоидном дефиците осложнен из-за широкого спектра разных экспериментальных моделей гипотиреоза, применяемых в течение различных временных интервалов. На основании данных о связи хронического гипотиреоза с повышением общего периферического сопротивления сосудов [3, 4] можно предположить, что увеличение вазоконстрикторных реакций проявляется при продолжительном подавлении тиреоидной функции, тогда как в цитированных выше работах [7, 10] длительность тиреоидного дефицита была весьма ограничена (не превышала 6 нед). Кроме того, артерии некоторых органов могут быть более предрасположенными к изменению реактивности при хроническом гипотиреозе. Например, гипотиреоз приводит к уменьшению кровоснабжения скелетных мышц [11] и сердца [12, 13], что может быть связано с увеличением тонуса резистивных артерий этих регионов. Одним из механизмов повышения сосудистого сопротивления при гипотиреозе являются дисфункция эндотелия и уменьшение биодоступности оксида азота [14, 15].

Еще одним механизмом может быть увеличение активности киназы, активируемой белком RhoA – Rho-киназы [16]. По нашим данным,

гипотиреоз в антенатальном или раннем постнатальном периоде приводит к активации этого сигнального пути в резистивных артериях и, соответственно, увеличению вазоконстрикторных реакций [17, 18]. Однако роль этого механизма в регуляции сокращения сосудов при гипотиреозе, который развивается во взрослом организме, остается неясной.

Таким образом, данная работа была направлена на проверку гипотезы, что хронический гипотиреоз, индуцированный у крыс во взрослом возрасте, приводит к увеличению вазоконстрикторного влияния Rho-киназы в резистивных артериях скелетных мышц и сердца.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Моделирование хронического гипотиреоза у крыс.* В экспериментах использовали самцов крыс линии Вистар ( $n = 20$ ), полученных из питомника ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Крыс содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде. В возрасте 10 нед животных случайным образом распределяли на две равные группы (контрольную и гипотиреоидную). Крысы гипотиреоидной группы получали в качестве питья раствор 6-пропил-2-тиоурацила (0,025%) в течение 14 нед, крысы контрольной группы пили обычную воду. Через 2, 5 и 10 нед от начала потребления тиреостатика брали образцы крови (объем 250–300 мкл) из надреза кончика хвоста для анализа содержания гормонов. Через 14 нед потребления тиреостатика (в возрасте 24 нед) крыс анестезировали  $\text{CO}_2$  и декапитировали гильотиной. Сначала отбирали образцы крови, затем изолировали суральные артерии, приносящие кровь к латеральной и медиальной головкам икроножной мышцы, и артерию межжелудочковой перегородки сердца. Кроме того, взвешивали икроножную мышцу (целиком) и левый желудочек сердца (с перегородкой) для оценки влияния гипотиреоза на массу этих органов.

*Оценка показателей крови.* Для получения сыворотки образцы крови выдерживали 20 мин при комнатной температуре и 40 мин в холодильнике (4 °C), затем центрифугировали при 4 300 g в течение 15 мин. Сыворотку отбирали и хранили при –20 °C до последующего анализа. Для определения содержания общего тироксина ( $T_4$ ) и свободного трийодтиронина ( $T_3$ ) использовали ИФА-наборы ЗАО «НВО Иммунотех» (Россия). Содержание общего холестерина в сыворотке определяли в автоматическом анализаторе (A-25 Biosystems, Испания).

*Эксперименты на изолированных артериях.* Из артерий вырезали кольцевые сегменты длиной 2 мм и закрепляли их в многоканальном миографе (410А, 420М или 620М, DMT, Дания) для регистрации сократительной активности в изометрическом режиме. Показания тензометрических датчиков оцифровывали с частотой 10 Гц с использованием аналого-цифрового преобразователя (E14 140, L CARD, Россия) и регистрировали при помощи программы PowerGraph 3.3 (ДИСофт, Россия). В экспериментах использовали раствор следующего состава: NaCl – 120 мМ, NaHCO<sub>3</sub> – 26 мМ, KCl – 4,5 мМ, CaCl<sub>2</sub> – 1,6 мМ, MgSO<sub>4</sub> – 1 мМ, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2 мМ, D-глюкоза – 5,5 мМ, ЭДТА – 0,025 мМ, HEPES – 5 мМ. Раствор непрерывно аэрировали карбогеном (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>) для оксигенации и поддержания рН 7,4.

После стабилизации температуры на уровне 37 °С определяли растяжение препарата, оптимальное для проявления сократительной активности, в ходе этой процедуры также вычисляли внутренний диаметр сосуда, соответствующий давлению 100 мм рт. ст. ( $d_{100}$ ) [19]. Затем препараты артерий икроножной мышцы активировали последовательным добавлением норадреналина (10 мкМ) и метоксамина (агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов, 10 мкМ). Препараты коронарных артерий активировали путем двукратной аппликации агониста рецепторов тромбоксана A2 U46619 (1 мкМ), поскольку артерии сердца малочувствительны к агонистам  $\alpha_1$ -адренорецепторов.

Длительность каждого активирующего сокращения составляла 5 мин, а интервал между ними – 15 мин. Функциональное состояние эндотелия оценивали по реакции расслабления на ацетилхолин (10 мкМ) на фоне предсокращения, вызванного норадреналином (1 мкМ) или U46619 (0,3 мкМ). Если препараты не реагировали на ацетилхолин, их исключали из эксперимента.

Протокол эксперимента предполагал исследование реакций двух соседних сегментов одной и той же артерии. В начале эксперимента для обоих сегментов регистрировали зависимость «концентрация – эффект» на агонист (метоксамин (0,01–100 мкМ) или U46619 (1–3 мкМ)); как правило, реакции двух сегментов не различались. После отмычки от агониста к одному сегменту артерии добавляли ингибитор Rho-киназы Y27632 (3 мкМ), а к другому – такой же объем растворителя (H<sub>2</sub>O, 15 мкл). Через 20 мин проводили вторую зависимость «концентрация – эффект» на агонист, аналогичную первой. Эффекты Y27632 оценивали путем сравнения реакций двух сегментов во второй зависимости «концентрация – эффект».

В работе использовали норадреналин, метоксамин, ацетилхолин, DEA/NO и 6-пропил-2-тиоурацил (Sigma-Aldrich), Y27632 (Calbiochem) и U46619 (Cauman).

При обработке результатов из значения силы при каждой концентрации вазоконстриктора вычитали значение «пассивной» силы, соответствующее полному расслаблению гладкой мышцы препарата (в присутствии 1 мкМ донора оксида азота DEA/NO). Полученные значения активной силы выражали в % от максимальной силы сокращения препарата, определенной по первой зависимости «концентрация – эффект». Далее зависимости «концентрация – эффект» аппроксимировали уравнением сигмоидальной кривой с переменным наклоном в программе GraphPad Prism 6.0 (La Jolla, CA) для расчета значения  $pD_2$  – показателя чувствительности к агонисту ( $pD_2 = -\lg EC_{50}$ , где EC<sub>50</sub> – концентрация агониста, соответствующая 50% от максимальной силы).

*Статистическая обработка результатов.* Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 6.0 с использованием двухфакторного дисперсионного анализа для повторных измерений или непарного *t*-критерия Стьюдента. Нормальное распределение значений было подтверждено с использованием критерия Д'Агостино – Пирсона. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Все данные представлены как среднее и ошибка среднего  $M \pm m$ ,  $n$  – количество крыс в группе.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

*Характеристика модели хронического гипотиреоза.* Животные, потреблявшие раствор пропилтиоурацила, характеризовались отсутствием прироста массы тела, в отличие от контрольных крыс (рис. 1, а), в связи с чем к концу 14-недельного периода потребления тиреостатика различие в массе тела между двумя группами крыс составило примерно 1,5 раза. Масса икроножной мышцы и левого желудочка сердца также уменьшалась в результате потребления тиреостатика, однако нормированные на массу тела значения не различались между группами (табл. 1).

Содержание общего T<sub>4</sub> отражает секреторную активность щитовидной железы, а содержание свободного T<sub>3</sub> – концентрацию активного гормона в крови. Потребление пропилтиоурацила сопровождалось выраженным и стабильным снижением общего T<sub>4</sub> в крови крыс (рис. 1, б), содержание свободного T<sub>3</sub> также было сниженным на всех этапах эксперимента (рис. 1, с).

Кроме того, содержание общего холестерина в сыворотке крови после 14 нед потребления тиреостатика было повышенным у крыс с гипотиреозом по сравнению с контролем:  $(3,09 \pm 0,12)$  мМ и  $(2,23 \pm 0,06)$  мМ соответственно ( $p < 0,001$ ).

*Эффекты хронического гипотиреоза на сократительные ответы артерий икроножной мышцы.* Внутренний диаметр и максимальная сила сокращения артерий икроножной мышцы были уменьшены у крыс с гипотиреозом по сравнению с контрольными (табл. 2). Вместе с тем артерии крыс

с гипотиреозом демонстрировали сравнительно высокий уровень спонтанного тонуса (более 15% от максимальной силы сокращения), значительно превышавший уровень тонуса у контрольных животных (всего 5% от максимальной силы сокращения) (рис. 2, а). Сократительные ответы артерий икроножной мышцы на метоксамин в области умеренных концентраций агониста (рис. 2, а) и чувствительность артерий к метоксамину (см. табл. 2) также были увеличены у крыс с гипотиреозом по сравнению с контрольными животными.

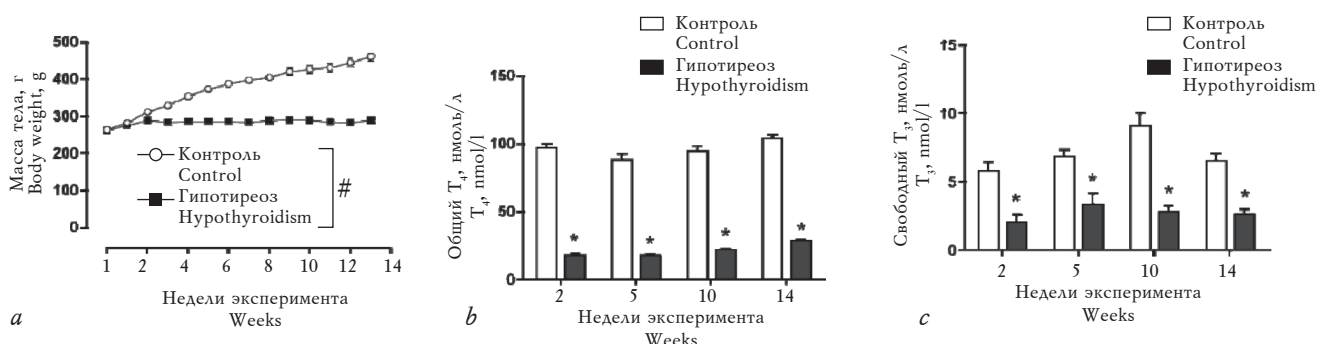


Рис. 1. Влияние 6-пропил-2-тиоурацила (0,025% в питьевой воде) на массу тела и содержание тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс. Динамика массы тела (а), содержания общего тироксина (Т<sub>4</sub>, б) и содержания свободного трийодтиронина (Т<sub>3</sub>, с) у потреблявших тиреостатик ( $n = 10$ ) и контрольных ( $n = 10$ ) крыс в течение эксперимента. Точка «0» (а) соответствует началу потребления тиреостатика. \* $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой (t-критерий Стьюдента), # $p < 0,05$  (двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений)

Fig. 1. The influence of 6-propyl-2-thiouracil consumption (0,025% in drinking water) on the body weight and serum thyroid hormones level: a – body weight gain, b – serum total thyroxine level, c – serum free triiodothyronine level of the rats received antithyroid drug ( $n = 10$ ) and control rats ( $n = 10$ ) during the experiment. “0” point (a) represents the start of experiment. \* $p < 0,05$  in comparison with control group (Student’s unpaired t-test), # $p < 0,05$  (repeated measures ANOVA)

Т а б л и ц а 1  
T a b l e 1

Масса икроножной мышцы (ИМ) и левого желудочка (ЛЖ) сердца у крыс, $M \pm m$ Gastrocnemius muscle (GM) and left ventricle (LV) of the heart in rats, $M \pm m$		
Показатель Characteristic	Контроль, $n = 10$ Control, $n = 10$	Гипотиреоз, $n = 10$ Hypothyroidism, $n = 10$
Масса ИМ, г GM weight, g	$2,56 \pm 0,09$	$1,53 \pm 0,04^*$
Масса ЛЖ, г LV weight, g	$0,89 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,02^*$
Масса тела, г Body weight, g	$479,0 \pm 13,0$	$296,0 \pm 3,0$
Масса ИМ/100 г массы тела GM weight/100 g body weight	$0,54 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,01$
Масса ЛЖ/100 г массы тела LV weight/100 g body weight	$0,19 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$

П р и м е ч а н и е. ЛЖ включает в себя межжелудочковую перегородку.  
\*  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль» (t-критерий Стьюдента).  
N o t e. LV included the interventricular septum.  
\*  $p < 0,05$  as compared to Control (unpaired Student’s t-test).

Характеристики артерий икроножной мышцы и сердца у крыс двух экспериментальных групп,  $M \pm m$   
 Characteristics of gastrocnemius muscle and coronary arteries in rats from two experimental groups,  $M \pm m$

Показатель Characteristic	Артерии икроножной мышцы Gastrocnemius muscle arteries		Коронарные артерии Coronary arteries	
	Контроль, $n = 8$ Control, $n = 8$	Гипотиреоз, $n = 7$ Hypothyroidism, $n = 7$	Контроль, $n = 7$ Control, $n = 7$	Гипотиреоз, $n = 8$ Hypothyroidism, $n = 8$
Диаметр ( $d_{100}$ ), мкм Diameter ( $d_{100}$ ), $\mu\text{m}$	358 $\pm$ 11	312 $\pm$ 12*	359 $\pm$ 18	314 $\pm$ 10*
Максимальная сила, мН Maximum force, mN	30,8 $\pm$ 2,6	24,8 $\pm$ 0,4*	11,2 $\pm$ 0,6	9,0 $\pm$ 0,8*
$pD_2$ в присутствии растворителя $pD_2$ in the absence of Y27632	6,05 $\pm$ 0,06	6,34 $\pm$ 0,07 *	5,30 $\pm$ 0,13	5,51 $\pm$ 0,16
$pD_2$ в присутствии Y27632 $pD_2$ in the presence of Y27632	5,47 $\pm$ 0,05 #	5,51 $\pm$ 0,05 #	4,86 $\pm$ 0,11 #	4,97 $\pm$ 0,10 #

П р и м е ч а н и е.  $d_{100}$  – внутренний диаметр, соответствующий давлению 100 мм рт. ст.;  $pD_2$  – отрицательный десятичный логарифм концентрации агониста (метоксамина для артерий икроножной мышцы или U46619 для артерий сердца), соответствующий 50% от максимальной силы.

\*  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль»; #  $p < 0,05$  по сравнению со значением в присутствии растворителя (непарный t-критерий Стьюдента).

Note.  $d_{100}$  – inner diameter corresponding to the transmural pressure of 100 mm Hg;  $pD_2$  – negative logarithm of the agonist concentration (methoxamine for gastrocnemius arteries or U46619 for coronary arteries), which induced 50% of the maximum force. \*  $p < 0.05$  as compared to Control (unpaired Student's t-test); #  $p < 0.05$  compared to  $pD_2$  in the absence of Y27632 (paired Student's t-test).

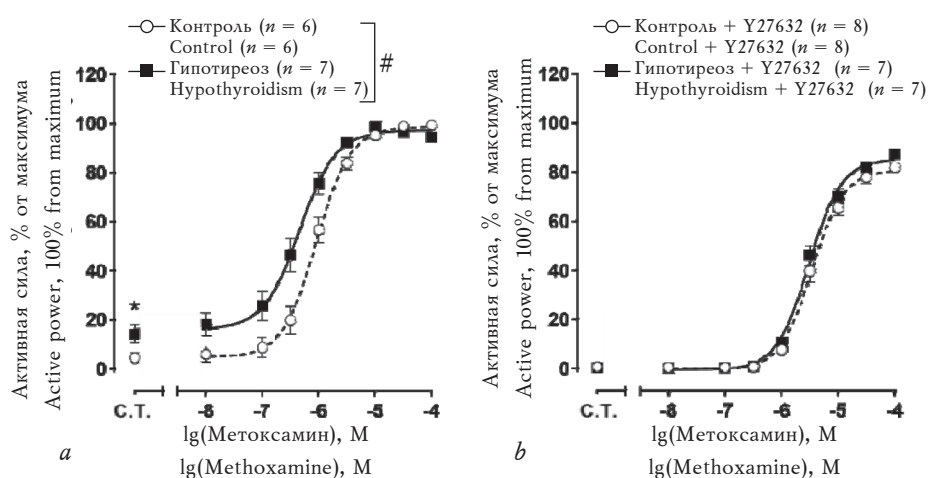


Рис. 2. Эффекты хронического гипотиреоза на сократительные ответы артерий икроножной мышцы. Уровень спонтанного тонуса (С.Т.) и сократительные ответы артерий на метоксамин в присутствии растворителя (а) или ингибитора Rho-киназы Y27632 (б). \*  $p < 0,05$  (t-критерий Стьюдента), #  $p < 0,05$  (двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений) по сравнению с соответствующим контролем

Fig. 2. Effects of chronic hypothyroidism on the contractile responses of gastrocnemius muscle arteries. Basal tone level (Tone) and methoxamine-induced contractile responses in the presence of vehicle (a) or Rho-kinase inhibitor Y27632 (b). \*  $p < 0.05$  (Student's unpaired t-test), #  $p < 0.05$  (repeated measures ANOVA)

Ингибирование Rho-киназы с помощью Y27632 устраняло спонтанный тонус артерий, а также приводило к уменьшению сократительных ответов на метоксамин в обеих группах животных, что видно по снижению чувствительности артерий к агонисту (см. табл. 2). Важно, что в присутствии

Y27632 сократительные ответы артерий двух групп крыс не различались (рис. 2, б). Этот результат позволяет связать обусловленное гипотиреозом повышение реактивности артерий на метоксамин с увеличением вклада Rho-киназы в регуляцию сокращения.

Эффекты хронического гипотиреоза на сократительные ответы артерий сердца. Коронарные артерии крыс с гипотиреозом также демонстрировали уменьшение внутреннего диаметра и максимальной силы сокращения по сравнению с артериями контрольных крыс (см. табл. 2). Артерии гипотиреодных крыс развивали спонтанный тонус (около 20% от максимальной силы сокращения), в артериях контрольных крыс уровень спонтанного тонуса был намного ниже (рис. 3, а). Сократительные ответы артерий сердца на U46619 были увеличены у животных с гипотиреозом по сравнению с контролем, особенно при действии низких концентраций агониста (рис. 3, а), хотя чувствительность арте-

рий к U46619 у двух групп крыс не различалась (см. табл. 2).

Ингибирование Rho-киназы подавляло спонтанный тонус в артериях крыс с гипотиреозом (рис. 3, б), а также приводило к уменьшению сократительных ответов на U46619 (рис. 3, б) и чувствительности артерий к U46619 (см. табл. 2) у обеих групп крыс. В присутствии Y27632 сократительные ответы на U46619 статистически значимо не различались между группами «Контроль» и «Гипотиреоз» (рис. 3, б). Таким образом, в артериях сердца, как и скелетных мышц, острый гипотиреоз приводил к усилению сократительных реакций, что было связано с увеличением вклада Rho-киназы.

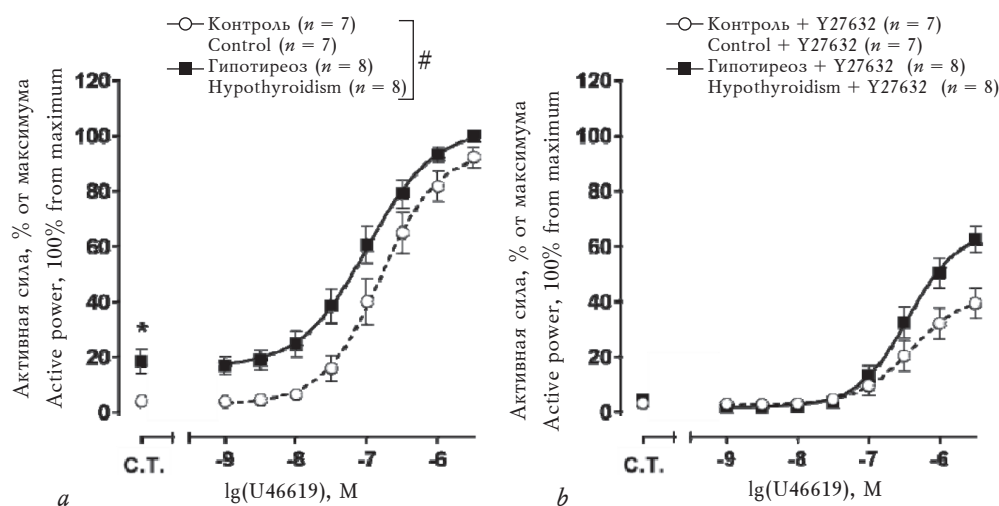


Рис. 3. Эффекты хронического гипотиреоза на сократительные ответы артерий сердца. Уровень спонтанного тонуса (С.Т.) и сократительные ответы артерий на U46619 в присутствии растворителя (а) или ингибитора Rho-киназы Y27632 (б). \*  $p < 0,05$  (t-критерий Стьюдента), #  $p < 0,05$  (двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений)

Fig. 3. Effects of chronic hypothyroidism on the contractile responses of coronary arteries. Basal tone level (Tone) and U46619-induced contractile responses in the presence of vehicle (a) or Rho-kinase inhibitor Y27632 (b). \*  $p < 0.05$  (Student's unpaired t-test), #  $p < 0.05$  (repeated measures ANOVA)

## ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе впервые выявлено увеличение вклада Rho-киназы в регуляцию сокращения артерий разных органов при гипотиреозе у взрослых крыс, индуцированном хроническим потреблением пропилтиоурацила. Это вещество ингибирует активность тиреопероксидазы и дейодиназы I-го типа, что уменьшает как общую продукцию тиреоидных гормонов, так и превращение  $T_4$  в более активный  $T_3$  [20]. Следует отметить, что концентрация тиреостатика в питьевой воде в нашей работе не превышала использовавшуюся в раннее

проведенных исследованиях [6, 11, 14]. Потребление пропилтиоурацила взрослыми крысами уже через 2 нед приводило к существенному падению содержания  $T_4$  и  $T_3$  в крови, причем уровень гормонов оставался пониженным на протяжении всего периода потребления тиреостатика, что свидетельствует о стойком подавлении тиреоидного статуса в нашей экспериментальной модели. Помимо этого, при экспериментальном гипотиреозе у крыс отсутствовал прирост массы тела и повышалось содержание холестерина в крови, что характерно для гипотиреодных состояний [21]. Таким образом, после 14 нед потребления

пропилтиоурацила крысы демонстрировали ярко выраженные признаки гипотиреоза.

Масса скелетной мышцы и сердца у крыс с гипотиреозом уменьшалась, однако это изменение было пропорционально снижению массы тела; сходные эффекты продолжительного гипотиреоза на массу органов были описаны ранее [14]. Кроме того, у крыс с гипотиреозом наблюдалось уменьшение внутреннего диаметра и максимальной сократимости артерий скелетной мышцы и сердца. Эти изменения могут быть обусловлены как общим снижением массы тела в результате потребления тиреостатика, так и специфическим влиянием гипотиреоза на артерии. Уменьшение внутреннего диаметра может отражать структурное ремоделирование артерий в результате хронического уменьшения скорости кровотока [11–13], а уменьшение максимальной силы артериальных препаратов – уменьшение толщины меди или же снижение содержания сократительных белков в гладкомышечных клетках.

Несмотря на снижение максимальной сократимости мелкие артерии крыс с гипотиреозом демонстрировали повышение сократительных ответов при умеренном уровне активации, который, по нашему мнению, лучше соответствует условиям функционирования артерий *in vivo*, чем максимальный уровень сократительной активности. Примечательно, что для артерий эластического типа при хроническом гипотиреозе характерно снижение как максимальной силы сокращения, так и чувствительности к агонистам [5, 6].

Сопоставление наших результатов с данными литературы позволяет заключить, что эффекты длительного гипотиреоза на артерии эластического типа (аорта) и более мелкие артерии резистивного типа могут качественно различаться или же повышение чувствительности артерий к агонистам наблюдается лишь при длительном гипотиреозе. Второе предположение согласуется с данными об отсутствии подобных изменений и на резистивном участке артериального русла при гипотиреозе длительностью всего 4–6 нед [7, 10]. По нашему опыту, изменение вклада сигнального пути Rho-киназы, например в результате денервации сосудов, происходит более медленно, чем адаптация других механизмов регуляции гладкомышечного сокращения [22, 23].

Следует отметить, что сходные с хроническим гипотиреозом во взрослом возрасте изменения реактивности артерий были обнаружены нами при исследовании сосудистых эффектов антенатального гипотиреоза, который также сопровождается увеличением сократительных от-

ветов артерий икроножной мышцы и сердца во взрослом возрасте, через много недель после нормализации тиреоидного статуса [18, 24]. Таким образом, дефицит тиреоидного влияния как в раннем периоде онтогенеза, так и во взрослом возрасте приводит к усилению роли Rho-киназы в регуляции сокращения.

Повышение активности сигнального пути Rho-киназы при хроническом гипотиреозе может происходить по нескольким механизмам. Например, оно может быть сопряжено с изменением липидного обмена [21] и повышением содержания холестерина в крови, что может приводить к активации Rho-киназы RhoA-независимым способом [25]. Еще одним стимулом к повышению активности Rho-киназы может быть влияние активных форм кислорода, поскольку известно, что гипотиреоз провоцирует развитие окислительного стресса [15, 26]. Наконец, можно предположить, что тиреоидные гормоны негативно регулируют экспрессию или активность белковых участников Rho-киназного каскада в клетках сосудистой стенки и, следовательно, при гипотиреозе происходит растормаживание такого влияния. Несмотря на привлекательность этого объяснения, экспериментальные подтверждения в его пользу пока отсутствуют.

Наконец, следует отметить, что Rho-киназа может служить фактором повышения сосудистой сократимости путем влияния на функционирование как гладкомышечных, так эндотелиальных клеток сосудистой стенки. В гладкомышечных клетках действие Rho-киназы в основном направлено на повышение чувствительности сократительного аппарата к  $Ca^{2+}$ , а в эндотелиальных – на снижение активности и экспрессии NO-синтазы [16]. В связи с этим повышение активности Rho-киназы может служить одним из механизмов снижения продукции NO и его антиконстрикторного влияния, которые характерны для хронического гипотиреоза [14, 15].

Поскольку Rho-киназа вовлечена в регуляцию сосудистых ответов практически на любые вазоконстрикторные стимулы [16], закономерности, показанные нами с использованием метоксаминна и U46619, могут иметь более общее и даже глобальное значение для регуляции тонуса резистивных сосудов при хроническом гипотиреозе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хронический гипотиреоз приводит к повышению влияния сигнального пути Rho-киназы в артериях икроножной мышцы и сердца, что

проявляется в увеличении спонтанного тонуса этих артерий и их реактивности на констрикторные стимулы. Следует отметить, что повышение вазомоторного влияния Rho-киназы является маркером многих патологий сердечно-сосудистой системы [16]. Повышение активности этого сигнального пути может служить одной из причин нарушения кровоснабжения скелетных мышц и сердца при хроническом гипотиреозе [11–13], что неизбежно ведет к снижению работоспособности и качества жизни.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект №14-15-00704.

#### СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 472 от 29.05.2018 г.).

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Danzi S., Klein I. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *Med. Clin. North Am.* 2012; 96: 257–268. DOI:10.1016/j.mcna.2012.01.006.
- Taylor P.N., Albrecht D., Scholz A., Gutierrez-Buey G., Lazarus J.H., Dayan CM, Okosieme O.E. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018; 14: 301–316. DOI:10.1038/nrendo.2018.18.
- Owen P.J.D., Sabit R., Lazarus J.H. Thyroid disease and vascular function. *Thyroid.* 2007; 17 (6): 519–524. DOI: 10.1089/thy.2007.0051.
- Vargas F., Moreno J.M., Rodriguez-Gomez I., Wangenstein R., Osuna A., Alvarez-Guerra M., Garcia-Estac J. Vascular and renal function in experimental thyroid disorders. *Eur. J. Endocrinol.* 2006; 154 (2): 197–212. DOI: 10.1530/eje.1.02093.
- Gunasekera R.D., Kuriyama H. The influence of thyroid states upon responses of the rat aorta to catecholamines. *Br. J. Pharmacol.* 1990; 99 (3): 541–547.
- Bacos G., Martinez F., Grimaldo J.L., Franco M. Adenosine participates in regulation of smooth muscle relaxation in aortas from rats with experimental hypothyroidism. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2002; 80 (6): 507–514. DOI: 10.1139/Y02-064.
- Sabio J.M., Rodriguez-Maresca M., Luna J.D., Garcia del Rno C., Vargas F. Vascular reactivity to vasoconstrictors in aorta and renal vasculature of hyperthyroid and hypothyroid rats. *Pharmacology.* 1994; 49 (4): 257–264.
- Pantos C., Mourouzis C., Katramadou M., Saranteas T., Mourouzis I., Karageorgiou H., Tesseromatis C., Kostopanagiotou G., Asimacopoulos P., Cokkinos D.V. Decreased vascular reactivity to alpha1 adrenergic stimulation in the presence of hypothyroid state: a part of an adaptive response? *Int. Angiol.* 2006; 25 (2): 216–220.
- Rahmani M.A., Cheema I.R., Sen S., Peoples B., Riley S.R. The effect of hyperthyroidism and hypothyroidism on alpha 1- and alpha 2-adrenergic responsiveness in rat aortic smooth muscle. *Artery.* 1987; 14 (6): 362–383.
- Ishac E.J., Pennefather J.N. The influence of the thyroid state upon responses to noradrenaline and phentolamine in perfused mesenteric arterioles from the rat. *J. Pharm. Pharmacol.* 1983; 35 (7): 466–468.
- McAllister R.M., Delp M.D., Thayer K.A., Laughlin M.H. Muscle blood flow during exercise in sedentary and trained hypothyroid rats. *Am. J. Physiol.* 1995; 269 (6 Pt 2): H1949–1954.
- Traub-Weidinger T., Graf S., Beheshti M., Ofluoglu S., Zetting G., Khorsand A., Nekolla S.G., Kletter K., Dudczak R., Pirich C. Coronary vasoreactivity in subjects with thyroid autoimmunity and subclinical hypothyroidism before and after supplementation with thyroxine. *Thyroid.* 2012; 22 (3): 245–251. DOI: 10.1089/thy.2011.0183.
- Sara J.D., Zhang M., Gharib H., Lerman L.O., Lerman A. Hypothyroidism is associated with coronary endothelial dysfunction in women. *J. Am. Heart Assoc.* 2015; 4 (8): e002225. DOI: 10.1161/JAHA.115.002225.
- McAllister R.M., Albarracin I., Price E.M., Smith T.K., Turk J.R., Wyatt K.D. Thyroid status and nitric oxide in rat arterial vessels. *J. Endocrinol.* 2005; 185 (1): 111–119. DOI: 10.1677/joe.1.06022.
- La Vignera S., Condorelli R., Vicari E., Calogero A.E. Endothelial dysfunction and subclinical hypothyroidism: a brief review. *J. Endocrinol. Invest.* 2012; 35 (1): 96–103. DOI: 10.3275/8190.
- Shimokawa H., Sunamura S., Satoh K. RhoA/Rho-kinase in the cardiovascular system. *Circ. Res.* 2016; 118 (2): 352–366. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306532.
- Sofronova S.I., Gaynullina D.K., Shvetsova A.A., Borzykh A.A., Selivanova E.K., Sharova A.P., Martyanov A.A., Tarasova O.S. Antenatal/early postnatal hypothyroidism alters arterial tone regulation in 2-week-old rats. *J. Endocrinol.* 2017; 235 (2): 137–151. DOI: 10.1530/JOE-17-0225.
- Gaynullina D.K., Sofronova S.I., Shvetsova A.A., Selivanova E.K., Sharova A.P., Martyanov A.A., Tarasova O.S. Antenatal/early postnatal hypothyroidism increases the contribution of Rho-kinase to contractile responses of mesenteric and skeletal muscle arteries in adult rats. *Pediatr. Res.* 2018. May 23. [Epub ahead of print]. DOI: 10.1038/s41390-018-0029-5.
- Mulvany M.J., Halpern W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ. Res.* 1977; 41 (1): 19–26.



20. Manna D., Roy G., Mughesh G. Antithyroid drugs and their analogues: synthesis, structure, and mechanism of action. *Acc. Chem. Res.* 2013; 46 (11): 2706–2715. DOI: 10.1021/ar4001229.
21. Duntas L.H., Brenta G. The effect of thyroid disorders on lipid levels and metabolism. *Med. Clin. North Am.* 2012; 96 (2): 269–281. DOI: 10.1016/j.mcna.2012.01.012.
22. Puzdrova V.A., Kudryashova T.V., Gaynullina D.K., Mochalov S.V., Aalkjaer C., Nilsson H., Vorotnikov A.V., Schubert R., Tarasova O.S. Trophic action of sympathetic nerves reduces arterial smooth muscle  $Ca^{2+}$ -sensitivity during early post-natal development in rats. *Acta Physiol. (Oxf)*. 2014; 212 (2): 128–141. DOI: 10.1111/apha.12331.
23. Tarasova O.S., Mochalov S.V., Tarasova N.V., Vorotnikov A.V., Schubert R. Rho-kinase is particularly important for vascular smooth muscle contraction in newborn and sympathectomized rats. *Acta Physiol.* 2010; 199: 27–28.
24. Gaynullina D.K., Sofronova S.I., Selivanova E.K., Shvetsova A.A., Borzykh A.A., Sharova A.P., Kostyunina D.S., Martyanov A.A., Tarasova O.S. NO-mediated anticontractile effect of the endothelium is abolished in coronary arteries of adult rats with antenatal/early postnatal hypothyroidism. *Nitric. Oxide.* 2017; 63: 21–28. DOI: 10.1016/j.niox.2016.12.007.
25. Morikage N., Kishi H., Sato M., Guo F., Shirao S., Yano T., Soma M., Hamano K., Esato K., Kobayashi S. Cholesterol primes vascular smooth muscle to induce  $Ca^{2+}$ -sensitization mediated by a sphingosylphosphorylcholine-Rho-kinase pathway: possible role for membrane raft. *Circ. Res.* 2006; 99: 299–306. DOI: 10.1161/01.RES.0000235877.33682.e9.
26. Engin A.B., Sepici-Dincel A., Gonul I.I., Engin A. Oxidative stress-induced endothelial cell damage in thyroidectomized rat. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2012; 64: 481–485. DOI: 10.1016/j.etp.2010.11.002.

Поступила в редакцию 01.08.2018

Подписана в печать 09.11.2018

Гайнуллина Дина К., канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, кафедра физиологии человека и животных биологического факультета, МГУ имени М.В. Ломоносова; ст. науч. сотрудник, лаборатория физиологии мышечной деятельности, ГНЦ РФ – ИМБП РАН, г. Москва.

Селиванова Екатерина Константиновна, аспирант, кафедра физиологии человека и животных биологического факультета, МГУ имени М.В. Ломоносова; мл. науч. сотрудник, лаборатория физиологии мышечной деятельности, ГНЦ РФ – ИМБП РАН, г. Москва.

Шарова Анна Петровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория физиологии мышечной деятельности, ГНЦ РФ – ИМБП РАН, г. Москва.

Тарасова Ольга Сергеевна, д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, МГУ имени М.В. Ломоносова; вед. науч. сотрудник, лаборатория физиологии мышечной деятельности, ГНЦ РФ – ИМБП РАН, г. Москва. ORCID ID 0000-0002-4230-3849.

✉ Тарасова Ольга Сергеевна, e-mail: ost.msu@gmail.com.

УДК 616.441-008.64-036.12-06:57.052.6]-092.9

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-4-23-32>

For citation: Gaynullina D.K., Selivanova E.K., Sharova A.P., Tarasova O.S. Increase in the constrictor effects of Rho-kinase in skeletal muscle and coronary arteries of rats with chronic hypothyroidism. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2018; 17 (2): 23–32.

## Increase in the constrictor effects of Rho-kinase in skeletal muscle and coronary arteries of rats with chronic hypothyroidism

Gaynullina D.K.<sup>1,2</sup>, Selivanova E.K.<sup>1,2</sup>, Sharova A.P.<sup>2</sup>, Tarasova O.S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University  
1, Leninskie Gory, Moscow, 119234, Russian Federation

<sup>2</sup> State Research Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences  
76A, Khoroshevskoe Shosse, Moscow, 123007, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** The deficit of thyroid function is known to be accompanied by an increase in the overall peripheral vascular resistance. This work tested the hypothesis that long-term hypothyroidism leads to an increase in the vasoconstrictor effect of Rho-kinase in skeletal muscle and heart resistance arteries of adult rats.

**Materials and methods.** Male Wistar rats consumed the antithyroid drug propylthiouracil (PTU) in drinking water (0.025%), starting at 10 weeks of age. The rats of the control group received PTU-free water. After 14 weeks, the contractile responses of the gastrocnemius muscle arteries (to the  $\alpha_1$ -adrenoceptor agonist methoxamine) and the septal coronary artery (to the thromboxane  $A_2$  receptor agonist U46619) were isometrically recorded. The contribution of the Rho-kinase to the arterial contractile responses was assessed using inhibitor Y27632 (3  $\mu$ M).

**Results.** The consumption of propylthiouracil was accompanied by a marked decrease of thyroid hormone concentrations and an increase in total cholesterol serum level as well as a decrease in body weight. Maximal contractile responses of studied arteries were also reduced in hypothyroid rats. However, basal tone and reactivity to the moderate concentrations of agonists in arteries of hypothyroid rats were increased compared to control animals. Y27632 significantly weakened the contractile responses of the arteries and negated the differences between the two groups of rats.

**Conclusion.** Chronic hypothyroidism leads to an increase in the activity of the Rho-kinase signaling pathway in the arteries of the gastrocnemius muscle and heart, which results in the increase of the spontaneous tone of the arteries and their reactivity to agonists.

**Key words:** thyroid gland, propylthiouracil, small arteries,  $\alpha_1$ -adrenoceptors, thromboxane  $A_2$  receptors.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

#### SOURCE OF FINANCING

This study was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 14-15-00704).

#### CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the local ethics committee under State Research Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences (Protocol No. 472 от 29.05.2018).

Received 01.08.2018  
Accepted 09.11.2018

**Gaynullina Dina K.**, PhD, Senior Researcher, Department of Human and Animal Physiology, M.V. Lomonosov Moscow State University; Senior Researcher, Laboratory of Exercise Physiology, State Research Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.

**Selivanova Ekaterina K.**, PhD Student, Department of Human and Animal Physiology, M.V. Lomonosov Moscow State University; Junior Researcher, Laboratory of Exercise Physiology, State Research Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.

**Sharova Anna P.**, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Exercise Physiology, State Research Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.

**Tarasova Olga S.**, DBSc, Professor, Department of Human and Animal Physiology, M.V. Lomonosov Moscow State University; Leading Researcher of the Laboratory of Exercise Physiology, State Research Center of the Russian Federation – Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-4230-3849.

(✉) **Tarasova Olga S.**, e-mail: ost.msu@gmail.com.