

Вазопрессин: молекулярные основы антидиуретического эффекта

Л.Н. Иванова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск; ludiv@bionet.nsc.ru

В работе обобщены наиболее существенные данные последних лет, характеризующие тенденцию развития представлений о молекулярно-клеточных механизмах регуляции водной проницаемости почечных канальцев, которая составляет основу концентрирующей функции почек и определяет точный контроль осмоляльности циркулирующей плазмы крови и ее объема. Повышение осмоляльности плазмы или уменьшение объема циркулирующей крови стимулирует через соответствующие рецепторные зоны секрецию и высвобождение нейрогипофизом пептидного гормона аргинин-вазопрессина (AVP), являющегося главным регулятором реабсорбции воды в почечных канальцах.

Одним из выдающихся достижений, связанных с именем Питера Агри (P. Agre), удостоенного в 2003 году Нобелевской премии, была идентификация белков, образующих водные каналы в клеточных мембранах [Agre et al., 1987; Agre, 2000]. Это открытие позволило ответить на вопрос о том, каким образом вода быстро пересекает липидные слои клеточных мембран, и какова молекулярная структура внутримембранных частиц, которые ранее были обнаружены и описаны рядом авторов на замороженных сколах мембран клеток эпителия почечных канальцев и клеток мочевого пузыря амфибий [Ganote et al., 1968; Kachadorian et al., 1975; Комиссарчик и др., 1985]. Исследование белков, образующих селективные водные каналы в клеточных мембранах, получивших название «аквапорины» (AQP), открыло новую эру в развитии представлений о механизмах регуляции трансмембранного потока воды.

Из 13 изоформ аквапоринов, обнаруженных у млекопитающих 8 типов локализованы в различных отделах почечных канальцев [Fenton a. Knepper, 2007; Hasler, 2009]. Аквапорины 1, 2, 3 и 4 типов опосредуют быстрый транспорт воды через высоко проницаемый эпителий почечных канальцев и эндотелий *vasa recta* и играют ключевую роль в процессе осмотического концентрирования.

Открытие аквапоринов поставило вопрос о механизмах вовлечения этих белков в регуляцию водной проницаемости эпителия почечных канальцев вазопрессинном. В настоящее время в регуляции транспорта воды вазопрессинном выделяют 2 независимых механизма различной длительности.

1. Быстрый эффект выявляется в первые минуты действия вазопрессина и обусловлен активацией цепи внутриклеточных реакций, завершающихся транслокацией AQP2 из внутриклеточных везикул в апикальную мембрану.

2. Долговременная регуляция функции эпителия собирательных трубок вазопрессинном основана на изменении содержания в клетках белков — аквапорина2, аквапорина 3 и 4, а также транспортера мочевины UT-A1, и β и γ -субъединиц эпителиального натриевого канала (ENaC).

К настоящему времени последовательность событий, реализующих быстрый эффект вазопрессина, достаточно подробно изучена. Взаимодействие вазопрессина с V_2 -рецептором на поверхности базолатеральной мембраны главных клеток собирательных трубок стимулирует G_s -белок, активирующий аденилатциклазу. Повышение уровня цАМФ приводит к активации

протеинкиназы А (ПКА), которая фосфорилирует AQP2, заключенный в везикулы, по сайту Ser²⁵⁶ С-конца молекулы, при этом по крайней мере 3 из 4 мономеров AQP2 должны быть фосфорилированы для последующего взаимодействия с белками, обеспечивающими встраивание AQP2 в апикальную мембрану или удаление из нее [Zelenina et al., 2000; Nielsen et al., 2002; Noda, Sasaki, 2005; Fenton et al., 2008]. Другие базофильные киназы также могут фосфорилировать AQP2 по Ser²⁵⁶ [Brown et al., 2008]. Координированная доставка везикул, заполненных AQP2, к апикальной мембране осуществляется вдоль элементов цитоскелета благодаря взаимодействию везикулярных белков с белками, которые формируют так называемый «мультипротеиновый моторный комплекс» [Hoffert et al., 2009; Pisitkun et al., 2008; Ходус и др., 2006]. Для транслокации везикул к мембране необходимо также ремоделирование барьерной сети F-актина в апикальной части клетки и высвобождение кальция из рианодинчувствительного депо. Прекращение действия вазопрессина приводит к эндоцитозу AQP2 и восстановлению низкой водной проницаемости мембраны. Процесс осуществляется путем накопления AQP2 в покрытых клатрином пузырьках, образование которых происходит при участии ГТФазы-динамина [Sun et al., 2002].

Один из наиболее существенных локально действующих модуляторов эффекта вазопрессина – простагландин E₂, синтез которого активируется самим вазопрессинем, что обеспечивает обратную связь на основе ауто- и паракринной регуляции [Boone, Deen, 2008; Bachtseva et al., 2007]. PGE₂ оказывает различное действие на водную проницаемость в зависимости от типа рецепторов, G-белков, с которыми они сопряжены, и путей трансдукции сигнала. Ингибирующий эффект PGE₂ на гидроосмотический эффект вазопрессина вероятно опосредован EP₁- и EP₃-рецепторами.

Предполагалось, что водная проницаемость базолатеральной поверхности клеток является стабильно высокой, не представляет барьера для потока воды, поступившей в клетку через апикальную мембрану, и не подвергается специфической регуляции [Bankir, 2001; Boone, Deen, 2008]. Прямой эффект вазопрессина на водную проницаемость базолатеральной мембраны был исследован в нашей лаборатории методом компьютерной морфометрии на изолированных фрагментах собирательных трубок, в просвет которых для блокады апикальной мембраны введена капля масла [Соленов и др., 2002; Нестеров и др., 2007; Solenov et al., 2003]. Инкубация кортикальных фрагментов собирательных трубок в течение 25 мин с агонистом V₂-рецепторов вазопрессина (dDAVP, 10⁻⁷М) приводила к двукратному повышению водной проницаемости базолатеральной мембраны. В присутствии хлористой ртути (0,1 мМ Hg₂Cl₂) кинетика набухания клеток резко замедлялась, что явилось свидетельством участия ртуть-чувствительных водных каналов AQP3, локализованных в этом сегменте собирательных трубок. Реакция базолатеральной мембраны на вазопрессин осуществляется с V₂-рецепторов с вовлечением аденилатциклазного пути трансдукции гормонального сигнала, поскольку такой же эффект повышения проницаемости наблюдается в условиях действия дибутирил-цАМФ (0,1 мМ) [Батурина и др., 2004]. В быструю реакцию базолатеральной мембраны на вазопрессин вовлекаются также кальций-зависимые механизмы и протеинкиназа С: связывание внутриклеточного Ca²⁺ хелатором ВАРТА-АМ и обработка каналцев ингибитором ПКС (Ro31-8220) блокировало эффект вазопрессина [Ходус и др., 2006; Соленов и др., 2006].

Таким образом, быстрый ответ на вазопрессин включает повышение водной проницаемости как апикальной, так и базолатеральной мембраны клеток эпителия

собирающих трубок на всем их протяжении, причем этот эффект реализуется с V_2 -рецепторов с вовлечением, по-видимому, одних и тех же внутриклеточных посредников гормонального сигнала. Однако, в отличие от AQP2, для AQP3 и AQP4 пока не получено доказательств их скопления в везикулах и транслокации в базолатеральную мембрану в ответ на вазопрессин. Предполагается что регуляция проницаемости индивидуальных аквапоринов 3 и 4 типа, синтезированных и встроенных в мембрану, осуществляется путем изменения конформации молекулы и ее проводимости в результате фосфорилирования [Zelenina et al., 2002].

Длительная регуляция водной проницаемости эпителия собирающих трубок реализуется на геномном уровне и имеет в своей основе регуляцию транскрипции генов водных каналов и изменение содержания этих белков в главных клетках [Кнеррег, 2002]. Наиболее подробно изучено действие вазопрессина на экспрессию гена AQP2, играющего ключевую роль в регуляции проницаемости собирающих трубок на всем их протяжении. Последовательность событий, индуцированных вазопрессинном и его аналогом dDAVP, исследована на культуре почечных клеток LLC-PK, экспрессирующих V_2 -рецептор и трансфецированных фрагментом промотора гена AQP2 [Yasui et al., 1997]. Установлено, что каталитическая субъединица ПККА, активированная цАМФ, транслоцируется в ядро, фосфорилирует цАМФ-распознающий связывающий белок (CREB) по Ser¹³³, он в комплексе с гетеродимером cFos/cJun связывается с сайтами промотора CRE и AP-1 (цАМФ-распознающий элемент и белок активатор-1), что приводит к активации транскрипции гена AQP2. Мутация AP-1 и CRE редуцирует биосинтез AQP2, стимулированный вазопрессинном. Следует отметить, что CREB мо-

жет быть активирован кроме ПККА и другими киназами, фосфорилирующими Ser¹³³ [Sun et al., 1994].

Антидиуретический эффект вазопрессина в почечных канальцах проявляется в постнатальном онтогенезе к концу периода молочного вскармливания. В нашей лаборатории на модели развивающейся почки крыс изучена цепь внутриклеточных реакций, обеспечивающих трансдукцию сигнала вазопрессина и реализацию его в физиологический ответ [Ходус и др., 2009; Каткова и др., 2009]. Обнаружено что, в процессе постнатального становления реакции почек крыс и мышей на вазопрессин нарастает экспрессия генов V_2 -рецепторов, повышается ГТФазная активность G-белков и их сопряжение с рецептором вазопрессина, увеличивается содержание мРНК и белка AQP2. Таким образом, становление гормональной компетентности почки обусловлено изменением практически всех звеньев трансдукции сигнала вазопрессина. Нелинейный характер возрастной динамики различных элементов механизма действия последнего в развивающейся почке, вероятно, отражает сложный процесс формирования единой консолидированной системы, способной реализовать гормональный стимул.

Экспериментальный анализ молекулярных механизмов действия вазопрессина на процесс осмотического концентрирования дал возможность подойти с новых позиций к изучению патогенеза нарушений водовыделительной функции почек и послужить основой для поиска путей ее коррекции при таких видах патологии, как нефрогенный диабет различной этиологии, сердечная недостаточность, гипертония и другие заболевания, осложненные нарушением водного баланса.

Работа поддержана грантом РФФИ №10-04-01280 и грантом ВНШ № НШ-6477.2010.4.