

УДК 612.65/46+577.15/17

РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ СОБИРАТЕЛЬНЫХ ТРУБОК ПОЧКИ МЫШИ В ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ¹

© 2009 г. Г. Р. Ходус*, Е. И. Соленов**, Л. Н. Иванова**, **

*Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, пр-т Лаврентьева, д. 10

**Новосибирский государственный университет
630090 Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2

E-mail: eugsol@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 23.09.08 г.
Окончательный вариант получен 08.12.08 г.

На изолированных фрагментах собирательных трубок почки мыши линии C57BL/6J трех возрастных групп (9, 18 и 60–90 сут) исследовали водную проницаемость клеток эпителия собирательных трубок и реакцию на вазопрессин. Коэффициент осмотической водной проницаемости P_f оценивали по скорости набухания клеток после смены осмолярности среды с 300 до 200 мОсм/л. Установлено, что величина P_f у мышей в возрасте 9 сут достоверно ниже, чем у мышей в возрасте 18 сут, т.е. при окончании перехода на смешанное питание, но P_f у 18-суточных мышей еще не достигает таких значений, как у взрослых животных ($P_f = 58.6 \pm 7.7$, 94.5 ± 8.8 и 168.4 ± 11.8 мкм/с соответственно). Агонист V_2 -рецепторов вазопрессина десмопрессин в концентрации 1 нМ достоверно повышал P_f как у 18-суточных, так и у взрослых мышей и не вызывал изменений у 9-суточных животных. Ингибитор протеинкиназы С Ro-31-8220 в концентрации 100 нМ подавлял влияние десмопрессина на P_f мышей в возрасте 18 сут и у взрослых животных, но не приводил к подавлению эффекта аналога вторичного посредника вазопрессина цАМФ – N^6, O^2 -дibuтирил аденозин-3',5'-цикломонофосфата, проникающего в клетки, на P_f плазматической мембраны клеток собирательных трубок. Таким образом, у мышей реакция эпителия собирательных трубок на вазопрессин появляется в конце вивинга и коррелирует с ростом нестимулированной осмотической водной проницаемости плазматической мембраны клеток собирательных трубок. Предполагается, что для трансдукции сигнала вазопрессина через V_2 -рецепторы кроме механизма, опосредованного цАМФ, необходимо функционирование протеинкиназы С и кальцийзависимых систем внутриклеточных посредников.

Ключевые слова: почка, постнатальный онтогенез, вазопрессин, водная проницаемость.

Почка незрелорождающих млекопитающих, таких как мыши и крысы, в ранний постнатальный период нечувствительна к вазопрессину (Nash, Edelman, 1973; Dlouha, 1976; Elinder, 1980). Регуляция реабсорбции воды в собирательных трубках начинает проявляться в период перехода животного на самостоятельное питание. Развитие реакции собирательных трубок почки на вазопрессин связывают с постепенным формированием и сопряжением в главных клетках эпителия молекулярных механизмов трансдукции сигнала гормона. Так, у крыс происходит рост количества рецепторов вазопрессина V_2 и активности аденилатциклазы (Соленов, Иванова, 1985, 1997; Imbert-Teboul et al., 1984; Siga, Horster, 1991; Ammar et al.,

1992; Tiansheng et al., 1997). В этот же период проявляется увеличение ГТФазной активности G-белков и их сопряжение с рецептором вазопрессина (Зеленина и др., 1994). Происходит смена цитозольной изоформы RI регуляторной субъединицы протеинкиназы А на изоформу RII (Соленов, Иванова, 1985). У крыс и мышей в течение постнатального онтогенеза в плазматической мембране постепенно увеличивается содержание аквапоринов, формирующих водные каналы (Bonilla-Felix, Jiang, 1997; Yamamoto et al., 1997; Yao et al., 2004). В конечном счете процессы, протекающие в почке в постнатальном онтогенезе, приводят к повышению эффективности функции осмотического концентрирования и к появлению реакции эпителия собирательных трубок на вазопрессин (Соленов и др., 2001; Siga, Horster, 1991).

В последнее время значительное внимание уделяется исследованию механизмов регуляции

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 05-04-48213, 08-04-00541, 09-04-00197) и Фондом Президента РФ "Поддержка ведущих научных школ РФ" (проект НШ-7071.2006.4).

транспорта воды через эпителий собирательных трубок, опосредованных, помимо цАМФ, другими внутриклеточными посредниками. Известно, что в ходе постнатального онтогенеза меняется экспрессия изоформ протеинкиназы С, и ее ингибирование приводит к нарушению нефрогенеза (Saxena et al., 1994; Serlachius et al., 1997; Redling et al., 2004). Но роль этого фермента в созревании осморегулирующего действия вазопрессина не определена. Настоящая работа посвящена исследованию развития регуляции вазопрессином водной проницаемости клеток собирательных трубок почки мыши в постнатальном онтогенезе и выяснению роли протеинкиназы С в этом процессе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Животные. В экспериментах использовали мышей линии C57BL/6J трех возрастных групп: 9–12 сут (период ареактивности к вазопрессину), 17–19 сут (переход на самостоятельное питание и проявление реакции на вазопрессин) и взрослых животных в возрасте 60–90 сут. Мышей получали из лаборатории экспериментальных животных ИЦиГ СО РАН, Новосибирск.

Для снижения уровня эндогенного вазопрессина взрослых животных подвергали повышенной гидратации. Для этого за 48 ч до эксперимента их лишали корма и обеспечивали неограниченный доступ к 5%-ному водному раствору сахарозы.

Получение фрагментов собирательных трубок. Для получения суспензии фрагментов собирательных трубок мозгового вещества почки использовали методику, описанную ранее (Соленов и др., 2001).

Протоколы экспериментов. Инкубацию с различными агентами проводили в среде MEM с 15 мМ буфера HEPES (“Sigma”, США) при 37°C в атмосфере 5%-ного CO₂ и 95%-ного воздуха. Были проведены следующие серии экспериментов.

1. Оценка эффекта селективного агониста V₂-рецепторов десмопрессина на водную проницаемость плазматической мембраны клеток собирательных трубок. После измерения коэффициента осмотической водной проницаемости P_f , которое принимали за контроль, изолированный фрагмент канальца инкубировали с десмопрессином (1 нМ, “Sigma”, США) 15 мин при 37°C и далее проводили измерение P_f .

2. Оценка эффекта проникающего аналога цАМФ N⁶,O²-дibuтирил аденозин-3',5' цикломонифосфата (дibuтирил-цАМФ). После контрольного измерения P_f каналец инкубировали с 100 мкМ дibuтирил-цАМФ (“Sigma”, США) 20 мин при 37°C

с последующим измерением осмотической водной проницаемости.

3. Выявление действия ингибитора протеинкиназы С на эффект десмопрессина и дibuтирил-цАМФ. Фрагменты собирательных трубок инкубировали с ингибитором протеинкиназы С Ro-31-8220 (0.1 мкМ, “CalbioChem”, США) 10 мин, далее измеряли P_f , эффект десмопрессина и дibuтирил-цАМФ оценивали согласно протоколам 1 и 2.

Измерение водной проницаемости. Метод измерения коэффициента водной проницаемости P_f плазматической мембраны клеток на открытом конце почечного канальца использует световую микроскопию в темном поле и цифровую запись изображения с последующим ее автоматическим анализом. Оценку водной проницаемости плазматической мембраны клеток собирательных трубок проводили с помощью метода, опубликованного ранее, с некоторыми модификациями, заключающимися в формировании изображения с помощью микроскопии в темном поле и автоматической морфометрии (Соленов, Иванова, 1999; Соленов и др., 2001).

Суспензию канальцев объемом 100–200 мкл наносили на стекло, покрытое полилизинном, и помещали в перфузионную камеру, укрепленную на объективе микроскопа ЛОМО Микмед-2 (водоиммерсионный об. х40, темнопольный конденсор КОН-7Т). В камере производили быструю смену растворов PBS (~70 мс) – с изoосмотического (–300 мОсм) на гипoосмотический (–200 мОсм). Кинетику изменения объема клеток записывали с помощью черно-белой цифровой видеокамеры FUM-930H (“Fuho Technology”, Корея) с сохранением записи в персональном компьютере. Измерение водной проницаемости проводили при комнатной температуре.

Анализ изображения. Изображение собирательной трубки в темном поле можно представить в виде двумерной матрицы, элементом которой является величина яркости пикселей изображения. Диапазон яркости в нашей системе составлял от 0 до 255. Принимается, что границы канальца можно определить как группу пикселей, яркость которых превышает определенный порог (рис 1, а). Подобранный опытным путем порог яркости, который характеризует границы канальца, лежит в диапазоне от 40 до 60 (рис. 1, б). На одном из кадров видеозаписи выделяли определенный фрагмент канальца, на нем считали число пикселей S выше определенного порога яркости в каждом кадре видеозаписи. Полученные данные площади S далее использовали в расчете коэффициента водной проницаемости.

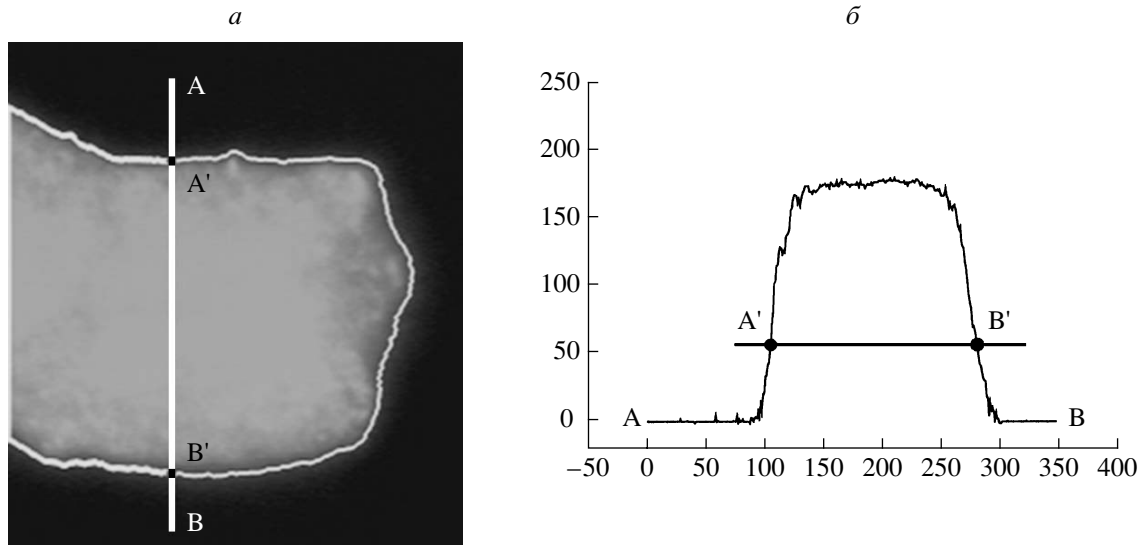


Рис. 1. Вид открытого конца фрагмента собирательной трубки почки мыши (темнопольная микроскопия): *a* – показан пороговый уровень яркости, соответствующий контуру изображения канала; *b* – профиль яркости, соответствующий линии АВ на *a*; точки А, В, А', В' соответствуют точкам на *a*.

По оси абсцисс – расстояние, $\times 0.1$ мкм; по оси ординат – интенсивность света, усл. ед.

Расчет коэффициента водной проницаемости тотальной клеточной поверхности. Коэффициент осмотической водной проницаемости P_f рассчитывали по формуле

$$P_f = K_r / n S_0 V_w \Delta C,$$

где K_r – коэффициент линейной регрессии индекса объема $S^{3/2}$, $n = 4$ – поправочный коэффициент, S_0 – начальная площадь, V_w – молярный объем воды, ΔC – разность осмотических концентраций. Подробный вывод формулы был описан ранее (Соленов и др., 2001).

Статистика. Для оценки достоверности различий в изучаемых группах применяли *t*-критерий Стьюдента для парных сравнений. Различия признавали достоверными при $p < 0.05$. Для сравнения независимых выборок анализ достоверности различий проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Различия признавали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты измерения водной проницаемости собирательных трубок почки до и после воздействия десмопрессина представлены на рисунке 2, *a*. У мышей в возрасте 9–12 сут величина P_f почти в три раза ниже, чем у взрослых животных. Этот параметр достоверно повышается к возрасту 17–19 сут, но его значение еще остается на более низком уровне по сравнению со взрослыми животными. Действие

десмопрессина на водную проницаемость клеток на открытом конце изолированных фрагментов собирательных трубок не проявляется у 9–12-суточных мышат, что свидетельствует об отсутствии гормональной компетентности собирательных трубок по отношению к вазопрессину. К возрасту 17–19 сут действие десмопрессина проявляется в полной мере: десмопрессин так же, как и у взрослых животных, может вызывать полуторакратное увеличение P_f общей поверхности клеток собирательных трубок. При этом величина P_f достигает уровня водной проницаемости интактных собирательных трубок взрослых гидратированных животных.

Для оценки влияния функциональной активности протеинкиназы С на регуляцию водной проницаемости клеток собирательных трубок исследовали действие ингибитора протеинкиназы С Ro-31-8220 на эффект десмопрессина. На P_f клеток собирательных трубок 9-суточных мышей ни вазопрессин, ни ингибитор не оказывали воздействия (рис. 2, *b*). Предварительная инкубация фрагментов собирательных трубок с Ro-31-8220 приводила к подавлению эффекта десмопрессина на водную проницаемость общей поверхности клеток собирательных трубок 17–19-суточных мышей. Ингибитор протеинкиназы С Ro-31-8220 также подавлял действие десмопрессина на водную проницаемость собирательных трубок взрослых мышей.

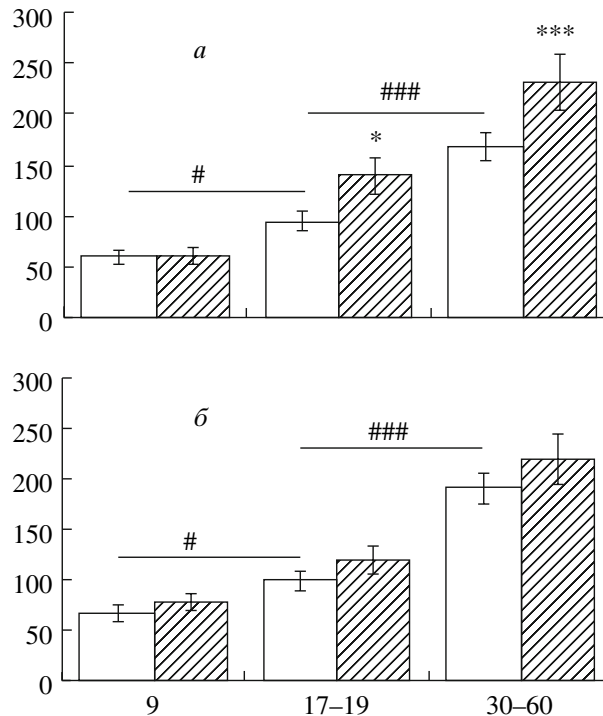


Рис. 2. Регуляция вазопрессином водной проницаемости плазматической мембраны клеток собирательных трубок почки мышей в постнатальном развитии; подавление эффекта десмопрессина ингибитором протеинкиназы С Ro-31-8220 (100 нМ):

a – контроль; *б* – предынкубация с ингибитором протеинкиназы С.

По оси абсцисс – возраст животных, сут; по оси ординат – коэффициент осмотической водной проницаемости P_f , мкм/с. (□) – нестимулированная водная проницаемость, (▨) – действие десмопрессина; достоверность различий величин P_f нестимулированной водной проницаемости разных возрастных групп: ### $p < 0.001$, # $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, достоверность различий величин P_f при действии десмопрессина: * $p < 0.05$.

В главных клетках собирательных трубок почки вазопрессин через V_2 -рецепторы вызывает увеличение концентрации вторичного посредника – цАМФ. Мы провели исследование влияния проникающего аналога цАМФ (дибутирил-цАМФ) и ингибитора протеинкиназы С Ro-31-8220 на водную проницаемость клеток на открытом конце собирательных трубок почки (таблица). Так же, как и десмопрессин, дибутирил-цАМФ приводил к увеличению водной проницаемости общей поверхности клеток собирательных трубок у 17-19-суточных и взрослых мышей. Предварительная инкубация фрагментов собирательных трубок с ингибитором Ro-31-8220 не приводила к подавлению действия дибутирил-цАМФ на P_f клеток собирательных трубок почки взрослых животных. В экспериментах, проводимых на собирательных трубках почки 17-19-суточных мышей, ингибитор протеинкиназы С также не оказывал значимых эффектов на действие дибутирил-цАМФ (таблица).

ОБСУЖДЕНИЕ

Почка незрелорождающих млекопитающих, таких как крысы и мыши, в ранний постнатальный период (первые 7–14 сут) не способна реагировать на вазопрессин. В наших экспериментах селективный агонист V_2 -рецепторов вазопрессина десмопрессин не вызывал роста осмотической водной проницаемости у 9–12-суточных мышат, что согласуется с данными, полученными ранее на крысах (Соленов и др., 2001; Siga, Horster, 1991). Вероятно, в основе нечувствительности почки к вазопрессину в раннем постнатальном онтогенезе лежит незрелость функциональных связей между отдельными звеньями системы трансдукции сигнала вазопрессина, поскольку основные элементы, участвующие в передаче гормонального сигнала, на момент рождения уже экспрессируются в клетке (Соленов, Иванова, 1985, 1997; Imbert-Teboul et al., 1984; Ammar et al., 1992; Tiansheng et al., 1997).

Одним из факторов, определяющих чувствительность эпителия собирательных трубок к вазопрессину в раннем возрасте, может быть высокая

Влияние дибутирил-цАМФ на осмотическую водную проницаемость (P_f , мкм/с) плазматической мембраны клеток собирательных трубок почки мышей разного возраста ($M \pm m$)

Возраст животных	Контроль	Дибутирил-цАМФ, 100 мкМ	Ro-31-8220, 100 нМ	Совместно Ro-31-8220 + дибутирил-цАМФ
17–19 сут	98.2 ± 15.2	147.2 ± 18.4 ($n = 9$)*	126.9 ± 20.2	182.3 ± 32.3 ($n = 9$)*
Взрослые	199.3 ± 11.7####	239.4 ± 15.5 ** ($n = 16$)	222.1 ± 13.2##	271.5 ± 17.2 ($n = 13$)*

Примечания. n – число канальцев; достоверность эффекта дибутирил-цАМФ: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; достоверность различий величин P_f нестимулированной водной проницаемости взрослых мышей по сравнению с 17–19-суточными: #### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$.

активность фосфодиэстеразы, превращающей цАМФ в неактивный АМФ. Было обнаружено, что у новорожденных кроликов активность фосфодиэстеразы превышает уровень, характерный для взрослых животных, и в процессе развития активность этого фермента падает. Вазопрессин на фоне ингибиторов фосфодиэстеразы (изобутил-метилксантина (ИВМХ), ролипрама) приводит к увеличению водной проницаемости эпителия собирательных трубок почки, соизмеримому с ответом на этот гормон у взрослых животных (Quigley et al., 2004). Авторы полагают, что в основном именно повышенная активность фосфодиэстеразы приводит к ареактивности собирательных трубок к вазопрессину у новорожденных кроликов. Но к настоящему времени пока нет данных, подтверждающих применимость этой гипотезы к основным модельным объектам, используемым для исследования постнатального онтогенеза почки, – крысы и мыши.

У крыс эффект вазопрессина на водную проницаемость клеток собирательных трубок достоверно проявляется в конце периода перехода на самостоятельное питание (на 22–25-е сут). В этот период происходит постепенный рост количества рецепторов вазопрессина V_2 и возрастает ГТФазная активность G-белков, а также их сопряжение с рецептором вазопрессина (Зеленина и др., 1994; Соленов, Иванова, 1997; Ammar et al., 1992). У крыс активность аденилатциклазы в ответ на вазопрессин увеличивается с 3-х по 7-е сут после рождения, и последующее повышение активно-

сти наблюдается с 21-х по 35-е сут жизни (Imbert-Teboul et al., 1984; Tiansheng et al., 1997). В это же время происходит смена изоформы цитозольной рецепторной субъединицы R1 протеинкиназы А на RII (Соленов, Иванова, 1985). Мы показали, что у мышей в возрасте 17–19 сут десмопрессин так же, как и у взрослых особей, увеличивает осмотическую водную проницаемость плазматической мембраны клеток собирательных трубок. Это согласуется с тем, что к 15-м сут постнатального развития у мышей завершается процесс нефрогенеза (Vrljicak et al., 2004). У этих животных проявление реакции почки на вазопрессин происходит в более ранние по сравнению с крысами сроки, что, вероятно, также обусловлено функциональными особенностями звеньев цепи трансдукции гормонального сигнала вазопрессина – от рецептора до водных каналов.

Вместе с постепенным развитием реакции почки на вазопрессин в период перехода на самостоятельное питание у мышей может меняться величина базального уровня нестимулированной водной проницаемости общей поверхности клеток собирательных трубок (Соленов и др., 2001; Siga, Horster, 1991). В наших экспериментах у взрослых мышей мы наблюдали трехкратную разницу P_f плазматической мембраны клеток интактных собирательных трубок почки мыши по сравнению с 9–12-суточными животными. Несколько групп исследователей показали увеличение содержания мРНК и белков водных каналов AQP2

и AQP3 в почке крысы и мыши в течение постнатального развития (Ammar et al., 1992; Yasui et al., 1996; Yamamoto et al., 1997); мы связываем рост нестимулированного гормоном P_f именно с изменением количества водных каналов в мембране главных клеток собирательных трубок.

В последнее время значительное внимание уделяется исследованию механизмов регуляции транспорта воды через эпителий собирательных трубок, опосредованных кроме цАМФ другими внутриклеточными посредниками. В ходе постнатального онтогенеза в почке кроме белков, участвующих в трансдукции сигнала вазопрессина и определяющих активность аденилатциклазной системы, меняется экспрессия изоформ протеинкиназы С (Saxena et al., 1994; Serlachius et al., 1997; Redling et al., 2004). Длительное ингибирование протеинкиназы С приводит к стимуляции апоптоза клеток нефрона, что вызывает нарушение нефрогенеза (Serlachius et al., 1997). Роль этого фермента в формировании осморегулирующего действия вазопрессина пока не определена. Ранее на взрослых животных было показано снижение концентрирующей способности почек у мышей, нокаутных по гену, кодирующему протеинкиназу С α (Yao et al., 2004), что позволяет предположить вероятное участие протеинкиназы С непосредственно в трансдукции сигнала вазопрессина. В наших экспериментах ингибирование протеинкиназы С приводит к подавлению действия десмопрессина как у взрослых, так и у 17–19-суточных мышей. Эти данные указывают на то, что функционально активные формы протеинкиназы С участвуют в трансдукции сигнала вазопрессина и реализации его эффекта.

Мы установили, что при инкубации фрагментов собирательных трубок почки с проникающим аналогом цАМФ (дибутирил-цАМФ), так же как и с десмопрессином, происходит рост осмотической водной проницаемости у мышей взрослых и в возрасте 17–19 сут. В то же время мы не наблюдали подавления этого эффекта ингибитором протеинкиназы С, исходя из чего можно предположить, что протеинкиназа С участвует в трансдукции сигнала вазопрессина на этапе, предшествующем образованию цАМФ. Очевидно, что протеинкиназа С к окончанию функционального созревания почки в постнатальном онтогенезе уже включена в механизм антидиуретического действия вазопрессина. На каком этапе трансдукции сигнала вазопрессина необходимо участие протеинкиназы С, пока неизвестно; для выяснения этого вопроса требуются дальнейшие исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зеленина М.Н., Соленов Е.И., Зеленин С.М., Иванова Л.Н. Функциональная характеристика Gs-белка в развивающейся почке млекопитающих // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1994. Т. 80. № 7. С. 81–87.
- Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Изучение цитоплазматических рецепторов цАМФ в почках крыс различного возраста с помощью гель-фильтрации // Бюл. эколог. биологии и медицины. 1985. Т. ХСІХ. № 6. С. 683–685.
- Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Онтогенетическое изменение рецептора вазопрессина в почке млекопитающих // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1997. Т. 83. № 7. С. 120–129.
- Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Применение морфометрического подхода для изучения эффекта АДГ на изолированной собирательной трубке почки крысы // Там же. 1999. Т. 85. № 2. С. 290–297.
- Соленов Е.И., Батурина Г.С., Иванова Л.Н. Влияние вазопрессина на водную проницаемость клеток эпителия собирательных трубок почки в постнатальном онтогенезе крыс // Там же. 2001. Т. 87. № 7. С. 965–972.
- Ammar A., Roseau S., Butlen D. Postnatal ontogenesis of vasopressin receptors in the rat collecting duct // Mol. Cel. Endocrinol. 1992. V. 86. P. 192–203.
- Bonilla-Felix M., Jiang W. Aquaporin-2 in the immature rat: expression, regulation, and trafficking // J. Am. Soc. Nephrol. 1997. V. 8. № 10. P. 1502–1509.
- Dlouha H. The effect of vasopressin on renal function in young rats a clearance and micropuncture study // Physiol. Bohemoslov. 1976. V. 25. № 6. P. 535–542.
- Elinder G. Renal response to isotonic volume expansion in the developing rat // Acta. Physiol. Scand. 1980. V. 110. P. 24–30.
- Imbert-Teboul M., Chabardes D., Clique A. et al. Ontogenesis of hormone-dependent adenylate cyclase in isolated rat nephron segments // Am. J. Physiol. 1984. V. 247. № 2. P. 316–325.
- Nash M.A., Edelman C.W. The developing kidney. Immature function or inappropriate standart? // Nephron. 1973. V. 11. P. 71–90.
- Quigley R., Chakravarty S., Baum M. Antidiuretic hormone resistance in the neonatal cortical collecting tubule is mediated in part by elevated phosphodiesterase activity // Am. J. Physiol. 2004. V. 286. № 2. P. 317–322.
- Redling S., Pfaff I.L., Leitges M., Vallon V. Immunolocalization of protein kinase C isoenzymes alpha, beta I, beta II, delta, and epsilon in mouse kidney // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2004. V. 287. № 2. P. 289–298.
- Saxena R., Saksa B.A., Hawkins K.S., Ganz M.B. Protein kinase C β I and β II are differentially expressed in the developing glomerulus // FASEB J. 1994. V. 8. P. 646–653.
- Serlachius E., Svennilson J., Schalling M., Aperia A. Protein kinase C in the developing kidney: isoform expression and effects of ceramide and PKC inhibitors // Kidney Int. 1997. V. 52. № 4. P. 901–910.
- Siga E., Horster M.F. Regulation of osmotic water permeability during differentiation of inner medullary collecting duct // Am. J. Physiol. 1991. V. 260. № 29. P. 710–716.
- Tiansheng S., Suzuki Y., Poyard M. et al. Expression of adenylate cyclase mRNAs in the adult, in developing, and in the Brattleboro rat kidney // Ibid. 1997. V. 273. № 42. P. 323–330.

Vrljicak P., Myburgh D., Ryan A.K. et al. Smad expression during kidney development // *Ibid.* 2004. V. 286. № 4. P. 625–633.

Yamamoto T., Sasaki S., Fushimi K. et al. Expression of AQP family in rat kidneys during development and maturation // *Ibid.* 1997. V. 272. № 2. Pt. 2. P. 198–204.

Yao L., Huang D.Y., Pfaff I.L. et al. Evidence for a role of protein kinase C- α in urine concentration // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2004. V. 287. № 2. P. 299–304.

Yasui M., Marples D., Belusa R. et al. Development of urinary concentrating capacity: role of aquaporin-2 // *Am. J. Physiol.* 1996. V. 271. № 2. Pt. 2. P. 461–468.

Regulation of Water Permeability of Collecting Ducts in Mouse Kidney during Postnatal Development

G. R. Khodus^a, E. I. Solenov^{a, b}, and L. N. Ivanova^{a, b}

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, pr Akademika Lavrent'eva 10, Novosibirsk 630090, Russia

^b Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia
e-mail: eugsol@bionet.nsc.ru

Abstract—Water permeability of epithelial cells and response to vasopressin was studied on isolated fragments of collecting ducts in the kidney of C57BL/6J mice of three age groups (9, 18, and 60–90 days). The coefficient of osmotic water permeability P_f was evaluated from the rate of cell swelling after medium osmolality was changed from 300 to 200 mOsm/l. The P_f value proved to be significantly lower in mice at the age of 9 days than at the age of 18 days, i.e., after the transition to mixed feeding; although P_f at the age of 18 days does not reach the level of adult animals (58.6 ± 7.7 , 94.5 ± 8.8 , and 168.4 ± 11.8 $\mu\text{M/s}$, respectively). The antagonist of vasopressin V_2 receptors desmopressin at 1 nM significantly increased P_f in both 18-day-old and adult mice but induced no changes in 9-day-old animals. The inhibitor of protein kinase C Ro-31-8220 in the concentration of 100 nM inhibited the desmopressin effect on P_f in 18 day-old and adult mice but did not inhibit the effect of the analog of the vasopressin secondary messenger cAMP, N⁶O²-dibutyryl cyclic monophosphate, on P_f of the plasma membrane in collecting duct cells. Thus, the response of collecting duct cells to vasopressin appears at the end of weaning and correlates with the increase in unstimulated osmotic water permeability of the plasma membrane in collecting duct cells. The vasopressin signal transduction via V_2 receptors is proposed to require the activity of protein kinase C and calcium-dependent systems of intercellular mediators apart from the cAMP-mediated mechanism.

Key words: kidney, post-natal ontogeny, vasopressin, water permeability.