

УДК 612.65/46+577.15/17

## РОЛЬ ПРОТЕИНКИНАЗЫ С В СТАНОВЛЕНИИ МЕХАНИЗМА АНТИДИУРЕТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВАЗОПРЕССИНА В ПОЧКЕ КРЫСЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ<sup>1</sup>

© 2009 г. Л. Е. Каткова, Е. И. Соленов, Л. Н. Иванова

Институт цитологии и генетики СО РАН

630090 Новосибирск, пр-т Лаврентьева, д. 10

E-mail: eugsol@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 13.03.09 г.

Окончательный вариант получен 06.04.09 г

В раннем постнатальном периоде развития почка незрелорождающих млекопитающих нечувствительна к действию антидиуретического гормона (вазопрессина). Показано, что водная проницаемость клеток эпителия собирательных трубок почки крысы увеличивается в процессе развития, при этом реакция на агонист V<sub>2</sub>-рецепторов вазопрессина десмопрессин появляется начиная с 20-суточного возраста. Наблюдаемое повышение водной проницаемости связано с увеличением содержания белков водных каналов (аквапоринов) AQP2 и AQP3 в плазматической мембране. Кальцийзависимые изоформы протеинкиназы С являются вероятными участниками пути трансдукции сигнала вазопрессина и, возможно, принимают участие в механизмах созревания чувствительности к гормону. С помощью Вестерн-блот-гибридизации оценивали содержание трех изоформ протеинкиназы С ( $\alpha$ ,  $\delta$  и  $\xi$ ) у крыс в разные периоды постнатального развития. Показано, что содержание протеинкиназы С изоформ  $\alpha$  и  $\delta$  увеличивается в ходе развития, в то время как содержание изоформы  $\xi$  остается неизменным. При этом наиболее вероятным участником механизма созревания гормональной компетентности клеток к вазопрессину является кальцийзависимая протеинкиназа С $\alpha$ , поскольку ее количество в плазматической мембране максимально на 20–24-е сут, что совпадает с периодом появления эффекта вазопрессина.

*Ключевые слова:* вазопрессин, онтогенез, аквапорины, протеинкиназа С, почка.

В ранний постнатальный период развития почка незрелорождающих млекопитающих нечувствительна к действию антидиуретического гормона (вазопрессина). У крыс антидиуретическое действие вазопрессина появляется у 20–22-суточных животных, что совпадает с концом периода перехода от молочного вскармливания к самостоятельному питанию. В этот период завершается формирование всего комплекса регуляторных систем водно-солевого гомеостаза, обеспечивающего работу почки с учетом потребностей организма (Aperia, Herin, 1975; Dlouha, 1976).

Согласно современным представлениям, основной механизм увеличения проницаемости для воды главных клеток собирательных трубок почки под действием вазопрессина состоит в обратимом встраивании водного канала, формируемого белком аквапорином 2 (AQP2), в апикальную мембрану. Вазопрессин взаимодействует со специфическими рецепторами типа V<sub>2</sub>, расположенными на базо-

латеральной мембране клеток собирательных трубок. Образование гормон-рецепторного комплекса приводит к активации аденилатциклазы, происходит наработка цАМФ (3'-5'-циклического аденозина монофосфата), что в свою очередь приводит к запуску каскада внутриклеточных процессов, одним из результатов чего является встраивание AQP2 в апикальную мембрану (Nielsen et al., 2002). Кроме того, по-видимому, существуют пути регуляции проницаемости клеток собирательных трубок почки, в которых непосредственно не участвует цАМФ. Было установлено, что вазопрессин наряду с повышением концентрации цАМФ вызывает кратковременное повышение активности внутриклеточного кальция, обнаруженное в клетках собирательных трубок внутреннего мозгового вещества. При этом не наблюдается повышения концентрации кальция при действии проникающих аналогов цАМФ – дб-цАМФ (дибутирил-3'-5'-циклического аденозина монофосфата), 8-бромо-цАМФ и форсколина, активирующих цАМФ-зависимый путь трансдукции сигнала вазопрессина (Nickols et al., 2004). Увеличение концентрации кальция, очевидно, имеет важное значение для ре-

<sup>1</sup> Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 09-04-00197-а, 08-04-00541-а) и Программой Президента РФ “Поддержка ведущих научных школ” (проект НШ-1647.2008.4).

лизации эффекта вазопрессина в собирательных трубках, поскольку хелатор кальция ВАРТА приводит к подавлению реакции на гормон (Chou et al., 2000; Yip, 2000).

Протеинкиназа С (ПКС) является одним из наиболее вероятных участников цАМФ-независимого пути регуляции водной проницаемости собирательных трубок вазопрессинном (Huang, 1989). Она, вероятно, может принимать участие в механизмах созревания чувствительности к гормону в ходе постнатального развития. Наша работа посвящена исследованию вероятного участия различных изоформ ПКС в созревании механизма регуляции проницаемости клеток эпителия собирательных трубок почки крысы в постнатальном развитии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

**Животные.** В экспериментах использовали крыс Вистар в возрасте 9–12 сут, 20–22 сут и 2–3 мес обоего пола, которых получали из лаборатории экспериментальных животных ИЦиГ СО РАН. Контрольных животных содержали на стандартной диете вивария. Для снижения уровня эндогенного вазопрессина 20–22-суточных и взрослых крыс подвергали гидратации. С этой целью за 48 ч до эксперимента животных лишали корма и обеспечивали неограниченный доступ к 5%-ному водному раствору сахарозы. Для дегидратации крыс за 48 ч до эксперимента лишали доступа к воде, но сохраняли доступ к сухому корму.

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

**Измерение водной проницаемости.** Метод измерения коэффициента водной проницаемости  $P_f$  плазматической мембраны клеток на открытом конце почечного канальца, использующий световую микроскопию в темном поле, был также описан нами ранее (Соленов и др., 2002).

**Инкубация с десмопрессином.** Инкубацию с десмопрессином проводили в среде MEM с 15 мМ буфером НЕРЕС (“Sigma”, США) 30 мин при 37°C в атмосфере 5%-ного  $\text{CO}_2$  и 95%-ного воздуха. Для оценки эффекта селективного агониста  $V_2$ -рецепторов десмопрессина на водную проницаемость плазматической мембраны клеток собирательных трубок после контрольного определения коэффициента осмотической водной проницаемости  $P_f$  изолированный фрагмент канальца инкубировали с десмопрессином ( $10^{-8}$  М, “Sigma”, США) 30 мин при 37°C, а затем опять определяли  $P_f$ .

**Получение препарата плазматических мембран.** Для получения препарата плазматических мембран наружное мозговое вещество почки гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в буфере,

содержащем 10 мМ *трис*-Cl, pH 7.4, 0.25 М сахарозы, 1 мМ ЭДТА, ингибиторы протеаз. Гомогенат центрифугировали 15 мин при 3000 g, супернатант повторно осаждали при 10000 g в течение 30 мин. Все процедуры выполняли на холоду. Полученный осадок растворяли в буфере, содержащем 10 мМ *трис*-Cl, pH 7.4, 0.25 М сахарозы, 1 мМ ЭДТА, ингибиторы протеаз, 1%-ный ДДС натрия. Разделение белков проводили с помощью электрофореза в 12%-ном полиакриламидном геле (Laemmli, 1970).

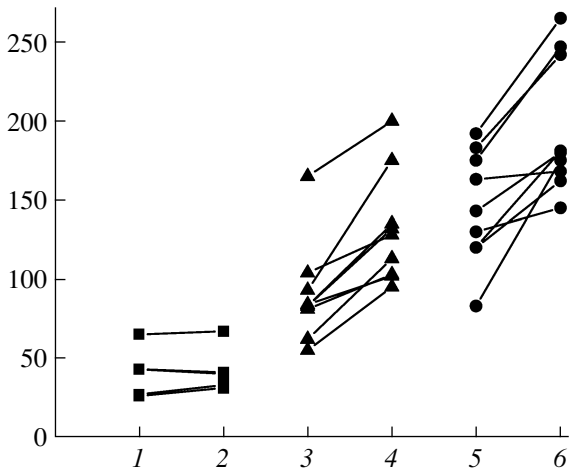
**Вестерн-блот-гибридизация.** Для проведения Вестерн-блот-гибридизации использовали коммерческие наборы с хемилюминесцентной детекцией (ECL plus Western Blotting Detection System, “Amersham”, Швеция). Перенос белков на мембрану и анализ проводили согласно протоколу производителя. Специфические поликлональные антитела против аквапоринов 2 и 3 (“BD Biosciences”, США) и исследуемых изоформ ПКС (“Santa Cruz Biotechnology”, США) использовали в разведении 1 : 4000.

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

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Действие десмопрессина на водную проницаемость клеток собирательных трубок в постнатальном развитии.** Эксперименты по измерению водной проницаемости собирательных трубок в контроле и после инкубации с десмопрессином показали, что в ходе постнатального развития у животных наблюдается достоверное увеличение коэффициента водной проницаемости  $P_f$  (рис. 1). Величина этого параметра у 9–12-суточных животных значительно ниже, чем в клетках собирательных трубок в конце периода перехода к самостоятельному питанию и почти в три раза ниже по сравнению со взрослыми животными. Воздействие десмопрессином не оказывало влияния на величину  $P_f$  у 9–12-суточных животных. Достоверное увеличение водной проницаемости в ответ на десмопрессин наблюдается начиная с 20-суточного возраста, что совпадает с концом периода перехода к самостоятельному питанию.

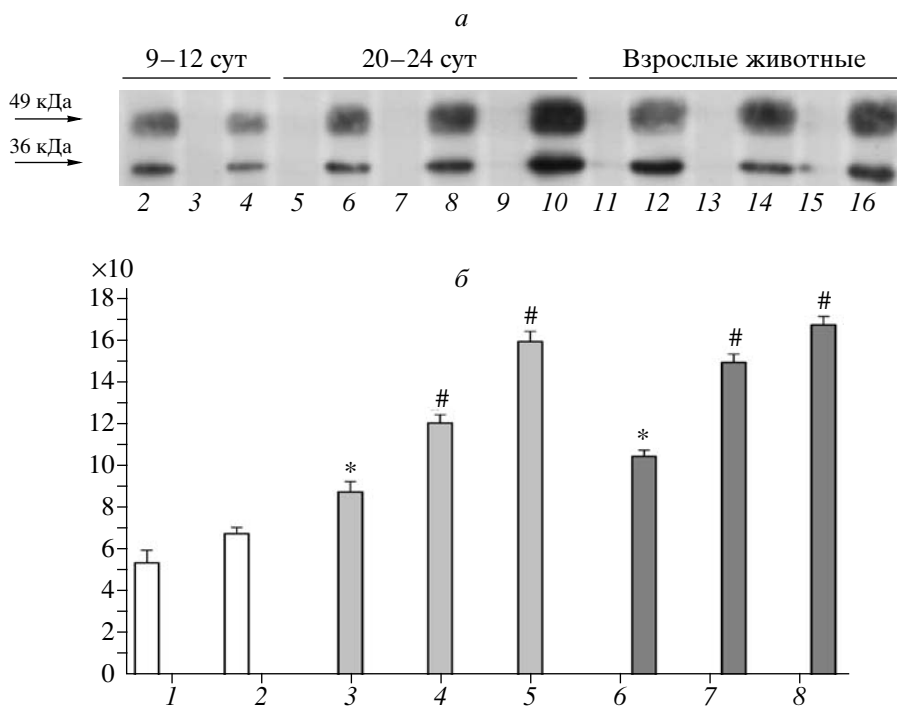
**Влияние десмопрессина и дегидратации на содержание белка водных каналов AQP2, AQP3 в плазматической мембране у крыс разного возраста (9–12, 20–22 сут и 2–3 мес).** Для оценки количества белков водных каналов – AQP2, AQP3 – в плазматической мембране клеток наружного мозгового вещества почки у крыс разного возраста использовали Вестерн-блот-гибридизацию. Показано, что содержание обоих типов белков водных каналов до-



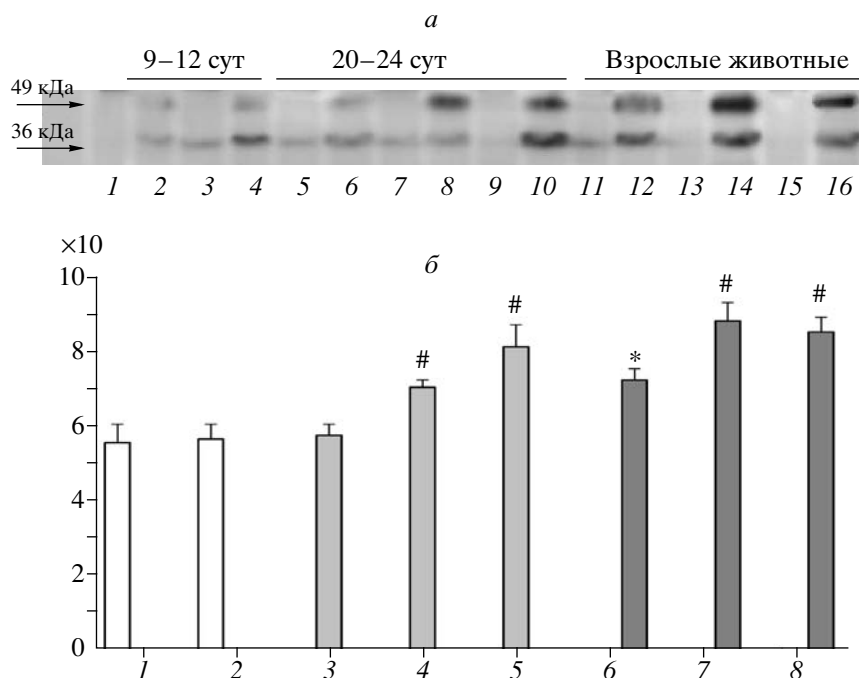
**Рис. 1.** Влияние десмопрессина на водную проницаемость плазматической мембраны клеток собирательных трубок почки крысы в постнатальном развитии. По оси абсцисс: 1, 3, 5 – контроль; 2, 4, 6 – инкубация с  $10^{-8}$  М десмопрессинном. По оси ординат – коэффициент осмотической водной проницаемости  $P_f$ , мкм/с. Значения индивидуальных измерений  $P_f$  до и после 25-минутного воздействия десмопрессина у: 9–12-суточных (■), 20–22-суточных (▲) и взрослых (●) животных.

стительно увеличивается в ходе постнатального развития (рис. 2). Кроме того, начиная с 20–22-суточного возраста содержание белков водных каналов AQP2 и AQP3 в мембранной фракции увеличивается после инкубации с  $10^{-8}$  М десмопрессинном и при дегидратации животных. У 9–12-суточных животных изменения содержания белков исследуемых аквапоринов в плазматической мембране обнаружено не было (рис. 2, 3).

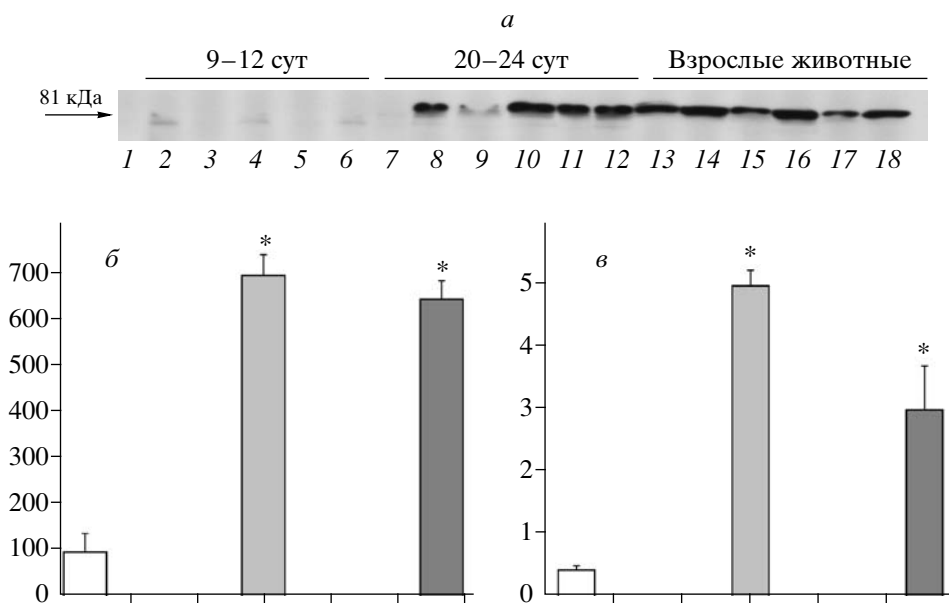
*Оценка содержания изоформ ПКС у крыс разных возрастов.* В экспериментах оценивали содержание изоформ кальцийзависимой ПКС $\alpha$ , кальцийнезависимой ПКС $\delta$  и атипичной ПКС $\xi$  в мембранной и цитозольной фракциях клеток наружного мозгового вещества почки крысы. Показано, что количество белка ПКС $\alpha$  максимально у животных в конце периода перехода к самостоятельному питанию (рис. 4) и достоверно выше у взрослых животных по сравнению с 9–12-суточными. В ходе постнатального развития изменяется соотношение  $\alpha$ -изоформы фермента, детектируемого во фракции мембран и в цитозоле. У 20–22-суточных животных преобладание мембранной формы фермен-



**Рис. 2.** Содержание белка аквапорина AQP2 в мембранной фракции наружного мозгового вещества почки крысы в постнатальном развитии, а также влияние инкубации с десмопрессинном и дегидратации животных на этот показатель. *а* – образец Вестерн-блот-гибридизации (нечетные дорожки – цитозольная фракция, четные – мембранная); *б* – денситометрический анализ автографов (высота столбцов соответствует интенсивности полос на *а*). По оси абсцисс: 1, 3, 6 – контроль; 2, 4, 7 – инкубация с десмопрессинном; 5, 8 – дегидратация. По оси ординат – суммарная оптическая плотность двух полос (рибозилированная и нерибозилированная формы белка) в мембранной фракции, усл. ед. Возраст животных: (□) – 9–12 сут, (▒) – 20–22 сут, (■) – взрослые. Число измерений  $n = 9$ , \*  $p < 0.05$  по отношению к 9–12-суточным животным, #  $p < 0.05$  по отношению к контролю внутри возрастной группы.



**Рис. 3.** Содержание белка аквапорина AQP3 в мембранной фракции наружного мозгового вещества почки крыс разных возрастов, а также влияние инкубации с десмопрессинем и дегидратации животных на этот показатель. Обозначения см. на рис. 2.



**Рис. 4.** Содержание белка PKCα в цитоплазматической и мембранной фракциях наружного мозгового вещества почки у крыс разного возраста: (□) – 9–12 сут, (▒) – 20–22 сут, (■) – взрослые.

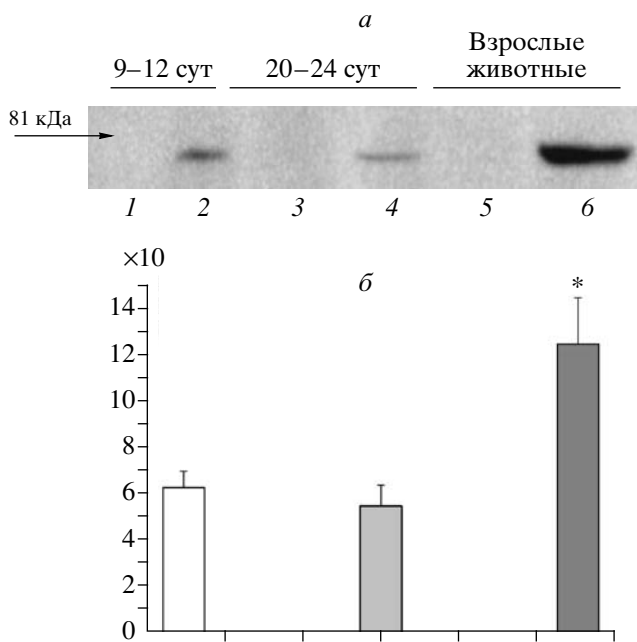
*а* – см. на рис. 2, *б* – суммарное количество белка PKCα (цитозольная и мембранная фракции) наружного мозгового вещества почки крысы, усл. ед.; *в* – соотношение содержания белка PKCα в мембранной фракции, отнесенное к такому в цитозольной фракции наружного мозгового вещества почки.

Число измерений  $n = 18$ , \*  $p < 0.05$  по сравнению с 9–12-суточными животными.

та выражено сильнее по сравнению со взрослыми и 9–12-суточными крысами.

Количество белка PKCδ достоверно выше у взрослых животных по сравнению с 9–12- и

20–22-суточными крысами, причем эта изоформа PKC обнаруживается только в мембранной фракции препаратов наружного мозгового вещества почки крысы (рис. 5).



**Рис. 5.** Содержание белка ПКС $\delta$  в мембранной фракции наружного мозгового вещества почки у крыс разного возраста (см. на рис. 4).

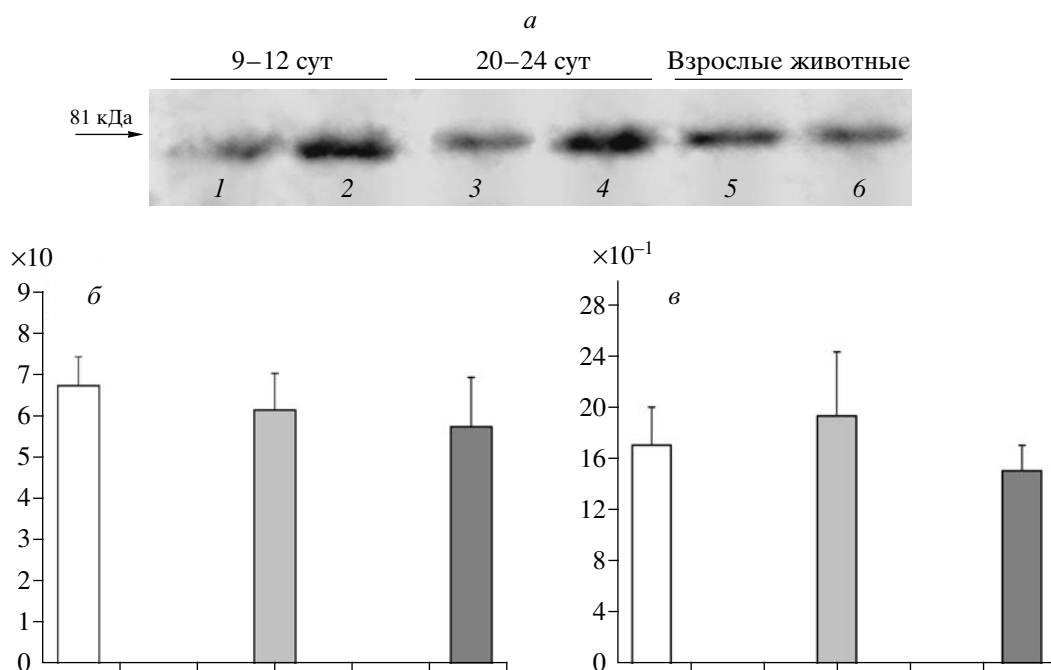
*a* – см. на рис. 2; *б* – денситометрический анализ сигнала (высота столбцов соответствует интенсивности полос на *a*). По оси ординат – относительная оптическая плотность, усл. ед. Число измерений  $n = 6$ , \*  $p < 0.5$  по отношению к 9–12-суточным животным.

Общее содержание белка ПКС $\xi$  и соотношение фермента, локализованного во фракции мембран и цитозоле у крыс, не изменяется в ходе постнатального развития (рис. 6).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Критическим периодом для становления осморегулирующих механизмов в постнатальном развитии является переход от молочного вскармливания к самостоятельному питанию. Начиная с этого возраста осмолярность мочи повышается в ответ на 24-часовую дегидратацию (Aperia, Herin, 1975; Dlouha, 1976). В наших экспериментах также показано, что клетки собирательной трубки крыс в возрасте от 9 до 12 сут имеют водную проницаемость примерно в три раза ниже, чем у взрослых животных, и не чувствительны к действию селективного агониста V2-рецепторов вазопрессина – десмопрессина (рис. 1). Реакция клеток на него, выражающаяся в увеличении водной проницаемости мембраны, появляется на 20–24 сут постнатального развития.

По-видимому, низкая водная проницаемость собирательных трубок у 9–12-суточных животных обусловлена пониженным количеством белка водных каналов. В главных клетках собирательных трубок крысы находят три типа аквапоринов – AQP2, AQP3 и AQP4, – но в наружном мозговом веществе локализованы главным образом AQP2 и AQP3 (Brown, 1995; Terris et al., 1995). В эксперимен-



**Рис. 6.** Содержание белка ПКС $\xi$  в наружном мозговом веществе почки у крыс разного возраста (см. на рис. 4).

*a* – см. на рис. 2; *б* – суммарное количество белка ПКС $\xi$  (цитозольная и мембранная фракции), усл. ед.; *в* – соотношение содержания белка ПКС $\xi$  в мембранной фракции, отнесенное к таковому в цитозольной. Число измерений  $n = 8$ .

тах по оценке содержания белка водных каналов было показано, что количество AQP2 и AQP3 в плазматической мембране увеличивается в ходе постнатального развития. Инкубация срезов почки с десмопрессинном и дегидратация животных приводили к увеличению количества белков AQP2 и AQP3 в плазматической мембране начиная с 20-суточного возраста, что совпадает со временем появления реакции собирательных трубок на десмопрессин. Ранее было показано, что содержание мРНК белков исследуемых водных каналов в наружном мозговом веществе почки крыс также увеличивается в ходе постнатального развития (Батурина и др., 2004). Вероятно, повышение экспрессии генов белков исследуемых водных каналов обеспечивает рост водной проницаемости клеток собирательных трубок в ходе постнатального развития, а созревание механизма трансдукции сигнала вазопрессина обеспечивает увеличение содержания водных каналов в мембране клеток, что лежит в основе реакции на вазопрессин.

Причина отсутствия чувствительности эпителия собирательных трубок к вазопрессину на ранних этапах развития в настоящее время активно исследуется. Существуют данные, позволяющие предположить, что в раннем постнатальном периоде несовершенен как сам рецептор, так и G-белок, сопрягающий его с аденилатциклазой, которая в этом возрасте функционально активна (Иванова и др., 1990). Кроме того, исследователи придают важное значение активности фосфодиэстеразы. Так, например, у новорожденных кроликов активность фосфодиэстеразы повышена по сравнению со взрослыми животными, и в ходе развития активность этого фермента падает. Ингибитор фосфодиэстеразы приводит к усилению эффекта вазопрессина на водную проницаемость эпителия собирательных трубок (Quigley et al., 2004). Значительный вклад цАМФ в цитоплазматическую рецепцию обусловлен регуляторными субъединицами цАМФ-зависимой протеинкиназы. Показано, что свойства цитозольных рецепторов цАМФ меняются в период созревания почки и проявления эффекта вазопрессина. В период перехода к самостоятельному питанию происходит смена типов регуляторных субъединиц, и свойства цАМФ-связывающих белков становятся, по-видимому, более адекватными для регуляции активности цАМФ-зависимой протеинкиназы (Соленов, Иванова, 1985).

Кроме цАМФ-зависимого пути в механизмах реализации и созревания гормонального ответа на вазопрессин, возможно, важную роль играет  $Ca^{2+}$ . С помощью исследования клеток собирательных трубок внутреннего мозгового вещества было установлено, что вазопрессин вызывает кратковременное повышение активности внутриклеточного кальция (Star et al., 1988; Ecelbarger et al., 1996). В экспериментах с использованием внутриклеточного хелатора ВАРТА было показано, что наряду с подавлением

эффекта вазопрессина на водную проницаемость эпителия собирательных трубок в клетках может повышаться концентрация цАМФ, но нарушается транспорт AQP2 из внутриклеточных депо в плазматическую мембрану (Chou et al., 2000; Yip, 2002). Активация кальцийзависимых форм ПКС, по-видимому, может приводить к модулированию эффекта вазопрессина. Долговременное ингибирование функции ПКС в ходе развития приводит к нарушению нефрогенеза (Serlachius et al., 1997). Роль и участие различных изоформ этого фермента в созревании механизма гидроуретического эффекта вазопрессина в настоящее время не определена.

В нашей работе с помощью Вестерн-блот-гибридизации оценивали количество белка трех изоформ ПКС у крыс в разные периоды постнатального развития – кальцийзависимой  $\alpha$ , кальцийнезависимой  $\delta$  и атипичной  $\xi$ . Показано, что содержание ПКС $\alpha$  и ПКС $\delta$  увеличивается в ходе развития, в то время как общее количество и перераспределение ПКС $\xi$  остаются неизменными (Saxena et al., 1994). При этом наиболее вероятным участником механизмов созревания гормональной компетентности клеток собирательных трубок к вазопрессину является кальцийзависимая ПКС $\alpha$ , поскольку ее общее количество в плазматической мембране максимально на 20–24-е сут, что совпадает с периодом становления эффекта вазопрессина на проницаемость собирательных трубок. Кроме того, в это же время происходит перераспределение белка ПКС $\alpha$  в мембранную фракцию, что принято связывать с переходом фермента в активную форму. Это позволяет предположить, что ПКС $\alpha$  может принимать непосредственное участие в процессе созревания механизма действия вазопрессина. В пользу этой гипотезы говорит и факт снижения концентрирующей способности почек у мышей с мутацией гена, кодирующего ПКС $\alpha$  (Yao et al., 2004). Это может служить дополнительным аргументом в пользу возможности участия указанного фермента в развитии чувствительности эпителия к вазопрессину. Выяснение роли ПКС $\alpha$  в механизме трансдукции сигнала вазопрессина требует дальнейших исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Батурина Г.С., Исаева Л.Е., Ходус Г.Р. и др. Водная проницаемость базолатеральной мембраны клеток собирательных трубок наружного и внутреннего мозгового вещества почки крыс в условиях дегидратации и при действии десмопрессина // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90. № 7. С. 865–873.
- Иванова Л.Н., Зеленина М.Н., Логвиненко Н.Г. и др. Возрастные изменения молекулярных механизмов гормональной регуляции функции почек // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1990. Т. 26. № 4. С. 482–489.
- Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Изучение цитоплазматических рецепторов цАМФ в почках крыс различного воз-

- раста с помощью гель-фильтрации // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1985. Т. ХСІХ. № 6. С. 683–685.
- Соленов Е.И., Батурина Г.С., Иванова Л.Н. Влияние вазопрессина на водную проницаемость клеток эпителия собирательных трубок почки в постнатальном онтогенезе крыс // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87. № 7. С. 965–972.
- Соленов Е.И., Батурина Г.С., Нестеров В.В. и др. Влияние дегидратации и dDAVP на проницаемость для воды базолатеральной мембраны клеток эпителия собирательных трубок почки // Там же. 2002. Т. 88. № 3. С. 387–395.
- Aperia A., Herin P. Development of glomerular perfusion rate and nephron filtration rate in rats 17–60 days old // Am. J. Physiol. 1975. V. 228. P. 1319–1325.
- Brown D., Katsura T., Kawashima M. et al. Cellular distribution of the aquaporins: a family of water channel proteins // Histochem. Cell Biol. 1995. V. 104. № 1. P. 1–9.
- Chou C.L., Yip K.P., Michea L. et al. Regulation of aquaporin-2 trafficking by vasopressin in renal collecting duct: roles of ryanodine-sensitive Ca<sup>2+</sup> stores and calmodulin // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 36839–36846.
- Dlouha H.A. Micropuncture study of the development of renal function in the young rat // Biol. Neonate. 1976. V. 29. № 1–2. P. 117–128.
- Ecelbarger C.A., Chou C.L., Lolait S.J. et al. Evidence for dual signaling pathways for V2 vasopressin receptor in rat inner medullary collecting duct // Am. J. Physiol. 1996. V. 270. P. F623–F633.
- Huang K.P. The mechanism of protein kinase C activation // Trends Neurosci. 1989. V. 12. № 11. P. 425–432.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227. P. 680–685.
- Nickols H.H., Shah V.N., Chazin W.J., Limbird L.E. Calmodulin interacts with the V2 vasopressin receptor: elimination of binding to the C terminus also eliminates arginine vasopressin-stimulated elevation of intracellular calcium // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 46969–46980.
- Nielsen S., Frokiaer J, Marples D. et al. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine // Physiol. Rev. 2002. V. 82. P. 205–244.
- 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. P. 317–322.
- Saxena R., Saksa B.A., Hawkins K. S., Ganz M. B. Protein kinase C I and 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.
- Star R.A., Nonoguchi H., Balaban R., Knepper M.A. Calcium and cyclic adenosine monophosphate as second messengers for vasopressin in the rat inner medullary collecting duct // J. Clin. Invest. 1988. V. 81. № 6. P. 1879–1888.
- Terris J., Ecelbarger C.A., Marples D. Distribution of aquaporin-4 water channel expression within rat kidney // Am. J. Physiol. 1995. V. 269. P. F775–F785.
- Yao L., Huang D. Y., Pfaff I. L. et al. Evidence for a role of protein kinase C- $\alpha$  in urine concentration // Am. J. Physiol. 2004. V. 287. № 2. P. F299–F304.
- Yip K.P. Coupling of vasopressin-induced intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization and apical exocytosis in perfused rat kidney collecting duct // J. Physiol. 2002. V. 538. Pt. 3. P. 891–899.

## The Role of Protein Kinase C in the Establishment of the Mechanism of Vasopressin Antidiuretic Action in the Rat Kidney during Mammalian Postnatal Development

L. E. Katkova, E. I. Solenov, and L. N. Ivanova

*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, pr. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia; e-mail: eugsol@bionet.nsc.ru*

Received March 13, 2009; in the final form, April 06, 2009

**Abstract**—The kidney of immaturely born mammals in early postnatal development is insensitive to the effect of the antidiuretic hormone, vasopressin. It has been demonstrated that water permeability of the epithelial cells in the collecting ducts of a rat kidney increases during development; in this process, the response to desmopressin, an agonist of vasopressin V2 receptors, appears at the age of 20 days. The observed increase in water permeability is connected with an increased content of the water channel's proteins aquaporins AQP2 and AQP3 in the plasma membrane. The calcium-dependent protein kinase C isoforms are the likely components of the vasopressin signal's transduction and are possibly involved in the mechanisms underlying the maturation of sensitivity to this hormone. The contents of three protein kinase C isoforms ( $\alpha$ ,  $\delta$ , and  $\xi$ ) in rats at different periods of their postnatal development were estimated using Western blot hybridization. It has been shown that the contents of protein kinase C isoforms  $\alpha$  and  $\delta$  increase with development, whereas the content of isoform  $\xi$  remains constant. The most likely participant of the mechanism providing for maturation of the cell's hormonal competence for vasopressin is the calcium-dependent protein kinase C $\alpha$ , because its content in the plasma membrane is maximal on days 20–24, which coincides with the time when the vasopressin action appears.

**Key words:** vasopressin, ontogenesis, aquaporins, protein kinase C, kidneys.