

РОЛЬ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ
ОСМОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У КРЫС
С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВАЗОПРЕССИНА В КРОВИ

© 2019 г. П. Д. Правикова¹, *, Л. Н. Иванова¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*E-mail: PollyPravi@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.05.2019 г.

После доработки 02.08.2019 г.

Принята к публикации 03.08.2019 г.

Исследовано влияние гуанилатциклазной системы на осморегулирующую функцию почек в экспериментах на интактных и на гидратированных крысах линии WAG, а также на вазопрессин-дефицитных крысах линии Brattleboro. Установлено, что в условиях активации гуанилатциклазной системы направленность изменений натрийуретической функции почек зависит от уровня вазопрессина в крови. У крыс WAG с нормальным уровнем вазопрессина в крови активация гуанилатциклазного каскада как в условиях стимуляции синтеза NO экзогенным донором нитропруссидом натрия (НПН), так и при устранении деградации сGMP силденафилом сопровождалась антинатрийуретической реакцией без существенных изменений параметров гидруреза. В то же время у крыс Brattleboro и у гидратированных крыс WAG в условиях применения экзогенного донора NO был выявлен натрийурез. Введение силденафила цитрата крысам Brattleboro, лишенным вазопрессина, сопровождалось иной реакцией – натрийурезом и развитием антидиуретической реакции, в то время как у гидратированных особей WAG был выявлен антидиурез без значимых изменений показателей натрийуретической функции почек. Обсуждаются возможные механизмы, лежащие в основе взаимодействия гуанилатциклазной и аденилатциклазной сигнальных систем, реализующих эффекты вазопрессина и NO на транспорт воды и натрия.

Ключевые слова: оксид азота (II), вазопрессин, крысы линии WAG и Brattleboro, гидруретическая и натрийуретическая функции

DOI: 10.1134/S0869813919120082

Осмоляльность внеклеточной жидкости, величину которой определяет главным образом концентрация натрия, у млекопитающих – один из главных гомеостатических параметров, в регуляции которого ведущая роль принадлежит почке. Натрий свободно проникает через поры капиллярной мембраны в гломерулярном аппарате, однако в экскретируемой моче содержится лишь небольшая фракция профильтрованного катиона. Реабсорбция натрия осуществляется эпителием всех сегментов нефрона и собирательных трубок и находится под контролем многих гуморальных факторов, среди которых основными являются альдостерон, ангиотензин, а также вазопрессин, способный оказывать стимулирующий или ингибирующий эффект на транспорт воды и натрия в зависимости от взаимодействия с рецепторами V₂- или V_{1a}-типа различной аффинности [1, 2].

В последние годы в модуляции осморегулирующего эффекта вазопрессина значительное внимание уделяется роли местных, тканевых факторов, выделение которых стимулирует сам гормон, формируя отрицательную обратную связь [3]. Одним из таких факторов, эндогенным субстратом для синтеза которого служит аминокислота аргинин (l-arg), является оксид азота(II), NO. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что NO оказывает ингибирующее влияние на реабсорбцию натрия, усиливая натрийурез [4, 5]. В настоящее время специального внимания заслуживает изучение особенностей действия NO на процессы транспорта воды и натрия в почечных канальцах в зависимости от уровня эндогенного вазопрессина в крови. Известно, что классический сигнальный путь для вазопрессина в эпителии собирательных трубок представлен сАМР/РКА-сигнальным внутриклеточным путем [6], в то время как NO реализует свой эффект через гуанилатциклазную систему путем активации NO/cGMP/PKG-сигнального каскада, все компоненты которого также экспрессируются в эпителии собирательных трубок [7]. Предполагается, что сАМР- и сGMP-зависимые внутриклеточные каскады вазопрессина и NO взаимосвязаны, и NO может осуществлять свое влияние на почечные процессы, модулируя эффект антидиуретического гормона посредством воздействия на активность аденилатциклазной системы [8]. Целью настоящего исследования явилось выявление особенностей осморегулирующей функции почек у крыс с различным уровнем вазопрессина в крови в условиях активации гуанилатциклазной системы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на половозрелых крысах линии WAG (Wistar Albino Glaxo) и гомозиготных вазопрессин-дефицитных крысах Brattleboro с наследственным дефектом синтеза нейрогипофизарного гормона вследствие мутации гена вазопрессина [9]. Для создания модели, адекватной вазопрессин-дефицитным крысам Brattleboro, использовались крысы WAG, у которых путем гидратации (отсутствие плотного корма, свободный доступ к 5%-ному раствору сахарозы в течение 3 сут.) подавлялась секреция эндогенного вазопрессина [10, 11]. Все опытные животные были из ЦКП вивария конвенциональных животных Института цитологии и генетики СО РАН, содержащиеся на стандартном рационе со свободным доступом к питьевой воде. Все эксперименты были осуществлены в соответствии с Правилами проведения работ с экспериментальными животными (приложение к приказу Министерства здравоохранения № 755 от 12.08.1977) и международными рекомендациями по работе с экспериментальными животными [12].

Активация NO/cGMP/PKG-сигнального каскада осуществлялась двумя способами: введением экзогенного донора NO нитропруссид натрия (НПН) и селективного ингибитора фосфодиэстеразы (PDE5) — фермента дегградации сGMP.

1) Активация синтеза NO нитропруссидом натрия

Для активации синтеза NO в условиях краткосрочного эксперимента использовался экзогенный донор NO (дигидрат нитропруссид натрия, НПН, Сигма, США). НПН предварительно растворяли в 5%-ном растворе глюкозы для инфузий и вводили внутривенно дважды в течение 2.5 ч в дозе 0.075 мг/0.1 мл/100 г массы тела. Контрольным животным вводили 5%-ный раствор глюкозы для инфузий объемом 0.1 мл/100 г массы тела.

Крысы двух линий были подразделены на 6 экспериментальных групп (от 7 до 12 особей в каждой):

- контрольные особи линии WAG и крысы WAG, которым вводился НПН;
- контрольные крысы Brattleboro и особи Brattleboro с введением НПН;
- крысы WAG, у которых подавлялась секреция эндогенного вазопрессина в условиях гидратирующего рациона, и гидратированные крысы WAG с введением НПН.

С учетом действия препарата [13, 14] через 30 мин после последней инъекции животных помещали в индивидуальные клетки с проволочным дном для сбора спонтанно выделяющейся мочи.

2) Ингибирование PDE5 силденафилом

С целью проверки значимости NO/цГМФ/PKG-сигнального каскада в регуляции процесса осмотического концентрирования мочи в условиях действия NO был применен силденафил цитрат (*Cildenafil citrate, viagra*, Сигма, США) селективный ингибитор фосфодиэстеразы 5 (PDE5), который приводит к устранению деградации cGMP. Силденафил цитрат, который предварительно растворяли в 0.9%-ном водном изотоническом растворе хлорида натрия для инъекций, однократно вводился внутривентриально в дозе 0.5 мг/0.1 мл/100 г массы тела [15]. Контрольным животным вводили раствор хлорида натрия для инфузий объемом 0.1 мл /100 г массы тела.

Все животные были разделены на 6 экспериментальных групп от 7 до 10 особей в каждой:

- контрольные особи линии WAG и крысы WAG с введением силденафила;
- контрольные крысы Brattleboro и крысы Brattleboro с введением силденафила;
- крысы WAG, находившиеся в условиях гидратирующего рациона для подавления секреции эндогенного вазопрессина, и гидратированные крысы WAG с введением силденафила.

Исходя из времени действия препарата [16], через 2 ч животных помещали в индивидуальные клетки с проволочным дном для сбора спонтанно выделяющейся мочи и измерения скорости мочеотделения (диуреза, V).

После окончания экспериментального периода животных, анестезированных тиопенталом натрия (10 мг/100 г массы тела, внутривентриально), декапитировали и забирали пробы крови.

В пробах плазмы крови и мочи измеряли осмоляльность криоскопическим методом (миллиосмометр МТ-2 “Буревестник”, Россия), концентрацию креатинина определяли методом Яффе на спектрофотометре (PD 303 VV; Apel, Saitama, Япония, 490 нм), содержание катионов натрия – методом пламенной фотометрии (Flame photometer 410 Sherwood, Великобритания). По стандартным формулам рассчитывали скорость клубочковой фильтрации (СКФ), индекс осмотического концентрирования (U_{osm}/P_{osm}), значение реабсорбции осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^c$), клиренс осмотически активных веществ ($C_{осм}$), а также скорость экскреции (E_{Na}) и экскретируемую фракцию катиона натрия (FE_{Na}).

Проверку значимости фактора генотипа (наличие/отсутствие вазопрессина) и действия препарата (активация гуанилатциклазной системы: нитропруссид натрия/силденафил цитрат) выполняли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA), используя пакет программ Statistica 8.0. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего ($M \pm SEM$), достоверность различий между значениями экспериментальных групп оценивали с помощью апостериорного критерия Дункана (post-hoc Duncan's test) для множественных сравнений. Достоверными считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании в соответствии с поставленной целью были оценены параметры, характеризующие гидруретическую и натрийуретическую функции у крыс, обладающих разной способностью к синтезу эндогенного вазопрессина, в условиях активации гуанилатциклазной системы.

Таблица 1. Гидруретическая функция крыс линий WAG и Brattleboro ($M \pm SEM$)

Показатель	Экспериментальные группы		
	WAG		Brattleboro
	контроль	гидратирующий режим	контроль
V , мл/ч на 100 г	0.15 ± 0.02	$1.09 \pm 0.11^{***}$	$0.89 \pm 0.1^{***}$
$T_{H_2O}^c$ мл/ч на 100 г	0.17 ± 0.03	$-0.38 \pm 0.13^{***}$	$-0.43 \pm 0.09^{***}$
E_{Na} , мкмоль/ч на 100 г	21.14 ± 4.02	$0.61 \pm 0.22^{***}$	$7.91 \pm 0.97^{**}$
FE_{Na} , %	0.90 ± 0.13	$0.10 \pm 0.01^{***}$	$0.25 \pm 0.04^{***}$

Примечание. V – скорость мочеотделения; $T_{H_2O}^c$ – реабсорбция осмотически свободной воды, E_{Na} – скорость экскреции натрия; FE_{Na} – экскретируемая фракция натрия. Различия достоверны при $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой WAG. Применялся апостериорный критерий Дункана (post-hoc Duncan's test).

Гидруретическая функция у контрольных крыс линий WAG и Brattleboro, лишенных эндогенного вазопрессина, содержащихся на стандартном питьевом режиме, существенно отличаются (табл. 1). У крыс линии WAG зарегистрирована низкая скорость мочеотделения, отражающая нормальный уровень эндогенного вазопрессина, что подтверждается положительными значениями показателей реабсорбции осмотически свободной воды. В то же время вазопрессин-дефицитные крысы Brattleboro характеризовались высокой скоростью диуреза, отрицательными показателями реабсорбции осмотически свободной воды. У крыс WAG на фоне подавления секреции эндогенного вазопрессина путем гидратации гипотоническим раствором сахарозы показатели гидруретической функции почек были аналогичны контрольным особям Brattleboro: высокая скорость мочеотделения вследствие отрицательных значений реабсорбции осмотически свободной воды (табл. 1). В то же время у гидратированных особей WAG была выявлена антинатрийуретическая реакция (табл. 1), возможно, вследствие действия гидратирующего питьевого режима, приводящего к стимуляции гормонов углеводного обмена (инсулина), участвующих в активации реабсорбции натрия в канальцах почки [17–19].

При активации синтеза NO путем введения его экзогенного донора (НПН) у крыс WAG, содержащихся в условиях стандартного питьевого режима, не выявлено достоверных изменений как параметров гидруретической функции (рис. 1), так и скорости клубочковой фильтрации (табл. 2). У вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro, а также у крыс WAG при подавлении секреции эндогенного вазопрессина в условиях гидратирующего рациона активация синтеза NO при введении НПН привела к увеличению скорости мочеотделения (рис. 1), обусловленному как подавлением реабсорбции осмотически свободной воды, так и нарастанием СКФ (табл. 2).

Активация синтеза NO в условиях введения НПН выявила разнонаправленную реакцию натрийуретической функции почек у крыс двух линий. У крыс WAG с высоким уровнем вазопрессина в крови при введении НПН наблюдалось падение клиренса осмотически активных веществ (рис. 2А) в связи с существенным снижением экскретируемой фракции натрия (рис. 2В) и скорости экскреции натрия (рис. 2Б). У вазопрессин-дефицитных крыс в условиях активации синтеза NO была зафиксирована натрийуретическая реакция, характеризующаяся увеличением показателя осмольного очищения вследствие нарастания скорости экскреции натрия (рис. 2). У гидратированных крыс WAG, характеризующихся снижением кли-

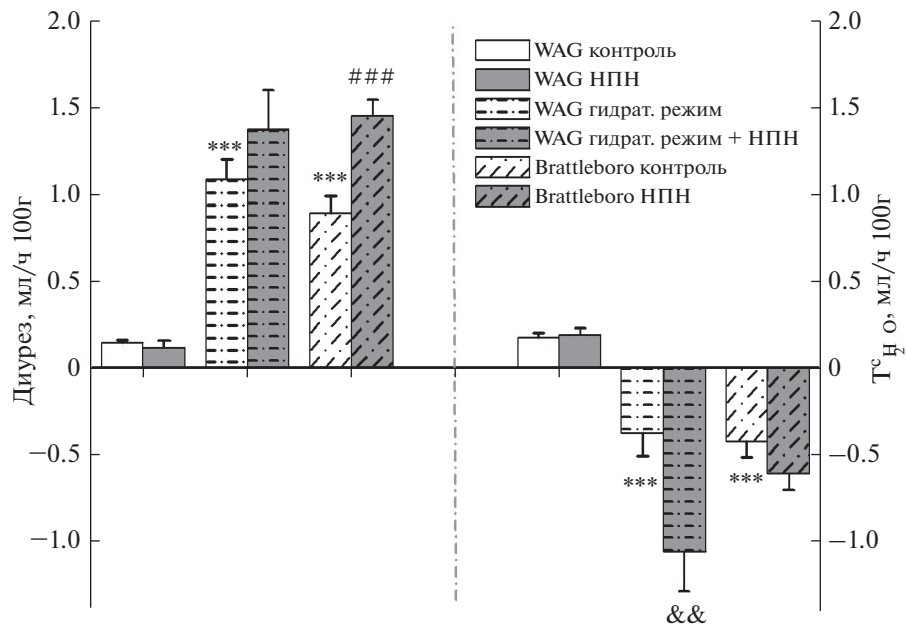


Рис. 1. Влияние активации синтеза NO нитропруссидом натрия (НПН) на скорость мочеотделения и реабсорбцию осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^c$) у крыс WAG и крыс Brattleboro в различных экспериментальных условиях ($M \pm SEM$).

Достоверность различий: $**P < 0.01$; $***P < 0.001$ – сравнение с контрольной группой WAG; $###p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой Brattleboro; $P < 0.01$ – сравнение с группой гидратированных WAG. Применялся апостериорный критерий Дункана (post-hoc Duncan's test).

ренса осмотически активных веществ в соответствии с низкой скоростью экскреции натрия (рис. 2), при введении НПН была выявлена тенденция к развитию натрийуретической реакции (рис. 2) аналогичной ответу, выявленному у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro в условиях активации синтеза NO.

Исходя из схемы внутриклеточного пути действия NO, активировать NO/cGMP/PKG-сигнальный каскад можно стимулируя как синтез NO, так и звенья гуанилатциклазного сигнального пути. В условиях введения силденафила цит-

Таблица 2. Влияние активации синтеза NO (НПН) на скорость клубочковой фильтрации (СКФ) крыс линий WAG и Brattleboro ($M \pm SEM$)

Экспериментальные группы	СКФ, мл/мин на 100 г	
	контроль	НПН
WAG	0.23 ± 0.01	0.18 ± 0.02
WAG гидратированные	0.20 ± 0.02	0.33 ± 0.03 &&&
Brattleboro	0.34 ± 0.05	0.79 ± 0.01 ###

Примечание. Различия достоверны при &&& $p < 0.001$; –сравнение с гидратированной группой WAG; $###p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой Brattleboro. Применялся апостериорный критерий Дункана (post-hoc Duncan's test).

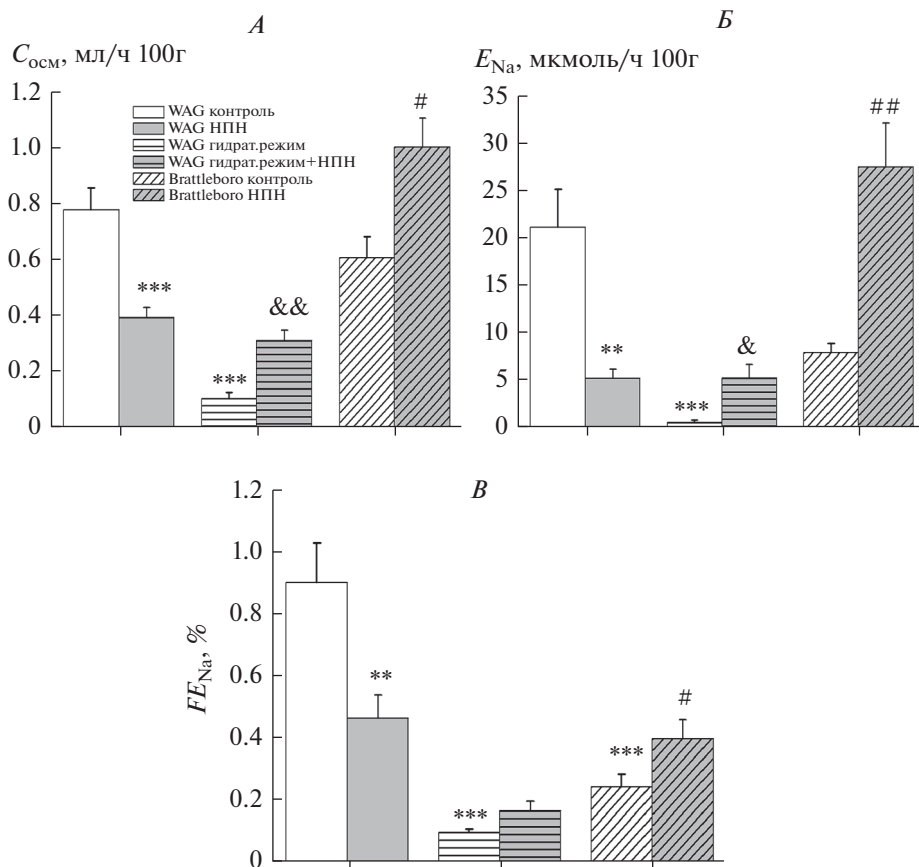


Рис. 2. Влияние активации синтеза NO нитропруссидом натрия (НПН) на параметры натрийуретической функции почек у крыс WAG и у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro в различных экспериментальных условиях ($M \pm SEM$).

A – клиренс осмотически активных веществ ($C_{осм}$); *B* – скорость экскреции натрия (E_{Na}); *B* – экскретируемая фракция натрия (FE_{Na}).

Достоверность различий: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой WAG; # $p < 0.01$; ## $p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой Brattleboro. Применялся апостериорный критерий Дункана (post-hoc Duncan's test).

рата, приводящего к повышению содержания cGMP в структурах почки [15, 20] в условиях устранения деградирующего влияния PDE5 на cGMP, у крыс WAG не было выявлено существенных изменений параметров гидруретической функции (рис. 3). В отличие от крыс WAG у крыс Brattleboro инъекция силденафила привела к падению скорости мочеотделения вследствие возрастания реабсорбции осмотически свободной воды (рис. 3). Подобный антидиуретический эффект был найден также у гидратированных крыс WAG в условиях введения силденафила (рис. 3). Селективное ингибирование PDE5 силденафилом не сопровождалось значимыми изменениями СКФ ни у одной экспериментальной группы животных (табл. 3).

В условиях применения селективного ингибитора PDE5 силденафила, приводящего к устранению деградации cGMP, были обнаружены разнонаправленные

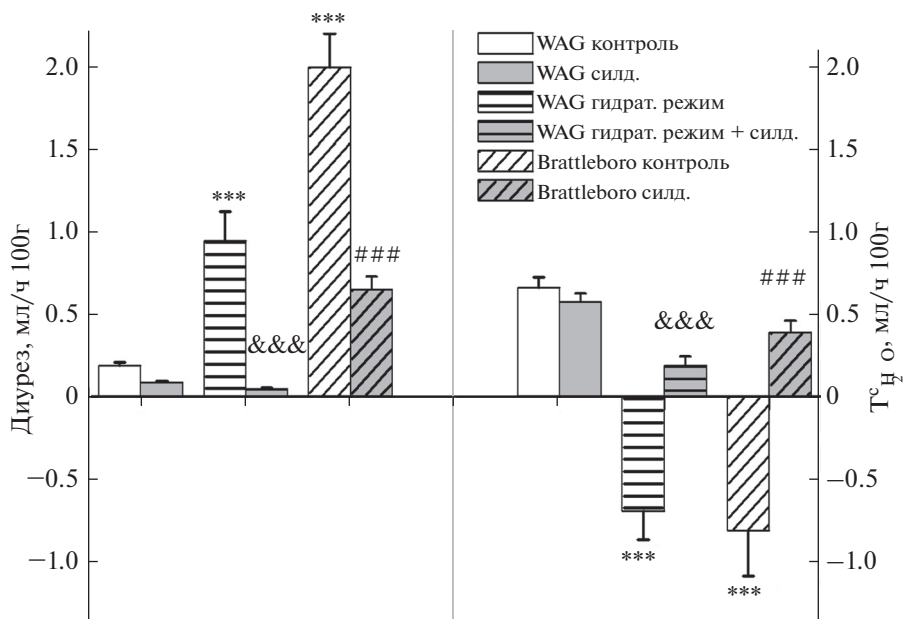


Рис. 3. Влияние ингибитора PDE5 (силденафил цитрат) на скорость мочеотделения и реабсорбцию осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^c$) в различных экспериментальных условиях ($M \pm SEM$).

Достоверность различий: * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой WAG; &&& $p < 0.001$ – сравнение с гидратированной группой WAG; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ – сравнение с контрольной группой Brattleboro. Применялся апостериорный критерий Дункана (post-hoc Duncan's test).

изменения показателей натрийуретической функции почки, которые также наблюдались в условиях применения экзогенного донора NO, НПН. У крыс WAG на фоне снижения клиренса осмотически активных веществ (рис. 4А) был зафиксирован антинатрийурез (рис. 4Б). У вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro, напротив, была выявлена натрийуретическая реакция: возрастание скорости экскреции натрия вследствие увеличенной экскретируемой фракции катиона (рис. 4Б, В). Введение силденафила цитрата гидратированным животным WAG, у которых в условиях подавления секреции эндогенного вазопрессина базальный уровень экскреции натрия был значительно снижен, не привело к значимым изменениям натрийуретической функции почек (рис. 4).

Таблица 3. Влияние ингибитора PDE5 (силденафил цитрат) на скорость клубочковой фильтрации (СКФ) у крыс линий WAG и Brattleboro ($M \pm SEM$)

Экспериментальные группы	СКФ, мл/мин на 100 г	
	контроль	силденафил
WAG	0.32 ± 0.04	0.28 ± 0.02
WAG гидратированные	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.04
Brattleboro	0.43 ± 0.02	0.46 ± 0.04

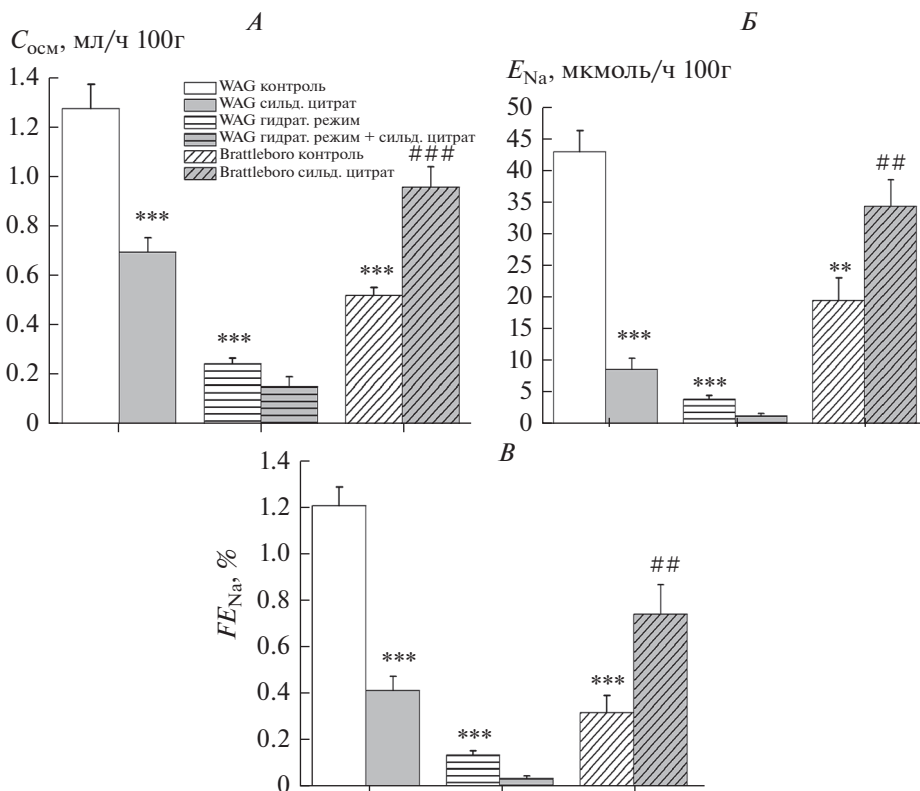


Рис. 4. Влияние ингибитора PDE5 (силденафил цитрат) на параметры натрийуретической функции почек у крыс WAG и у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro в различных экспериментальных условиях ($M \pm SEM$).

A — клиренс осмотически активных веществ ($C_{осм}$); B — скорость экскреции натрия (E_{Na}); B — экскретируемая фракция натрия (FE_{Na}).

Достоверность различий: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ — сравнение с контрольной группой WAG; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ — сравнение с контрольной группой Brattleboro. Применялся апостериорный критерий Дункана (post-hoc Duncan's test).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно современным данным, NO, активирующий cGMP-зависимый сигнальный путь, подавляет реабсорбцию натрия, ингибируя $Na^+ - K^+ - 2Cl^-$ котранспортер в толстом восходящем колене петли Генле путем активации фермента PDE2, который, в свою очередь, устраняет активирующее влияние аденилатциклазной системы на транслокацию котранспортера [4, 21, 22]. В отношении влияния NO на реабсорбцию натрия в собирательных трубках, а также в дистальных сегментах нефрона данные противоречивы. Так, было показано, что активация синтеза NO предсердным натрийуретическим пептидом усиливает cGMP-активированный транспорт натрия через ENaC-каналы в эпителиоцитах мочевого пузыря лягушки [23]. Кроме того, было обнаружено, что аналог cGMP 8-pCPT-cGMP стимулирует экспрессию гена, кодирующего α -субъединицу ENaC-канала [24], а так-

же устраняет самоингибирование ENaC-каналов [25]. Однако другие исследователи сообщают, что активация синтеза NO блокирует активность ENaC-каналов и приводит к развитию натрийуреза [2, 26], а блокада нейрональной синтазы NO (NOS1), напротив, снижает экскрецию натрия [27]. Согласно нашим ранее опубликованным данным, у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro и у гидратированных крыс WAG в условиях устранения тонического ингибирующего влияния NO на реабсорбцию натрия было выявлено снижение скорости экскреции натрия [28]. Ингибирующий эффект NO на реабсорбцию натрия подтверждается полученными нами экспериментальными данными: активация NO/cGMP/PKG-сигнального пути в условиях введения НПН у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro и гидратированных крыс WAG сопровождается развитием натрийуретической реакции, что является, согласно данным литературы, следствием прямого тонического ингибирующего действия эндогенного NO на транспорт натрия. Устранение деградации cGMP при введении силденафила, аналогично действию НПН, сопровождалось развитием натрийуреза у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro. В то же время, введение силденафила гидратированным особям WAG с частично сниженным уровнем эндогенного вазопрессина не вызвало существенных изменений натрийуретической функции, что объясняется, по-видимому, сохранением стимулирующего влияния эндогенного вазопрессина на реабсорбцию натрия. У контрольных крыс WAG антинатрийурез в условиях активации NO/cGMP/PKG-сигнального пути как при введении НПН, так и при применении силденафила цитрата, по всей видимости, обусловлен изменениями реабсорбции натрия в СТ и в дистальных частях нефрона в результате взаимодействия аденилатциклазной и гуанилатциклазных систем при действии соответственно вазопрессина и NO. Вазопрессин, связываясь с V₂-рецепторами, реализует стимулирующий эффект на реабсорбцию натрия в условиях действия cAMP-зависимого сигнального пути аналогично вазопрессин-зависимой активации транслокации AQP2 в апикальную часть мембраны эпителиоцитов собирательных трубок [29]. Гуанилатциклазная система, в свою очередь, по cGMP-зависимому пути способна оказывать активирующее влияние как на вазопрессин-регулируемую транслокацию ENaC-канала [23], так и на стимуляцию экспрессии гена, кодирующего α -субъединицу ENaC-канала [24].

Опубликованные данные о влиянии NO на транспорт воды неоднозначны [30]. Однако в последние годы многие авторы приводят доказательства подавления транспорта воды под влиянием доноров NO вследствие снижения вазопрессин-зависимого содержания cAMP в главных клетках эпителия собирательных трубок [2, 31]. Ингибирующее действие NO на вазотоцин-индуцированный осмотический ток воды было выявлено также на изолированном мочевом пузыре амфибий [32]. При этом найдено, что данный эффект является следствием активации cGMP-зависимой протеинкиназы, которая взаимодействует с гидроосмотическим эффектом вазотоцина на пост-cAMP уровне. Результаты нашего исследования показали, что активация NO/cGMP/PKG-сигнального пути не приводит к значимым изменениям гидруретической функции у крыс WAG с нормальным уровнем эндогенного вазопрессина в крови, что, видимо, связано с преобладанием активирующего влияния гормона на транспорт воды через cAMP-зависимую систему. В то же время, введение экзогенного донора NO НПН приводит к развитию диуретической реакции у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro и у гидратированных крыс WAG, что является результатом увеличения скорости клубочковой фильтрации в связи с сосудорасширяющим эффектом НПН [33].

Активация гуанилатциклазной системы силденафилом путем влияния на уровень cGMP, в отличие от введения НПН, привела к усилению осмотического концентрирования у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro и у гидратированных крыс WAG. В условиях стимуляции cGMP/PKG-сигнального каскада при введе-

нии ингибитора PDE5 силденафила у гидратированных крыс WAG, а также у вазопрессин-дефицитных крыс Brattleboro наблюдалось проявление антидиуретической реакции вследствие увеличения реабсорбции осмотически свободной воды без значимых изменений скорости клубочковой фильтрации, что согласуется с данными, полученными ранее. Так, например, в условиях применения ингибитора PDE5 в опытах *in vivo* и *in vitro* на вазопрессин-дефицитных крысах Brattleboro было выявлено увеличение транслокации AQP2 в апикальную часть мембраны эпителиоцитов собирательных трубок [15]. В экспериментах на изолированном сосочке почки было показано, что NO увеличивает Ca^{2+} /ПКС/NFATс-индуцированную экспрессию AQP2 путем влияния на промотор данного гена [34]. Кроме того, в экспериментах *in vivo* на крысах с литий-индуцированными симптомами несахарного диабета в условиях введения селективного ингибитора PDE5 силденафила, было выявлено снижение полиурии и увеличение осмоляльности экскретируемой мочи [20]. Таким образом, введение силденафила цитрата крысам в условиях врожденного отсутствия эндогенного вазопрессина или при подавлении его секреции приводит к усилению факультативной реабсорбции воды, в отличие от крыс WAG с нормальным уровнем гормона. Следовательно, в отношении влияния стимуляции NO/cGMP/PKG-сигнального пути на параметры гидруретической функции более значимый эффект принадлежит вазопрессину в реализации гидроосмотического эффекта.

Активация NO/cGMP/PKG-сигнального каскада как путем введения экзогенного донора NO (НПН), так и при устранении деградации cGMP силденафилом приводит к значительным изменениям параметров натрийуретической функции, причем направленность этих изменений зависит от уровня вазопрессина в крови. Непосредственный эффект NO, как было установлено на вазопрессин-дефицитной генетической модели Brattleboro, в условиях активации гуанилатциклазной системы проявлялся в ингибировании реабсорбции натрия, что приводило к развиту натрийуреза. У крыс WAG с врожденной способностью к синтезу вазопрессина, напротив, активация NO/cGMP/PKG-сигнального каскада синергичным способом усиливала антинатрийуретический эффект гормона.

Таким образом, гуанилатциклазная система модулирует осморегулирующую функцию почек, направленность изменения параметров которой при активации NO/cGMP/PKG-сигнального каскада реализуются путем взаимодействия гуанилатциклазного и аденилатциклазного сигнальных путей, причем базальная активность аденилатциклазного пути, зависящего от уровня вазопрессина, является определяющей.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект № 0324-2019-0041) и при поддержке РФФИ (проект № 17-04-01073).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Perucca J., Bichet D.G., Bardou P., Bouby N., Banki L.* Sodium excretion in response to vasopressin and selective vasopressin receptor antagonists. *J. Am. Soc. Nephrol.* 19: 1721–1731. 2008.
2. *Pearce D., Soundararajan R., Trimpert C., Kashlan O.B., Deen P.M.T., Kohan D. E.* Collecting duct principal cell transport processes and their regulation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 10: 135–146. 2015.
3. *Moneer Z., Dyer J.L., Taylor C.W.* Nitric oxide co-ordinates the activities of the capacitative and non-capacitative Ca^{2+} entry pathways regulated by vasopressin. *Biochem. J.* 370: 439–448. 2003.
4. *Ares G.R., Caceres P.S., Ortiz P.A.* Molecular regulation of NKCC2 in the thick ascending limb. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 301: 1143–1159. 2011.
5. *Garvin J.L., Herrera M., Ortiz P.A.* Regulation of renal NaCl transport by nitric oxide, endothelin, and ATP: Clinical implications. *Annu. Rev. Physiol.* 73: 359–376. 2011.

6. *Tamma G., Robben J.H., Trimpert C., Boone M., Deen P.M.* Regulation of AQP2 localization by S256 and S261 phosphorylation and ubiquitination. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 300: 636–646. 2011.
7. *Chang J., Ding Y., Zhou Z., Nie H., Ji H.* Transepithelial fluid and salt re-absorption regulated by cGK2 signals. *Int. J. Mol. Sci.* 19(3): 1–8. 2018.
8. *Bouley R., Hasler U., Lu H.A., Nunes P., Brown D.* Bypassing vasopressin receptor signaling pathways in nephrogenic diabetes insipidus. *Semin. Nephrol.* 28: 266–278. 2008.
9. *Valtin H., Schroeder H.A.* Familial hypothalamic diabetes insipidus in rats (*Brattleboro* rata). 1964 [classical article]. *J. Am. Soc. Nephrol.* 8: 1333–1341. 1997.
10. *Yamauchi A., Nakanishi T., Takamitsu Y., Sugita M., Imai E., Noguchi T., Fujiwara Y., Kamada T., Ueda N.* In vivo osmoregulation of Na/myo-inositol cotransporter mRNA in rat kidney medulla. *J. Am. Soc. Nephrol.* 5: 62–67. 1994.
11. *Fathollahi A., Daneshgari F., Hanna-Mitchell A.T.* Effect of polyuria on bladder function in diabetics versus non-diabetics: an article review. *Curr. Urol.* 8(3): 119–125. 2015.
12. *Hubrecht R., Kirkwood J. Hertfordshire S.T.(Eds).* The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 2010.
13. *Tanahashi M., Sekizawa T., Yoshida M., Suzuki-Kusaba M., Hisa H., Satoh S.* Effects of sodium nitroprusside on renal functions and NO-cGMP production in anesthetized dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 33: 401–408. 1999.
14. *Hottinger D.G., Beebe D.S., Kozhimannil T., Prielipp R.C., Belani K.G.* Sodium nitroprusside in 2014: a clinical concepts review. *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.* 30(4): 462–471. 2014.
15. *Bouley R., Pastor-Soler N., Cohen O., McLaughlin M., Breton S., Brown D.* Stimulation of AQP2 membrane insertion in renal epithelial cells in vitro and in vivo by the cGMP phosphodiesterase inhibitor sildenafil citrate (Viagra). *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 288: 1103–1112. 2005.
16. *Assadi F., Sharbat F.G.* Sildenafil for the treatment of congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Am. J. Nephrol.* 42: 65–69. 2015.
17. *Frindt G., Palmer L.G.* Effects of insulin on Na and K transporters in the rat CCD. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 302: 1227–1233. 2012.
18. *Pavlov T.S., Ilatovskaya D.V., Levchenko V., Li L., Ecelbarger C.M., Staruschenko A.* Regulation of ENaC in mice lacking renal insulin receptors in the collecting duct. *FASEB. J.* 27: 2723–2732. 2013.
19. *Ilatovskaya D.V., Levchenko V., Brands M.W., Pavlov T.S., Staruschenko A.* Cross-talk between insulin and IGF-1 receptors in the cortical collecting duct principal cells: Implication for ENaC-mediated Na⁺ reabsorption. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 308: 713–719. 2015.
20. *Sanchez T.R., Volpini R.A., Massola Shimizu M.H., Bragança A.C., Oshiro-Monreal F., Seguro A.C., Andrade L.* Sildenafil reduces polyuria in rats with lithium-induced NDI. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 302: 216–225. 2012.
21. *Mount D.B.* Thick ascending limb of the loop of Henle. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 9: 1974–1986. 2014.
22. *Wu P., Gao Z., Ye S., Qi Z.* Nitric oxide inhibits the basolateral 10-pS Cl channels through cGMP/PKG signaling pathway in the thick ascending limb of C57BL/6 mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 310: 755–762. 2016.
23. *Yamada T., Konno N., Matsuda K., Uchiyama M.* Frog atrial natriuretic peptide and cGMP activate amiloride-sensitive Na⁺ channels in urinary bladder cells of Japanese tree frog, *Hyla japonica*. *J. Comp. Physiol. B.* 177: 503–508. 2007.
24. *Chen J., Zhang H., Zhang X., Yang G., Lu L., Lu X., Wan C., Ijiri K., Ji H., Li Q.* Epithelial sodium channel enhanced osteogenesis via cGMP/PKGII/ENaC signaling in rat osteoblast. *Mol. Biol. Rep.* 41: 2161–2169. 2014.
25. *Han D., Nie H., Su X., Shi X., Bhattarai D., Zhao M., Zhao R., Landers K., Tang H., Zhang L., Ji H.* 8-(4-Chlorophenylthio)-Guanosine-39,59-Cyclic Monophosphate-Na Stimulates Human Alveolar Fluid Clearance by Releasing External Na⁺ Self-Inhibition of Epithelial Na⁺ Channels. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 45: 1007–1014. 2011.
26. *Hyndman K.A., Mironova E.V., Giani J.F., Dugas C., Collins J., McDonough A.A., Stockand J.D., Pollock J.S.* Collecting Duct Nitric Oxide Synthase 1 α Activation Maintains Sodium Homeostasis During High Sodium Intake Through Suppression of Aldosterone and Renal Angiotensin II Pathways. *J. Am. Heart Assoc.* 6(10): 1–14. 2017.
27. *Nakano D., Pollock J.S., Pollock D.M.* Renal medullary ETB receptors produce diuresis and natriuresis via NOS1. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 294: F1205–F1211. 2008.
28. *Правикова П.Д., Иванова Л.Н.* Влияние блокады синтеза оксида азота на диуретическую и натрийуретическую функции почки у крыс с различным уровнем эндогенного вазопрессина в крови. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 104(1): 96–102. 2018. [*Pravikova P.D., Ivanova L.N.* Effect of nitric oxide (NO) synthesis inhibition on the diuretic and natriuretic kidney functions in rats with various blood vasopressin levels. *Russ. J. Physiol.* 104(1): 96–102. 2018. (In Russ.)].

29. *Boulkroun S.* Vasopressin-inducible ubiquitinspecific protease 10 increases ENaC cell surface expression by deubiquitylating and stabilizing sorting nexin 3. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 295: 889–900. 2008.
30. *Ortiz P.A., Garvin J.L.* Role of nitric oxide in the regulation of nephron transport. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 282: 777–784. 2002.
31. *Hyndman K.A., Boesen E.I., Elmarakby A.A., Brands M.W., Huang P., Kohan D.E., Pollock D.M., Pollock J.S.* Renal collecting duct NOS1 maintains fluid-electrolyte homeostasis and blood pressure. *Hypertension.* 62: 91–98. 2013.
32. *Fock E.M., Lavrova E.A., Bachtееva V.T., Chernigovskaya E.V., Parnova R.G.* Nitric oxide inhibits arginine-vasotocin-induced increase of water osmotic permeability in frog urinary bladder. *Eur. J. Physiol.* 448: 197–203. 2004.
33. *Helal I., Fick-Brosnahan G., Reed-Gitomer B., Schrier R.* Glomerular hyperfiltration: Definitions, mechanisms and clinical implications. *Nat. Rev. Nephrol.* 8: 293–300. 2012.
34. *Borghese Albertoni M.F., Bettini L.M., Nitta C.H., de Frutos S., Majowicz M., Gonzalez Bosc L.V.* Aquaporin-2 promoter is synergistically regulated by nitric oxide and nuclear factor of activated T cells. *Nephron Extra.* 1: 124–138. 2011.

The Role of Guanilate Cyclase System in the Osmoregulating Renal Function in Rats with Different Blood Vasopressin Levels

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

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

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

Abstract—We studied the effect of guanilate cyclase signaling pathway on the diuretic and natriuretic renal functions in intact and hydrated WAG rats and also in vasopressin-deficient Brattleboro rats. We show that the direction of the changes in natriuretic function under conditions of guanilate cyclase signaling pathway activation is dependent on the blood vasopressin (Vp) level. In WAG rats with normal blood Vp level, the guanilate cyclase signaling cascade activation by NO synthesis activation by the exogenous donor sodium nitroprusside (SNP), as well as after the elimination of cGMP degradation by sildenafil administration, was accompanied by an antidiuretic response without any significant changes of hydruretic function. In contrast, in Brattleboro rats and hydrated WAG rats under SNP treatment, the the natriuretic reaction was observed. The cildenafil citrate administration in vasopressin-deficient Brattleboro rats was followed by the natriuresis, as well as the antidiuretic reaction, while in hydrated WAG rats the natriuretic reaction without any significant changes of natriuretic renal functions was observed. The possible mechanisms underlying the cAMP and cGMP signaling systems interaction that mediates the effects of the vasopressin and NO on the water and sodium transport are discussed.

Keywords: nitric oxide (II), vasopressin, WAG and Brattleboro rats, hydrouretic and natriuretic functions

ЦИТИРОВАТЬ:

Правикова П.Д., Иванова Л.Н. Роль гуанилатцикласной системы в реализации осморегулирующей функции почек у крыс с различным уровнем вазопрессина в крови. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(12): 1502–1513.

DOI: 10.1134/S0869813919120082

TO CITE THIS ARTICLE:

Pravikova P.D., Ivanova L.N. Effect of Guanilate Cyclase System in Manifestation of the Osmoregulating Renal Function in Rats with Different Blood Vasopressin Level. *Russian Journal of Physiology.* 105(12): 1502–1513.

DOI: 10.1134/S0869813919120082