

ROLA AKWAPORYNY 2 W NERKOWEJ RESORPCJI WODY U NOWORODKÓW*

ROLE OF AQUAPORIN 2 IN RENAL WATER RESORPTION IN NEONATES

Katarzyna MICHAŁEK

Katedra Fizjologii Zwierząt i Cytobiologii, Wydział Biotechnologii i Hodowli
Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Streszczenie: Resorpcja wody w kanalikach nerkowych zależna od wazopresyny (*AVP*) odbywa się poprzez wyspecjalizowane kanały wodne – akwaporyny 2 (*AQP2*). *AQP2* to transbłonowe białko o tetramerycznej budowie, w której każda podjednostka jest selektywnie przepuszczalna tylko dla cząsteczek wody. U ssaków przy braku stymulacji wazopresyną, akwaporyna zmagazynowana jest w wewnątrzkomórkowych pęcherzykach nabłonka kanalików dystalnych i zbiorczych. *AVP* oddziałuje za pośrednictwem swoistych receptorów V_2 . W wyniku związania wazopresyny z receptorem dochodzi do wzrostu syntezy cAMP i zwiększenia aktywności kinazy białkowej A (*PKA*). Aktywna forma *PKA* fosforyluje cytoplazmatyczny C-koniec seryny w 4 pozycjach: Ser256, Ser261, Ser264 i Ser269. Fosforylacja co najmniej trzech monomerów akwaporyny 2 jest warunkiem rozpoczęcia przemieszczania się *AQP2* z pęcherzyków, a następnie fuzji tego białka ze szczytową błoną komórki. Nerki noworodków zwierząt i ludzi wykazują szereg odrębności zarówno morfologicznych, jak i czynnościowych. Procesem adaptacji, wzrostu i dojrzewania towarzyszy nasilenie zachorowań, w których największy udział przypisuje się zaburzeniom wodno-elektrolitowym na skutek utraty wody i elektrolitów zarówno drogą nerkową, jak i poza nerkową. Zaburzeniom bilansu wodnego sprzyja pourodzeniowa niedojrzałość nerek – ich wąska rezerwa czynnościowa i ograniczone możliwości do wydalania zagęszczonego moczu. Mała zdolność nerek noworodków do oszczędzania wody może wynikać nie tylko ze zmniejszonej zdolności do wytwarzania gradientu osmotycznego w rdzeniu nerki, ale również z mniej sprawnej odpowiedzi nerek na wazopresynę z udziałem *AQP2*. Udział tej akwaporyny w kanalikowej resorpcji wody u noworodków nie jest wyjaśniony, a wydaje się, że może ona stanowić kluczową rolę w tym procesie. Ekspresja *AQP2* w kanalikach nerkowych nowonarodzonych zwierząt i ludzi jest o blisko 50% niższa w porównaniu z osobnikami dorosłymi. Ponadto w nerkach noworodków stwierdza się zmniejszoną wrażliwość kanalików nerkowych na działanie wazopresyny (związaną z mniejszą ekspresją receptorów V_2), wysoką koncentrację PGE_2 , niskie stężenie cAMP oraz ograniczoną produkcję *PKA* typu alfa. Stwierdzono również, że u noworodków, w odróżnieniu od osobników dorosłych, brak jest ścisłej zależności pomiędzy stężeniem wazopresyny a wydalaniem akwaporyny 2 z moczem.

Słowa kluczowe: noworodki, nerki, wazopresyna, receptory V_2 , akwaporyna 2.

*Praca powstała podczas realizacji grantu nr N N311 016239 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Summary: Arginine vasopressin (AVP) related water resorption in the collecting duct acts through aquaporins 2 – specific water channels. AQP2 are small integral tetrameric plasma membrane proteins. Each of four subunits is selectively permeable to water. In mammals lack of vasopressin stimulation causes AQP2 storage in intracellular vesicles of the principal cells of the renal distal tubule and collecting duct. AVP acts through specific V_2 receptors. Arginine vasopressin receptor binding increases intracellular production of cAMP and increases protein kinase A (PKA) activity. Ser256, Ser261, Ser264 and Ser269 are phosphorylated in the cytoplasmic C-terminal region of AQP2 by active PKA. Phosphorylation of at least three AQP2 monomers in each tetramer is required to start AQP2 translocation from intracellular vesicles and to cause their fusion with the apical membrane. Kidneys of animals and human neonates show a lot of morphological and functional differences. Adaptation, growth and maturation processes may be accompanied by escalation of diseases. Especially water-electrolyte imbalance can occur as a result of renal and extrarenal loss of water and electrolytes. Kidney immaturity after birth (renal narrow functional reserve and limited ability to excrete concentrated urine) favors this kind of disorders. Reduced ability to form osmotic gradient in kidney medulla as well as less efficient kidney response to vasopressin with AQP2 may cause lower capacity to save water in neonate kidneys. Role of this aquaporin in water tubular resorption in neonate is not explained but it may play the key role in this process. The renal tubular AQP2 expression in neonates is about 50% lower than in adults. In addition lower expression of V_2 receptors in newborn kidneys causes reduced response to AVP. Higher levels of PGE_2 , lesser levels of cAMP and restricted PKA α production are also observed in neonates. Moreover in neonates in comparison to adults renal AQP2 excretion do not correlate strictly with AVP concentration.

Key words: neonates, kidneys, vasopressin, V_2 receptors, aquaporin 2.

WSTĘP

Akwaporyna 2 (AQP2) to transbłonowe białko o masie cząsteczkowej 29 kDa zlokalizowane głównie w komórkach kanalików dystalnych i zbiorczych nerek. Unikatowa budowa AQP2 i jej selektywna przepuszczalność tylko dla cząsteczek wody sprawia, że ma ona fundamentalne znaczenie w nerkowej regulacji bilansu wodnego [4, 8, 14, 17, 45]. Ekspresja akwaporyny 2 w nerkach u dorosłych osobników jest ściśle regulowana przez antydiuretyczny hormon wazopresynę (AVP). Hormon ten o masie cząsteczkowej 1084 Da syntetyzowany jest w podwzgórzcu i magazynowany w tylnym płacie przysadki mózgowej. Podstawowymi bodźcami stymulującymi uwalnianie AVP są wzrost ciśnienia osmotycznego płynu pozakomórkowego i zmniejszenie objętości krwi krążącej [1, 21, 27]. U osobników dorosłych w odpowiedzi na wzrost koncentracji wazopresyny w osoczu krwi w ciągu ok. 1 minuty dochodzi do przemieszczania AQP2 z pęcherzyków i jej fuzji z apikalną błoną komórek. W efekcie dochodzi prawie do 5-krotnego wzrostu przepuszczalności kanalików dystalnych i zbiorczych dla wody [15, 29]. U ssaków przy braku stymulacji wazopresyną, akwaporyna zmagazynowana jest w pęcherzykach wewnątrz komórek nabłonka kanalików nerkowych [11, 25].

Liczne badania przeprowadzone u noworodków ludzkich oraz zwierząt laboratoryjnych wykazały zmniejszoną zdolność nerek do oszczędzania wody [40, 47, 53, 54, 55]. Ograniczone możliwości kanalików nerkowych do zatrzymywania wody we wczesnym okresie pourodzeniowym są wypadkową działania wielu czynników. Wśród nich należy wymienić mniej sprawną odpowiedź nerek na wazopresynę z udziałem AQP2. Udział tej akwaporyny w kanalikowej resorpcji wody u noworod-

ków zwierząt i ludzi nie jest w pełni wyjaśniony, a wydaje się, że może on stanowić kluczową rolę w tym procesie.

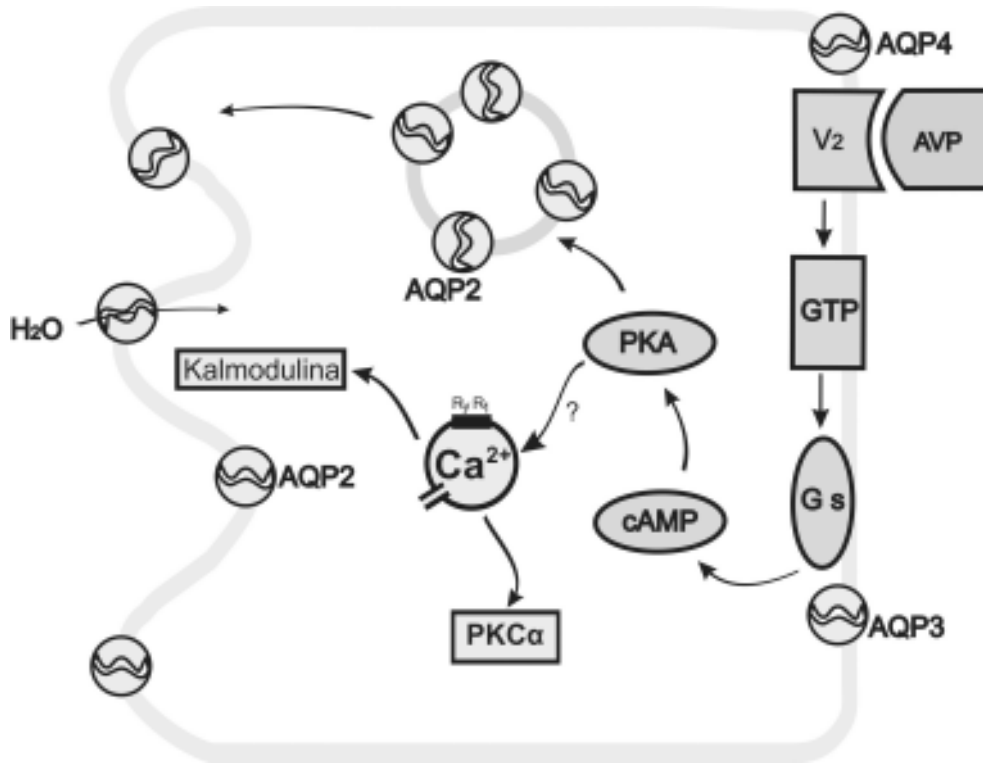
MECHANIZM TRANSPORTU I FUZJI AQP2 Z BŁONĄ KOMÓRKOWĄ

Wazopresyna oddziałuje za pośrednictwem swoistych receptorów V typu drugiego (V_2) zlokalizowanych w błonie przynadstawno-bocznej komórek kanalików dystalnych i zbiorczych [27, 47]. W wyniku związania wazopresyny z receptorem V_2 dochodzi do aktywacji podjednostki alfa białka G_s , która z kolei stymuluje cyklazę adenylnową. W efekcie wzrasta produkcja cAMP, który następnie zwiększa aktywność kinazy białkowej A (PKA) [4, 13, 15, 50]. Aktywna forma PKA fosforyluje serynę w pozycji Ser256, zlokalizowaną na cytoplazmatycznym C-końcu monomeru AQP2. Fosforylacja co najmniej trzech monomerów akwaporyny 2 jest warunkiem rozpoczęcia przemieszczania się AQP2 z pęcherzyków, a następnie fuzji tego białka z apikalną błoną komórki i zmiany jej przepuszczalności dla wody (ryc. 1) [15, 24].

Ostatnie badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, że w odpowiedzi na AVP fosforylacja seryny zachodzi również w pozycji: Ser261, Ser264 i Ser269. Znaczenie fosforylacji wymienionych pozycji seryny nie jest w pełni wyjaśnione. Trudno również jednoznacznie stwierdzić, czy wszystkie te pozycje są fosforylowane w danej podjednostce AQP2 [7, 37, 38]. Wykazano jednak, że fosforylacja Ser256 jest warunkiem niezbędnym do rozpoczęcia redystrybucji z pęcherzyków i fuzji akwaporyny 2 z błoną komórkową [7, 52, 57].

Z badań przeprowadzonych na szczurach wynika, że po podaniu syntetycznego analogu wazopresyny – dezmopresyny – DDAVP (deamino-D-argininowazopresyna) fosforylacja seryny w pozycji 269 stanowi średnio od 3 do 26% całkowitej ilości ufosforylowanej AQP2 w nerce. Fosforylacji w pozycji 264 ulega niespełna 5% seryny w kanalikach zbiorczych. Pomimo wysokiego poziomu podstawowego zmianom nie ulega ilość ufosforylowanej Ser256 [15]. U tych samych szczurów, w przeciwległej nerce stwierdzono, że po iniekcji DDAVP ilość AQP2 w apikalnej błonie kanalików zbiorczych wzrasta z 11% do 25%. Podobne zależności w odpowiedzi na dezmopresynę obserwowano w hodowlach komórkowych (*collecting duct cell line mpk CCD*). Autorzy cytowanych badań sugerują, że pomiar wzrostu ilości ufosforylowanej Ser269 w kanalikach nerkowych mógłby posłużyć jako konstytutywny wskaźnik odzwierciedlający działanie wazopresyny oraz ilości akwaporyny 2 wbudowanej w szczytową błonę komórek kanalików zbiorczych [15].

W procesie wbudowywania akwaporyny 2 w błonę komórkową istotną rolę odgrywa wewnątrzkomórkowy wzrost stężenia jonów wapnia [41]. Zahamowanie wzrostu poziomu wewnątrz komórek Ca^{2+} całkowicie znosi wzrost przepuszczalności kanalików nerkowych dla wody. Interakcja wazopresyny z receptorem V_2 i aktywacja PKA powoduje m.in. uwalnianie wapnia z magazynów wewnątrzkomórkowych za pośrednictwem receptorów rianodynowych (RyR_1) [7]. Zwiększenie koncentracji

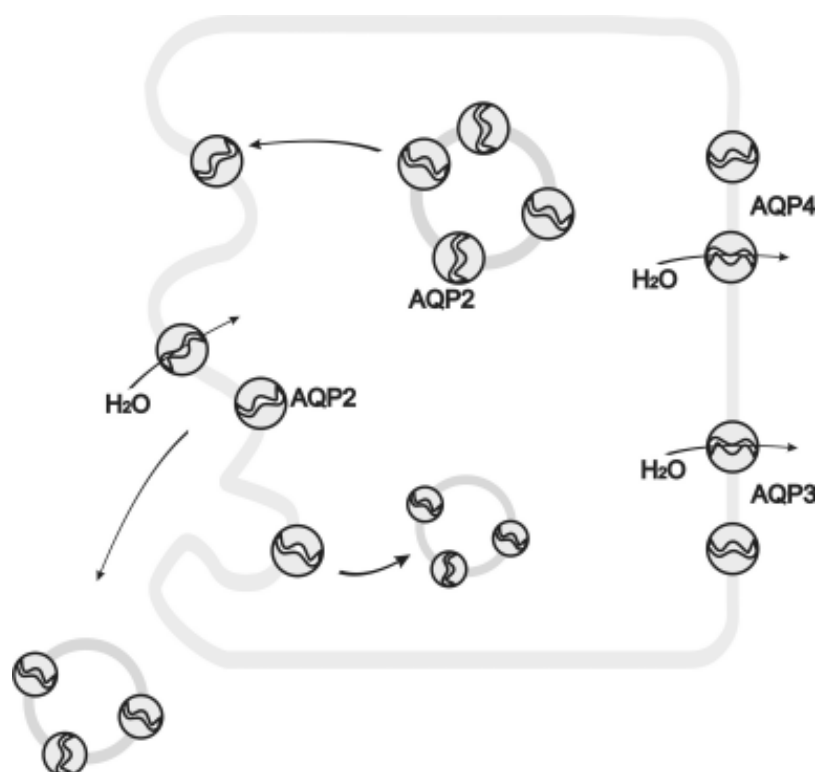


RYCINA 1. Schemat przedstawiający aktywację białka G_s , wewnątrzkomórkowy wzrost produkcji cAMP, aktywację PKA, wewnątrzkomórkowy wzrost Ca^{2+} , aktywacja PKC α oraz fosforylację i wbudowywanie AQP2 w szczytową błonę komórek kanalików dystalnych w odpowiedzi na stymulację AVP (na podstawie [7])

FIGURE 1. Schematic representation of G_s activation, increased intracellular cAMP production, PKA activation, increased intracellular Ca^{2+} levels, PKC α activation, phosphorylation and fusion of AQP2 with the apical plasma membrane of the collecting duct cells in response to AVP stimulation (based on [7])

Ca^{2+} aktywuje m.in. kalmodulinę, kinazę białkową C alfa (PKC-alfa) oraz fosfolipazę A (PLA) (ryc. 1) [7].

Mechanizm działania wapnia w kanalikach nerkowych jest złożony i nadal w pełni niewyjaśniony. Interesujący jest fakt, że u szczurów wzrost koncentracji wapnia w osoczu krwi wywołany podawaniem witaminy D, powodował zmniejszenie o blisko 50% ekspresji akwaporyny 2 w komórkach kanalików zbiorczych [6]. Przypuszczalnie wzrost osoczowej koncentracji wapnia powoduje m.in. zahamowanie aktywacji stymulowanej przez wazopresynę cykazy adenylowej i zmniejszenie produkcji cAMP [6]. Jak podaje Procino i in. [31], wzrost osoczowej koncentracji Ca^{2+} stymuluje zlokalizowany m.in. w błonie podstawnej komórek receptor wapnia zewnątrzkomórkowego CaR (*calcium-sensing receptor*). Przypuszczalnie pobudzenie CaR powoduje m.in. poprzez aktywację fosfolipazy C (PLC), zmniejszenie produkcji cAMP, zwiększenie zawartości F-aktyny, a



RYCINA 2. AQP2 po fuzji z błoną komórkową jest wydzielana do moczu lub ulega endocytozie

FIGURE 2. AQP2 after fusion with cell membrane is excreted into urine or undergo endocytosis

także aktywację kinazy białkowej C. Aktywna forma PKC najprawdopodobniej pobudza m.in. proces endocytozy AQP2 [4,31].

W procesie redystrybucji akwaporyny 2 z pęcherzyków uczestniczą liczne białka motoryczne i cytoszkieletu. Są to m.in. dyneina, dynaktyna oraz miozyna. Ponadto w fuzji z błoną komórkową pęcherzyków transportujących AQP2 biorą udział specyficzne białka VAMP-2 (*vesicle-associated membrane protein 2*) oraz syntaksyna-4 [4, 15, 49]. Po zakończeniu stymulacji wazopresyną, AQP2 może ulec endocytozie lub zostać wydzielona do światła cewek nerkowych. Około 3% AQP2 w kanalikach zbiorczych wydalane jest wraz z moczem, co pozytywnie koreluje z poziomem wazopresyny w osoczu krwi (ryc. 2) [48]. Na podstawie tej zależności wysunięto koncepcję, że pomiar AQP2 w moczu może być czułym, biochemicznym wskaźnikiem działania wazopresyny w nerkach oraz przydatnym parametrem w diagnozowaniu zaburzeń gospodarki wodnej [4, 26, 28, 37].

Redystrybucja AQP2 z wewnątrzkomórkowych pęcherzyków do błony szczytowej komórek kanalików zbiorczych oraz wydalanie tych białek z moczem następuje w tak zwanej „szybkiej” odpowiedzi na wazopresynę. Podczas długotrwałego odwodnienia, zwiększone wydzielanie wazopresyny przyczynia się do adaptacyjnych

zmian ogólnej puli AQP2 [9,15]. Długotrwałe podawanie wazopresyny szczurom Brattleboro, z wrodzonym genetycznie niedoborem AVP, powoduje zwiększenie ekspresji AQP2 i normalizację diurezy [5]. Całkowita ilość tego białka wzrasta w wyniku zwiększenia wewnątrzkomórkowej koncentracji cAMP i PKA. Kinaza białkowa A fosforyluje białka m.in. CREB-P (*cyclic-AMP response element-binding protein*) oraz c-Jun/c-Fos, które nasilają transkrypcję genu akwaporyny 2 [2, 4, 42].

ROLA WAZOPRESYNY W NERKOWEJ RETENCJI WODY U NOWORODKÓW

Nerki noworodków zwierząt i ludzi wykazują szereg odrębności zarówno morfologicznych, jak i czynnościowych w porównaniu z osobnikami dorosłymi. Charakteryzuje je wąska rezerwa czynnościowa oraz ograniczone możliwości do wydalania zagęszczonego moczu [32, 33]. U niemowląt, zarówno urodzonych przedwcześnie jak i o terminie, mocz ulega zagęszczeniu maksymalnie do 600–800 mmol/kg H₂O [22, 30, 33]. Zdolność do zagęszczania moczu u niemowląt wrażliwa stopniowo i pełną wartość osiąga w 12–18 miesiącu życia [54, 55]. Ograniczone możliwości nerek do oszczędzania wody we wczesnym okresie pourodzeniowym są wynikiem działania wielu czynników. Wśród nich należy wymienić m.in. niepełną dojrzałość struktury morfologicznej nerek, zmniejszoną zdolność do wytwarzania wysokiego gradientu osmotycznego w rdzeniu nerki oraz mniej sprawną odpowiedź kanalików dystalnych i zbiorczych na wazopresynę z udziałem AQP2 [6, 46, 47].

U noworodków szczurzych obserwuje się niski poziom wazopresyny magazynowanej w tylnym płacie przysadki mózgowej. Wykazano jednak, że pod wpływem przedłużającego się odwodnienia młode szczury zdolne są do sekrecji AVP na poziomie zbliżonym do osobników dorosłych [3]. Badania przeprowadzone na ciężarnych owcach wskazują również na pełną zdolność płodów do sekrecji wazopresyny w odpowiedzi na podanie hipertonicznego roztworu [51]. Wykazano, że odwodnienie matek powoduje wzrost stężenia wazopresyny we krwi płodów z 3 do 19 pg/ml [20].

Krążąca w osoczu krwi wazopresyna ulega częściowo filtracji w kłębuszkach nerkowych i wydalana jest wraz z moczem [47]. Badania przeprowadzone u noworodków ludzkich wykazały, że nerkowe wydalanie AVP w pierwszym miesiącu życia jest większe u wcześniaków (średnio 93 pg/mg kreatyniny) niż u noworodków donoszonych (średnio 37 pg/mg kreatyniny) i wartości te zbliżone są do obserwowanych u dorosłych [47].

Pomimo wzmoczonej produkcji AVP w odpowiedzi na wzrost ciśnienia osmotycznego krwi, zarówno u płodów jak i noworodków, według większości autorów nie dochodzi do wzrostu zagęszczenia moczu. Ponadto nie obserwuje się typowego związku pomiędzy koncentracją wazopresyny a ciśnieniem osmotycznym moczu [3, 45, 54].

Wśród wielu czynników, ograniczających zdolność nerek do produkcji zagęszczonego moczu w odpowiedzi na wazopresynę, należy wymienić m.in. mniejszą u

noworodków ekspresję receptorów V_2 [3, 9, 18, 42, 54]. U szczurów mRNA dla receptorów V_2 wykazano w 16. dniu życia płodowego. Liczba tych receptorów gwałtownie wzrasta po 20. dniu życia postnatalnego, osiągając wartości typowe dla osobników dorosłych w 5. tygodniu życia [31]. Związanie AVP z receptorem V_2 prowadzi do wzrostu syntezy cAMP [1,21]. Wykazano, że u noworodków szczurów, królików i psów produkcja cAMP w odpowiedzi na wazopresynę jest zdecydowanie niższa i stanowi około 1/3 produkcji u osobników dorosłych [3]. Badania przeprowadzone u prosiąt dowiodły, że zdolność do wydalania zagęszczonego moczu jest proporcjonalna do ilości wytworzonego w komórkach kanalików nerkowych cAMP. W nerkach nowonarodzonych szczurów stwierdza się wysoki poziom fosfodiesterazy rozkładającej cAMP [35]. Wysokie stężenie tego enzymu w pierwszych dniach życia wskazywać może, że to wysoka aktywność procesów degradacji cAMP, a nie jego niska synteza w sposób istotny ogranicza zdolność niedojrzałych nerek do wydalania zagęszczonego moczu [35]. Zastosowanie specyficznego inhibitora fosfodiesterazy powoduje nie tylko wzrost produkcji cAMP w ilościach typowych dla dorosłych, ale także istotnie zwiększa stymulowaną wazopresyną przepuszczalność kanalików nerkowych dla wody [3].

Wpływ na niską produkcję cAMP w kanalikach nerkowych noworodków mają również prostaglandyny [55]. Wysokie stężenie PGE_2 w moczu obserwowano u noworodków różnych gatunków zwierząt. W nerce występuje kilka typów receptorów EP dla prostaglandyny E2 [39]. Każdy z nich aktywuje inny wewnątrzkomórkowy szlak reakcji [3]. Receptor EP_3 zlokalizowany w korowych oraz rdzeniowych kanalikach zbiorczych jest sprzężony z białkiem G_i . W tym odcinku nefronu PGE_2 , po połączeniu z receptorem, hamuje cyklazę adenylanową aktywowaną przez białko G_i . Badania ekspresji mRNA dla EP_3 w nerkach króliczych noworodków wykazały, że jest ona, w porównaniu z osobnikami dorosłymi, wysoka i zmienia się wraz z wiekiem [3]. Ekspresja mRNA dla receptorów EP_3 wzrasta podczas pierwszych dwóch tygodni życia, po czym gwałtownie obniża się, osiągając między 8. a 10. tygodniem życia wartości typowe dla dorosłych osobników [3]. Matson i in. [23] wykazali istotny wzrost molalności moczu u płodów owiec po podaniu indometacyny, inhibitora cyklo-oxygenazy (COX), enzymu uczestniczącego w syntezie prostaglandyn. Istotne zmiany przepuszczalności, niedojrzałych kanalików zbiorczych, dla wody po podaniu indometacyny, jednoznacznie wskazują na duży udział prostaglandyn w hamowaniu stymulowanej przez AVP kanalikowej resorpcji wody [23].

ZMIANY EKSPRESJI AKWAPORYNY 2 W KANALIKACH DYSTALNYCH I ZBIORCZYCH NEREK NOWORODKÓW

W nerkach szczurzych noworodków poziom AQP2 jest niższy o około 52% w porównaniu z osobnikami dorosłymi [3]. Yasiu i in. [53] stwierdzili, że ilość AQP2 w kanalikach zbiorczych szczurów wzrasta gwałtownie między 10. a 40.

dniem życia i osiąga maksymalne wartości w 10. tygodniu. Baum i in. [2] obserwowali obecność AQP2 już w 18. dniu życia płodowego szczurów i istotny wzrost jej ekspresji w 3. dniu po urodzeniu. U owiec poziom płodowego mRNA dla AQP2 w 100.–150. dniu ciąży stanowi średnio 17% wartości obserwowanych u dorosłych. Tuż przed porodem ilość ta wzrasta do 40%. Niski poziom AQP2 obserwowano również u ludzkich płodów w drugiej połowie ciąży [21].

Pomimo istotnie niższej ekspresji akwaporyny 2 w okresie neonatalnym, w stanie odwodnienia wzrasta ona u noworodków do poziomu obserwowanego dla dorosłych [47]. Wzrost poziomu tego białka w kanalikach niedojrzałej nerki nie jest zbieżny ze wzrostem molalności moczu [3]. Po podaniu desmopresyny, zarówno młodym jak i dojrzałym szczurom, obserwuje się nasilony transport AQP2 z wewnątrzkomórkowych pęcherzyków i fuzję tego białka ze szczytową błoną komórek kanalików. Towarzyszące tym procesom istotne zwiększenie molalności moczu stwierdza się jednak tylko u dorosłych szczurów [3]. W związku z powyższym, mniejsza zdolność noworodków do produkcji zagęszczonego moczu w odpowiedzi na AVP musi być wynikiem wpływu również innych czynników. Bonilla-Felix [3] oraz Zelenina i in. [49] podają, że jedną z przyczyn niskiego zagęszczenia moczu jest niedojrzała struktura nerek noworodków, która uniemożliwia wytworzenie i utrzymanie w tkance śródmiąższowej wysokiego ciśnienia osmotycznego [3, 49].

Po fuzji akwaporyny 2 z apikalną błoną komórek kanalików nerkowych może ona ulec endocytozie lub zostać wydzielona do moczu (ryc. 2) [4, 15]. W badaniach u noworodków ludzkich wykazano, że we wczesnym okresie postnatalnym wydalanie AQP2 z moczem jest istotnie niższe niż u dorosłych [46, 54]. Według Zeleniny i in. [54] wydzielanie tego białka wraz z moczem istotnie wzrasta w pierwszych 2.–3. tygodniach życia. Ci sami autorzy stwierdzili również, że wielkość nerkowego wydalania akwaporyny 2 w 1. tygodniu życia nie jest zależne od podaży płynów. Ponadto wykazali istotnie wyższe nerkowe wydalanie akwaporyny 2 u chłopców niż u dziewczynek. Tsukahara i in. [46, 47] analizowali wydzielanie AQP2 z moczem u noworodków donoszonych oraz wcześniaków w 1. i 4. dniu po porodzie oraz w 1. miesiącu życia. Według tych autorów poziom nerkowego wydalania AQP2 w pierwszych dniach życia stanowi ok. 50% obserwowanego u dorosłych. W 4. dniu stwierdzono, że u obu grup dzieci wydalanie nerkowe AQP2 było niższe w porównaniu z dniem 1. Nie stwierdzono natomiast w tym dniu istotnych różnic w nerkowym wydalaniu AQP2 pomiędzy noworodkami urodzonymi przedwcześnie i w prawidłowym terminie [47]. Wydzielanie AQP2 z moczem w 1. miesiącu życia również było podobne u obu grup dzieci, nadal było jednak niższe niż u dorosłych. Na uwagę zasługuje fakt, że wydalanie nerkowe AQP2 u wcześniaków dodatkowo koreluje z molalnością moczu [46]. Związek pomiędzy nerkowym wydaniem AQP2 a AVP oraz molalnością moczu u wcześniaków obserwowali również Iacobelli i in. [12]. Autorzy ci obserwowali w 3. dniu życia istotny wzrost wydalania nerkowego AQP2, któremu towarzyszył istotny wzrost ciśnienia osmotycznego moczu oraz wielkości filtracji kłębkowej.

Według danych literaturowych aktywacja zależnej od wapnia kinazy białkowej C (PKC) może skutecznie modulować odpowiedź kanalików zbiorczych na stymulację wazopresyną [16]. Znane są m.in. trzy izoformy kinazy białkowej C: alfa, delta i zeta. Badania przeprowadzone na szczurach Wistar, w 9.–12., 20.–22. dniu i 2.–3. miesiącu życia wykazały, że koncentracja PKC typu alfa i delta wzrasta w miarę rozwoju, podczas gdy poziom PKC typu zeta nie zmienia się [16]. Istotny wzrost stężenia PKC typu alfa stwierdzono w 20.–24. dniu, i zbiega się on w czasie ze zwiększeniem przepuszczalności kanalików nerkowych w odpowiedzi na wazopresynę. Udział poszczególnych izoform kinazy białkowej C w mechanizmie transportu i fuzji AQP2 indukowanej AVP nadal nie jest znana. Ograniczona zdolność do koncentracji moczu u myszy z mutacją genu dla PKC typu alfa, potwierdza jednak w pełni sugestię o jej istotnym udziale w procesie nerkowej retencji wody [16].

Wysoka koncentracja jonów Ca^{2+} w osoczu krwi powoduje u dzieci zmniejszone wydalanie AQP2 z moczem i może być przyczyną nocnego moczenia [48]. Jak wspomniano wcześniej, wzrost zewnątrzkomórkowej koncentracji wapnia stymuluje receptor CaR i tym samym przyczynia się do zmniejszenia zdolności nerek do produkcji zagęszczonego moczu [34].

Badania u szczurzych noworodków wykazały, że podanie angiotensyny II powoduje wzrost poziomu AQP2, podobnego do zmian wywołanych przez wazopresynę u dorosłych szczurów [21]. Yasui i in. [53] dowiedli, że na ekspresję akwaporyny w pierwszych dniach życia wpływ mają również glikokortykoidy. Pojedyncza iniekcja betametazonu powoduje wzrost mRNA dla akwaporyny 2 u noworodków [53]. Zmian ekspresji AQP2 po podaniu glikokortykoidów nie stwierdza się u dorosłych osobników [40].

PODSUMOWANIE

Ekspresja akwaporyny 2 w nerkach noworodków wielu gatunków zwierząt i ludzi jest blisko o 50% niższa w porównaniu z osobnikami dorosłymi. Niska ilość AQP2 w niedojrzałych kanalikach nerkowych, nie jest jednak jedyną determinantą ograniczającą zdolność noworodków do produkcji zagęszczonego moczu. Wśród wielu czynników limitujących wydalanie silnie skoncentrowanego moczu należy wymienić również zmniejszoną wrażliwość kanalików nerkowych na działanie wazopresyny (związaną z mniejszą ekspresją receptorów V_2), wysoką koncentrację PGE_2 , niskie stężenie cAMP oraz ograniczona produkcja PKA typu alfa. Ponadto w rdzeniu nerek noworodków brak jest dostatecznie wysokiego gradientu osmotycznego. Niskie ciśnienie na szczycie brodawki nerkowej jest m.in. konsekwencją niedojrzałej struktury nerek oraz ograniczonej czynności (sekrecji i absorpcji) komórek kanalików nerkowych. Stosunkowo niska zawartość białka w mleku, przewaga u noworodków przemian anabolicznych i niższa synteza mocznika dodatkowo utrudniają wytworzenie i utrzymanie warstwowego rozkładu molalności w niedojrzałych nerkach.

U osobników dorosłych, około 3% AQP2 w kanalikach zbiorczych wydalone jest wraz z moczem, co pozytywnie koreluje z poziomem wazopresyny w osoczu krwi. U noworodków brak jest ścisłej zależności pomiędzy stężeniem wazopresyny a nerkowym wydalaniem akwaporyny 2. Wyklucza to zatem wykorzystanie pomiaru stężenia AQP2 w moczu jako parametru do oceny działania AVP w kanalikach nerkowych w okresie neonatalnym.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ARAI Y, FUJIMORI A, SUDOH K, SASAMATA M. Vasopressin receptor antagonists: potential indications and clinical results. *Curr Opin Pharmacol* 2007; **7**: 124–129.
- [2] BAUM MA, RUDDY MK, HOSSELET CA, HARRIS HW. The perinatal expression of aquaporin-2 and aquaporin-3 in developing kidney. *Pediatr Res* 1998; **43**: 783–790.
- [3] BONILLA-FENIX M. Development of water transport in the collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; **287**: 1093–1101.
- [4] CIECHANOWICZ A, KRZYSZTAŁOWSKA M, BIŃCZAK-KULETA A. Akwaporyny – nowy element w regulacji gospodarki wodnej organizmu. *Pol Merk Lek* 2009; **158**: 144–147.
- [5] DIGIOVANNI SR, NIELSEN S, CHRISTENSEN EI, KNEPPER M. Regulation of collecting duct water channel expression by vasopressin in Brattleboro rat. *Proc Natl Acad Sci* 1994; **91**: 8984–8988.
- [6] EARM JH, CHRISTENSEN BM, FRØKIAER J, MARPLES D, HAN JS, KNEPPER MA, NIELSEN S. Decreased aquaporin-2 expression and apical plasma membrane delivery in kidney collecting ducts of polyuric hypercalcemic rats. *J Am Soc Nephrol* 1998; **9**: 2181–2193.
- [7] FENTON RA, KNEPPER MA. Mouse models and the urinary concentrating mechanism in the new Millennium. *Physiol Rev* 2007; **87**: 1083–1112.
- [8] GITELMAN SE, FELDMAN BJ, ROSENTHAL SM. Nephrogenic syndrome of inappropriate antidiuresis: a novel disorder in water balance in pediatric patients. *Am J Med* 2006; **119**: 54–58.
- [9] GOBET R, NORREGAARD R, CISEK LJ, PETERS CA, NIELSEN S, FRØKIAER J. Experimental congenital vesicoureteral reflux in sheep is associated with reduced renal expression levels of aquaporin 1 and 2. *J Urology* 2008; **179**: 2396–2402.
- [10] GOMES D, AGASSE A, THIÉBAUD P, DELROT S, GERÓS H, CHAUMONT F. Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms. *Biochim Biophys Acta* 2009; **1788**: 1213–1228.
- [11] HOLTBACK U, APERIA AC. Molecular determinants of sodium water balance during early human development. *Semin Neonatol* 2003; **8**: 291–299.
- [12] IACOBELLI S, ADDABBO F, BONSANTE F, PROCINO G, TAMMA G, ACITO A, ESPOSITO L, VALENTI G. Aquaporin-2 exertion and renal function during the 1st week of life in perm. *Nephron Physiol* 2006; **4**: 121–125.
- [13] ISHIBASHI K, HARAS, KONDO S. Aquaporin water channels in mammals. *Clin Exp Nephrol* 2009; **13**: 107–117.
- [14] ISHIKAWA SE, SAITO T, KASONO K, FUNAYAMA H. Pathophysiological role of aquaporin-2 in impaired water excretion. *Prog Brain Res* 2008; **170**: 581–588.
- [15] JASIEWICZ M, MYŚLIWIEC J. Aktualny stan wiedzy o akwaporynach: implikacje kliniczne. *Endokrynol Pol* 2006; **2**: 149–157.
- [16] KATKOVA LE, SOLENOV EI, IVANOVA LN. The role of protein kinase C in the mechanism of vasopressin antidiuretic action in the rat kidney during mammalian postnatal development. *Ontogeneza* 2009; **6**: 442–448.
- [17] KIM SW, GRESZ V, ROJEK A, WANG W, VERKMANT AS, FRØKIAER J, NILSEN S. Decreased expression of AQP2 and AQP4 water channel and Na, K-ATPase in Sidney collecting duct in AQP3 null mice. *Biol Cell* 2005; **97**: 765–778.
- [18] KLOKKERS J, LANGEHANENBERG P, KEMPER B, KOSMEIER S, BALLY G, RIETHMÜLLER C, WUNDER F, SINDIC A, PAVENSTÄDT H, SCHLATTER E, EDEMIR B. Atrial natriuretic peptide and nitric oxide signaling antagonizes vasopressin-mediated water permeability in inner medullary collecting duct cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; **3**: 693–703.

- [19] LAU KK, YAND Y, COOK GA, WYATT RJ, NISHIMURA H. Control of aquaporin-2 expression in collecting ducts of quail kidneys. *Gen Comp Endocrinol* 2009; **160**: 288–294.
- [20] LEAKE RD, STEGNER H, PALMER SM, OAKES GK, FISHER DA. Arginine vasopressin and arginine vasotocin ovine fetal-maternal water transfer. *Pediatr Res* 1983; **17**: 583–586.
- [21] LIU H, WINTOUR EM. Aquaporins in development – a review. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; **3**: 18.
- [22] MARTINERIE L, VIENGCHAREUN S, DELEZOIDE AL, JAUBERT F, SINICO M, PREVOT S, BOILEAU P, MEDURI G, LOMBÉS M. Low renal mineralocorticoid receptor expression at birth contributes to partial aldosterone resistance in neonates. *Endocrinol* 2009; **9**: 4414–4424.
- [23] MATSON JR, STOKES JB, ROBILLARD JE. Effects of inhibition of prostaglandin synthesis on fetal renal function. *Kidney Int* 1981; **20**: 621–627.
- [24] MOELLER HB, PRAETORIUS J, RÜTZLER MR, FENTON RA. Phosphorylation of aquaporin-2 regulates its endocytosis and protein-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci* 2010; **1**: 424–429.
- [25] MOURI T, INOUE T, NONGUCHI H, NAKAYAMA Y, MIYAZAKI H, MATSUZAKI T, SAITO H, NAKANISHI T, KOHDA Y, TOMITA K. Acute and chronic metabolic acidosis interferes with aquaporin-2 translocation in the rat kidney collecting ducts. *Hypertens Res* 2009; **32**: 358–363.
- [26] NADVETSKY PI, TAMMA G, BEULSHAUSEN S, VALENTI G, ROSENTHAL W, KLUSSMANN E. Regulation of aquaporin-2 trafficking. *Handb Exp Pharmacol* 2009; **190**: 133–157.
- [27] NEJSUM LN. The renal plumbing system: aquaporin water channels. *Cell Mol Life Sci* 2005; **62**: 1692–1706.
- [28] NIELSEN J, HOFFERT DJ, KNEPPER MA, AGRE P, NILSEN S, FENTON RA. Proteomic analysis of lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus: mechanism for aquaporin-2 down-regulation and cellular proliferation. *PNAS* 2008; **9**: 3634–3639.
- [29] NIELSEN S, FRØKIAER J, MARPLES D, KWON TH, AGRE P, KNEPPER MA. Aquaporins in the kidney: From molecules to medicine. *Physiol Rev* 2002; **82**: 205–244.
- [30] NISHIURA H, YANG Y, LAU K, KUYKINDOLL RJ, FAN Z, YAMAGUCHI K, YAMAMOTO T. Aquaporin-2 water channel in developing quail kidney: possible role in programming adult fluid homeostasis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; **293**: 2147–2158.
- [31] OSTROWSKI NL, YOUNG WS III, KNEPPER MA, LOLAIT SJ. Expression of vasopressin V_{1a} and V₂ receptor messenger ribonucleic acid in the liver and kidney of embryonic, developing and adult rats. *Endocrinol* 1993; **133**: 1849–1859.
- [32] OŹGO M, SKRZYPCZAK W, LEPCZYŃSKI A, DRATWA-CHAŁUPNIK A, MICHAŁEK, HEROSIMCZYK A. Urinary excretion of low molecular weight proteins in goats during the neonatal period. *J Physiol Pharmacol* 2009; **60**: 119–125.
- [33] OŹGO M. Udział enzymu konwertującego w regulacji czynności nerek noworodków cieląt. Rozprawa hab. 2009 ZUT w Szczecinie.
- [34] PROCINO G, CARMOSINO M, TAMMA G, GOURAUD S, LAERA A, RICCARDI D, SVELTO M, VALENTI G. Extracellular calcium antagonizes forskolin-induced aquaporin 2 trafficking in collecting duct cells. *Kidney Int* 2004; **4**: 2245–2255.
- [35] QUIGLEY R, CHAKRAWARTY S, BAUM M. Antidiuretic hormone resistance in the neonatal cortical collecting tubule is mediated in part by elevated phosphodiesterase activity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; **286**: 317–322.
- [36] RODIONOVA EA, KUZNETSOVA AA, SHAKHMATOVA EI, PRUTSKOVA N, NILSEN S, HOLTBACK U, NATOCHIN Y, ZELENINA M. Urinary aquaporin-2 in children with acute pyelonephritis. *Pediatr Nephrol* 2006; **21**: 361–367.
- [37] ROJEK A, FÜCHTBAUER EM, KWON TH, FRØKIAER J, NILSEN S. Severe urinary concentrating defect in renal collecting duct-selective AQP2 conditional-knockout mice. *PNAS* 2005; **15**: 6037–6042.
- [38] ROJEK A, NIELSEN J, BROOKS HL, GONG H, KIM YH, KNOW TH, FRØKIAER J, NILSEN S. Altered expression of selected genes in kidney of rats with lithium-induced NDI. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; **288**: F1276–F1289.
- [39] SADOWSKI J, BADZYNSKA B. Intrarenal vasodilator systems: no, prostaglandins and bradykinin. An integrative approach. *J Physiol Pharmacol* 2008; **59**: 105–119.
- [40] SAITO T, KASONO K, OTANI T, TAMEMOTO H, KAWAKAMI M, SASAKI S, ISHIKAWA S. Vasopressin-dependent upregulation of aquaporin-2 gene expression in aged rats with glucocorticoid deficiency. *Acta Physiol* 2009; **2**: 239–247.

- [41] SOLENOV EI, KATKOVA LE, NESTEROV VV, IVANOVA LN. Role of Ca^{2+} and aquaporin-2 in regulation of basolateral water permeability of collecting ducts in the rat kidney. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova* 2006; **11**: 1358–1364.
- [42] STARKLIN J, BECH JN, PEDERSEN EB. Urinary excretion of aquaporin-2 after furosemide and felodipine in healthy humans. *Scand J Clin Lab Invest* 2005; **3**: 249–261.
- [43] SUGIURA K, ASTE N, FUJI M, SHIMADA K, SAITO. Effect of hyperosmotic stimulation on aquaporins gene in chick kidney. *Comp Biochem Physiol Mol Integr Physiol* 2008; **151**: 173–179.
- [44] SUZUKI M, TANAKA S. Molecular and cellular regulation of water homeostasis in anuran amphibians. *Comp Biochem Physiol* 2009; **153**: 231–241.
- [45] TOMKOWIAK E, PIENKOWSKA JR. Aktualny stan wiedzy o akwaporynach bezkręgowców ze szczególnym uwzględnieniem akwaporyn owadzich. *Post Biol Kom* 2009; **36**: 217–231.
- [46] TSUKAHARA H, HATA I, SEKINE K, MIURA M, HATA K, FUJII Y, MAYUMI M. Urinary excretion of aquaporin-2 in term and preterm infants. *Early Hum Dev* 1997; **51**: 31–37.
- [47] TSUKAHARA H, HATA I, SEKINE K, MIURA M, KOTSUJI F, MAYUMI M. Renal water expression in newborns: measurement of urinary excretion of aquaporin-2. *Metabolism* 1998; **11**: 1344–1347.
- [48] VALENTI G, PROCINO G, TAMMA G, CARMOSINO M, SVELTO M. Minireview: Aquaporin-2 trafficking. *Endocrinol* 2007; **12**: 5063–5070.
- [49] WANG W, LI C, NEJSUM LN, LI H, KIM SW, KWON TH, JONASSEN TE, KNEPPER MA, THOMSEN K, FRØKIAER J, NILSEN S. Biphasic effects of ANP infusion in conscious, euvoletic rats: roles of AQP2 and ENaC trafficking. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; **2**: 530–541.
- [50] WILTING I, BAUMGARTEN R, MOVIG KLL, LAARHOVEN J, APPERLOO A, NOLEN WA, HEERDINK ER, KNOERS NVAM, EGBERTS ACG. Urine osmolality, cyclic AMP and aquaporin-2 in urine of patients under lithium treatment in response to water loading followed by vasopressin administration. *Eur J Pharmacol* 2007; **566**: 50–57.
- [51] WINTOUR EM, CONGIU M, HARDY KJ, HENNESSY DP. Regulation of urine osmolality in fetal sheep. *Exp Physiol* 1982; **67**: 427–435.
- [52] XIE L, HOFFERT JD, CHOU CL, YU MJ, PISITKUN T, KNEPPER MA, FENTON RA. Quantitative analysis of aquaporin-2 phosphorylation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; **4**: 1018–1023.
- [53] YASUI M, MARPLES D, BELUSAR, EKLÓF AC, CELSI G, NIELSEN S, APERIA A. Development of urinary concentrating capacity: role of aquaporin-2. *Am J Physiol* 1996; **27**: 461–468.
- [54] ZELENINA M, YANHONG LI, GLORIEUX I, ARNAUD C, CRISTINI Ch, DECRAMER S, APERIAA, CASPER Ch. Urinary aquaporin-2 excretion during early human development. *Pediatr Nephrol* 2006; **21**: 947–952.
- [55] ZELENINA M, ZELENIN S, APERIA A. Water channel (Aquaporins) and their role for postnatal adaptation. *Pediatr Res* 2005; **57**: 47–53.
- [56] ZWANG G, ZENG X, HAN L, WEI JA, HUANG H. Diuretic activity and kidney medulla AQP1, AQP2, AQP3, expression of the aqueous extract of *Polyporus umbellatus* FRIES in normal rats. *J Ethnopharmacol* 2010; **2**: 433–437.
- [57] ZWANG NA, HOFFERT DJ, PISITKUN T, MOELLER HB, FENTON RA, KNEPPER MA. Identification of phosphorylation-dependent binding partners of aquaporin-2 using protein mass spectrometry. *J Proteome Res* 2009; **8**: 1540–1554.

Redaktor prowadzący – L. Hryniewiecka

Otrzymano: 26.07. 2010 r.

Przyjęto: 26.08. 2010 r.

Dr inż. Katarzyna Michalek

*Katedra Fizjologii Zwierząt i Cytobiologii, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie*

ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin

E-mail: katarzyna.michalek@zut.edu.pl