

© И.Г.Каюков, В.А.Добронравов, А.Г.Кучер, А.М.Есяян, А.В.Смирнов, 2013
УДК [616-008.841.5:612.014.462.6]:612.46

*И.Г. Каюков^{1,2}, В.А. Добронравов^{1,3}, А.Г. Кучер³, А.М. Есяян²,
А.В. Смирнов^{1,3}*

ПОЧЕЧНЫЕ ТУБУЛЯРНЫЕ АЦИДОЗЫ В ПРАКТИКЕ «ВЗРОСЛОГО» НЕФРОЛОГА. СООБЩЕНИЕ I. РОЛЬ ПОЧЕК В РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО ГОМЕОСТАЗА

I.G. Kayukov, V.A. Dobronravov, A.G. Kucher, A.M. Essaian, A.V. Smirnov

RENAL TUBULAR ACIDOSIS IN PRACTICE OF «ADULT» NEPHROLOGIST. COMMUNICATION 1. KIDNEYS ROLE IN ACID BASE HOMEOSTASIS REGULATION

¹Научно-исследовательский институт нефрологии, ²кафедра нефрологии и диализа, ³кафедра пропедевтики внутренних болезней Санкт-Петербургского государственного медицинского университета, Россия

РЕФЕРАТ

В работе кратко суммированы современные представления о транспорте кислот и оснований в почках и регуляции этих процессов. Обращено внимание на ряд недостаточно освещенных в отечественной научно-медицинской литературе вопросов: молекулярную структуру некоторых переносчиков, вовлеченных в данные процессы, роль локальных сенсоров pH, pCO₂ и бикарбоната, особенности транспорта газов через клеточные мембраны и др. Сделана попытка показать, дефекты каких механизмов транслокации протонов и бикарбоната в почечных канальцах могут лежать в основе редких и своеобразных заболеваний – почечных тубулярных ацидозов.

Ключевые слова: почечные тубулярные ацидозы, почечный транспорт кислот и оснований, регуляция.

ABSTRACT

This review briefly summarizes the current understanding about of acid-base transport in the kidney and the regulation of these processes. Attention was turned to range of questions which are deficiently observed in national science-medical literature: molecular structure of some transporters, involved in these processes, role of local pH, pCO₂ and bicarbonate sensors, characteristics of gases transport through cell membranes etc. Was made an effort to show defects in which mechanisms of proton and bicarbonate translocation in renal tubules form the basis for rare and unique diseases – renal tubular acidosis.

Key words: renal tubular acidosis, renal transport of acids and bases, regulation.

ВВЕДЕНИЕ

Почечные тубулярные ацидозы (ПТА) – разнородная группа патологических состояний, в основе которых находятся дефекты канальцевой реабсорбции бикарбоната (HCO₃⁻) либо экскреции ионов водорода (протонов), либо то и другое вместе.

ПТА могут быть первичными (практически всегда, генетическими) и вторичными. Промежуточное положение занимают ПТА, ассоциированные с наследственными заболеваниями, непосредственно не приводящими к дефектам протеинов, вовлеченных в транспорт кислот и оснований в почках.

Одно из основных условий детерминации

Каюков И.Г. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 17, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, корп. 54. Тел.: (812) 346-39-26; факс: (812) 234-91-91; E-mail: kaukov@nephrolog.ru

синдрома почечного тубулярного ацидоза – почти всегда нормальная или околонормальная величина скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Этим ПТА принципиально отличаются от метаболических ацидозов, возникающих при прогрессировании хронической болезни почек (ХБП). Кроме того, ПТА характеризуются гиперхлоремическим метаболическим ацидозом с нормальным анионным интервалом плазмы (АИП), тогда как ацидоз на поздних стадиях ХБП может сопровождаться гипо- или нормохлоремией с нарастанием АИП [1–3].

ПТА впервые был описан в 1935 г., подтверждения того, что в основе этого состояния лежит канальцевое расстройство, были получены в 1946 г., наконец, в 1951 г. оно было обозначено как «почечный тубулярный ацидоз» [1].

ПТА долгое время считались прерогативой педиатров, однако в последние годы растет число пациентов с этими заболеваниями в практике «взрослых» нефрологов. При этом часть больных – лица, с уже установленным диагнозом и вышедшие по возрасту из-под наблюдения педиатров. Другие – пациенты, у которых ПТА впервые установлен во взрослом возрасте. Тем не менее, наша практика, в том числе многолетнего преподавания в системе последиplomного образования, свидетельствует о недостаточном знакомстве отечественных специалистов с этими своеобразными заболеваниями. Поэтому целью настоящей работы является попытка восполнения данного пробела.

Понять этиологию, патогенез, а во многом клинику и подходы к диагностике и лечению ПТА, невозможно без хорошего знания механизмов почечного транспорта кислот и оснований в почках и регуляции данных процессов. В связи с этим именно таким вопросам посвящена первая из двух запланированных частей настоящего сообщения.

Следует иметь в виду, что данная работа не является глубоким аналитическим обзором. Она носит чисто «просветительский» характер. Поэтому в ряде случаев мы сочли возможным ограничить библиографию ссылками на обзорные статьи, в которых рассматриваются те или иные стороны затрагиваемой проблемы. Заинтересованный читатель, ознакомившись с этими обзорами, может далее перейти к более детальному изучению того или иного вопроса по оригинальным сообщениям.

Общие представления о транспорте кислот и оснований в почках

Почки, наряду с легкими, играют важнейшую роль в кислотно-основном гомеостазе. Если функция легких сводится в основном к выведению избытка летучих кислот, главным образом, угольной, то участие почек в поддержании кислотно-основного равновесия более сложно. Во-первых, они поддерживают относительный избыток бикарбоната во внеклеточной жидкости, что, в свою очередь, позволяет более-менее нормально функционировать бикарбонатной буферной системе. Во-вторых, почки удаляют излишние протоны, источником которых служат нелетучие кислоты.

Бикарбонат является низкомолекулярным веществом и легко фильтруется в клубочках. За сутки гломерулярной фильтрации подвергаются (фильтрационная нагрузка, фильтрационный заряд) приблизительно 4000–4500 ммоль этого аниона. Примерно 95% его количества реабсорбируется в канальцах, а 5% экскретируется с мочой.

Из реабсорбируемого бикарбоната обратному всасыванию подвергается [4]:

- $\approx 80\%$ в проксимальных канальцах;
- $\approx 16\%$ в толстом восходящем отделе петли Генле и дистальном извитом канальце;
- $\approx 4\%$ в собирательных трубках.

Восполнение буферной емкости бикарбонатной системы (проксимальная реабсорбция бикарбоната) требует, по крайней мере, следующего: секреции ионов водорода с помощью Na^+/H^+ -обменника (NHE-3) и вакуолярной H^+ -АТФазы (V-АТФаза) через апикальные мембраны клеток тубулярного эпителия; наличия люменальной карбоангидразы (CAIV) типа IV (в щеточной кайме клеток проксимального канальца); цитозольной карбоангидразы типа II (CAII) и выхода бикарбоната через базолатеральные мембраны с помощью электрогенного Na^+ -зависимого бикарбонатного котранспортера (NBC; NBC1; kNBC1). Кроме того, почка должна регенерировать примерно 50 ± 100 ммоль/сут «нового» бикарбоната в процессе секреции кислотной нагрузки, возникающей за счет системного метаболизма.

Процесс секреции кислот (протонов) протекает, главным образом, в собирательных трубках. Он требует достаточного количества буферных оснований в просвете канальца и участия ряда транспортных протеинов в секретирующих кислоты вставочных α -клетках кортикальных собирательных трубок и связующих канальцев, к которым относятся люменальная V-АТФаза, CAII и базолатеральный хлор-бикарбонатный обменник (AE1) [4–6].

Проксимальная реабсорбция бикарбоната в общих чертах протекает следующим образом (рис. 1). Бикарбонат, поступивший в просвет проксимального канальца за счет клубочковой фильтрации,

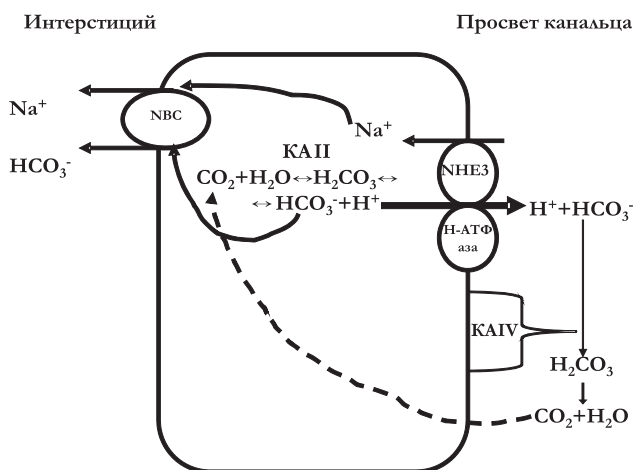


Рис. 1. Почечные механизмы поддержания кислотно-основного гомеостаза. Проксимальные канальцы (объяснения в тексте).

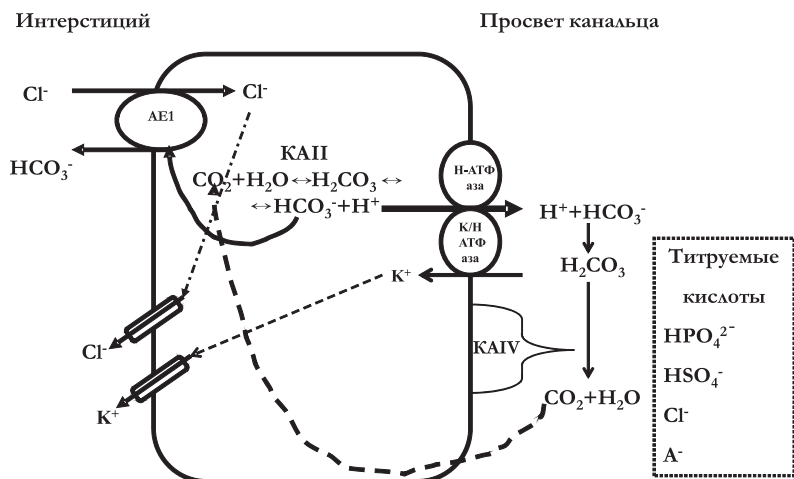


Рис. 2. Почечные механизмы поддержания кислотно-основного гомеостаза α (А)-клетки связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок (объяснения в тексте).

взаимодействует с протонами, секретируемыми сюда же из канальцевых клеток с помощью уже упомянутых люменальных NHE3 и вакуолярной H^+ -АТФазы. При этом NHE3 является основным путем поступления ионов водорода в просвет канальца. За счет данного обменника секретируется 60–70% протонов, а 30–40% – H^+ -АТФазы.

Связывание бикарбоната с водородом приводит к образованию угольной кислоты, которая под влиянием $CAIV$, расположенной в щеточной кайме эпителия проксимальных канальцев, распадается на воду и углекислый газ. CO_2 , при этом, диффундирует по ткани почек, легко проникая и внутрь клетки (см. рис. 1). Интересно, что переход углекислого газа через апикальную клеточную мембрану происходит не путем простой диффузии, как предполагалось ранее, а по хорошо известным водным каналам – $AQP1$, в изобилии здесь представленным. Аквапорин-1, таким образом, играет роль не только своеобразной «водопроводной», но и «газовой» трубы [6].

В цитозоле, CO_2 под влиянием уже $CAII$, вступает во взаимодействие с водой, формируя угольную кислоту. Напомним, что карбоангидразы ускоряют течение как реакции сольватации CO_2 , так и обратной – распада H_2CO_3 . Далее угольная кислота диссоциирует на бикарбонат и протон (см. рис. 1). Протоны за счет NHE3 и H^+ -АТФазы вновь секретируются в просвет канальца, где описанный ранее цикл повторяется, а бикарбонат через $NBC1$ на базолатеральной мембране поступает в интерстиций и по перитубулярными капиллярами возвращается в системный кровоток (см. рис. 1). В механизмы проксимальной реабсорбции бикарбоната, по-видимому, могут вовлекаться и ряд других переносчиков, например, $SLC26A6$ на апикальной

мембране, но несколько слов о некоторых из них будет сказано ниже.

Так или иначе, суть всех процессов, протекающих в проксимальных канальцах, сводится к тому, что избыток кислот (протонов) удаляется, а основания (бикарбонат), наоборот, сберегаются. Бикарбонат, как уже указывалось выше, пополняет буферную емкость бикарбонатной буферной системы.

Основные процессы дистальной ацидификации мочи протекают во вставочных А- или α -клетках связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок (рис. 2).

В главных чертах они выглядят следующим образом. Протоны, поя-

вившиеся за счет внутриклеточного метаболизма, секретируются через апикальные мембраны с помощью V -АТФазы. В просвете канальца они связываются с бикарбонатом, в конечном итоге, с помощью $CAIV$, образуя воду и углекислый газ. CO_2 диффундирует внутрь клетки, где уже при участии $CAII$ формируются протон и бикарбонат. Далее ионы водорода вновь секретируются в просвет канальца, а HCO_3^- реабсорбируется через базолатеральную мембрану за счет хлор-бикарбонатного обменника $AE1$ (см. рис. 2).

Кроме описанных выше механизмов, существенную роль в дистальной ацидификации мочи играют так называемые титруемые кислоты (ТК) и аммонийногенез (см. ниже).

Заметим также, что в связующих канальцах и кортикальных собирательных трубках, помимо вставочных А(α)-клеток, имеются также вставочные В- или β -клетки, которые характеризуются противоположной полярностью по сравнению с α -клетками. В этих эпителиях V -АТФазы экспрессируются на базолатеральных мембранах, а хлор-бикарбонатные обменники – на апикальных. Такие обменники обычно представлены пендрином. Данные клетки способны реабсорбировать кислые эквиваленты в условиях, когда плазма становится излишне щелочной. Баланс активности между α - и β - вставочными клетками имеет важное значение в коррекции рН плазмы [4, 5].

Кроме того, функционированию и регуляции пендрин в настоящее время уделяется большое внимание в силу его важного участия в почечном транспорте хлора. Например, пендрин-дефицитные мыши более чувствительны к ограничению поступления соли с рационом и у них не возникает нарастание АД в ответ на аналоги альдостерона [5].

По-видимому, в связующих канальцах и кортикальных собирательных трубках существует и третий тип вставочных клеток (не α -, не β -клетки). В этих клетках V-АТФаза экспрессируется и на базальных, и на люменальных мембранах, но апикальные $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменники представлены пендрином [5].

Существует также гипотеза о том, что α - и β -вставочные клетки представляют собой просто разные фенотипы одной и той же клетки. При этом преимущественная экспрессия V-АТФаз на апикальных или базолатеральных мембранах определяется их встраиванием в соответствующий полюс в зависимости от запросов организма. Идентичность α - и β -клеток остается предметом дискуссий. Однако различия в анионных транспортерах, находящихся на апикальном и базолатеральных полюсах (AE1 – α -клетки, пендлин – β -клетки), может служить прямым указанием на то, что данные клетки не являются просто зеркальным отражением друг друга [7].

С другой стороны нет сомнений в том, что в определенных ситуациях, например, в условиях ацидоза, β -клетки могут менять полярность и трансформироваться, если не в α , то α -подобные [8].

Механизмы такой трансформации изучены плохо, но есть данные, что здесь важную роль играет особый белок – генсин (hensin). Он секретируется в экстрацеллюлярное окружение, где полимеризуется и связывается с интегринами клеточных мембран, что, в свою очередь, служит конечным сигналом для данного превращения [9].

Основные транспортеры/протеины, вовлеченные в почечный транспорт кислот и оснований

Сложная система почечной поддержки кислотно-основного гомеостаза требует слаженной работы многих компонентов. В то же время дефекты соответствующих транспортеров/протеинов, вызванные теми или иными причинами, и составляют основу многих вариантов ПТА. Достижения современной молекулярной биологии существенно продвинули наши представления о строении и функционировании этих составляющих системы тубулярного транспорта бикарбоната и протонов.

Одним из ключевых игроков на поле реабсорбции бикарбоната в проксимальных канальцах является NHE3. В почках он представлен не только на апикальных мембранах проксимального нефротелия, но клеток толстого восходящего отдела петли Генле. Экспрессируется он также в желудочно-кишечном тракте, желчном пузыре, эпидидимисе и в небольшом количестве – головном мозге.

NHE3 входит в группу из 9 (NHE1 – NHE9) натрий-водородных обменников. Все они, в свою очередь, являются представителями очень обширного суперсемейства одновалентных катион-протонных антипортеров, весьма распространенных у разных видов живых организмов. Na^+/H^+ -обмен на люменальных мембранах эпителия проксимальных канальцев млекопитающих, помимо участия в сохранении бикарбоната, ответствен также за изотоническое обратное всасывание примерно двух третей профильтровавшихся NaCl и H_2O , секрецию аммония и вносит вклад в реабсорбцию цитрата, аминокислот, олигопептидов и белков [10].

У человека и грызунов NHE3 кодируется геном *SLC9A3*, расположенным на 5-й хромосоме (геномный локус – 5p15.3). В соответствии со своей физиологической ролью отсутствие NHE3 у нокаутных мышей сопровождалось развитием гиповолемии, гипотензии, умеренного метаболического ацидоза, снижением реабсорбции $\text{Na}^+ \cdot \text{H}_2\text{O}$ и HCO_3^- . Кроме того у нулевых по NHE3 мышей резко возрастала смертность при содержании на низкосолевого диеты [11].

Однако, насколько нам известно, у человека аномалий *SLC9A3*-гена, приводящих к дефектам NHE3 и, соответственно, нарушениям кислотно-основного и водно-солевого гомеостазов, к настоящему времени не описано.

Совсем другая ситуация складывается с мутациями гена *SLC4A4* (геномный локус – 4q13.3), кодирующего натрий-бикарбонатный котранспортер на базолатеральной мембране клеток проксимального канальца. Повреждения этого гена являются причиной проксимального ПТА (ПТА, тип II) с рецессивным путем наследования и поражениями глаз (табл. 1) [2, 3, 11, 12].

$\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -котранспортеры – семейство общих мембранных протеинов, опосредующих электро-нейтральный и электрогенный котранспорт бикарбоната и натрия. Электрогенный почечный тип $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -котранспортера (NBC, NBC1, kNBC1) локализован, главным образом, на базолатеральных мембранах клеток проксимального канальца и в следовых количествах обнаружен в медуллярных отделах петли Генле. Однако NBC1 экспрессируется в эндотелиальных клетках роговицы и эпителии двенадцатиперстной кишки. мРНК NBC1 кодирует протеин из 1035 аминокислотных остатков. Белок NBC1 содержит десять трансмембранных доменов и две интрацитоплазматических терминали [11]. Транспортная роль этого котранспортера заключается в переносе из клетки трех ионов бикарбоната вместе с одним ионом натрия (см. рис. 1).

Таблица 1

Некоторые формы наследственного почечного тубулярного ацидоза

Тип ПТА	Субтип и наследование	Возраст проявления	Клинические проявления	Транспортер (протеин)	Ген(ы)	Код ОМИМ
Дистальный (тип I)	Доминантное	Пожилые и взрослые	Умеренный (компенсированный) метаболический ацидоз Гипокалиемия (разной степени) Гиперкальцийурия Гипоцитратурия Нефролитиаз Нефрокальциноз Возможны рахит или остеомалация	AE1	<i>SCL4A1</i>	179800
	Рецессивный	Дети	Метаболический ацидоз с гемолитической анемией (описан только в популяциях Юго-Восточной Азии)	AE1	<i>SCL4A1</i>	602722
	Рецессивный с ранней утратой слуха	Младенцы и дети	Метаболический ацидоз Ранний нефрокальциноз Рвота/дегидратация Замедление роста Рахит Двусторонняя нейросенсорная глухота, приводящая к потере слуха в детстве	B1 субъединица H ⁺ -АТФазы	<i>ATP6V1B1</i>	267300
	Рецессивный с поздней утратой слуха	Младенцы и дети	Как и в предыдущем случае, но с более поздним появлением глухоты (у ряда пациентов слух не нарушается)	a4 субъединица H ⁺ -АТФазы	<i>ATP6V0A4</i>	602722
Проксимальный (тип II)	Рецессивный с поражениями глаз	Младенцы	Метаболический ацидоз Гипокалиемия Поражения глаз (катаракта, глаукома, лентовидная кератопатия) Замедление роста Дефекты зубной эмали Нарушения интеллекта Кальцификация базальных ганглиев	NBC1	<i>SLC4A4</i>	604278
Комбинированный проксимальный и дистальный (тип III)	Рецессивный с остеопетрозом	Младенцы и дети	Метаболический ацидоз Гипокалиемия Остеопетроз Кровоточивость Глухота Ранний нефрокальциноз	CAII	<i>CA2</i>	259730

Карбоангидразы (особенно КАII) – следующий важнейший элемент, во многом определяющий состояние тубулярного транспорта оснований и кислот. КАII участвует в процессах не только проксимальной реабсорбции бикарбоната, но и дистальной ацидификации мочи (см. ниже) [13].

Кроме того, КАII, наряду с некоторыми транспортерами, тесно вовлечена в метаболизм костной ткани. Поэтому генетические дефекты КАII приводят к своеобразному, хотя и очень редкому варианту ПТА: комбинированному проксимальному и дистальному ПТА, рецессивному с остеопетрозом. Это же заболевание известно под названиями – ПТА, тип III; аутосомно-рецессивный остеопетроз с почечным тубулярным ацидозом; дефицит карбоангидразы II; синдром Guibaud–Vainsel и мраморная болезнь мозга [2, 3, 14–18].

Карбоангидразы – цинксодержащие металлоэнзимы, которые, как уже указывалось ранее, катализируют обратимую реакцию гидратации CO₂ согласно уравнению:



При этом CO₂ растворяется в воде и достигается равновесие между его концентрацией и концентрацией H₂CO₃. Некатализируемая гидратация CO₂ процесс относительно медленный, тогда как число оборотов для КАII составляет порядка 10⁶ с⁻¹.

В настоящее время известно 15 карбоангидраз, 12 из которых обладают ферментативной активностью. КАII экспрессируется как протеин с молекулярной массой 29 кДа, состоящий из 259 аминокислот. Кодировается она геном *CA2* (8q21.2). Помимо почек и костей, КАII распространена в цитозоле клеток многих других органов, например, мозга, глаз, желудка, кишечника, печени, поджелудочной железы, слюнных желез, матки и эритроцитах. В почечной ткани на КАII приходится примерно 95% общей карбоангидразной активности. При этом КАII встречается практически во всех отделах нефрона: проксимальных канальцах,

тонком нисходящем и толстом восходящем сегментах петли Генле, вставочных клетках кортикальных собирательных трубок, собирательных трубках наружного и внутреннего мозгового вещества. Однако применительно к физиологии кислотно-основного гомеостаза наибольшее значение имеет наличие КАП в эпителии проксимальных канальцев и вставочных А(α)-клетках связующих канальцев и собирательных трубок коры почек [2–6, 11].

В настоящее время доказано, что в своей деятельности КАП как в проксимальных, так и дистальных сегментах нефрона, тесно ассоциирована с функционированием ряда трансмембранных переносчиков не только на физиологическом, но и химическом уровне. Например, в проксимальных канальцах она связывается с определенной аминокислотной последовательностью (аминокислоты 915–1035: NBC1⁹¹⁵⁻¹⁰³⁵), расположенной на карбоксильной внутриклеточной терминали NBC1 [19] (см. рис. 1).

Это значительно облегчает перенос бикарбоната [11]. Кроме того, в проксимальных канальцах КАП вступает во взаимодействие с другим анионным транспортером, который мы уже упоминали – SLA26A6, находящимся в щеточной кайме люменального полюса клетки [20].

Этот обменник транспортирует разные анионы, например: хлор, йод, сульфат, формат, оксалат, нитрат [21]. Однако наибольшее физиологическое значение имеет перемещение бикарбоната или гидроксильного аниона (OH^-) в просвет канальца в обмен на хлор.

Активация $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обмена на клеточных мембранах различных органов вследствие дефекта кистозного трансмембранного регулятора (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – CFTR) имеет основное значение в патогенезе тяжелого наследственного заболевания – кистозного фиброза (муковисцидоза) [22].

Взаимодействие КАП с NHE3 на апикальных мембранах клеток проксимального канальца не доказано, хотя на С-терминали этого транспортера обнаружена последовательность аминокислот, способная связываться с карбоангидразой [23].

Во вставочных А(α)-клетках связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок КАП, прежде всего, взаимодействует с AE1, анионным обменником, расположенным на базолатеральных мембранах и переносящим в клетку анионы хлора в обмен на анионы бикарбоната (см. рис. 1). Как и в случае NBC1, связывание КАП с AE1 активирует работу последнего. Заметим, что AE и NBC транспортеры на 30–35% гомологичны [24], а их амино-

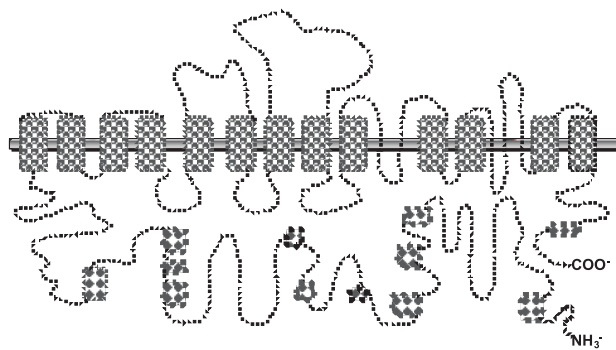


Рис. 3. Упрощенная схема строения AE1-обменника.

кислотные последовательности, связывающиеся с КАП, практически идентичны.

AE1 – кодируется геном *SLC4A1* на хромосоме 17 и является представителем семейства из 10 *SLC4*-генов, контролирующих бикарбонатные транспортеры. У млекопитающих, помимо почек, единственным другим крупным сайтом экспрессии AE1 являются эритроциты (eAE1). eAE1 нередко называют «полоса 3» («band 3») из-за его относительной позиции при электрофорезе мембранной фракции эритроцитов. Структура AE1 включает 12–14 трансмембранных доменов, ответственных за транспорт анионов и димеризацию, и NH_2 - и COOH -терминальные цитоплазматические окончания (рис. 3) [25].

Аминокислотные замены в ряде позиций экзодомальной петли eAE1 служат основой различий в одной из антигенных систем групп крови (система Диго), но не сказываются на его функциях как анионного обменника [26].

В силу наличия входного промоутера, eAE1 на 65 аминокислотных остатков на его NH_2 -конце, длиннее, чем почечная изоформа (kAE1). Наличие этой NH_2 -концевой последовательности придает eAE1 дополнительную роль, которая включает содействие метаболизму в эритроидных клетках и поддержание структурной устойчивости эритроцитов за счет взаимодействия с комплексом ферментов гликолиза и элементами цитоскелета соответственно [27].

Интересно, что самая большая группа мутаций человеческих AE1 связана не с развитием тубулопатий, а с аутосомно-доминантными вариантами дисморфологической патологии красных кровяных клеток: наследственной сфероцитарной анемией (СА), которая также вызывается мутациями анкирина, спектрина и протеина 4.2, и Юго-Восточноазиатским овалоцитозом (ЮВАО). Однако при этих заболеваниях почечный транспорт кислот и оснований почти никогда не страдает [3, 28].

Одно из редких исключений – гомозиготы с мутацией AE1 V488M (Band 3 Coimbra; GTG → ATG), у которых присутствует тяжелая анемия и ренальный дефект ацидификации [29, 30].

Кроме того, в этих же клетках на люменальных мембранах имеется дополнительный транспортер, относящийся к семейству NBC – NBC3. Он переносит в клетку ионы натрия вместе с бикарбонатом, таким образом, способствуя реабсорбции последнего. Деятельность NBC3 непосредственно связана с H-АТФазой и активируется КАП [31].

Однако роль его в транспорте бикарбоната в почках не значительна (не более 15% от реабсорбируемого в собирательных трубках наружной медуллы) [32].

Как следует из изложенного выше, роль карбоангидраз в транспорте бикарбоната в почках очень велика, а их деятельность тесно ассоциирована с функционированием целого ряда других переносчиков. Такое взаимодействие чрезвычайно четко скоординировано, что позволяет говорить о наличии *бикарбонатного транспортного метаболона*. В данном метаболоне карбоангидразы обеспечивают усиление или ослабление транспорта бикарбоната, уменьшая или увеличивая снабжение транспортеров субстратом (рис. 4) [13].

Почечная V-АТФаза, бесспорно, один из важнейших компонентов ацидификации мочи. Ее нормальное функционирование не только решающим образом определяет объем экскреции ионов водорода почками, но и сказывается на состоянии

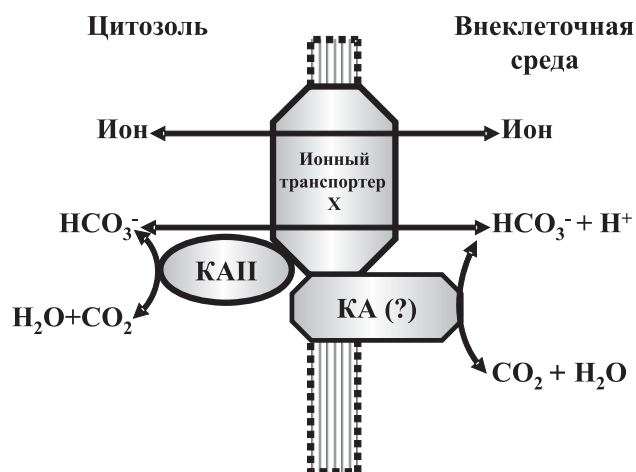


Рис. 4. Бикарбонатный транспортный метаболон. Схематическая модель, иллюстрирующая взаимодействия между КАП и мембрано-связанными изоформами карбоангидраз с бикарбонатными транспортерами (например, X=AE1, ? = CAIV). Карбоангидразы обеспечивают усиление или ослабление транспорта бикарбоната, уменьшая или увеличивая снабжение транспортеров субстратом. По J.M. Purkerson, G.J. Schwartz [11] с изменениями.

кислотно-основного гомеостаза в целом, а также может привести к повреждениям других органов и тканей (прежде всего, костной), в которых экспрессируются изоформы данных протонных насосов. Строение, функционирование, регуляция и дефекты таких помп описаны в целой серии подробных и очень глубоких обзоров [33–41].

Поэтому здесь мы только кратко остановимся на тех вопросах V-АТФаза-опосредованных механизмов транспорта протонов, которые имеют непосредственное отношение к теме нашего дальнейшего обсуждения.

Вакуолярная H⁺-АТФаза принадлежит к большому семейству АТФаз, которое может быть распределено на три подкласса: (1) АТФазы типа Р, такие как Na⁺,K⁺-АТФазы, Ca²⁺-АТФазы и K⁺,H⁺-АТФазы; (2) митохондриальные F₀F₁-АТФазы (АТФазы типа F); (3) вакуолярные H⁺-АТФазы (АТФазы типа V).

Вакуолярные H⁺-АТФазы экспрессируются практически во всех эукариотических клетках на внутриклеточных мембранах и на плазматических мембранах некоторых специализированных клеток (характерный пример – вставочные α-клетки). Роль V-АТФаз внутри клеток сводится к поддержанию оптимальной для деятельности многих ферментов кислотности в целом ряде интрацеллюлярных компартментов, таких как лизосомы, аппарат Гольджи, секреторные везикулы и эндосомы. V-АТФазы также имеют существенное значение в синаптической нейротрансмиссии, сперматогенезе и ремоделировании кости [33–35].

Роль V-АТФаз также велика в эндоцитозе бактериальных токсинов, вирусов, опухолевой инвазии и метастазировании [34, 35].

Почечная V-АТФаза очень близка к V-АТФазе дрожжей, и оба этих вида отчасти гомологичны широко распространенным в растительном и животном мире и очень подробно изученным АТФазам типа F. Несмотря на то, что последние обладают свойствами, противоположными V-АТФазам, и способствуют синтезу АТФ из АДФ, а не гидролизу аденозинтрифосфата, являясь по сути АТФ-синтазами (F₀F₁-АТФ синтаза), многим сведениям о строении и функционировании V-АТФаз мы обязаны данным, полученным при изучении F-АТФаз. На русском языке прекрасный обзор по F₀F₁-АТФ синтазам был недавно опубликован сотрудниками физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Ю.М. Романовским и А.Н. Тихоновым [41].

Хотя проблема сходства V- и F-АТФаз остается предметом дискуссий [37].

Заметим, однако, что не исключены ситуации,

когда и V-АТФаза может начать работать как синтаза, а F_0F_1 -АТФ синтаза, как АТФаза [33, 41].

V-АТФаза состоит из двух основных доменов. Цитоплазматический домен V1 включает восемь различных субъединиц, обозначаемых заглавными латинскими буквами А – Н (рис. 5). Некоторые субъединицы в этом домене могут повторяться, поэтому его состав (стехиометрия) выглядит следующим образом: $A_3B_3CDE_2FG_2H$ (см. рис. 5). Молекулярная масса V1 составляет 640 кДа.

Кроме того, в субъединице А имеется определенный участок, отсутствующий у F_1F_0 -АТФ синтазы. Поэтому он получил название «негомологичной области». Данный участок вовлечен в обратимую диссоциацию V-АТФазы.

Интегральный V0 домен включает 6 различных субъединиц (а, с, с', d, е и Ас45 у млекопитающих и а, с, с', с'', d и е у дрожжей). Его функцией и является транслокация протонов через мембрану. Молекулярная масса данного домена достигает 240 кДа.

Предприняты попытки разработки более строгой и подробной номенклатуры субъединиц V-АТФазы [33, 42].

Согласно последним предложениям, их наименования должны выглядеть, например, так: ATR6V0A1v1, где V0 – принадлежность к трансмембранному домену, A1 – гомолог 1 субъединицы а, v1 – сплайсинговый вариант 1. Соответственно ATR6V1C2v2 – гомолог 2, сплайсинговый вариант 2 субъединицы С-домена V1 [42].

Однако широкого распространения такие номенклатуры пока не получили. Поэтому более подробно мы их здесь характеризовать не будем.

V1 и V0 домены соединяются с помощью нескольких «стержней». Центральный стержень включает субъединицы D, F и d. Три периферических стержня состоят из субъединиц C, E, G и N-терминального цитоплазматического участка субъединицы а.

V-АТФаза действует по принципу ротора-статора. Центральный ротор образуют субъединицы D, F, d и протеолипиды с, с', с'', которые замыкаются в кольцо (см. рис. 5).

Субъединица а содержит два «полуканала», один из которых открыт внутрь клетки, другой – наружу, и аминокислотный остаток аргинина, имеющий очень важное значение в функционировании V-АТФазы (см. рис. 5). В свою очередь, в составе с, с', с'' субъединиц, образующих протеолипидное кольцо, имеются остатки глютаминовой кислоты (см. рис. 5).

В целом перенос протонов через плазматическую мембрану протекает следующим образом.

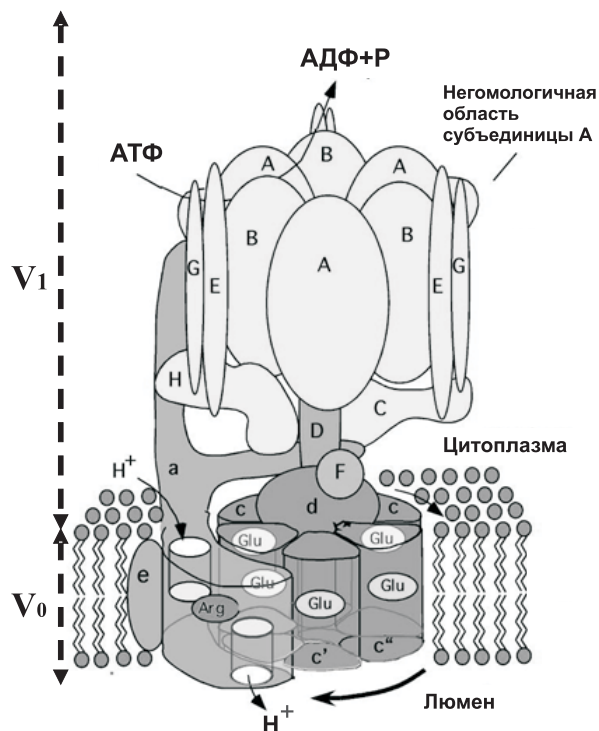


Рис. 5. Строение вакуолярной H^+ -АТФазы. Объяснения в тексте. По С.А. Wagner и соавт. [33], М. Toeи и соавт. [34], К.С. Jefferies и соавт. [35] и др.

Ион водорода сначала попадает в первый полуканал (открытый внутрь клетки), где к нему подходит одна из субъединиц протеолипидного кольца, содержащая остаток глютаминовой кислоты.

Протон связывается с этим остатком и далее за счет гидролиза АТФ происходит поворот ротора субъединицы (D, F, d и протеолипиды с, с', с''). В итоге протонированный остаток глютамина оказывается напротив второго полуканала, открытого во внеклеточное пространство (в данном случае в просвет канальца). Здесь глютаминовая кислота взаимодействует с остатком аргинина и вследствие изменения константы ассоциации освобождается от иона водорода. Свободный протон при этом выходит в канальцевую жидкость по второму полуканалу. Такая система может работать до тех пор, пока сохраняются запасы энергии, аккумулированной в АТФ, и пространственная организация самой молекулы V-АТФазы, позволяющая сопрягать во времени и пространстве процессы гидролиза аденозинтрифосфата и переноса протонов.

Каждая субъединица V-АТФазы контролируется собственным геном. Исключение, по крайней мере, у дрожжей, составляет субъединица а, которую кодируют два гена *VPH1* и *STV1*. Существенно также, что многие субъединицы V-АТФазы у млекопитающих встречаются в виде нескольких изоформ, при этом некоторые из них в значительной мере

специфичны для отдельных органов и тканей. Среди всех изоформ белков, составляющих V-АТФазу, лучше всего изучены варианты субъединицы α .

Изоформа $\alpha 4$ экспрессируется почти исключительно в почках и ответственна за достижение V-АТФазами апикальных мембран вставочных α -клеток связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок. Мутации $\alpha 4$ ассоциируются с одной из форм дистального ПТА (см. ниже).

Изоформа $\alpha 2$ была идентифицирована в апикальных эндосомах клеток проксимальных канальцев. Здесь ее функция, по-видимому, сводится к обеспечению низкого рН, необходимого для реализации из рецепторов мегалина и кубилина – пептидов, подвергающихся последующему эндоцитозу из тубулярной жидкости [43].

Следующий элемент V-АТФазы, который вызывает особый интерес, – субъединица В, точнее ее изоформа В1. Она экспрессируется как в почках (апикальные мембраны вставочных клеток), так и в волосковых клетках внутреннего уха. Поэтому мутации в В1 ведут к развитию ПТА с нейросенсорной глухотой [44].

V-АТФазы плазматических мембран играют особо важную роль в деятельности остеокластов, при участии которых они непосредственно вовлекаются в процессы костной резорбции. Остеокласты обладают способностью прикрепляться к кости и отграничивать часть внеклеточного пространства, в которую секретируются кислоты и поступают пищеварительные ферменты. Кислое окружение непосредственно растворяет костный матрикс и активирует секретирующиеся протеазы, которые принимают участие в резорбции кости [35].

У пациентов с генетическими дефектами изоформ V-АТФаз, экспрессирующихся на плазматических мембранах остеокластов, развивается наследственное заболевание, уже упомянутый остеопетроз, которое характеризуется нарастанием минеральной плотности кости и дефектами развития, вызванными неспособностью к костному ремоделированию. Однако мутации гена *TCIRG1*, кодирующего $\alpha 3$ -субъединицу V-АТФазы остеокластов и вызывающего, подчас, тяжелые формы аутосомно-рецессивного остеопетроза, не сопровождаются проявлениями почечного тубулярного ацидоза [45–48], что, впрочем, не удивительно, поскольку почечная V-АТФаза несет четвертую изоформу субъединицы α . Возможно, одним из наиболее значимых свойств V-АТФаз является их способность к обратимой диссоциации на два основных домена V1 и V0. Этот механизм считается весьма важным в регу-

ляции активности данных насосов. Интересно, что комплексы V1 и V0 по отдельности сохраняют свои свойства (V1 – гидролиз АТФ, V0 – пассивный перенос протонов). У дрожжей дефицит глюкозы способствует диссоциации V-АТФаз, а избыток этого углевода – новому строительству ансамбля. Диссоциация V-АТФаз происходит и у насекомых во время линьки. По-видимому, смысл диссоциации АТФазного комплекса при недостатке глюкозы или молдинге – сохранение резервов АТФ [33–35].

Диссоциация – ассоциация V-АТФаз (в том числе глюкозозависимая) обнаружена и во внутриклеточных органеллах клеток почек. Однако физиологическое значение данного процесса остается малопонятным [49, 50].

Еще менее известно об обратимой диссоциации V-АТФаз плазматических мембран вставочных α -клеток связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок.

В обратимой диссоциации V-АТФазного ансамбля важную роль играет уже упомянутый «негомолочный регион» каталитической субъединицы А. Мутации в этой области блокируют диссоциацию V-АТФаз на фоне дефицита глюкозы, но не меняют их каталитическую активность [51].

О последствиях таких мутаций для обратимой диссоциации (если она вообще существует) и функционирования V-АТФаз апикальных мембран клеток дистального отдела нефрона практически никаких сведений нет.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что обратимая диссоциация V-АТФазного комплекса внутриклеточных органелл имеет существенное значение в детерминации его активности. Однако абсолютно неясна роль данного процесса в регуляции деятельности V-АТФаз плазматических мембран клеток эпителия почечных канальцев. Скорее активность этих насосов определяется другими механизмами, основным из которых, по-видимому, является обратимое встраивание готовых V-АТФаз, происходящих из специализированной популяции внутриклеточных везикул, в апикальные мембраны вставочных клеток конца дистального канальца и собирательных трубок (рис. 6) [33–35].

В условиях системного ацидоза происходит частичный экзоцитоз и внедрение внутриклеточных пузырьков, содержащих V-АТФазы в большом количестве, в плазматические мембраны вставочных α -клеток (см. рис. 6). При этом плотность данных насосов на люменальных мембранах увеличивается, и транспорт протонов нарастает. На фоне системного алкалоза процесс протекает в обратном порядке, и АТФаза-содержащие везикулы

подвергаются эндоцитозу (см. рис. 6). Поэтому можно сказать, что внутриклеточные пузырьки ведут себя подобно челнокам, доставляя V-АТФазы в нужном направлении в зависимости от потребностей организма.

Снижение клеточного pH ассоциируется с нарастанием содержания углекислого газа, который и индуцирует встраивание АТФаз-содержащих везикул в апикальные мембраны. Этот процесс, по крайней мере, частично регулируется инозитолтрифосфат киназой [49].

При нарастании люменального pH уровень внутриклеточного бикарбоната увеличивается, что стимулирует особую форму бикарбонатчувствительной аденилатциклазы (АДЦ) – растворимую АДЦ (pАДЦ; soluble adenylyl cyclase – sAC), которая в настоящее время рассматривается как важнейший молекулярный сенсор бикарбоната (см. ниже).

Помимо упомянутых выше механизмов регуляции активности V-АТФаз (обратимая диссоциация и экзоцитоз-эндоцитоз), существуют и ряд других. Например, модуляция сопряжения между гидролизом АТФ и транспортом протонов [52, 53] или обратимое образование дисульфидных связей в каталитическом центре субъединицы А, что ведет к изменениям гидролиза АТФ [54].

Однако эти механизмы направлены на поддержание необходимых значений pH в различных интрацеллюлярных компартментах и, скорее всего, не имеют прямого отношения к регуляции интенсивности секреции протонов через апикальные мембраны вставочных α -клеток.

K^+, H^+ -АТФазы (H^+, K^+ -АТФазы) – насосы, перемещающие протоны и калий против их концентрационных градиентов за счет затрат энергии, получаемой при гидролизе АТФ. K^+, H^+ -АТФазы относятся к P (P₂) классу АТФаз и имеют определенное сходство с хорошо известной Na^+, K^+ -АТФазой или Ca^{2+} -АТФазой. H^+, K^+ -АТФазы состоят из двух субъединиц: α и β . α -субъединица довольно велика по молекулярной массе (около 100 кДа) и включает 10 трансмембранных «завитков». Она определяет каталитическую активность и транслокацию ионов. Меньшая, β -субъединица (порядка 30 кДа) отвечает за трафик и процессинг энзима.

Наиболее известным представителем семейства H^+, K^+ -АТФаз является АТФаза, локализуемая в обкладочных клетках слизистой оболочки желудка («протонная помпа», $HK_{\alpha1} H^+, K^+$ -АТФаза, «желудочная» H^+, K^+ -АТФаза), специфическим ингибитором которой является омепразол. Другой субтип находится в эпителии толстого кишечника ($HK_{\alpha2} H^+, K^+$ -АТФаза, «кишечная» или «нежелудочная» H^+, K^+ -

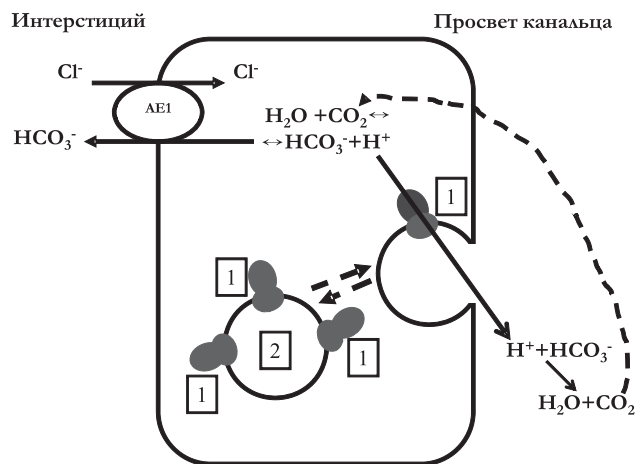


Рис. 6. Обратимый экзоцитоз-эндоцитоз АТФаз-содержащих везикул в $\alpha(A)$ -клетках связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок. 1 – V-АТФазы. 2 – АТФаза-содержащие внутриклеточные везикулы. Остальные объяснения в тексте.

АТФазы). Следовательно, H^+, K^+ -АТФазы существуют в двух основных изоформах, отличающихся по α -субъединице ($\alpha 1$ и $\alpha 2$; $HK_{\alpha 1}$ и $HK_{\alpha 2}$ соответственно), хотя известны и другие, например, $HK_{\alpha 3}$ и $HK_{\alpha 4}$. Описано также несколько сплайсинговых вариантов данного энзима. В почках крыс, кроликов и мышей, по-видимому, представлены оба важнейших типа H^+, K^+ -АТФаз. Распределение их по отделам нефрона несколько различается у разных видов [55].

У человека почечная локализация этого фермента исследована мало. В доступной литературе мы обнаружили только одну работу, посвященную данной теме. В ней, в частности, было показано наличие $HK_{\alpha 1}$ и $HK_{\alpha 4}$ (на 87% гомологична $HK_{\alpha 2}$ -АТФазе) АТФаз во вставочных и, в меньшей степени, главных клетках собирательных трубок [56].

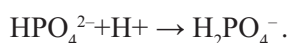
Так или иначе, согласно современным теоретическим воззрениям, H^+, K^+ -АТФаза присутствует на апикальном полюсе вставочных α -клеток и базальном – β -клеток. Такое распределение определяет ее значимость в почечных механизмах поддержания ионного и кислотно-основного гомеостаза.

Приводят ли генетически детерминированные дефекты H^+, K^+ -АТФазы к развитию ПТА у людей в точности не известно. Хотя описаны пациенты с метаболическим ацидозом, сопровождающимся выраженной гипокалиемией. Это позволило предполагать повреждение данного протонного насоса, как возможную причину ПТА. Однако молекулярно-генетический анализ у таких больных не выполнялся [57, 58].

Дополнительные механизмы ацидификации мочи

Титруемые кислоты. Как уже подробно рассматривалось выше, в дистальном отделе нефрона

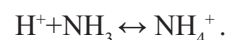
происходит секреция протонов, осуществляемая в основном АТФазами (см. рис. 2). При этом секреция положительно заряженных ионов водорода облегчается наличием в просвете канальца бикарбоната, несущего отрицательный заряд. Однако бикарбоната здесь уже немного (большая часть его уже реабсорбировалась в проксимальных канальцах). Поэтому дополнительный вклад в облегчение секреции протонов вносят анионные остатки ряда неметаболизируемых, нелетучих, сильных кислот, главным образом, неорганических: серной, соляной, но в основном фосфорной (см. рис. 2):



С химической точки зрения, такие кислоты выступают в качестве мочевых буферов, поэтому можно сказать, что часть протонов в просвете кортикальных собирательных трубок забуферивается их кислотными остатками. Уровень этих кислот определяется путем титрования основаниями, поэтому их часто называют «титруемыми кислотами» (ТК). Источником таких кислот в основном является метаболизм питательных веществ – белков и фосфолипидов [4, 59].

Аммиогенез, как уже отмечалось выше, играет весьма существенную роль в дистальной ацидификации мочи. Она определяется наличием аммиака в просвете дистального отдела нефрона.

При этом аммиак (NH_3) и аммоний (NH_4^+) образуют буферную пару, функционирующую согласно следующему уравнению:



Иными словами, аммиак способен в определенных ситуациях принимать на себя протоны, что, очевидно, (подобно ТК) должно облегчать работу протонным насосам за счет уменьшения концентрационного градиента ионов водорода между вне- и внутриклеточной средой [4, 60].

Аммиак является одним из центральных компонентов почечной регуляции кислотно-основного гомеостаза. В базальных условиях экскреция аммония обеспечивает 60–70% почечной нетто-экскреции кислот. В условиях ацидоза у человека с аммонием выводится уже 80–90% протонов. Уменьшение экскреции аммония, независимо от причин нарушения ацидификации мочи, является наиболее характерной чертой ПТА типа IV у людей [61].

Под термином «аммиогенез» чаще всего объединяют два понятия: образование аммония в основном в эпителии проксимальных канальцев (собственно аммиогенез) и транспорт аммония и аммиака в канальцевых клетках различных отделов нефрона. С физиологической и биохимической точек зрения, это, наверное, не совсем правильно, однако удобнее с позиций изложения. Поэтому здесь мы будем придерживаться аналогичного принципа.

Образование аммония, как только что было отмечено, происходит, главным образом, в проксимальном нефротелии, хотя клетки почти всех отделов нефрона продуцируют немного NH_4^+ . Аммоний синтезируется в основном из глутамина (ГлТ) и, возможно, в небольших количествах из аланина. Процесс этот достаточно сложен и вовлекает ряд ферментных систем. Протекает он в основном в митохондриях. При этом, наряду с аммонием, образуется эквивалентное количество бикарбоната (тот самый «новый» бикарбонат, который мы уже кратко упоминали). Бикарбонат реабсорбируется за счет уже известного нам NBC1, а аммоний секретируется в просвет канальца, главным образом, с помощью NHE3, в котором несущий позитивный заряд NH_4^+ замещает аналогично заряженный

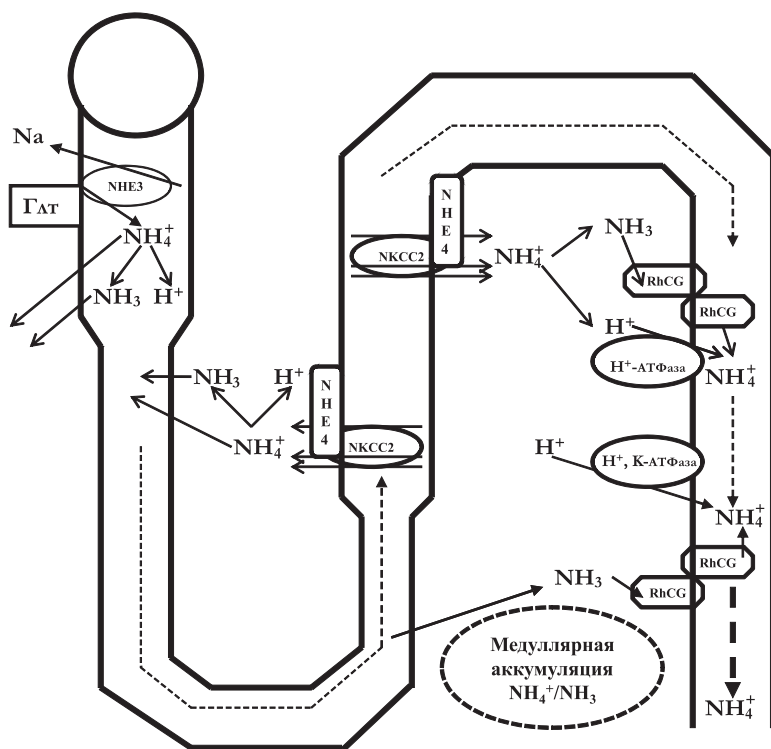


Рис. 7. Аммиогенез, транспорт аммиака и аммония в почках. По D. Weiner, J.W. Verlander [60], B.M. Koerppen [4] и др. Объяснения в тексте.

протон (рис. 7). Другими путями секреции аммония являются барий-чувствительные калиевые каналы и диффузия через апикальные мембраны NH_3 , который затем протонируется в просвете канальца. Не исключено, что часть аммония может транспортироваться через AQP1.

Значительная доля секретировавшегося аммония тут же вновь подвергается обратному всасыванию (в основном в S3-сегменте проксимального канальца). Далее реабсорбированный NH_4^+ поступает в печень, где конвертируется в мочевины.

Следующим важным местом реабсорбции аммония (и бикарбоната) в почках является толстый восходящий отдел петли Генле (ТлВПГ). Здесь главную роль играет апикальный Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспортер (NKCC2), который способен транспортировать внутрь клетки NH_4^+ вместо K^+ (см. рис. 7). Далее в клетке происходит диссоциация аммония на аммиак и протон. Аммиак за счет неустоенного механизма диффундирует в интерстиций, а протон забуферивается бикарбонатом, который поступает внутрь клетки через базолатеральную мембрану с помощью еще одного типа натрий-бикарбонатного котранспортера – NBCn1. Образовавшаяся угольная кислота распадается на воду и углекислый газ. Последний проникает в интерстиций, где вновь реагирует с водой, затем диссоциируя на ион водорода и бикарбонат. Бикарбонат вновь поступает внутрь клетки с помощью NBCn1, а NH_3 частично накапливается в интерстиции – частично проникает в окружающие канальцы, в том числе, в нисходящую часть петли Генле и собирательные трубки. В них же попадают ионы водорода, по-видимому, с помощью протонных насосов (V-АТФазы и H^+ , K^+ -АТФазы) и КАП по механизмам, которые уже подробно рассматривались выше (см. рис. 7).

Транспорт бикарбоната внутрь клеток ТлВПГ через NBCn1 имеет лимитирующее значение в реабсорбции аммония в этом отделе нефрона, поскольку его подавление существенно снижает обратное всасывание NH_4^+ [61].

Определенное значение в почечном транспорте аммония имеет его реабсорбция в тонком нисходящем отделе петли Генле. Здесь он реабсорбируется в виде NH_3 и лишь в небольшой степени в виде NH_4^+ . Молекулярные механизмы такого транспорта не известны, хотя не исключено, что определенную роль здесь может играть AQP1. В любом случае реабсорбция NH_3 в данном отделе нефрона способствует накоплению аммиака и аммония в интерстиции мозгового вещества (см. рис. 7).

Транспорт аммония в дистальных извитых канальцах, связующих канальцах и начальной ча-

сти кортикальных собирательных трубок трудно оценить. Хотя есть основания полагать, что здесь происходит его секреция, составляющая в базальных условиях 10–15% от общей экскреции NH_4^+ с мочой [62, 63].

Собирательные трубки также имеют важное значение в почечном транспорте аммония. Особый интерес представляют механизмы, по которым NH_4^+ проникает в просвет этих отделов нефрона. Долгое время считалось, что аммоний (в форме NH_3) поступает туда в форме простой диффузии. Однако результаты многих исследований последних лет показали, что данный процесс опосредуется рядом протеинов, основную роль среди которых играют так называемые резус-гликопротеины (Rh гликопротеины). Поскольку NH_3 , как известно, представляет собой газ, Rh-гликопротеины в его транспорте через биологические мембраны играют ту же роль, что и AQP1 для транспорта CO_2 [64], хотя, как уже отмечалось выше, AQP1 в некоторых отделах нефрона, по-видимому, может транспортировать и NH_3 .

У млекопитающих к настоящему времени идентифицировано, по крайней мере, три таких белка RhA-гликопротеин (RhAG/Rhag), RhB-гликопротеин (RhBG/Rhbg) и RhC-гликопротеин (RhCG/Rhcg). В тканях человека RhA-гликопротеин принято обозначать как RhAG, RhB, как RhBG и RhC, как RhCG [60].

RhAG экспрессируется в основном в эритроцитах. Результаты ряда исследований показывают, что в почке человека основным транспортером NH_3 является RhCG, который локализуется как на апикальных, так и базолатеральных мембранах эпителиев собирательных трубок (в том числе и мембранах главных и α -вставочных клеток) [65].

Существуют серьезные свидетельства в пользу того, что Rhcg играет решающую роль в экскреции аммония. При этом метаболический ацидоз значительно увеличивает экспрессию этого протеина в собирательных трубках наружного и внутреннего мозгового вещества, но не в коре [66].

Обратив внимание на рис. 7, нетрудно заметить, что в почках происходит непрерывная рециркуляция $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ на разных уровнях. В конечном итоге это ведет к аккумуляции аммония и аммиака в интерстиции внутренней медуллы. Данный процесс несколько напоминает деятельность поворотноточечно-множительной системы почек или системы почечного транспорта мочевины. Все три этих механизма приводят к формированию аксиального концентрационного градиента (большой концентрации в мозговом веществе по сравнению с

корковым), соответственно, для аммиака/аммония, осмотически активных веществ и мочевины. По-видимому, высокое содержание аммиака в медулле облегчает его секрецию в просвет собирательных трубок, что далее позволяет ему забуферивать ионы водорода и экскретировать их в виде аммония.

Генетические дефекты Rh-гликопротеинов, которые могли бы привести к системным расстройствам КОС у людей, нам не известны. Однако показано, что нефропатия, вызванная циклоспорином А у крыс, ассоциируется с уменьшением экспрессии Rhcg, что, возможно, служит причиной нарушений экскреции аммония и развития метаболического ацидоза в данной модели [67].

В конечном итоге, выведение протонов с мочой («почечная нетто-экскреция кислот» – ПНЭК) определяется алгебраической суммой их количества, забуференного ТК, NH_4^+ и HCO_3^- :

$$\text{ПНЭК} = U_{\text{ТК}} \times V + U_{\text{NH}_4^+} \times V - U_{\text{HCO}_3^-} \times V,$$

где U – концентрации в моче, ТК, NH_4^+ и HCO_3^- соответственно, V – объем мочи. В данном случае игнорируется выведение протонов в «чистом виде», концентрация которых в моче при ее pH 4 ничтожно мала (0,1 мэкв/л). При этом ПНЭК равна эндогенной нетто-продукции кислот (ЭНПК) в организме, составляющей при обычной «западной» диете около 1 мэкв/кг массы тела⁻¹×сут⁻¹ [4].

Гуморальная регуляция почечного транспорта кислот и оснований

Почечный транспорт кислот и оснований регулируется рядом гормонов и других биологически активных веществ, не являющихся в строгом смысле гормонами.

Альдостерон. Наиболее известным (но самым ли важным?) из таких гуморальных регуляторов является альдостерон. Многие врачи знают, что гипоальдостеронизм сопровождается гиперкалиемией и ацидозом, а гиперальдостеронизм – гипокалиемией и алкалозом. В большинстве случаев молекулярные механизмы воздействия альдостерона на почечный транспорт кислот и оснований остаются неизвестными. Тем не менее, установлен ряд положений, проливающих свет на роль этого минералкортикоида в ренальной поддержке кислотно-основного гомеостаза.

(1) Стимуляция альдостероном электрогенной реабсорбции натрия через люменальные эпителиальные натриевые каналы в дистальных отделах нефрона (ENaC) приводит к формированию люменнегативного потенциала, что, естественно, облегчает секрецию положительно заряженных протонов. (2)

Альдостерон оказывает прямое действие на секрецию катионов водорода через транскрипционные/трансляционные пути образования ряда протеинов-транспортеров. (3) В опытах на интактных животных было показано, что низкое потребление Na^+ сопровождается нарастанием почечной секреции H^+ , которое не связано с развитием сопутствующей гипокалиемии. (4) Метаболический ацидоз стимулирует секрецию альдостерона надпочечниками. (5) Адреналэктомия или подавление минералкортикоидных рецепторов вызывает метаболический ацидоз (дистальный ПТА типа IV) у крыс и людей. (6) Дистальный ПТА, вызванный адреналэктомией, может корректироваться применением только альдостерона. (7) Ряд моногенных заболеваний, связанных с дефектами синтеза, сигнальных путей или целевых протеинов альдостерона, изменяют секрецию протонов в собирательных трубках, что может вызывать метаболический ацидоз или алкалоз. (8) Гипоальдостеронизм может приводить к снижению синтеза аммония в проксимальных канальцах с последующим уменьшением почечной экскреции кислот (протонов) [33, 61].

Ряд этих положений, на наш взгляд, заслуживают дополнительных комментариев.

(1) По-видимому, основным (хотя далеко не единственным), последствием воздействия альдостерона на главные клетки связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок является увеличение плотности ENaC на апикальных мембранах данных клеток, что способствует входу в них Na^+ . Это и приводит к нарастанию электрогенной реабсорбции натрия через люменальные эпителиальные каналы, которое, очевидно, не должно сопровождаться эквивалентным увеличением обратного всасывания хлора и других анионов. Только в таком случае может сформироваться «люменнегативный потенциал» или по другой терминологии «люменнегативная трансэпителиальная разность потенциалов» (катионы натрия уходят, анионы остаются в просвете канальца, суммарный отрицательный заряд интратубулярной жидкости увеличивается). Очевидно, что в таком случае облегчается секреция положительно заряженных протонов в просвет канальца, например, за счет H^+ -АТФазы.

Увеличение реабсорбции Na^+ сопровождается реципрокным нарастанием секреции калия, что может стать одной из причин гипокалиемии при гиперальдостеронизме. Соответственно при гипоальдостеронизме ситуация будет обратной. Основные (хотя и не все) молекулярные механизмы действия альдостерона на транспорт натрия и калия на уровне

главных клеток связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок были представлены в одном из наших сообщений [68]. Поэтому здесь мы их подробно описывать не будем. Заметим только, что воздействие альдостерона, осуществляющееся через минералкортикоидные рецепторы (МР-рецепторы), замедляет убиквитин-зависимую деградацию ENaC, что и приводит к увеличению их плотности на апикальных мембранах клеток с последующим нарастанием входа в них натрия.

(2) Альдостерон, по-видимому, в той или иной степени контролирует деятельность практически всех транспортеров, вовлеченных в транслокацию протонов (H^+ -АТФаза, H^+ , K^+ -АТФаза, Rhcg) и бикарбоната (AE1, пендрин) во вставочных клетках собирательных трубок [55, 70–73].

Есть данные и о том, что альдостерон стимулирует активность и мембранную экспрессию NHE3 в клетках почек проксимальных канальцев человека [74].

Молекулярные и субклеточные механизмы, за счет которых минералкортикоиды усиливают активность или экспрессию, или того или другого вместе, соответствующих протонных или бикарбонатных транспортеров, как правило, в точности не известны.

(7) Известно достаточно много моногенных заболеваний, связанных с развитием ацидоза или алкалоза. Хорошим примером первых может служить так называемый псевдогипоальдостеронизм типа I. При этом состоянии, несмотря на активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой оси, наблюдается потеря натрия, ассоциированная гиперкалиемией и гиперхлоремическим метаболическим ацидозом. Такие состояния вызваны подавляющими мутациями одного из трех генов, кодирующих все три субъединицы ENaC, или генетическими аномалиями МР-рецепторов. Своеобразным вариантом является псевдогипоальдостеронизм типа II, заболевания, также известного как «синдром Гордона». Он определяется аномалиями генов, контролирующих, так называемый WNK-киназы (with no lysine [K] kinases). Дефекты этих ферментов (WNK1 и WNK4) приводят к активации Na^+ , Cl^- -котранспортеров (NCC) в дистальных извитых канальцах и нарушениям встраивания ROMK-каналов в апикальные мембраны клеток собирательных трубок (WNK4 оказывает ингибирующий эффект на NCC, ENaC и ROMK). Это далее приводит к снижению почечной экскреции калия и развитию метаболического ацидоза. WNK4 контролируется альдостероном. Под влиянием этого минералкортикоида через другой тип

киназ – SGK1 (serum and glucocorticoid-regulated kinase) происходит фосфорилирование WNK4. Фосфорилированный фермент теряет способность подавлять активность NCC, ENaC и ROMK. При мутациях WNK4 становится нечувствительным к фосфорилированию, и его ингибирующий эффект на указанные выше транспортеры утрачивается. Мутации гена, кодирующего WNK4, и становятся причиной одного из вариантов синдрома Гордона (другой – связан с аномалиями гена, кодирующего WNK1, которая, в свою очередь, регулирует активность WNK4) [61, 75, 76].

Более подробно патогенез и клинику таких заболеваний мы предполагаем рассмотреть во второй части нашего сообщения. Здесь же заметим только, что практически все варианты как гипоальдостеронизма, так и псевдогипоальдостеронизма, с позиций нарушений кислотно-основного состояния, могут рассматриваться как формы гиперкалиемического дистального тубулярного ацидоза – ПТА типа IV.

Ангиотензин II (АТII) рассматривается как потенциальный активатор реабсорбции бикарбоната и секреции протонов в нефроне. Целевыми транспортерами для АТII считаются Na^+/HCO_3^- -котранспортер, Na^+/H^+ -обменники (по крайней мере NHE3) в проксимальных канальцах и V-АТФаза в проксимальных канальцах, дистальном извитом канальце и во вставочных клетках кортикальных собирательных трубок. Исследования на интактных животных и людях подтвердили стимулирующий эффект АТII на секрецию кислот и реабсорбцию бикарбоната. Такие воздействия, скорее всего, осуществляются через AT_1 -рецептор. Оба типа рецепторов АТII (AT_1 и AT_2) экспрессируются в почках. Причем AT_1 является доминирующим субтипом и широко представлен в почечных сосудах и практически по всей длине нефрона, по-видимому, включая вставочные клетки собирательных трубок [6, 33, 77–79].

Кроме того, АТII, возможно, способствует усилению секреции аммония в проксимальных канальцах в условиях ацидоза [80].

По-видимому, эффекты АТII на тубулярный транспорт кислот и оснований реализуются как изнутри канальца, так и со стороны интерстиция. Интересно, при этом, что концентрация данного пептида в просвете канальца оказывается выше, чем в плазме крови. АТII легко фильтруется в клубочках. Ангиотензиноген, ренин и ангиотензин I-превращающий фермент также присутствуют в канальцах, причем ангиотензиноген попадает туда за счет канальцевой секреции. Поэтому интратубулярное образование АТII происходит в результате

деятельности локальной (паракринной) ренин-ангиотензиновой системы [6, 33].

Результаты не всех исследований подтверждают, что АПГ является стимулятором реабсорбции бикарбоната и секреции протонов [81–84].

Такие расхождения обычно объясняют разным эффектом «низких» (10^{-9} М) и «высоких» (10^{-8} М) концентраций АПГ. Именно «высокие» концентрации данного пептида обеспечивают его ингибирующее действие на транспортеры, вовлеченные в транслокацию кислот и оснований в почечных канальцах. Не исключено, что эффект последних реализуется через АТ₂-рецепторы [6, 33].

Вазопрессин (антидиуретический гормон – АДГ; аргинин-вазопрессин – АВП). К настоящему времени появились ряд сведений, свидетельствующих о том, вазопрессин, помимо хорошо известных гидроосмотического и сосудосуживающего эффектов, играет определенную роль в регуляции почечного транспорта кислот и оснований. По-видимому, воздействие вазопрессина на эти процессы опосредуется рядом механизмов. В частности, он способствует секреции ренина за счет влияния на V1a-рецепторы на апикальных мембранах клеток macula densa. При этом у V1a-дефицитных мышей развивается гипоренинемический гипоальдостеронизм [85].

Однако влияние вазопрессина не исчерпывается только этим. Во вставочных клетках он, по-видимому, необходим для полной реализации эффекта альдостерона на H⁺-АТФазу, H⁺, K⁺-АТФазу и Rhcg, но не оказывает существенного влияния на AE1 и пендрин. Такое воздействие вазопрессина также опосредуется апикальными V1a-рецепторами [86].

Тем не менее, неясно, насколько приложимы эти данные к почке человека. Если они для нее действительны, то у пациентов с центральным несахарным диабетом можно было бы ожидать развития почечного тубулярного ацидоза типа IV. Однако на деле сколь-нибудь отчетливых проявлений ацидоза у таких больных обычно не наблюдается.

Эндотелины. Эндотелин-1 (ЭТ-1) – мощный вазоконстриктор, продуцируемый эндотелиальными клетками, в последнее время начинает рассматриваться в качестве одного из основных гормонов в регуляции транспорта кислот и оснований в почках. В исследованиях на культуре эндотелиальных клеток почек было обнаружено нарастание секреции из них эндотелина в условиях ацидоза. У животных при ацидозе также выявлялись более высокие уровни ЭТ-1. Влияние последнего на почечный транспорт кислот и оснований, главным

образом, опосредуется ЕТв-рецепторами, представленными в нефроне (в основном на базальных мембранах канальцевых клеток). В проксимальных канальцах ЭТ-1 стимулирует реабсорбцию бикарбоната за счет Na⁺/H⁺-обменников. В дистальных и собирательных трубках блокада ЕТв-рецепторов подавляет люменальную ацидификацию, индуцированную рационом, а активация этих рецепторов уменьшает снижение редуцированной секреции HCO₃⁻ и увеличивает транспорт протонов H⁺-АТФазой. Кроме того, адаптационное нарастание реабсорбции бикарбоната и секреции протонов в остатке резецированной почки подавляется блокадой ЕТв-рецепторов [5, 33, 87].

У экспериментальных животных ЕТ-1, по-видимому, также может стимулировать проксимальную и дистальную ацидификацию непрямым путем через нарастание минералкортикоидной активности (стимуляция секреции альдостерона надпочечниками) [88].

В то же время, исследования на здоровых людях с индуцированным метаболическим ацидозом (NH₄Cl) дали несколько неожиданный результат ЭТ-1. Оказалось, что у них назначение бозентана (антагонист ЕТА/ЕТв-рецепторов) приводило к нарастанию нетто-экскреции кислот, стимуляции аммионогенеза и достоверному повышению концентрации бикарбоната в плазме крови. Такой эффект, однако, наблюдался только у испытуемых, находящихся на низконатриевой диете [89].

В целом, физиологическая значимость ЭТ-1, как регулятора почечного транспорта кислот и оснований, нуждается в уточнении. Существен и другой момент. Несомненная стимуляция ЭТ-1 ацидозом, возникающим при сокращении массы действующих нефронов, из-за вазоактивных свойств данного пептида может рассматриваться, как самостоятельный фактор прогрессирования хронической болезни почек, что подвигает к поиску воздействий, способных нивелировать негативные последствия таких процессов [87].

Калликреин в собирательных трубках угнетает секрецию бикарбоната и увеличивает его реабсорбцию. В клетках медуллярного дистального извитого канальца, имеющих некоторые черты вставочных клеток, калликреин ингибирует стилбен-чувствительный Cl⁻/HCO₃⁻-обменник. У мышей, дефицитных по тканевому калликреину, выявляется активация H⁺, K⁺-АТФазы во вставочных клетках [33, 90].

Тиреоидные гормоны стимулируют реабсорбцию HCO₃⁻ в проксимальных канальцах через Na⁺/H⁺-обмен и, возможно, в собирательных трубках за

счет H^+ -АТФаз. Транспорт бикарбоната в собирательных трубках у пациентов с гипотиреозом снижен и у них иногда наблюдаются проявления почечного тубулярного ацидоза. Аутоиммунный тиреоидит тоже порой ассоциируется с дистальным ПТА, хотя не известно, вызван ли он собственно снижением функции щитовидной железы или, хотя бы частично, является следствием аутоиммунной реакции [33].

У крыс с экспериментальным гипотиреозом снижается экспрессия NHE3, фосфатного котранспортера NaPi-IIa и B2-субъединицы вакуолярной H^+ -АТФазы в щеточной кайме мембран клеток проксимального канальца с параллельным уменьшением выявления NBCe1 и высокой экспрессией хлор-бикарбонатного обменника AE1 в протон-секретирующих α -вставочных клетках [91].

Данные обо всех упомянутых выше и ряде других гуморальных агентах, имеющих отношение к регуляции почечного транспорта кислот и оснований, суммированы в табл. 2.

Таким образом, существует сложная, многокомпонентная система гуморальной регуляции транспорта кислот и оснований в почках, призванная менять его состояние в зависимости от запросов организма. Но даже этой мощной контролирующей системы оказывается недостаточно для перенастройки этих процессов с необходимой скоростью и точностью. Поэтому важнейшую роль играет регуляция почечного транспорта протонов и бикарбоната в почечных канальцах на другом уровне – локальных сенсоров-регуляторов.

Локальные сенсоры компонентов кислотно-основного гомеостаза

Помимо рассмотренных выше гуморальных путей контроля деятельности почек по поддержанию кислотно-основного гомеостаза, появилась и новая концепция регуляции транспортеров, вовлеченных в перенос протонов и бикарбоната в почечных клетках. Данная концепция предполагает наличие локальных сенсоров, которые позволяют клеткам ощущать возмущения кислотно-основного равновесия и соответствующим образом реагировать на это [8, 33].

Заметим, что подобные механизмы распространяются отнюдь не только на специализированные почечные эпителии, а на подавляющее большинство клеток других органов и тканей, поскольку для них резкие изменения, например, внеклеточного pH, чреваты самыми неприятными последствиями. Поэтому любая клетка вынуждена замечать такие сдвиги и по мере возможности от них защищаться. Обратим также внимание на то, что, по-видимому, существуют сенсоры, реагирующие на внеклеточные и внутриклеточные возмущения кислотно-основного равновесия [92].

О конкретных механизмах локально-клеточной рецепции сдвигов кислотно-основного равновесия в настоящее время известно довольно мало. Да и отдельные претенденты на роль таких сенсоров очерчены скорее предположительно. Тем не менее, наличие и важность данных процессов не вызывает сомнений [5, 8, 92].

Так или иначе, в настоящее время пытаются выделять три группы субцеллюлярных рецепторов: реагирующие на изменения pH, концентраций бикарбоната и углекислого газа [5, 92].

Сенсоры внеклеточного pH. Предполагают наличие, по крайней мере, трех G протеин-

Таблица 2

Некоторые гуморальные агенты, имеющие отношение к регуляции транспорта кислот и оснований в почках (по С.А. Wagner и соавт. [33] и др.)

Агент	Эффект
Альдостерон	Непосредственная стимуляция реабсорбции бикарбоната и активности H^+ -АТФазы в СТНМ и непряная – в КСТ
Ангиотензин II	Стимулирует реабсорбцию бикарбоната в ПК и КСТ за счет Na^+/H^+ (ПК) и H^+ -АТФазы (ПК, КСТ)
Эндотелин	ПК – стимулирует реабсорбцию бикарбоната за счет Na^+/H^+ ; КСТ – стимулирует активность α -БК, подавляет активность β -БК
Вазопрессин	Повышает реабсорбцию бикарбоната в КСТ за счет стимуляции V1a-рецепторов и подавления V2-рецепторов
Калликреин	Повышает реабсорбцию бикарбоната в КСТ
Тиреоидные гормоны	Стимулируют финальную ацидификацию мочи
Кальцитонин	Стимулирует реабсорбцию бикарбоната в КСТ (α -БК)
Изопротеренол	Стимулирует секрецию бикарбоната в КСТ (β -БК)
Вазоактивный интестинальный пептид	Уменьшает реабсорбцию и усиливает секрецию бикарбоната в КСТ
NO	Уменьшает реабсорбцию бикарбоната в КСТ

Примечание. СТНМ – собирательные трубки наружной медуллы, КСТ – кортикальные собирательные трубки, ПК – проксимальные канальцы.

сцепленных рецепторов (G protein-coupled receptors – GPCRs), которые активируются при физиологическом снижении pH внеклеточной среды: G протеин-сцепленный рецептор 1 рака яичников (ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 – OGR1), G протеин-сцепленный рецептор 4 (G protein-coupled receptor 4 – GPR4) и ген, ассоциированный со смертью Т-клеток 8 (T cell death-associated gene 8 – TDAG8). В общем, pH чувствительные GPCRs полностью активируются при значениях pH внеклеточного окружения $<6,8$ и инактивируются при $pH > 7,5$. TDAG8, по-видимому, присутствует только в клетках иммунной системы и лимфоидной ткани. OGR1 и GPR4 экспрессируются в разных органах и тканях, в том числе и в почках. При этом возможная локализация OGR1 на базолатеральных мембранах клеток практически всех отделов нефрона позволяет претендовать ему на роль идеального сенсора внеклеточного pH [5, 92].

Механизм активации сенсора ионами водорода включает протонацию гистидинов в окружающей среде и индукцию конформационных изменений, которые способствуют активации соответствующих G-протеинов. Конечным результатом этого является нарастание концентраций вторичных внутриклеточных мессенджеров: цАМФ, инозитолтрифосфата, диацилглицерола, а также кальция. Активация OGR1, преимущественно, повышает внутриклеточные уровни кальция и инозитолтрифосфата (хотя, возможно, несколько увеличивает и содержание цАМФ) – известных стимулов Na^+/H^+ -обмена. Не исключено также, что OGR1 модулирует активность и H^+ -АТФазы [5, 92–94].

Функционирование GPR4 ассоциировано с цАМФ- и PKA-зависимыми путями. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что GPR4 модулирует активность α -субъединицы H^+/K^+ -АТФазы (NKa2) [95–97].

В дополнение к H^+ -GPCRs-сенсорам изменения внеклеточного pH могут ощущаться некоторыми H^+ -чувствительными ионными каналами. В частности, некоторые калиевые каналы внутреннего выпрямления (inwardly rectifying K^+ channels – Kir) регулируются вариациями внутри- и(или) внеклеточного pH. В общем, смещение pH в кислую сторону ингибирует, а в щелочную – активирует подобные каналы [92].

В почках таким примером могут являться очень хорошо изученные ROMK (rat outer medullary K^+ channels) и TASK-2 (TWIK related Acid-Sensitive K^+ channels; TWIK – Tandem of P domains in Weak Inward rectifier K^+ channels) калиевые каналы [92, 98, 99].

Однако, если нет сомнений в том, что ROMK-каналы весьма чувствительны к изменениям внутриклеточного pH, их реакция на вариации концентрации протонов во внеклеточной среде весьма сомнительна [100].

На наш взгляд, оправдан и вопрос: стоит ли рассматривать те же ROMK- или TASK-каналы в качестве сенсоров pH в смысле их способности непосредственно модулировать мембранные транспортеры, вовлеченные в перенос протонов или бикарбоната. Хотя они, по-видимому, могут оказать на такие переносчики косвенное влияние, например, за счет изменений мембранного потенциала или объема клеток.

Сенсоры внутриклеточного pH. Изначально предполагалось, что H^+ - и HCO_3^- -транспортирующие протеины, которые восстанавливают внутриклеточный pH, непосредственно ощущают и его изменения, что в дальнейшем приводит к аллостерической модификации этих переносчиков. Однако чувствительность таких транспортеров, по-видимому, недостаточна, поэтому для надежной регуляции внутриклеточного pH необходимы дополнительные механизмы [101].

На роль одного из главных сенсоров внутриклеточного pH в почках претендует тирозин киназа Pyk2. Накопление протонов приводит к активации Pyk2, аутофосфорилированию тирозина в положении 402 и фосфорилированию другой тирозин киназы – c-Src. При этом нарастание активности c-Src по механизму обратной связи ограничивает дальнейшую активацию Pyk2, хотя оба фермента вовлекаются в регуляцию почечных транспортеров протонов и бикарбоната. Поскольку активация Pyk2 предшествует активации c-Src, именно первый фермент рассматривается в качестве сенсора внутриклеточного pH [102–105].

Стимуляция Pyk2/c-Src-пути приводит к усилению транскрипции и встраивания NHE3 в плазматические мембраны. Кроме того, интрацеллюлярная ацидификация CO_2 вызывает нарастание активности NBC1, которая также опосредуется Pyk2/c-Src. Таким образом, Pyk2/c-Src-зависимый ответ на ацидоз может включать как нарастание секреции H^+ через NHE3 апикальных мембран, так и базолатеральной абсорбции HCO_3^- [103, 104, 106–108].

Таким образом, сенсоры внутриклеточного pH, имеющиеся, например, в клетках проксимальных канальцев почек, могут иметь определенное отношение к борьбе с системным ацидозом [101, 104].

Сенсоры бикарбоната. По общему мнению, основным сенсором бикарбоната является уже

упомянутая рАДЦ, которая по многим своим свойствам существенно отличается от более известной трансмембранной АДЦ [8, 92, 109, 110].

Например, она, в отличие от большинства вариантов трансмембранной АДЦ, практически не чувствительна к действию регуляторных G-протеинов [111, 112].

рАДЦ представлена в клетках разных органов и тканей, в том числе и почках. Данные о наличии ее в проксимальных канальцах противоречивы, но она, несомненно, имеется во вставочных как α -, так и β -клетках [109].

В общем случае нарастание внутриклеточной концентрации бикарбоната, непосредственно взаимодействуя с рАДЦ, повышает содержание циклической АМФ (цАМФ) внутри клеток и, следовательно, активность протеинкиназы А (ПКА). Активация последней усиливает экзоцитоз и(или) ослабляет эндоцитоз V-АТФаз. Как ПКА регулирует эти процессы остается неясным. Тем не менее, было показано, что чувствительный метаболический сенсор – АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК) так же, как и ПКА, непосредственно может фосфорилировать субъединицу А V-АТФазы, но при этом АМФК ингибирует ПКА-зависимое фосфорилирование данной молекулы и цАМФ-индуцированную аккумуляцию V-АТФаз в апикальной мембране. Таким образом, интрацеллюлярный трафик VАТФаз, по-видимому, регулируется как ПКА, так и АМФК [34, 109, 113, 114].

Нарастание внутриклеточной концентрации бикарбоната может происходить в условиях как метаболического, так и респираторного ацидоза за счет увеличения парциального давления углекислого газа, который далее диффундирует внутрь клеток и под действием КА II становится источником повышения уровня HCO_3^- [92, 109, 115].

Таким образом, нарастание секреции протонов при участии рАДЦ и V-АТФазы становится важным путем развития почечной компенсации системной ацидемии.

Однако результаты некоторых экспериментов показали, например, что назначение ацетазоламида (препарата, подавляющего реабсорбцию бикарбоната в проксимальных канальцах) приводит к экспрессии рАДЦ и V-АТФазы на апикальном полюсе вставочных α -клеток и базальном – β -клеток кортикальных собирательных трубок. Это может свидетельствовать о том, что повышение концентрации бикарбоната в тубулярной жидкости дистального отдела нефрона также ощущается рАДЦ [115].

Каким же образом фермент, находящийся внутри клеток, да еще содержащийся в так называемых

«микродоменах», где и происходит локальная генерация цАМФ, и которые располагаются не только в цитоплазме, но и ряде внутриклеточных органелл, включая ядро и митохондрии («микродоменная модель цАМФ» [109, 116]), может реагировать на изменения уровня бикарбоната во внешней среде?

Одно из возможных объяснений – наличие на апикальных мембранах вставочных α -клеток, уже упоминавшегося транспортера NBC3, который переносит в клетку ионы бикарбоната и натрия [92, 109, 115].

В клинике аналогом ситуации, приводящей к росту концентрации бикарбоната в дистальном нефроне (помимо назначения ацетазоламида), может быть проксимальный тубулярный ацидоз. В последнем случае снижение реабсорбции бикарбоната в проксимальных канальцах увеличивает загрузку им нижележащих отделов нефрона, в том числе связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок. Там за счет деятельности NBC3 акцелерируется транспорт HCO_3^- внутрь вставочных α -клеток, что повышает его концентрацию в цитозоле, активирует встраивание H^+ -АТФаз в апикальные мембраны и, соответственно, секрецию протонов. Таким образом, при ПТА типа II вышеописанный механизм, несомненно, является компенсаторным в отношении системного ацидоза.

Взглянем, однако, на проблему с позиций метаболического алкалоза. В данном случае рост концентрации HCO_3^- в плазме крови неизбежно приведет к увеличению его фильтрационного заряда. Поскольку проксимальная реабсорбция бикарбоната ограничена $T^{\max}$, при высоких плазматических уровнях HCO_3^- значительное его количество достигнет связующих канальцев и собирательных трубок. Тогда, если справедливы положения, описанные в предыдущем абзаце, должны возрасти потери ионов водорода, что будет только усугублять системный алкалоз. Так это или нет? Ответа на данный вопрос, как и на многие другие, связанные с деятельностью молекулярных сенсоров компонентов КОС, пока не существует.

В заключение отметим, что вторым важнейшим активатором рАДЦ, помимо бикарбоната, являются ионы кальция. Кальций, связываясь с γ -фосфатом АТФ, координирует ее со специфическими участками каталитического центра рАДЦ, переводя последнюю в так называемое «открытое состояние». Напротив, другой двухвалентный металл – магний связывается с α -фосфатом АТФ и приводит к другому типу такой координации, что обозначают как «закрытое состояние». Переход от открытого

состояния к закрытому имеет важное значение в конечном эффекте рАДЦ – образовании цАМФ [109].

Влияние кальция на рАДЦ не зависит от кальмодулина. Кроме того, кальций и бикарбонат стимулируют данный фермент за счет различных механизмов, что позволяет расценивать их эффект на рАДЦ как синергичный [117].

Поскольку кальций вовлечен в регуляцию рециркуляции V-АТФазы-содержащих везикул между плазматической мембраной и внутриклеточной средой [8], можно предположить, что такой его эффект, по крайней мере частично, опосредован воздействием на рАДЦ.

Интересно, что, насколько нам известно, не описано расстройств кислотно-основного состояния при генетически детерминированных дефектах рАДЦ. Однако специфические замены оснований в гене рАДЦ ассоциируются с развитием семейной абсорбтивной гиперкальциемии. Наследственного заболевания, которое характеризуется повышением экскреции кальция с мочой вследствие его неадекватной реабсорбции в дистальных канальцах и(или) кишечнике [118, 119].

Сенсоры CO_2 вызывают больше всего вопросов. Строго говоря, в точности не известно, есть ли они у млекопитающих (в отличие от насекомых и нематод). Сложность проблемы определяется чрезвычайно тесными взаимосвязями в системе $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-/\text{H}^+$. При изменении одного из компонентов этой системы эквilibрация достигается в течение нескольких минут из-за каталитического эффекта карбоангидразы. Поэтому вариации CO_2 , практически мгновенно приводя к изменениям pH и бикарбоната, могут ощущаться сенсорами последних [92, 112].

Так или иначе у млекопитающих изменения CO_2 ощущаются почками, воздухоносными путями, языком и периферическими и центральными хеморецепторами [92].

Некоторые данные, в основном косвенные, указывают на то, что углекислый газ может действовать независимо от бикарбоната. В частности, есть сведения, что нарастание CO_2 в базолатеральной области S_2 -сегмента проксимальных канальцев почек кролика приводит к усилению реабсорбции бикарбоната. При этом изменения концентрации CO_2 , возможно, ощущаются, так называемой «расстворимой тирозинкиназой» (sTK) [120, 121].

Все же основным сенсором CO_2 считается уже известная нам рАДЦ. При этом она действует не только на уровне клеток, но и в митохондриях [92, 112]. К сожалению, о роли этого фермента в детекции вариаций CO_2 в клетках почечных канальцев практически ничего не известно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, участие почек в кислотно-основном гомеостазе реализуется за счет многих механизмов, имеющих сложную, многоуровневую регуляцию. Сбои на любом уровне могут привести к существенным сдвигам баланса кислот и оснований в организме, что, в частности, будет проявляться в виде серьезных, подчас витальных, заболеваний – почечных тубулярных ацидозов. Патогенез, клинику и подходы к лечению которых мы предполагаем осветить во второй части нашего сообщения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Rodri'guez Soriano J. Renal tubular acidosis: The clinical entity. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2160–2170
2. Fry AC, Karet FE. Inherited renal acidoses. *Physiology* 2007; 22:202-211
3. Pereira PCB, Miranda DM, Oliveira EA, Simões e Silva AC. Molecular pathophysiology of renal tubular acidosis *Current Genomics* 2009; 10: 51-59
4. Koeppen BM. The kidney and acid-base regulation. *Adv Physiol Educ* 2009; 33(4): 275-281
5. Wagner CA, Kovacicova J, Stehberger PA et al. Renal acid-base transport: old and new players. *Nephron Physiol* 2006; 103: 1–6
6. Boron WF. Acid-base transport by the renal proximal tubule *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2368–2382
7. Brown D, Paunescu TG, Breton S, Marshansky V. Regulation of the V-ATPase in kidney epithelial cells: dual role in acid-base homeostasis and vesicle trafficking. *J Exp Biol* 2009; 212(Pt 11):1762-1772
8. Brown D, Breton S, Ausiello DA, Marshansky V. Sensing, signaling and sorting events in kidney epithelial cell physiology. *Traffic* 2009; 10(3):275-284
9. Schwartz GJ, Tsuruoka S, Vijayakumar S, Petrovic S, Mian A, Al-Awqati Q. Acid incubation reverses the polarity of intercalated cell transporters, an effect mediated by hensin. *J Clin Invest* 2002; 109(1):89-99
10. Bobulescu IA, Moe OW. Luminal Na^+/H^+ exchange in the proximal tubule. *Pflügers Arch* 2009; 458(1): 5-21
11. Igarashi T, Sekine T, Inatomi J, Seki G. Unraveling the molecular pathogenesis of isolated proximal renal tubular acidosis. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(8):2171-2177
12. Katzir Z, Dinour D, Reznik-Wolf H, Nissenkorn A, Holtzman E. Familial pure proximal renal tubular acidosis-a clinical and genetic study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(4):1211-1215
13. Purkerson JM, Schwartz GJ. The role of carbonic anhydrases in renal physiology. *Kidney Int* 2007; 71(2):103-115
14. Старк З, Савариайан Р. Остеопетроз. *Нефрология* 2010; 14(2): 20-34
15. Jacquemin C, Mullaney P, Svedberg E. Marble brain syndrome: osteopetrosis, renal acidosis and calcification of the brain. *Neuroradiology* 1998; 40(10):662-663
16. Al-Ibrahim A, Al-Harbi M, Al-Musallam S. Paralysis episodes in carbonic anhydrase II deficiency syndrome (osteopetrosis with renal tubular acidosis and brain calcification): novel mutations in CA2 identified by direct sequencing expand the opportunity for genotype-phenotype correlation. *Hum Mutat* 2004; 24(3):272
17. Bolt RJ, Wennink JM, Verbeke JI, Shah GN, Sly WS, Bückenkamp A. Carbonic anhydrase type II deficiency. *Am J Kidney Dis* 2005 46(5):A50, e71-73
18. Gross E, Pushkin A, Abuladze N et al. Regulation of the sodium bicarbonate cotransporter kNBC1 function: role

- of Asp⁹⁸⁶, Asp⁹⁸⁸ and kNBC1-carbonic anhydrase II binding. *J Physiol* 2002; 544: 679–685
20. Petrovic S, Ma L, Wang Z, Soleimani M. Identification of an apical Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger in rat kidney proximal tubule. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;285:C608–C617
21. Mount DB, Romero MF. The SLC26 gene family of multi-functional anion exchangers. *Pflugers Arch* 2004; 447: 710–721
22. Ko SB, Shcheynikov N, Choi JY et al. A molecular mechanism for aberrant CFTR-dependent HCO₃(-)- transport in cystic fibrosis. *EMBO J* 2002; 21: 5662–5672
23. Li X, Liu Y, Alvarez BV et al. A novel carbonic anhydrase II binding site regulates NHE1 activity. *Biochemistry* 2006; 45: 2414–2424
24. Soleimani M, Burnham C: Physiologic and molecular aspects of the Na/HCO₃- cotransporter in health and disease processes. *Kidney Int* 2000; 57: 371–384
25. Tanner MJ. The structure and function of band 3 (AE1): recent developments (review). *Mol Membr Biol* 1997; 14: 155–165
26. Fry AC, Karet FE. Inherited renal acidoses. *Physiology* 2007; 22:202–211
27. Alper SL. Molecular physiology of SLC4 anion exchangers. *Exp Physiol* 2006; 91: 153–161
28. Gallagher PG. Red cell membrane disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005: 13–18
29. Ribeiro ML, Alloisio N, Almeida H et al. Severe hereditary spherocytosis and distal renal tubular acidosis associated with the total absence of band 3. *Blood* 2000; 96: 1602–1604
30. Shayakul C, Jarolim P, Zachlederova M et al. Characterization of a highly polymorphic marker adjacent to the SLC4A1 gene and of kidney immunostaining in a family with distal renal tubular acidosis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 371–379
31. Pushkin A, Yip KP, Clark I et al. NBC3 expression in rabbit collecting duct: colocalization with vacuolar H⁺-ATPase. *Am J Physiol* 1999; 277: F974–F981
32. Yip K-P, Tsuruoka S, Schwartz GJ, Kurtz I. Apical H⁺/base transporters mediating bicarbonate absorption and pH_i regulation in the OMCD. *Am J Physiol* 2002; 283: F1098–F1104
33. Wagner CA, Finberg KE, Breton S, Marshansky V, Brown D, Geibel JP. Renal vacuolar H⁺-ATPase. *Physiol Rev* 2004; 84(4):1263–1314.
34. Toei M, Saum R, Forgac M. Regulation and isoform function of the V-ATPases. *Biochemistry* 2010;49(23):4715–4723
35. Jefferies KC, Cipriano DJ, Forgac M. Function, structure and regulation of the vacuolar (H⁺)-ATPases. *Arch Biochem Biophys* 2008;476(1):33–42
36. Beyenbach KW, Wiczkorek H. The V-type H⁺ ATPase: molecular structure and function, physiological roles and regulation. *J Exp Biol* 2006; 209(Pt 4):577–589
37. Saroussi S, Nelson N. The little we know on the structure and machinery of V-ATPase. *J Exp Biol* 2009;212(Pt 11):1604–1610
38. Cipriano DJ, Wang Y, Bond S, Hinton A, Jefferies KC, Qi J, Forgac M. Structure and regulation of the vacuolar ATPases. *Biochim Biophys Acta* 2008;1777(7-8):599–604
39. Okuno D, Iino R, Noji H. Rotation and structure of FoF1-ATP synthase. *J Biochem* 2011;149(6):655–664
40. Nakamoto RK, Baylis Scanlon JA, Al-Shawi MK. The rotary mechanism of the ATP synthase. *Arch Biochem Biophys* 2008;476(1):43–50
41. Романовский ЮМ, Тихонов АН. Молекулярные преобразователи энергии живой клетки. Протонная АТФ-синтаза – вращающийся молекулярный мотор. *Усп физ наук* 2010; 180 931–956
42. Miranda KC, Karet FE, Brown D. An extended nomenclature for mammalian V-ATPase subunit genes and splice variants. *PLoS One* 2010;5(3):e9531
43. Hurtado-Lorenzo A, Skinner M, ElAnnan J et al. V-ATPase interacts with ARNO and Arf6 in early endosomes and regulates the protein degradative pathway. *Nat Cell Biol* 2006;8:124–136
44. Karet FE, Finberg KE, Nelson RD et al. Mutations in the gene encoding B1 subunit of H⁺-ATPase cause renal tubular acidosis with sensorineural deafness. *Nat Genet* 1999;21:84–90
45. Villa A, Guerrini MM, Cassani B, Pangrazio A, Sobacchi C. Infantile malignant, autosomal recessive osteopetrosis: the rich and the poor. *Calcif Tissue Int* 2009;84(1):1–12
46. Frattini A, Orchard PJ, Sobacchi C et al. Defects in TCIRG1 subunit of the vacuolar proton pump are responsible for a subset of human autosomal recessive osteopetrosis. *Nat Genet* 2000; 25(3):343–346
47. Ogbureke KU, Zhao Q, Li YP. Human osteopetroses and the osteoclast V-H⁺-ATPase enzyme system. *Front Biosci* 2005;10:2940–2954
48. Susani L, Pangrazio A, Sobacchi C et al. TCIRG1-dependent recessive osteopetrosis: mutation analysis, functional identification of the splicing defects, and in vitro rescue by U1 snRNA. *Hum Mutat* 2004; 24(3):225–235
49. Sautin YY, Lu M, Gaugler A, Zhang L, Gluck SL. Phosphatidylinositol 3-kinase-mediated effects of glucose on vacuolar H⁺-ATPase assembly, translocation, and acidification of intracellular compartments in renal epithelial cells. *Mol Cell Biol* 2005;25:575–589
50. Lafourcade C, Sobo K, Kieffer-Jaquinod S, Garin J, van der Goot FG. Regulation of the V-ATPase along the endocytic pathway occurs through reversible subunit association and membrane localization. *PLoS One* 2008; 3(7):e2758
51. Shao E, Nishi T, Kawasaki-Nishi S, Forgac M. Mutational analysis of the non-homologous region of subunit A of the yeast V-ATPase. *J Biol Chem* 2003;278:12985–12991
52. Forgac M. Vacuolar ATPases: rotary proton pumps in physiology and pathophysiology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:917–929
53. Nelson N. A journey from mammals to yeast with vacuolar H⁺-ATPase (V-ATPase). *J Bioenerg Biomembr* 2003;35:281–289
54. Liu Q, Leng XH, Newman PR, Vasilyeva E, Kane PM, Forgac M. Site-directed mutagenesis of the yeast V-ATPase A subunit. *J Biol Chem* 1997;272:11750–11756
55. Gumz ML, Lynch IJ, Greenlee MM, Cain BD, Wingo CS. The renal H⁺-K⁺-ATPases: physiology, regulation, and structure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298: F12–F21
56. Kraut JA, Helander KG, Helander HF, Iroez ND, Marcus EA, Sachs G. Detection and localization of H⁺-K⁺-ATPase isoforms in human kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281(4): F763–F768
57. Tosukhowong P, Tungsanga K, Eiam-Ong S, Sitprija V. Environmental distal renal tubular acidosis in Thailand: an enigma. *Am J Kidney Dis* 1999; 33(6): 1180–1186
58. Simpson AM, Schwartz GJ. Distal renal tubular acidosis with severe hypokalaemia, probably caused by colonic H⁺-K⁺-ATPase deficiency. *Arch Dis Child* 2001; 84:504–507
59. Toto RD. Metabolic acid-base disorders. In: Kokko JP, Tannen RL. *Fluids and electrolytes*. Saunders, Philadelphia e.a., 1986; 229–304
60. Weiner ID, Verlander JW. Role of NH₃ and NH₄⁺ transporters in renal acid-base transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: F11–F23
61. Karet FE. Mechanisms in hyperkalemic renal tubular acidosis. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 251–254
62. Simon E, Martin D, Buerkert J. Contribution of individual superficial nephron segments to ammonium handling in chronic metabolic acidosis in the rat. Evidence for ammonia disequilibrium in the renal cortex. *J Clin Invest* 1985; 76: 855–864
63. Wilcox CS, Granges F, Kirk G, Gordon D, Giebisch G. Effects of saline infusion on titratable acid generation and ammonia secretion. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1984; 247: F506–F519
64. Boron WF. Sharpey-Schafer lecture: gas channels. *Exp Physiol* 2010;95(12):1107–1130
65. Brown AC, Hallouane D, Mawby WJ, Karet FE, Saleem MA, Howie AJ, Toye AM. RhCG is the major putative ammonia transporter expressed in the human kidney, and RhBG is not expressed at detectable levels. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296(6): F1279–F1290
66. Seshadri RM, Klein JD, Smith T, Sands JM, Handlogten ME, Verlander JW, Weiner ID. Changes in the subcellular distribution of the ammonia transporter Rhcg, in response to chronic metabolic acidosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F1443–F1452

67. Lim SW, Ahn KO, Kim WY, Han DH, Li C, Ghee JY, Han KH, Kim HY, Handlogten ME, Kim J, Yang CW, Weiner ID. Expression of ammonia transporters, Rhbg and Rhcg, in chronic cyclosporine nephropathy in rats. *Nephron Exp Nephrol* 2008; 110: e49–e58
68. Каюков ИГ, Смирнов АВ, Шабунин МА и др. Редкие заболевания в практике взрослого нефролога: состояния, ассоциированные с гипокалиемией. Сообщение II. Синдром Лидля. *Нефрология* 2009; 13(1): 98–106
70. Wagner CA, Devuyst O, Bourgeois S, Mohebbi N. Regulated acid-base transport in the collecting duct. *Pflügers Arch*, 2009; 458: 137–156
71. Thomas W, Harvey BJ. Mechanisms underlying rapid aldosterone effects in the kidney. *Annu Rev Physiol* 2010; 73: 335–357
72. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Suzuki K, Knepper MA, Green ED. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4221–4226
73. Greenlee MM, Lynch IJ, Gumz ML, Cain BD, Wingo CS. Mineralocorticoids stimulate the activity and expression of renal H⁺,K⁺-ATPases. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22(1):49–56
74. Drumm K, Kress TR, Gassner B, Krug AW, Gekle M. Aldosterone stimulates activity and surface expression of NHE3 in human primary proximal tubule epithelial cells (RPTEC). *Cell Physiol Biochem* 2006; 17(1-2): 21–28
75. Furgeson SB, Linas S. Mechanisms of type I and type II pseudohypoaldosteronism. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(11):1842–1845
76. Kostakis ID, Cholidou KG, Perrea D. Syndromes of impaired ion handling in the distal nephron: pseudohypoaldosteronism and familial hyperkalemic hypertension. *Hormones (Athens)* 2012; 11(1):31–53
77. Wagner CA, Mohebbi N, Uhlig U, Giebisch GH, Breton S, Brown D, Geibel JP. Angiotensin II stimulates H-ATPase activity in intercalated cells from isolated mouse connecting tubules and cortical collecting ducts. *Cell Physiol Biochem* 2011; 28(3):513–520
78. Rothenberger F, Velic A, Stehberger PA, Kovacicova J, Wagner CA. Angiotensin II stimulates vacuolar H⁺-ATPase activity in renal acid-secretory intercalated cells from the outer medullary collecting duct. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(7):2085–2093
79. Turban S, Beutler KT, Morris RG, Masilamani S, Fenton RA, Knepper MA, Packer RK. Long-term regulation of proximal tubule acid-base transporter abundance by angiotensin II. *Kidney Int* 2006; 70(4):660–668
80. Nagami GT. Enhanced ammonia secretion by proximal tubules from mice receiving NH(4)Cl: role of angiotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282(3):F472–477
81. Wall SM, Fischer MP, Glapion DM, De La Calzada M. ANG II reduces net acid secretion in rat outer medullary collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285(5):F930–937
82. Good DW, George T, Wang DH. Angiotensin II inhibits HCO₃⁻ absorption via a cytochrome P-450-dependent pathway in MTAL. *Am J Physiol* 1999; 276(5 Pt 2):F726–736
83. Tojo A, Tisher CC, Madsen KM. Angiotensin II regulates H⁺-ATPase activity in rat cortical collecting duct. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1994; 267: F1045–F1051
84. Chatsudthipong V, Chan YL. Inhibitory effect of angiotensin II on renal tubular transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 1991; 260: F340–F346
85. Aoyagi T, Izumi Y, Hiroshima M, Matsuzaki T et al. Vasopressin regulates the renin-angiotensin-aldosterone system via V1a receptors in macula densa cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295(1):F100–107
86. Izumi Y, Hori K, Nakayama Y et al. Aldosterone requires vasopressin V1a receptors on intercalated cells to mediate acid-base homeostasis. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22(4):673–680
87. Wesson DE. Endothelins and kidney acidification. *Contrib Nephrol* 2011; 172:84–93
88. Wesson DE. Regulation of kidney acid excretion by endothelins. *Kidney Int* 2006; 70: 2066–2073
89. Pallini A, Hulter HN, Muser J, Krapf R. Role of endothelin-1 in renal regulation of acid-base equilibrium in acidotic humans. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012 Aug 1. [Epub ahead of print]
90. Chambrey R, Picard N. Role of tissue kallikrein in regulation of tubule function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20(5):523–528
91. Mohebbi N, Kovacicova J, Nowik M, Wagner CA. Thyroid hormone deficiency alters expression of acid-base transporters in rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(1):F416–427
92. Tresguerres M, Buck J, Levin LR. Physiological carbon dioxide, bicarbonate, and pH sensing. *Pflügers Arch* 2010; 60(6):953–964
93. Ludwig MG, Vanek M, Guerini D et al. Proton-sensing G-protein-coupled receptors. *Nature* 2003; 425: 93–98
94. Mohebbi N, Benabbas C, Vidal S et al. The proton-activated G protein coupled receptor OGR1 acutely regulates the activity of epithelial proton transport proteins. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29(3-4):313–324
95. Codina J, Liu J, Bleyer AJ et al. Phosphorylation of S955 at the protein kinase A consensus promotes maturation of the alpha subunit of the colonic H⁺,K⁺-ATPase. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1833–1840
96. Sun X, Yang LV, Tiegs BC et al. Deletion of the pH sensor GPR4 decreases renal acid excretion. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1745–1755
97. Codina J, Opyd TS, Powell ZB et al. pH-dependent regulation of the α -subunit of H⁺-K⁺-ATPase (HK α 2). *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301(3):F536–543
98. Lesage F, Lazdunski M. Molecular and functional properties of two-pore-domain potassium channels. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279(5):F793–801
99. Welling PA, Ho K. A comprehensive guide to the ROMK potassium channel: form and function in health and disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297(4):F849–863
100. Hibino H, Inanobe A, Furutani K et al. Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev* 2010; 90(1):291–366
101. Gluck SL. Acid sensing in renal epithelial cells. *J Clin Invest* 2004; 114:1696–1699
102. Lev S, Moreno H, Martinez R et al. Protein-tyrosine kinase Pyk2 involved in Ca²⁺-induced regulation of ion-channel and map kinase functions. *Nature* 1995; 376:737–745
103. Li SY, Sato S, Yang XJ et al. Pyk2 activation is integral to acid stimulation of sodium/hydrogen exchanger 3. *J Clin Invest* 2004; 114:1782–1789
104. Preisig PA. The acid-activated signaling pathway: starting with Pyk2 and ending with increased NHE3 activity. *Kidney Int* 2007; 72:1324–1329
105. Yamaji Y, Tsuganezawa H, Moe OW, Alpern RJ. Intracellular acidosis activates c-Src. *Am J Physiol Cell Physiol* 1997; 272:C886–C893
106. Ambuhl PM, Amemiya M, Danczay M et al. Chronic metabolic acidosis increases NHE3 protein abundance in rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 1996; 271:F917–F925
107. Yang XJ, Amemiya M, Peng Y et al. Acid incubation causes exocytic insertion of NHE3 in OKP cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279:C410–C419
108. Espiritu DJD, Bernardo AA, Robey RB, Arruda JAL. A central role for Pyk2-Src interaction in coupling diverse stimuli to increased epithelial NBC activity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283:F663–F670
109. Tresguerres M, Levin LR, Buck J. Intracellular cAMP signaling by soluble adenylyl cyclase. *Kidney Int* 2011; 79(12):1277–1288
110. Tresguerres M, Parks SK, Salazar E et al. Bicarbonate-sensing soluble adenylyl cyclase is an essential sensor for acid/base homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(1):442–447
111. Willoughby D, Cooper DM. Organization and Ca²⁺ regulation of adenylyl cyclases in cAMP microdomains. *Physiol Rev* 2007; 87(3):965–1010
112. Buck J, Levin LR. Physiological sensing of carbon dioxide/bicarbonate/pH via cyclic nucleotide signaling. *Sensors (Basel)* 2011; 11(2):2112–2128
113. Hallows KR, Alzamora R, Li H et al. AMP activated protein

kinase inhibits alkaline pH- and PKA-induced apical vacuolar H⁺-ATPase accumulation in epididymal clear cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009;296:C672–681

114. Gong F, Alzamora R, Smolak C et al. Vacuolar H⁺-ATPase apical accumulation in kidney intercalated cells is regulated by PKA and AMP-activated protein kinase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298(5):F1162–1169

115. Paunescu TG, Da Silva N, Russo LM et al. Association of soluble adenylyl cyclase with the V-ATPase in renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294(1):F130–F138

116. Zaccolo M. cAMP signal transduction in the heart: understanding spatial control for the development of novel therapeutic strategies. *Br J Pharmacol* 2009; 158:50–60

117. Litvin TN, Kamenetsky M, Zarifyan A et al. Kinetic properties of «soluble» adenylyl cyclase. Synergism between calcium and bicarbonate. *J Biol Chem* 2003; 278 (18):15922–15926

118. Reed BY, Gitomer WL, Heller HJ et al. Identification and

characterization of a gene with base substitutions associated with the absorptive hypercalciuria phenotype and low spinal bone density. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(4):1476–1485

119. Sutton RAL, Wong NLM, Dirks JH. Effects of metabolic acidosis and alkalosis on sodium and calcium transport in the dog kidney. *Kidney Int* 1979; 15:520–533

120. Zhou Y, Bouyer P, Boron WF. Role of a tyrosine kinase in the CO₂-induced stimulation of HCO₃⁻ reabsorption by rabbit S2 proximal tubules. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;291(2):F358–367

121. Zhou Y, Zhao J, Bouyer P, Boron WF. Evidence from renal proximal tubules that HCO₃⁻ and solute reabsorption are acutely regulated not by pH but by basolateral HCO₃⁻ and CO₂. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(10):3875–3880

Поступила в редакцию 26.12.2012 г.

Принята в печать 21.01.2013 г.