

ANTAGONISTES DE LA VASOPRESSINE DANS LA POLYKYSTOSE RÉNALE

par

V.E. TORRES*, X.WANG*, QI QIAN*, V.H. GATTONE II** et P.C. HARRIS*

Les polykystoses rénales (PKR) sont un groupe de maladies génétiques entraînant une insuffisance rénale significative, ainsi que la mort chez les enfants comme chez les adultes. Elles comprennent, en plus de la polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD, *PKD1* et *PKD2*) et récessive (PKRAR, *PKHD1*), des troubles tels que la néphronophtise (*NPHP1-5*), le syndrome oro-facio-digital de type 1 (*OFD1*), la maladie glomérulokystique rénale associée au MODY 5 (*maturity onset diabetes of the young type 5 - HNF-1β*) et le syndrome de Bardet-Biedl (*BBS1-8*). Il n'existe actuellement aucun traitement efficace contre ces maladies. Le progrès des connaissances sur la kystogenèse et l'existence de modèles animaux génétiquement apparentés constituent les seules chances de mettre au point des traitements efficaces. Cet article résume les dernières avancées permettant d'espérer que les antagonistes du récepteur de la vasopressine V2 deviennent un traitement bien toléré et efficace de la PKR.

DERNIÈRES DÉCOUVERTES SUR LA PATHOGÉNIE DES POLYKYSTOSES RÉNALES

Les gènes mutés dans les PKR codent pour des protéines situées dans les cils primaires et/ou dans les centrosomes des cellules épithéliales tubulaires ou pour des facteurs de transcription connus pour réguler leur expression [1-9]. Toutes les cellules épithéliales du rein, à l'exception des cellules intercalaires, sont dotées

* Collège de médecine de la Clinique Mayo, Rochester, Minnesota. Division de néphrologie, Mayo Clinic College of Medicine Rochester, USA.

** École de médecine de l'Université de l'Indiana, Indianapolis, Indiana. Anatomie et biologie cellulaire, Indiana University School of Medicine, Anatomy and Cell Biology Indianapolis, USA.

Subventionné par les National Institutes of Health (subvention DK44863).

d'un unique cil primaire. Un cil primaire est constitué d'une membrane située dans le prolongement de la membrane cellulaire et d'un axonème central composé de neuf doublets microtubulaires [10-12]. Il naît et prend racine dans un corpuscule basal, ou centriole mère, du centrosome (fig. 1). Le centrosome se trouve à proximité de l'appareil de Golgi et constitue le centre d'organisation des microtubules de la cellule. Il est composé d'un centriole mère et fille ainsi que de matériel péri-centriolaire entourant le centriole mère. Dans les cellules qui ne se divisent pas, l'extrémité distale du centriole mère donne naissance au cil primaire. Le cil primaire des cellules épithéliales rénales différenciées possède des fonctions mécanosensorielles et chimio-sensorielles [13, 14]. Lors de la phase S, le cil primaire est réabsorbé et les centrioles se reproduisent pour former de nouveaux centrioles mères et filles. Au cours de la mitose, les nouveaux centrosomes sont situés aux pôles du fuseau achromatique et les cils primaires sont absents. La croissance et la réabsorption du cil primaire lors du cycle cellulaire nécessitent le transport permanent de protéines vers et depuis l'extrémité des cils (fig. 2). Ce transport, qui a lieu dans des agrégats appelés rafts, est assuré par deux protéines motrices, la kinésine II (antérograde) et la dynéine cytoplasmique (transport rétrograde). L'association des protéines mutées dans les PKR et du centrosome ne se limite pas à

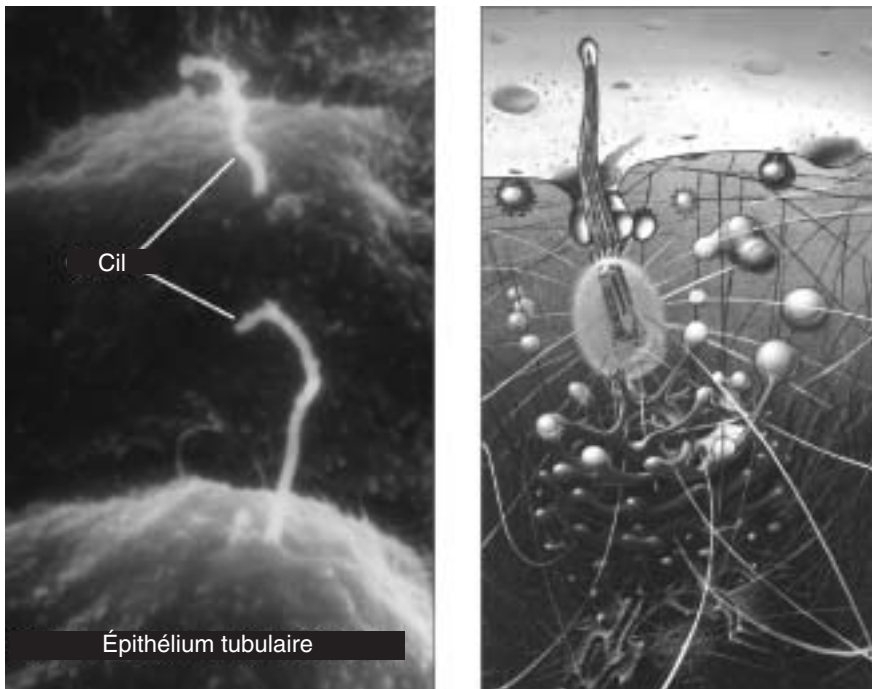


FIG. 1. — A. Schéma du cil primaire et du cytosquelette microtubulaire, en relation avec le système Golgi-réticulum endoplasmique-lysosome.

B. Microscopie électronique à balayage d'un cil primaire à la surface apicale des cellules rénales principales en culture. D'après Poole CA et al. The differential distribution of acetylated and detyrosinated alpha-tubulin in the microtubular cytoskeleton and primary cilia of hyaline cartilage chondrocytes. *J Anat*, 2001, **199**, 393-405 et Zhang Q et al. Cystic kidney diseases : all roads lead to the cilium. *Physiology (Bethesda)*, 2004, **19**, 225-230. Reproduits avec permission.

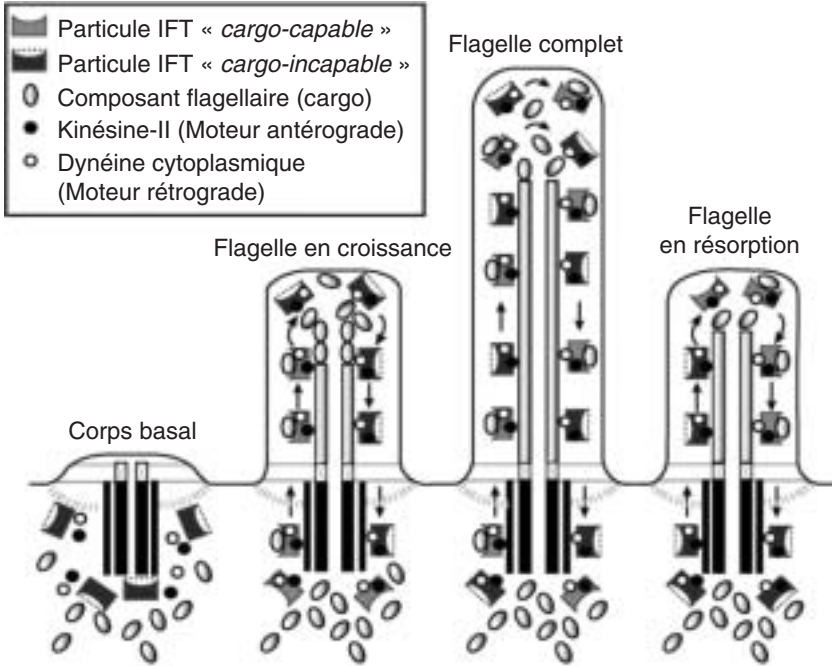


FIG. 2. — Modèle du transport intraflagellaire par de l'assemblage et du désassemblage des flagelles. D'après Snell WJ et al. *Cilia and flagella revealed : from flagellar assembly in Chlamydomonas to human obesity disorders*. *Cell*, 2004, **117**, 693-697. Reproduits avec permission.

l'interphase. Elle est aussi observée lors de la mitose, comme on l'a rapporté pour l'inversine, la protéine BBS4 et la polycystine 2 [6,15,16]. Ces observations suggèrent que les protéines en question jouent un rôle dans la régulation du cycle cellulaire, rôle qui va au-delà de leur fonction potentielle dans les cils primaires et dans les centrosomes pendant l'interphase.

De récentes observations viennent confirmer le lien entre l'appareil ciliaire-centrosomal et la PKR. Le phénotype d'un *knock-out* spécifique au rein d'une sous-unité de la kinésine II (*KIF3A*), créé pour étudier le rôle des cils primaires rénaux est caractérisé par l'absence de cils primaires dans les cellules principales et par le développement rapide de reins polykystiques [17]. La comparaison d'organismes dotés (homme et chlamydomonas) et dépourvus de cil primaire et de centrioles (arabidopsis) a abouti à la caractérisation d'un protéome du cil et du corpuscule basal [7]. Ces données ont particulièrement accéléré l'identification de *BBS5* en mettant en évidence deux gènes candidats parmi 230 identifiés par clonage positionnel. Un criblage génétique de grande ampleur pour la recherche des gènes PKD chez le poisson zèbre en a identifié 12 associés au développement de kystes rénaux [18] : deux codant les facteurs de transcription et au moins cinq parmi les gènes restants codant les protéines ciliaires. L'inactivation spécifique dans le rein de l'un de ces facteurs de transcription, HNF-1 β , régule négativement l'expression de cinq protéines PKD (l'uromoduline, la fibrocystine, la polycystine 2, la néphrocystine 1 et la protéine polaris), alors qu'elle régule positivement l'expression de l'aquaporine 2 et du récepteur de la vasopressine V2 [19, 20].

DÉRÉGULATION DE L'HOMÉOSTASIE DU $[Ca^{2+}]_i$ DANS LA PKR

La polycystine 1 et la polycystine 2, protéines mutées dans la PKRAD, et avec moins de certitude la fibrocystine, protéine mutée dans la PKRAR, semblent jouer un rôle important dans la régulation de l'homéostasie du $[Ca^{2+}]_i$ (voir [21] pour une étude récente). La polycystine 1 possède une grande région extracellulaire, 11 domaines transmembranaires et une courte queue cytoplasmique. La région extracellulaire présente une homologie avec les domaines généralement impliqués dans les interactions protéine-protéine ou protéine-hydrate de carbone ainsi qu'avec une famille de protéines exprimées par les spermatozoïdes d'oursins impliquées dans les interactions spermatozoïde/ovocyte ainsi que dans la réaction acrosomique. La queue C-terminale de la polycystine 1 interagit physiquement, régule la fonction de la polycystine 2 et peut aussi activer plusieurs voies intracellulaires (protéine G, voies de signalisation Wnt et JAK/STAT). On peut prédire que la polycystine 2, plus petite que la polycystine 1, a les N- et C-terminaux cytoplasmiques ainsi que 6 domaines transmembranaires. Elle joue le rôle de canal cationique perméable au Ca^{2+} et sa région transmembranaire présente une homologie avec les sous-unités du TRPC (*transient receptor potential channel*). On peut également prévoir que la fibrocystine a une région extracellulaire hautement glycosylée, un seul domaine transmembranaire et une courte queue cytoplasmique. Les observations préliminaires suggèrent qu'elle interagit indirectement avec la polycystine 2 et qu'elle intervient aussi dans la régulation du $[Ca^{2+}]_i$ [22].

Des études récentes se sont concentrées sur la localisation du complexe polycystine dans les cils primaires et sur son rôle bien défini dans la médiation des flux calciques en réponse à la stimulation mécanique (fig. 3) [23, 24]. Cependant, les polycystines se trouvent également à d'autres endroits de la cellule : la polycystine 1 dans les adhésions focales, dans les desmosomes ainsi que dans les jonctions adhérentes et serrées, et la polycystine 2 dans le réticulum endoplasmique (voir [21] pour une étude récente). La polycystine 1 de la membrane plasmique peut interagir avec la polycystine 2 du réticulum endoplasmique adjacent, à l'instar du couplage conformationnel des TRPC de la membrane plasmique et des récepteurs du 1,4,5-triphosphate (IP₃) du réticulum plasmique. Il a également été prouvé que la polycystine 2 interagissait physiquement avec le TRPC1 [25]. Il est par conséquent probable que le rôle des polycystines dans la régulation de l'homéostasie du $[Ca^{2+}]_i$ ne se limite pas à sa fonction mécano-sensorielle dans les cils primaires. La surexpression de la polycystine 2 dans les cellules LLPCK amplifie la libération du Ca^{2+} contenu dans les réserves intracellulaires en réponse à la stimulation de la vasopressine [26]. Dans les cellules des muscles lisses vasculaires, un état d'haplo-insuffisance de *Pkd2* (baisse de 50 p. 100 du contenu de polycystine 2) suffit à réduire de manière significative l'influx capacitif de calcium ainsi que les réserves en Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique [27]. Chez la drosophile, un état d'haplo-insuffisance de *Pkd2* ne permet pas d'obtenir une contractilité optimale des muscles lisses [28]. Les augmentations de $[Ca^{2+}]_i$ provoquées par le facteur d'activation plaquettaire sont limitées dans les cellules B lymphoblastoïdes isolées sur des patients présentant des mutations de *PKD1* ou de *PKD2* [29]. La réduction de la polycystine 1 dans les cellules 293 ou MDCK due à un oligodésoxynucléotide antisens à des niveaux d'environ 50 p. 100 par rapport à des cellules témoins entraîne une prolifération cellulaire et une transition préma-

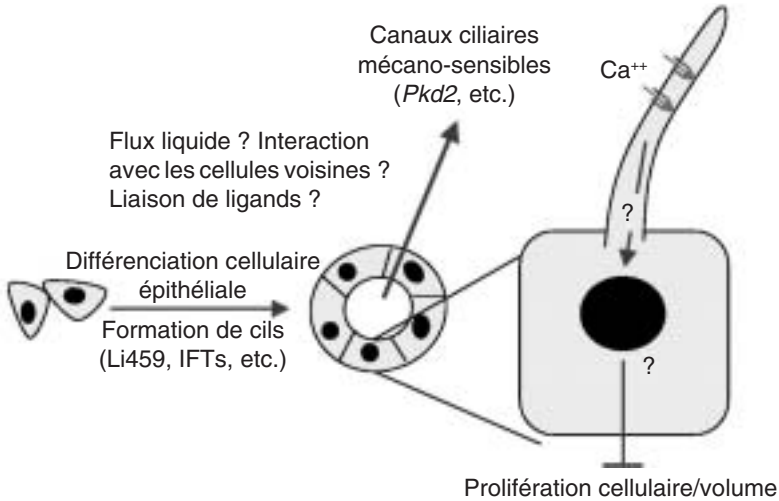


FIG. 3. — Modèle fonctionnel du cil primaire. Le cil se projette dans la lumière à partir de la surface apicale des cellules épithéliales et fonctionne comme une antenne. Des canaux mécano-sensibles (polycystine, etc.) présents sur les cils sont activés par le flux liquidien, les interactions avec les cellules voisines ou la liaison de ligands présents dans la lumière tubulaire. Il en résulte un influx de calcium entraînant une cascade de signaux qui régulent la prolifération et le volume cellulaire. Des défauts de la formation ou de la fonction des cils peuvent conduire à une prolifération non contrôlée des cellules épithéliales et éventuellement à la formation de kystes dans des zones localisées. D'après Sun Z et al. A genetic screen in zebrafish identifies cilia genes as a principal cause of cystic kidney. *Development*, 2004, **131**, 4085-4093. Reproduits avec permission.

turée de la phase G1/S [30]. L'absence de la polycystine 2 dans les fuseaux achromatiques par invalidation de la protéine cytosquelettique mDia1 atténue la hausse du $[Ca^{2+}]_i$ liée à l'histamine dans les cellules en division [16].

ANOMALIES DU $[Ca^{2+}]_i$ À L'ORIGINE DU PHÉNOTYPE CELLULAIRE DE LA PKR

Lors des vingt dernières années, de nombreuses études ont établi que le développement de la PKR se caractérisait par le passage d'un phénotype cellulaire bien différencié, non prolifératif et essentiellement réabsorbant à un phénotype partiellement dédifférencié et sécrétoire déterminé par des défauts de polarisation et des taux élevés de prolifération et d'apoptose [31]. Les chercheurs du Centre médical de l'Université du Kansas ont réuni un ensemble de preuves démontrant le rôle majeur de l'AMPC, substance qui favorise la sécrétion de liquide et la prolifération cellulaire, dans la kystogenèse (voir la référence [32] pour une revue sur le sujet). Au début, ces chercheurs ont remarqué que l'AMPC renforçait la croissance de monocouches sous-confluentes de cellules MDCK (*Madin-Darby canine kidney*), le mouvement transépithélial du liquide à travers les monocouches de cellules MDCK polarisées sur des supports perméables et le développement des

microkystes MDCK et PKRAD dans des gels de collagène hydraté. D'autres études révèlent que la sécrétion de liquide par les épithéliums PKRAD, ainsi que par les canaux collecteurs normaux, est provoquée par l'influx du chlore dans la cellule par le biais de co-transporteurs basolatéraux Na^+/Cl^- ou $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ et par la présence de chlore via les canaux Cl^- apicaux AMPc-dépendants. Ils ont ensuite remarqué, avec d'autres chercheurs [33], que l'AMPc activait la cascade ERK et renforçait la prolifération des cellules PKRAD, tout en exerçant des effets inhibiteurs sur les cellules humaines normales du cortex rénal. L'observation selon laquelle le traitement des cellules principales des canaux collecteurs (M-1) par les bloqueurs des canaux calciques reproduisait la réponse proliférative anormale des cellules PKRAD à l'AMPc a suggéré un lien entre le phénotype kystique et la diminution du $[\text{Ca}^{2+}]_i$, probablement du fait de la perturbation de la voie de la polycystine. Plus récemment, les chercheurs ont montré qu'une incubation prolongée (au moins 3 heures) des cellules principales dans un milieu pauvre en calcium ou en présence de bloqueurs des canaux calciques permettait l'activation par l'AMPc d'une voie B-Raf/ERK ainsi que la stimulation de la prolifération cellulaire de manière PKA-, Src- et Ras-dépendante (fig. 4) [34]. L'effet de la restriction cal-

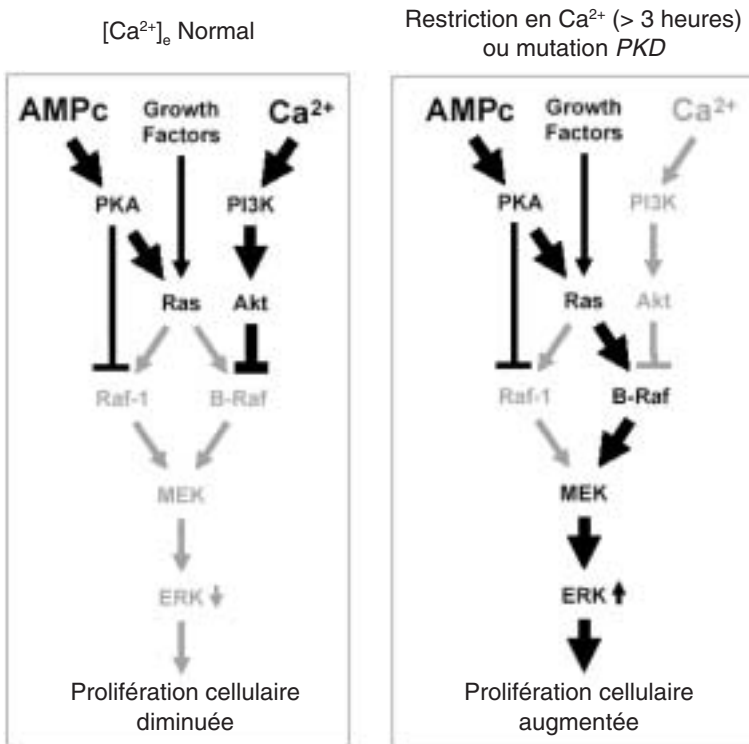


FIG. 4. — Mise en jeu de l'AMPc et du calcium et finalement activation de ERK et prolifération cellulaire. Une restriction en Ca^{2+} (> 3 heures) inhibe PI3K et Akt, augmente le niveau de B-Raf 95 kDa et entraîne une activation de B-Raf et de ERK dépendant de l'AMPc, ainsi qu'une prolifération cellulaire mettant en jeu les voies PkDa, SRC et Ras. Modifiée d'après Yamaguchi et al. [34].

cique, reproduit par les inhibiteurs de la P13K et de l'Akt, a été attribué à l'inhibition de la P13K et de l'Akt. Une restriction calcique d'une durée minimale de trois heures a été jugée nécessaire afin d'accroître la présence du B-Raf de 95 kDa dans les cellules par l'intermédiaire d'ajustements de la synthèse et/ou du taux de renouvellement. La transfection des cellules principales avec un modèle dominant négatif de l'extrémité C-terminale de la polycystine 1 ayant entraîné l'activation AMPc-dépendante de B-Raf et d'ERK, inhibables par un ionophore calcique, les auteurs en ont conclu que le phénotype cellulaire prolifératif de la polykystose rénale était directement lié aux anomalies de l'homéostasie du $[Ca^{2+}]_i$. Le rôle central joué par le B-Raf de 95 kDa dans le phénotype prolifératif réactif à l'AMPc de l'épithélium kystique a également été observé dans d'autres cellules, où il peut varier en fonction de la densité cellulaire de la culture. Par exemple, si l'AMPc augmente la phosphorylation d'ERK et la prolifération cellulaire dans des kératinocytes sous-confluents humains normaux exprimant le B-Raf de 95 kDa, il a une action inhibitrice dans les cellules confluentes qui n'expriment que le B-Raf de 62 kDa [35]. Il est par conséquent tentant d'avancer que le phénotype prolifératif de l'épithélium kystique pourrait être dû à l'impossibilité d'accomplir la différenciation terminale et de faire passer l'expression de B-Raf de l'isoforme de 95 kDa à l'isoforme de 62 kDa.

ACCUMULATION RÉNALE D'AMPc DANS LA PKR

Des études récentes sur des modèles animaux de la PKR suggèrent qu'une augmentation de l'accumulation rénale d'AMPc est une caractéristique commune à la plupart, si ce n'est à l'ensemble, des modèles de cette maladie [36-38]. Le mécanisme sous-jacent n'a pas été établi mais plusieurs hypothèses peuvent être envisagées (fig. 5). L'extrémité C-terminale de la PC1 se lie aux protéines G hétérotrimériques et peut tenir le rôle d'un RCPG atypique qui, une fois activé par la liaison des ligands ou par les protéines des matrices extracellulaires, entreprend la signalisation médiée par les protéines Gi [39]. Par ce mécanisme, la PC1 peut réguler l'AMPc intracellulaire et la perturbation de son fonctionnement pourrait être à l'origine des niveaux élevés observés. Une réduction du $[Ca^{2+}]_i$ due à la perturbation de la voie de la polycystine peut stimuler l'AC6 inhibable par le calcium [40] et inhiber le PDE1 calcium/calmoduline-dépendant [41]. L'AC6 est la principale isoforme des AC et le PDE1, tout comme le PDE4, est la principale isoforme des PDE présents dans les cellules principales des canaux collecteurs. Certaines isoformes de PDE4 sont phosphorylées et inhibées par ERK2 [42], connu pour être activé dans la PKR. La régulation positive du récepteur de la vasopressine V2, présent dans tous les modèles où son expression a été étudiée (cpk, pcy, *Pkd2*^{AW525}, souris *knockout* (HNF-1 β) et rat avec rein polykystique) [19, 37, 38, 43], pourrait jouer un rôle. Enfin, la circulation anormale de l'aquaporine 2 liée à une altération de l'hémostase du $[Ca^{2+}]_i$ ou à une perturbation de l'architecture médullaire due aux kystes peut être responsable du défaut de concentration commun à toutes les formes de PKR ; dans ce scénario, la hausse des niveaux d'AMPc pourrait représenter une réponse inadaptée visant à compenser le défaut de concentration. Il convient également de noter la hausse des concentrations circulantes de vasopressine dans la PKRAD humaine [44] et la régulation positive

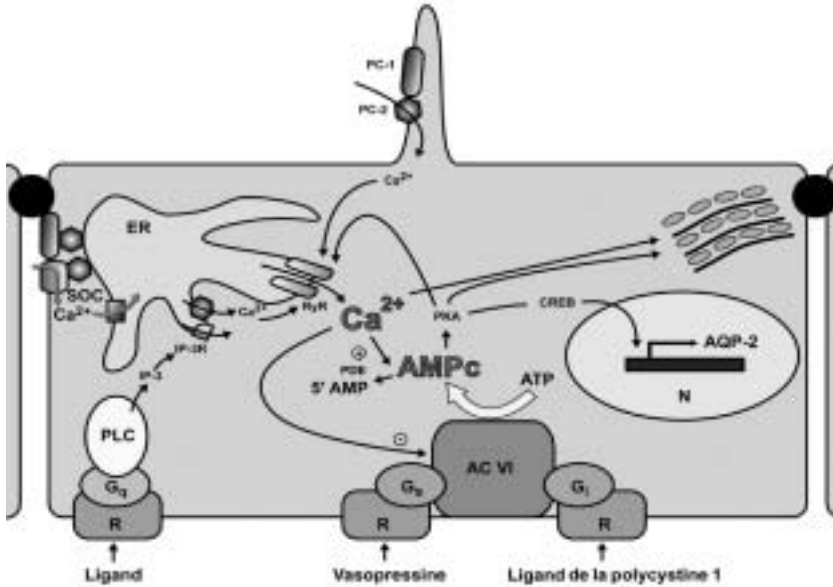


FIG. 5. — Régulation de l'homéostasie du calcium intracellulaire par les polycystines (voir texte). D'après Gattone VH et al. Inhibition of renal cystic disease development and progression by a vasopressin V2 receptor antagonist. *Nat Med*, 2003, 9, 1323-1326. Reproduit avec autorisation.

vasopressine-dépendante de l'*AQP2* et de son ARNm dans plusieurs modèles animaux de polykystose rénale (*cpk*, *pcy*, *Pkd2*^{-WS25}, souris *knock-out* (HNF-1 β) et rat avec rein polykystique) [19, 37, 38, 43].

ORIGINE DES KYSTES DANS LA PKR

L'AMPc modulant les fonctions cellulaires de façon spécifique à la cellule, la composition cellulaire des kystes peut être pertinente pour comprendre leur pathogénie et la capacité des interventions pharmacologiques à modifier le cours de la PKR. Si tous s'accordent à penser que les kystes de la PKRAD et de la néphronoptise proviennent des canaux collecteurs, les kystes de la PKRAD seraient issus de tous les segments du néphron et des canaux collecteurs. Ce point de vue repose sur des études de microdissection réalisées dans les années 1960 et 1970. La première étude conduite par Osathanondh et Potter sur un groupe hétérogène de reins polykystiques de type III, incluant des cas de trisomie 13-15, de sclérose tubéreuse de Bourneville et de rein en fer à cheval, a conclu que la ramification des canaux collecteurs était anormale et que les kystes provenaient de tous les segments du néphron et du canal collecteur [45]. Une étude menée par Heggö sur six reins polykystiques adultes a également conclu que la ramification des canaux collecteurs était anormale, que les kystes se formaient le plus souvent dans la capsule de Bowman, à la pointe de l'anse de Henle et (surtout) dans les tubes collecteurs, et que les kystes issus des tubes collecteurs étaient indiscutablement plus gros [46]. Des études conduites ultérieurement par Baert sur 50 reins appartenant à des sujets nor-

maux âgés de moins de 20 ans ou de plus de 50 ans ont conclu que les kystes simples provenaient du néphron distal et des tubes collecteurs [47]. Son étude suivante sur les reins de deux patients atteints de PKRAD précoce a conclu, sans fournir d'analyse quantitative, que les kystes de la PKRAD étaient issus de tous les segments du néphron et des canaux collecteurs [48]. Contrairement aux études antérieures de microdissection, Baert a découvert que la ramification des canaux collecteurs était normale et a attribué les résultats précédents à l'augmentation diffuse de taille des tubes collecteurs. Une étude histochimique détaillée réalisée sur 10 reins atteints de PKRAD, dans laquelle les kystes ont été définis comme des dilatations tubulaires d'au moins 1 mm de diamètre, a remis en question la thèse de l'origine des kystes fondée sur la microdissection. Dans cette étude, 70 p. 100 des kystes ont présenté une coloration positive pour les marqueurs des canaux collecteurs, tandis que les 30 p. 100 restants se sont révélés négatifs pour tous les marqueurs, probablement en raison de la dédifférenciation cellulaire [49]. Des résultats comparables ont été obtenus dans le modèle de souris *Pkd2^{-WS25}* de PKRAD [38, 50]. D'autres études utilisant des anticorps anti-aquaporine (AQP) ont montré que 30 p. 100 des kystes, mais seulement 11 p. 100 des gros kystes, étaient positifs pour l'AQP1 (probablement issus du tubule proximal) [51]. Ces observations reposant essentiellement sur des reins atteints de maladie rénale à un stade avancé ou terminal, il est possible que l'obstruction et la maladie kystique rénale acquise soient à l'origine des dilatations observées sur les tubes proximaux et des petits kystes. Il est par conséquent probable que dans la PKRAD, comme dans la PKRAR et la néphronophisie, les kystes proviennent principalement des canaux collecteurs, tout du moins aux stades précoces. L'observation selon laquelle les cellules épithéliales issues de kystes PKRAD humains en culture primaire avaient une réponse AMPc beaucoup plus marquée à la DDAVP et à la vasopressine qu'à la parathormone va dans le sens de cette interprétation [52].

RÉGULATION DES NIVEAUX D'AMPc DANS LES CELLULES PRINCIPALES DES CANAUX COLLECTEURS

Plusieurs hormones agissant sur les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) régulent les niveaux d'AMPc dans les cellules principales des canaux collecteurs (fig. 6) [53, 54]. La liaison des hormones aux RCPG active la transduction du signal à travers le couplage des récepteurs aux protéines G hétérotrimériques dans la membrane plasmique [55]. Ces dernières sont composées d'une sous-unité α ayant une grande affinité pour l'acide guanylique et de sous-unités β et γ formant un dimère étroitement lié. Lorsqu'un agoniste se lie au récepteur, le GDP est libéré de la sous-unité α et remplacé par du GTP. Cela entraîne la dissociation de la sous-unité α et du dimère β - γ , alors libre d'interagir avec les effecteurs. La GTPase intrinsèque hydrolyse le GTP lié en GDP, dissociant la sous-unité α de l'effecteur et lui permettant de se réassocier avec le dimère β - γ . Les protéines G sont classées selon leurs sous-unités α en sous-familles présentant des interactions fonctionnelles entre récepteur et effecteur. La protéine Gs stimule et la Gi inhibe l'adénylcyclase. La protéine Gq régule les isoformes β de la phospholipase C.

La vasopressine et les catécholamines sont les principaux modulateurs hormonaux de l'activité de l'adénylcyclase dans les cellules principales des canaux collecteurs. La vasopressine se lie à deux RCPG (V2 et V1a) [56]. Les récepteurs V2

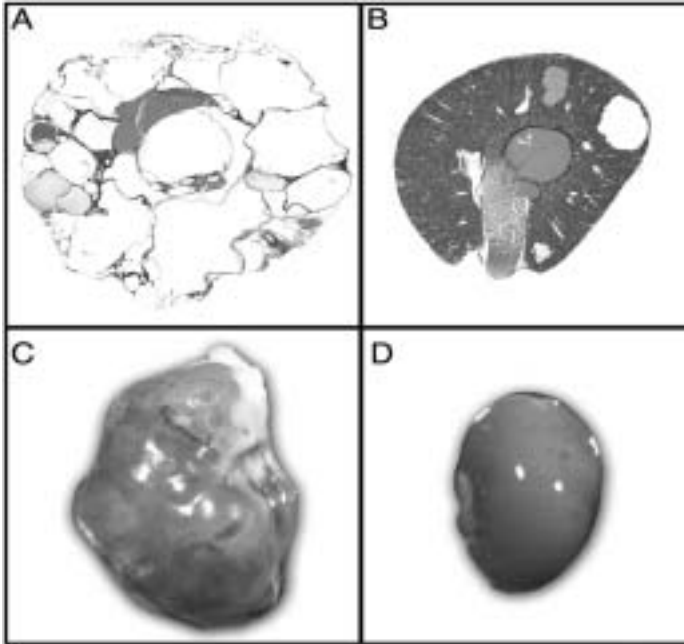


FIG. 6. — Effets de OPC-32160 sur le développement par la maladie polykystique chez la souris Pkd2WS25. Coupes histologiques et aspect macroscopique des reins de souris sévèrement affectées : non traitées (A et C) ou traités (B et D). D'après Torres VE et al. Effective treatment of an orthologous model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Med*, 2004, 10, 363-364. Reproduit avec permission.

situés sur la membrane basolatérale sont couplés aux protéines Gs, activent l'AC6, augmentent les niveaux d'AMPc intracellulaire, activent la PKA et entraînent la libération du Ca^{2+} contenu dans les réserves intracellulaires dépendantes de RyR1. Les récepteurs V1a, présents sur les membranes apicales et basolatérales, sont couplés aux protéines Gq, stimulent la phospholipase C, l'hydrolyse des phospho-inositides [6] ainsi que la libération du Ca^{2+} contenu dans le réticulum endoplasmique et peut limiter les effets induits par les récepteurs V2 sur la perméabilité hydrique. L'influence des récepteurs β -adrénergiques couplés aux protéines Gs sur la production d'AMPc est limitée dans les canaux collecteurs fraîchement disséqués, la réponse maximale à l'isoprotérénol ne représentant que 3 à 6 p. 100 de la réponse maximale à la vasopressine [57]. Elle est néanmoins multipliée par cinq ou six dans les cellules des canaux collecteurs en culture primaire. Les récepteurs alpha 2-adrénergiques sont couplés aux protéines Gi et inhibent l'activité de l'adénylcyclase stimulée par la vasopressine ainsi que l'effet hydro-osmotique de la vasopressine. Contrairement à l'effet β -adrénergique, l'inhibition de l'adénylcyclase par les récepteurs alpha 2-adrénergiques stimulés par l'adrénaline est nettement plus limitée dans les canaux collecteurs médullaires internes en culture que dans ceux fraîchement isolés. Ces effets quantitativement différents de la stimulation β -adrénergique et alpha 2-adrénergique dans les tubes fraîchement disséqués et dans les cellules en culture primaire peuvent être liés à l'ordre des réponses de l'AMPc à la stimulation hormonale (adrénaline > desmo-

pressine> adénosine> prostaglandine E2> parathormone) observé dans les cellules en culture primaire prélevées sur des reins PKRAD et PKRAR [52].

Beaucoup d'autres agents, en plus de la vasopressine et des catécholamines, affectent les concentrations d'AMPC dans les canaux collecteurs. Cependant, il se peut que leurs effets sur les cellules en culture, lorsqu'ils sont étudiés à des concentrations élevées ou lorsqu'ils sont isolés, ne soient pas applicables aux conditions physiologiques *in vivo*. Par exemple, si la prostaglandine E2 (PGE2), à des concentrations élevées, stimule la production d'AMPC par le biais de récepteurs EP4 couplés à des protéines Gs et entraîne une augmentation modérée de la perméabilité hydrique, à des concentrations physiologiquement plus pertinentes et en présence de vasopressine, elle provoque une inhibition de l'adénylcyclase médiée par les récepteurs EP3 couplés aux protéines Gi, probablement une élévation du $[Ca^{2+}]_i$, médiée par les récepteurs EP1 et la stimulation des phosphodiésterases, entraînant une baisse des niveaux d'AMPC ainsi que de la réabsorption hydrique [58-60]. Les effets inhibiteurs sur les cellules fraîchement isolées disparaissent lorsque les cellules sont cultivées [61]. L'adénosine peut également stimuler la production d'AMPC par le biais d'un récepteur A2 couplé aux protéines Gs à de fortes concentrations, alors qu'elle provoque une inhibition de la formation d'AMPC médiée par les récepteurs A1 couplés aux protéines Gi et une perméabilité hydrique à des concentrations plus faibles [62-64]. L'endothéline est à l'origine d'une inhibition de l'accumulation de l'AMPC stimulée par la vasopressine médiée par les récepteurs ET_B dans les canaux collecteurs fraîchement préparés et provoque une diurèse aqueuse *in vivo* [65]. Si à de très fortes concentrations, la somatostatine peut avoir un effet antidiurétique comparable à celui de la vasopressine, à des concentrations physiologiques, elle inhibe la génération d'AMPC induite par la vasopressine ainsi que la perméabilité hydrique *via* les récepteurs SSTR1 et SSTR2 couplés aux protéines Gi, situés principalement dans le néphron distal et dans le tube collecteur [66-68]. Dans certaines cellules, y compris celles du néphron distal et du canal collecteur, la régulation du $[Ca^{2+}]_i$ est affectée par la concentration du Ca^{2+} extracellulaire [69, 70]. Ce phénomène est en partie dû au récepteur sensible au Ca^{2+} (CaR), un RCPG sensible au Ca^{2+} extracellulaire. L'activation du CaR stimule la phospholipase C intracellulaire, la génération d' IP_3 ainsi que la mobilisation du Ca^{2+} contenu dans le réticulum endoplasmique et, dans certaines cellules, inhibe l'accumulation intracellulaire d'AMPC [71, 72]. Il a été démontré que les modifications du Ca^{2+} périlitubulaire affectaient le $[Ca^{2+}]_i$ dans la branche corticale ascendante large de l'anse de Henle (CTAL), dans le canal collecteur cortical (CCD) et dans le canal collecteur médullaire externe (OMCD) mais pas dans le MCD interne (IMCD) [69, 73]. Si cet effet s'avère médié par le CaR dans la CTAL, cela semble moins évident dans le CCD et l'OMCD. L'augmentation du Ca^{2+} luminal active le CaR dans l'IMCD et limite la réponse à la vasopressine en matière de perméabilité hydro-osmotique [74].

ANTAGONISTES DU RÉCEPTEUR DE LA VASOPRESSINE DANS LA PKR

L'effet de la vasopressine (*via* les récepteurs V2) sur l'adénylcyclase dans les cellules principales, le fait que les kystes proviennent des canaux collecteurs dans la néphronoptise, la PKRAR et la PKRAD, et l'effet de l'AMPC sur la kystogénèse

constituent des raisons solides au traitement des modèles animaux de ces maladies par les antagonistes du récepteur de la vasopressine V2 (RVPV2). Nous avons pour cela utilisé un antagoniste de la vasopressine non peptidique (OPC31260) 82 fois plus sélectif chez le rat vis-à-vis des récepteurs V2 que des récepteurs V1a [75]. La spécificité des antagonistes du récepteur de la vasopressine V2 peut se révéler importante, la vasopressine pouvant exercer des effets inverses sur les canaux collecteurs *via* les récepteurs V2 et V1a.

La souris *pcy* est un modèle de néphronophytose due à une mutation faux sens dans le *NPHP3*, gène muté dans la néphronophytose juvénile. L'administration de 0,1 p. 100 d'OPC31260 à des souris CD1/*pcy* ayant entre quatre et trente semaines a nettement inhibé l'accumulation rénale de l'AMPC, la progression de la maladie, comme le prouve la baisse du poids des reins, les concentrations d'azote uréique du plasma sanguin, le volume de la fibrose et des kystes rénaux et les indices mitotiques et apoptotiques [37]. L'administration de 0,1 p. 100 d'OPC31260 à des souris CD1/*pcy* ayant entre quinze et trente semaines a nettement inhibé l'accumulation rénale de l'AMPC, la progression de la maladie, comme le prouve la baisse du poids des reins, des concentrations d'azote uréique du plasma sanguin, du volume de la fibrose et des kystes rénaux et des indices mitotiques et apoptotiques. Le poids des reins des souris ayant démarré le traitement à quinze semaines et sacrifiées à trente semaines s'est avéré significativement inférieur à celui des souris non traitées à quinze semaines. Cela suggère que l'OPC31260 a non seulement stoppé la progression de la maladie, mais a aussi entraîné une régression de la maladie.

Le rat PCK est un modèle de PKRAR humaine due à une mutation d'épissage (IVS35-2A-?-T) qui fait sauter l'exon 36 et entraîne un décalage du cadre de lecture dans *Pkhd1*. L'administration de 0,1 p. 100 ou de 0,05 p. 100 d'OPC31260 à des rats PCK ayant entre trois et dix semaines inhibe la progression de la maladie, comme le prouve la baisse du poids des reins, des concentrations plasmatiques de créatinine et d'azote uréique, du volume des kystes rénaux et des indices mitotiques et apoptotiques [37]. À ce stade de la maladie, la fibrose est très légère et un effet bénéfique à la frontière de la signification statistique a été décelé uniquement chez les rats recevant 0,1 p. 100 d'OPC31260. En comparant le poids des reins des rats PCK traités et non traités à celui de rats Sprague-Dawley de type sauvage âgés de 10 semaines ($0,80 \pm 0,05$ p. 100 du poids corporel), le degré de protection assuré par l'OPC31260 est estimé entre 60 p. 100 (groupe 0,05 p. 100) et 75 p. 100 (groupe 0,1 p. 100). L'administration de 0,05 p. 100 d'OPC31260 à des rats PCK ayant entre dix et dix-huit semaines a inhibé la progression de la maladie, comme le prouve la baisse du poids des reins, des concentrations plasmatiques de la créatinine et de l'azote uréique, du volume de la fibrose et des kystes rénaux, des indices mitotiques et apoptotiques et de la pression systolique. Le poids des reins à dix-huit semaines chez les rats traités a été identique à celui des rats PCK témoins à 10 semaines, indiquant que l'administration d'OPC31260 avait totalement stoppé la progression de la maladie. L'OPC31260 n'a pas eu d'effet significatif sur la fibropolykystose hépatique, conformément à l'absence de récepteurs VP-V2 dans le foie.

La souris *Pkd*^{WS25} est un hétérozygote composite pour un allèle nul *Pkd2* et une mutation WS25 instable de *Pkd2*. C'est un modèle de PKRAD humaine (*PKD2*) qui développe systématiquement des kystes rénaux en trois mois. L'OPC31260 (0,05 p. 100), administré dans l'alimentation aux souris *Pkd2*^{WS25} ayant entre 3 et 16 semaines, a nettement réduit l'accumulation rénale d'AMPC et a inhibé la pro-

gression de la maladie, comme le prouve la baisse du poids des reins, des concentrations plasmatiques de l'azote uréique, du volume de la fibrose et des kystes rénaux et des indices mitotiques et apoptotiques [38]. Le poids des reins des souris *Pkd2*^{-WS25} traitées s'est avéré comparable à celui des souris de type sauvage ($1,4 \pm 0,2$ p. 100 du poids corporel), indiquant que l'augmentation du volume des reins avait été évitée. L'OPC31260 n'a pas eu d'effet significatif sur la polykystose hépatique.

Un aspect intéressant des antagonistes du récepteur de la vasopressine V2 est leur « réno-sélectivité » (due à l'expression limitée des récepteurs V2 sur les cellules principales des canaux collecteurs et sur les cellules endothéliales) et leur apparente bonne tolérance lors des études précliniques et cliniques [76, 77]. Aucune toxicité ni aucun trouble électrolytique n'ont été détectés lors des essais précliniques sur la PKR. Leur administration aux humains dans les essais cliniques de phase I ou de phase II n'a pas entraîné d'effets indésirables, à l'exception d'une soif légère à modérée attendue et bien tolérée par tous les sujets. Aucun effet indésirable vasculaire susceptible d'être lié aux récepteurs de la vasopressine V2 dans les cellules endothéliales n'a été décrit. Plusieurs antagonistes du récepteur de la vasopressine V2 sont actuellement en phase III d'essais d'efficacité et de tolérance pour l'hyponatrémie liée au syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone anti-diurétique (SIADH) et pour des troubles de rétention d'eau comme on l'observe dans l'insuffisance cardiaque congestive et la cirrhose [78]. Étant donné l'absence de traitement efficace et d'effets indésirables associés à l'administration d'antagonistes du récepteur de la vasopressine V2, les essais cliniques chez les patients semblent fondés. Les études de phase II avec l'OPC41061, un dérivé de l'OPC31260 29 fois plus sélectif vis-à-vis des récepteurs V2 humains que des récepteurs V1a humains, ont débuté pour la PKRAD.

BIBLIOGRAPHIE

1. YODER BK, HOU X, GUAY-WOODFORD LM et al. The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. *J Am Soc Nephrol*, 2002, **13**, 2508-2516.
2. PAZOUR GJ, SAN AUGUSTIN JT, FOLLIT JA et al. Polycystin-2 localizes to kidney cilia and the ciliary level is elevated in *orpk* mice with polycystic kidney disease. *Curr Biol*, 2002, **12**, R378-R380.
3. WARD CJ, YUAN D, MASYUK TV et al. Cellular and subcellular localization of the ARPKD protein ; fibrocystin is expressed on primary cilia. *Hum Mol Genet*, 2003, **12**, 2703-2710.
4. OTTO EA, SCHERMER B, OBARA T et al. Mutations in *INVS* encoding inversion cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat Genet*, 2003, **34**, 413-420.
5. ANSLEY SJ, BADANO JL, BLACQUE OE et al. Basal body dysfunction is a likely cause of pleiotropic Bardet-Biedl syndrome. *Nature*, 2003, **425**, 628-633.
6. KIM JC, BADANO JL, SIBOLD S et al. The Bardet-Biedl protein BBS4 targets cargo to the pericentriolar region and is required for microtubule anchoring and cell cycle progression. *Nat Genet*, 2004, **36**, 462-470.
7. LI JB, GERDES JM, HAYCRAFT CJ et al. Comparative genomics identifies a flagellar and basal body proteome that includes the BBS5 human disease gene. *Cell*, 2004, **117**, 541-552.
8. BLACQUE OE, REARDON MJ, LI C et al. Loss of *C. elegans* BBS-7 and BBS-8 protein function results in cilia defects and compromised intraflagellar transport. *Genes Dev*, 2004, **18**, 1630-1642.

9. ROMIO L, WRIGHT V, PRICE K et al. OFD1, the gene mutated in oral-facial-digital syndrome type 1, is expressed in the metanephros and in human embryonic renal mesenchymal cells. *J Am Soc Nephrol*, 2003, **14**, 680-689.
10. POOLE CA, ZHANG ZI, ROSS JM et al. The differential distribution of acetylated and detyrosinated alpha-tubulin in the microtubular cytoskeleton and primary cilia of hyaline cartilage chondrocytes. *J Anat*, 2001, **199**, 393-405.
11. ZHANG Q, TAULMAN PD, YODER BK et al. Cystic kidney diseases : all roads lead to the cilium. *Physiology (Bethesda)*, 2004, **19**, 225-230.
12. SNELL WJ, PAN J, WANG O et al. Cilia and flagella revealed : from flagellar assembly in *Chlamydomonas* to human obesity disorders. *Cell*, 2004, **117**, 693-697.
13. PRAETORIUS HA, SPRING KR. Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J Membr Biol*, 2001, **184**, 71-79.
14. PRAETORIUS HA, PRAETORIUS J, NIELSEN S et al. Beta1-integrins in the primary cilium of MDCK cells potentiate fibronectin-induced Ca^{2+} signaling. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, **287**, F969-F978.
15. MORGAN D, ELEY L, SAYER J et al. Expression analyses and interaction with the anaphase promoting complex protein Apc2 suggest a role for inversin in primary cilia and involvement in the cell cycle. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**, 3345-3350.
16. RUNDLE DR, GORBSKY G, TSIOKAS L et al. PKD2 interacts and co-localizes with mDia1 to mitotic spindles of dividing cells. Role of mDia 1 IN PKD2 localization to mitotic spindles. *J Biol Chem*, 2004, **279**, 29728-29739.
17. LIN F, HIESBERGER T, CORDES K et al. Kidney-specific inactivation of the KIF3A subunit of kinesin-II inhibits renal ciliogenesis and produces polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**, 5286-5291.
18. SUN Z, AMSTERDAM A, PAZOUR GJ et al. A genetic screen in zebrafish identifies cilia genes as a principal cause of cystic kidney. *Development*, 2004, **131**, 4085-4093.
19. GRESH L, FISCHER E, REIMANN A et al. A transcriptional network in polycystic kidney disease. *Embo J*, 2004, **23**, 1657-1668.
20. HIESBERGER T, BAI Y, SHAO X et al. Mutation of hepatocyte nuclear factor-1b inhibits *Pkhd1* gene expression and produces renal cysts in mice. *J Clin Invest*, 2004, **113**, 814-825.
21. DELMAS P, PADILLA F, OSORIO N et al. Polycystins, calcium signaling, and human diseases. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **322**, 1374-1383.
22. WANG S et al. Fibrocystin is associated with polycystin-2 and regulates intracellular calcium. *J Am Soc Nephrol*, 2004, **15**, 12A.
23. NAULI SM, ALENGHAT FJ, LUO Y et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet*, 2003, **33**, 129-137.
24. MCGRATH J, SOMLO S, MARKOUA S et al. Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse. *Cell*, 2003, **114**, 61-73.
25. TSIOKAS L, ARNOULD T, ZHU C et al. Specific association of the gene product of PKD₂ with the TRPC1 channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**, 3934-3939.
26. KOULEN P, CAI Y, GENG L et al. Polycystin-2 is an intracellular calcium release channel. *Nat Cell Biol*, 2002, **4**, 191-197.
27. QIAN Q, HUNTER LW, LI M et al. *Pkd2* haploinsufficiency alters intracellular calcium in vascular smooth muscle cells. *Hum Mol Genet*, 2003, **12**, 1875-1880.
28. GAO Z, JOSEPH E, RUDEN DM et al. *Drosophila* Pkd2 is haploid-insufficient for mediating optimal smooth muscle contractility. *J Biol Chem*, 2004, **279**, 14225-14231.
29. AGUIARI G, BANZI M, GESSI S et al. Deficiency of polycystin-2 reduces Ca^{2+} channel activity and cell proliferation in ADPKD lymphoblastoid cells. *Faseb J*, 2004, **18**, 884-886.
30. KIM BY, AHN JB, LEE HW et al. Synthesis and biological activity of novel substituted pyridines and purines containing 2,4-thiazolidinedione. *Eur J Med Chem*, 2004, **39**, 433-447.
31. CALVET JP. Polycystic kidney disease, primary extracellular matrix abnormality or defective cellular differentiation ? *Kidney Int*, 1993, **43**, 101-108.
32. GRANTHAM JJ. Lillian Jean Kaplan International Prize for advancement in the understanding of polycystic kidney disease. Understanding polycystic kidney disease, a systems biology approach. *Kidney Int*, 2003, **64**, 1157-1162.

33. HANAOKA K, GUGGINO W. cAMP regulates cell proliferation and cyst formation in autosomal polycystic kidney disease cells. *J Am Soc Nephrol*, 2000, **11**, 1179-1187.
34. YAMAGUCHI T, WALLACE DP, MAGENHEIMER BS et al. Calcium restriction allows cAMP activation of the B-Raf/ERK pathway, switching cells to a cAMP-dependent growth-stimulated phenotype. *J Biol Chem*, 2004, **279**, 40419-40430.
35. TAKAHASHI H, HONMA M, MIYAUCHI Y et al. Cyclic AMP differentially regulates cell proliferation of normal human keratinocytes through ERK activation depending on the expression pattern of B-Raf. *Arch Dermatol Res*, 2004, **296**, 74-82.
36. YAMAGUCHI T, NAGAO S, KASAHARA M et al. Renal accumulation and excretion of cyclic adenosine monophosphate in a murine model of slowly progressive polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis*, 1997, **30**, 703-709.
37. GATTONE VH, WANG X, HARRIS PC et al. Inhibition of renal cystic disease development and progression by a vasopressin V2 receptor antagonist. *Nat Med*, 2003, **9**, 1323-1326.
38. TORRES VE, WANG X, OIAN O et al. Effective treatment of an orthologous model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Med*, 2004, **10**, 363-364.
39. PARNELL SC, MAGENHEIMER BS, MASER RL et al. The polycystic kidney disease-1 protein, polycystin-1, binds and activates heterotrimeric G-proteins *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **251**, 625-631.
40. CHABARDES D, IMBERT-TEBOUL M, ELALOUF JM et al. Functional properties of Ca²⁺-inhibitable type 5 and type 6 adenyllyl cyclases and role of Ca²⁺ increase in the inhibition of intracellular cAMP content. *Cell Signal*, 1999, **11**, 651-663.
41. DOUSA TP. Cyclic-3',5'-nucleotide phosphodiesterase isozymes in cell biology and pathophysiology of the kidney. *Kidney Int*, 1999, **55**, 29-62.
42. HOUSLAY MD, BAILLIE GS. The role of ERK2 docking and phosphorylation of PDE4 cAMP phosphodiesterase isoforms in mediating cross-talk between the cAMP and ERK signalling pathways. *Biochem Soc Trans*, 2003, **31**, 1186-1190.
43. GATTONE VH, MASER RL, TIAN C et al. Developmental expression of urine concentration-associated genes and their altered expression in murine infantile-type polycystic kidney disease. *Dev Genet*, 1999, **24**, 309-318.
44. MICHALSKI A, GRZESZCZAK W. The effect of hypervolemia on electrolyte level and level of volume regulating hormones in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Pol Arch Med Wewn*, 1996, **96**, 329-343.
45. OSATHANONDH V, POTTER E. Pathogenesis of Polycystic Kidneys. Type 3 Due to Multiple Abnormalities of Development. *Arch Pathol*, 1964, **77**, 485-502.
46. HEGGÖ O. A microdissection study of cystic disease of the kidneys in adults. *J Pathol Bacteriol*, 1966, **91**, 311-315.
47. BAERT L, STEG A. Is the diverticulum of the distal and collecting tubules a preliminary stage of the simple cyst in the adult ? *J Urol*, 1977, **118**, 707-710.
48. BAERT L. Hereditary polycystic kidney disease (adult form) : a microdissection study of two cases at an early stage of the disease. *Kidney Int*, 1978, **13**, 519-525.
49. VERANI RR, SILVA FG. Histogenesis of the renal cysts in adult (autosomal dominant) polycystic kidney disease : a histochemical study. *Mod Pathol*, 1988, **1**, 457-463.
50. WU G, DI AGATI V, MARKOWITZ G et al. Somatic inactivation of PKD2 results in polycystic kidney disease. *Cell*, 1998, **93**, 177-188.
51. DEVUYST O, BURROW CR, SMITH BL et al. Expression of aquaporins-1 and -2 during nephrogenesis and in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Physiol*, 1996, **271**, F169-F183.
52. BELIBI FA, REIF G, WALLACE DP et al. Cyclic AMP promotes growth and secretion in human polycystic kidney epithelial cells. *Kidney Int*, 2004, **66**, 964-973.
53. MAEDA Y, TERADA Y, NONOGUCHI H et al. Hormone and autacoid regulation of cAMP production in rat IMCD subsegments. *Am J Physiol*, 1992, **263**, F319-F327.
54. BREYER MD, ANDO Y. Hormonal signaling and regulation of salt and water transport in the collecting duct. *Annu Rev Physiol*, 1994, **56**, 711-739.
55. OFFERMANN S. G-proteins as transducers in transmembrane signalling. *Prog Biophys Mol Biol*, 2003, **83**, 101-130.

56. BIRNBAUMER M. Vasopressin receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, **11**, 406-410.
57. YASUDA G, JEFFRIES WB. Regulation of cAMP production in initial and terminal inner medullary collecting ducts. *Kidney Int*, 1998, **54**, 80-86.
58. NARUMIYA S, FITZGERALD GA. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest*, 2001, **108**, 25-30.
59. BREYER MD, BREYER RM. Prostaglandin receptors : their role in regulating renal function. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2000, **9**, 23-29.
60. AARAB L, SIAUME-PEREZ S, CHABARDES D et al. Cell-specific coupling of PGE₂ to different transduction pathways in arginine vasopressin- and glucagon-sensitive segments of the rat renal tubule. *Br J Pharmacol*, 1999, **126**, 1041-1049.
61. SONNENBURG WK, SMITH WL. Regulation of cyclic AMP metabolism in rabbit cortical collecting tubule cells by prostaglandins. *J Biol Chem*, 1988, **263**, 6155-6160.
62. EDWARDS RM, SPIELMAN WS. Adenosine A1 receptor-mediated inhibition of vasopressin action in inner medullary collecting duct. *Am J Physiol*, 1994, **266**, F791-F796.
63. SCHULTE G, FREDHOLM BB. Signalling from adenosine receptors to mitogen-activated protein kinases. *Cell Signal*, 2003, **15**, 813-827.
64. VITZTHUM H, WEISS B, BACHLEITNER W et al. Gene expression of adenosine receptors along the nephron. *Kidney Int*, 2004, **65**, 1180-1190.
65. OISHI R, NONOGUCHI H, TOMITA K et al. Endothelin-1 inhibits AVP-stimulated osmotic water permeability in rat inner medullary collecting duct. *Am J Physiol*, 1991, **261**, F951-F956.
66. BALSTER DA, O'DORISIO MS, SUMMERS MA et al. Segmental expression of somatostatin receptor subtypes sst(1) and sst(2) in tubules and glomeruli of human kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, **280**, F457-F465.
67. RAY C, CAMAY S, MORGAN T et al. Somatostatin as a modulator of distal nephron water permeability. *Clin Sci*, 1993, **84**, 455-460.
68. ISHIKAWA S, SAITO T, KUZUYA T et al. Reversal of somatostatin inhibition of AVP-induced cAMP by pertussis toxin. *Kidney Int*, 1988, **33**, 536-542.
69. CHAMPIGNEULLE A, SIGA E, VASSANT G et al. Relationship between extra- and intracellular calcium in distal segments of the renal tubule. Role of the Ca²⁺ receptor RaKCaR. *J Membr Biol*, 1997, **156**, 117-129.
70. WARD DT, RICCARDI D. Renal physiology of the extracellular calcium-sensing receptor. *Pflugers Arch*, 2002, **445**, 169-176.
71. BROWN EM. Extracellular Ca²⁺ sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca²⁺ and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiol Rev*, 1991, **71**, 371-411.
72. COBURN JW, MAUNG HM. Calcimimetic agents and the calcium-sensing receptor. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2000, **9**, 123-132.
73. DE JESUS FERREIRA MC, HELIES-TOUSSAINT C, IMBERT-TEBOUL M et al. Co-expression of a Ca²⁺-inhibitable adenylyl cyclase and of a Ca²⁺-sensing receptor in the cortical thick ascending limb cell of the rat kidney. Inhibition of hormone-dependent cAMP accumulation by extracellular Ca²⁺. *J Biol Chem*, 1998, **273**, 15192-15202.
74. SANDS JM, NARUSE M, BAUM M et al. Apical extracellular calcium/polyvalent cation-sensing receptor regulates vasopressin-elicited water permeability in rat kidney inner medullary collecting duct. *J Clin Invest*, 1997, **99**, 1399-1405.
75. YAMAMURA Y, NAKAMURA S, ITOH S et al. OPC-41061, a highly potent human vasopressin V₂-receptor antagonist : pharmacological profile and aquaretic effect by single and multiple oral dosing in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, **287**, 860-867.
76. WONG LL, VERBALIS JG. Vasopressin V2 receptor antagonists. *Cardiovasc Res*, 2001, **51**, 391-402.
77. THIBONNIER M, COLES P, THIBONNIER A et al. The basic and clinical pharmacology of nonpeptide vasopressin receptor antagonists. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2001, **41**, 175-202.
78. GHEORGHIAD E, GATTIS WA, O'CONNOR CM et al. Effects of tolvaptan, a vasopressin antagonist, in patients hospitalized with worsening heart failure : a randomized controlled trial. *JAMA*, 2004, **291**, 1963-1971.