

© Е.В.Селивёрстова, А.А.Соловьёв, Р.А.Насыров, Ю.В.Наточин, 2009  
УДК 616.611-002-053.32:577.175.343:612.815.1

*Е.В. Селивёрстова<sup>1</sup>, А.А. Соловьёв<sup>2</sup>, Р.А. Насыров<sup>3</sup>, Ю.В. Наточин<sup>1</sup>*

## ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ РЕЦЕПТОРОВ ВАЗОПРЕССИНА В ПОЧКЕ ДЕТЕЙ ПРИ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ

*E.V. Seliverstova, A.A. Solovyov, R.A. Nasyrov, Yu.V. Natochin*

## STUDY OF LOCALIZATION OF VASOPRESSIN RECEPTORS IN KIDNEY OF CHILDREN WITH GLOMERULONEPHRITIS

<sup>1</sup> Лаборатория физиологии почки и водно-солевого обмена Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, <sup>2</sup> кафедра госпитальной педиатрии, <sup>3</sup> кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины Санкт-Петербургской государственной медицинской педиатрической академии, Россия

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Изучение локализации рецепторов вазопрессина в структурах почки человека. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Исследованы биоптаты почек 12 детей с различными морфологическими формами гломерулонефрита. Локализация V1a- и V2-рецепторов изучена методами световой и электронной микроскопии, иммуногистохимии и иммуноэлектронной микроскопии. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В клубочках и эпителии проксимальных канальцев нефрона были выявлены изменения ультраструктуры, клетки дистального сегмента нефрона не имели выраженных изменений. Использование специфических антител позволило установить, что V2-рецепторы локализованы в клетках собирательных трубок и дистального сегмента нефрона, V1a-рецепторы – в клетках мезангия клубочка, стенок сосудов, дистального сегмента нефрона и интерстиция. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Впервые представлены данные о локализации V1a- и V2-рецепторов в почке детей. Выявленное распределение V-рецепторов в структурах почки хорошо сопоставимо с результатами изучения функционального ответа почек на вазопрессин.

**Ключевые слова:** вазопрессин, V1a-рецептор, V2-рецептор, кора почки, нефрон, иммуногистохимия, иммуноэлектронная микроскопия.

### ABSTRACT

**THE AIM.** Study of localization of vasopressin receptors in the structures of human kidney. **PATIENTS AND METHODS.** Renal tissue studied 12 children with different morphological forms of glomerulonephritis. Localization of V1a- and V2-receptor studied by light and electron microscopy, immunohistochemistry and immunoelectron microscopy. **RESULTS.** In the glomeruli and the epithelium of the proximal tubules of the nephron were identified changes in the ultrastructure of cells. The cells of distal segment of the nephron were not expressed by the changes. Using specific antibodies revealed that the V2-receptors localized in the cells of the collecting duct and the distal segment of the nephron, V1a-receptors – in the mesangial cells, the walls of blood vessels, the distal segment of the nephron and interstitium. **CONCLUSION.** For the first time presents data on the localization of V1a- and V2-receptors in the kidneys of children. The observed distribution of V-receptors in the structures of the kidney are well comparable with the results of the study of the functional response of the kidneys to vasopressin.

**Key words:** vasopressin, V1a-receptor, V2-receptor, kidney cortex, nephron, immunohistochemistry, immunoelectron microscopy.

### ВВЕДЕНИЕ

Аргинин-вазопрессин (АВП) играет ключевую роль в регуляции объема и осмоляльности жидкостей внутренней среды у млекопитающих животных и человека. Эффект АВП в почке обусловлен его взаимодействием с V1a- и V2-рецепторами. Опубликованы данные о локализации рецепторов вазопрессина в почке крысы [1–5], кролика [1, 6–8], мыши [6, 7], но крайне мало известно о локализации V2- и V1a-рецепторов в почке человека. Методом гисторадиографии с использованием меченых агонистов установлено преимуществен-

ное распределение V1a-рецепторов в коре почки человека, однако не проведена точная идентификация отделов нефрона, в которых они выявлены [6]. Методами гибридизации *in situ* и иммуноцитохимии с использованием маркеров для разных отделов нефрона была подтверждена экспрессия mRNA V1a-рецепторов преимущественно в коре почек человека, а также выявлен небольшой уровень экспрессии в наружном мозговом веществе [9, 10]. Экспрессия mRNA V1a-рецепторов обнаружена в главных и вставочных клетках собирательных трубок коры почки [9] и исключительно во вставочных клетках (А типа) собирательных трубок мозгового вещества почки [9]. Наибольший уровень экспрессии mRNA V2-рецепторов был выявлен в собирательных трубках внутреннего

Селивёрстова Е.В. Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, лаборатория физиологии почки и водно-солевого обмена. 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44, т. 552-30-86, E-mail: natochin@iephb.ru

слоя наружного мозгового вещества, низкий уровень – во внутреннем мозговом веществе и минимальный – в коре и наружном слое наружного мозгового вещества [9, 10]. Ярко выраженная экспрессия mRNA V2-рецепторов выявлена в толстом восходящем отделе петли Генле [10], macula densa [10], связующем отделе и в собирательных трубочках коры и мозгового вещества почки [9, 10], более слабая экспрессия характерна для эпителия кортикальных отделов петель Генле и дистальных извитых канальцев. V2-рецепторы в клетках петли Генле обнаружены как на люминальных, так и на базолатеральных мембранах [10].

Участие вазопрессина в регуляции реабсорбции натрия и воды, продемонстрированное в экспериментах на животных, а также многочисленные данные о нарушении водно-солевого обмена при патологических процессах, выявленные у пациентов в нефрологической клинике, безусловно свидетельствуют об актуальности детального изучения локализации рецепторов аргинин-вазопрессина в почке у человека. Задача настоящего исследования заключалась в выяснении локализации V2- и V1a-рецепторов в структурах коры почки у детей старше 9 лет, у которых полностью сформирована реакция почек на вазопрессин и по медицинским показаниям (гломерулонефрит) проводилась пункционная биопсия почек.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 12 больных (5 девочек и 7 мальчиков) в возрасте от 9 до 17 лет, с различными морфологическими формами гломерулонефрита (длительность заболевания – до 7 лет). Мочевой синдром у большинства больных проявлялся сочетанием протеинурии (от 0,5 до 3,0 г/сут) и гематурии (у 7 детей – микрогематурия, у 5 – периодические приступы макрогематурии). В дебюте заболевания экстраренальные проявления выражались отеком синдромом у 4 больных, во время проведения биопсии почек отека не было. 4 больных имели в дебюте заболевания признаки системного поражения (1 – СКВ, 1 – капилляротоксический нефрит, 2 – АНЦА ассоциированный васкулит). У 5 больных отмечены периодические подъемы артериального давления. В крови больных выявлены умеренные воспалительные изменения с небольшой диспротеинемией, небольшое повышение СОЭ (10–20 мм/ч), у 2 больных в момент проведения биопсии почек наблюдалась гипоальбуминемия (25–30 г/л). 6 больных получали лечение преднизолоном, 2 – цитостатическую терапию (циклофосфан и циклоспорин А). Патоморфологический диагноз верифицирован по результатам биопсии почек.

Пункционную биопсию левой почки проводили под контролем УЗИ. Информационное согласие на проведение биопсии было получено. Извлеченный столбик ткани делился на четыре части для исследования методами световой, электронной микроскопии, проведения иммуногисто- и иммуноцитохимического анализа.

Для иммуногистохимических исследований образец биоптата фиксировали в 10% нейтральном параформальдегиде в течение 20 мин и заключали в парафин. Срезы 3–5 мкм готовили на ротационном микротоме HM 325 («Micom Zeiss», Германия), монтировали на предметные стекла, депарафинировали, а после реакций восстановления антигенов инкубировали в растворах антител к рецепторам V1a (AVP1A11-A, Alpha Diagnostic Int.) и V2 (AVPV21-A, Alpha Diagnostic Int.) в разведении 1:20 на PBS с 0,1% BSA при +4°C в течение 12 ч. После отмывки на срезы наносили систему En Vision («DAKO», Германия) на 45 мин, для визуализации иммуногистохимической реакции срезы инкубировали в растворе 0,3% ДАВ (3,3-диаминобензидина) в течение 2–3 мин, контролируя интенсивность реакции в микроскопе. Затем срезы отмывали, слабо докрасивали гематоксилином и изучали в световом микроскопе Leica DMLB 2 («Leica Microsystems», Германия).

Для ультраструктурных исследований образцы фиксировали в растворе 2,5% глутарового альдегида на 0,1 М натрий-какодилатном буфере (Sigma, pH 7,2–7,4) в течение 2–4 ч, отмывали в том же буфере и проводили постфиксацию в растворе 1% четырехоксида осмия на 0,1 М натрий-какодилатном буфере. Затем образцы отмывали буфером, обезвоживали в серии спиртов возрастающих концентраций, абсолютном ацетоне и заключали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме Leica Ultracut UCT (Германия), собирали на медные сетки и затем контрастировали растворами уранил-ацетата и цитрата свинца. Полученные образцы изучали в электронном микроскопе Leo-910 («Leica», Германия) при ускоряющем напряжении 60 кВ.

Локализацию рецепторов вазопрессина исследовали методом иммуноэлектронной микроскопии. Образцы фиксировали при +4°C в течение 2–4 ч в смеси 0,05% глутарового альдегида («Sigma-Aldrich») и 4% параформальдегида («Sigma-Aldrich») на 0,01 М фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,3), затем – в растворе 4% параформальдегида, отмывали от фиксаторов PBS (2 x 15 мин), обезвоживали в серии спиртов (30, 50, 70, 96, 100%), пропитывали и заключали в смолу LR-White (Agar). Ультратонкие срезы (50 нм) получали на ультратоме

ме Leica Ultracut UCT («Leica», Germany) и переносили на покрытые бутваром никелевые сетки. При проведении иммуноцитохимической окраски сетки сначала инкубировали на каплях PBS с 1% бычьим сывороточным альбумином (AURION BSA-cTM, Aurion) в течение 30 мин, затем переносили на капли с раствором первичных антител к рецепторам V1a (AVPR1A, Lifespan Biosciences) и V2R (Affinity Bioreagents) в разведении 1:10 на 0,01M PBS с 0,1% AURION BSA-cTM (PBS-BSA). В качестве контроля использовали антитела к аквапорину AQP1 (AQP11-A, Alpha Diagnostic Int.) в том же разведении или пропускали обработку первыми антителами. После инкубации в течение 2 ч при комнатной температуре сетки отмывали на каплях PBS-BSA и инкубировали в течение 1 ч в растворе конъюгата коллоидного золота Protein-A-gold (Sigma) в разведении 1:25 на PBS-BSA. После отмывки в PBS-BSA и дистиллированной воде срезы контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе LEO 910 (LEO Electron Microscopy Group, Germany) при 60 кВ. Локализацию рецепторов вазопрессина определяли по распределению метки коллоидного золота (Protein-A-gold).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование тканей почки у 8 обследованных детей не выявило интерстициального фиброза и атрофии канальцевого эпителия. Морфологические диагнозы у этих больных были: IgA-нефропатия (5 пациентов), гломерулонефрит с минимальными изменениями (1), капилляротоксический нефрит (1), системная красная волчанка – III класс (1). Установлено преимущественное поражение клубочков с различной степенью дистрофии проксимальных канальцев. У 4 больных выявлен фиброз интерстиция с различной степенью атрофии канальцев. Морфологические диагнозы – АНЦА ассоциированный васкулит (2 больных) и мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит (2). Клинико-биохимическое и клинико-физиологическое обследование детей показало, что у них эффективно реализуется гомеостатическая функция почек (таблица). Это обеспечивает сохранение на уровне нормы концентрации органических и неорганических компонентов сыворотки крови. Для оценки осморегулирующей функции почек была проведена проба С.С. Зимницкого. Нарушения функции почек по осмотическому разведению и концентрированию мочи выявлено не было. У обследованных детей (n=12) максимальное значение удельной плотности мочи составило

1,020±0,005, а минимальное – 1,006±0,003, что свидетельствует о достаточной сохранности осморегулирующей функции почек.

Ультраструктурные изменения, вызванные гломерулонефритом, выявлены в клубочках и эпителии проксимальных канальцев нефрона. Обнаружена в разной степени выраженная деформация и редукция щеточной каймы, выпячивание апикальной цитоплазмы клеток и уменьшение просвета канальцев, повышенная вакуолизация цитоплазмы, утолщение базальной мембраны. В эпителии дистальных отделов нефрона и собирательных трубок не найдено значительных морфологических изменений.

Иммуногистохимическим методом V1a-рецепторы обнаружены в стенках сосудов (рис. 1, а, в), в клетках мезангия клубочков (см. рис. 1, а, б, г), а также в интерстициальных клетках (см. рис. 1, а, г). Слабое окрашивание V1a-рецепторов выявлено в собирательных трубках, причем только в отдельных клетках (см. рис. 1, а, б, г). Яркая метка обнаружена в немногочисленных профилях канальцев нефрона вблизи клубочков, отличающихся от собирательных трубок более высоким эпителием (см. рис. 1, г). Они представляют собой, по-видимому, профили канальцев дистального сегмента нефрона. В этих канальцах метка локализована во всех клетках, в основном на апикальных мембранах (см. рис. 1, в). Метка к V2-рецепторам обнаружена, главным образом, в клетках собирательных трубок и, в меньшей степени, в клетках дистального сегмента нефрона. V2-рецепторы выявлены во всех типах клетках собирательных трубок, преимущественно в цитоплазме клеток (рис. 1, е), хотя четкая метка видна и на апикальных мембранах (рис. 1, д). В клетках проксимальных канальцев V1a- и V2-рецепторы не обнаружены (см. рис. 1, а-е).

Результаты иммуноцитохимических исследований также указывают на преимущественную ло-

## Параметры сыворотки крови и мочи обследованных детей

Параметр	Ед. измерения	Концентрация, $\bar{X} \pm m$	Норма*
Общий белок	г/л	74,2±2,4	62–82
Альбумин	г/л	47,9±0,8	37–52
Мочевина	ммоль/л	6,5±0,5	2,5–8,3
Креатинин	ммоль/л	0,08±0,01	0,035–0,11
Холестерин	г/л	5,1±0,4	4,9–8,2
b-липопротеиды	%	47,6±8,0	34,6–50,3
Натрий	ммоль/л	141,0±0,5	137–147
Калий	ммоль/л	4,6±0,1	3,69–5,12
Кальций общий	ммоль/л	2,31±0,07	2,50–2,87
Фосфор неорг.	ммоль/л	1,6±0,1	0,65–1,62
Клиренс креатинина	мл/мин/ 1,73 м <sup>2</sup>	94±5	80–150

\* – Значение нормы по Д.Б. Сыромятникову [11].

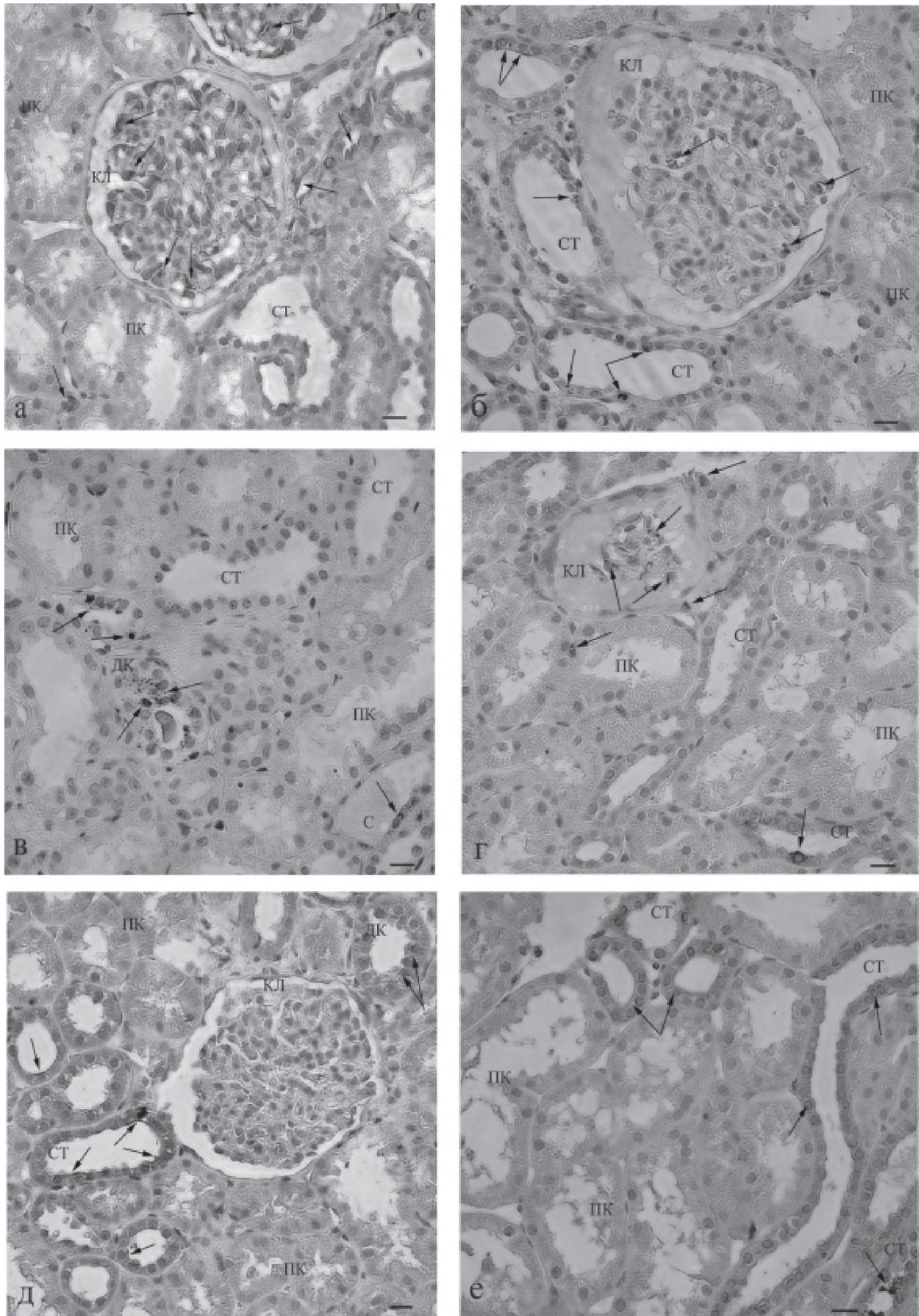


Рис. 1. Иммуногистохимическое локализация V1a- (а – г) и V2 (д, е)-рецепторов вазопрессина в канальцах почки человека. ДК – дистальный каналец; КЛ – клубочек; ПК – проксимальный каналец; С – сосуд; СТ – собирательная трубка; стрелками указаны места наибольшего скопления оптически плотной метки. Масштабная линейка – 10 мкм.

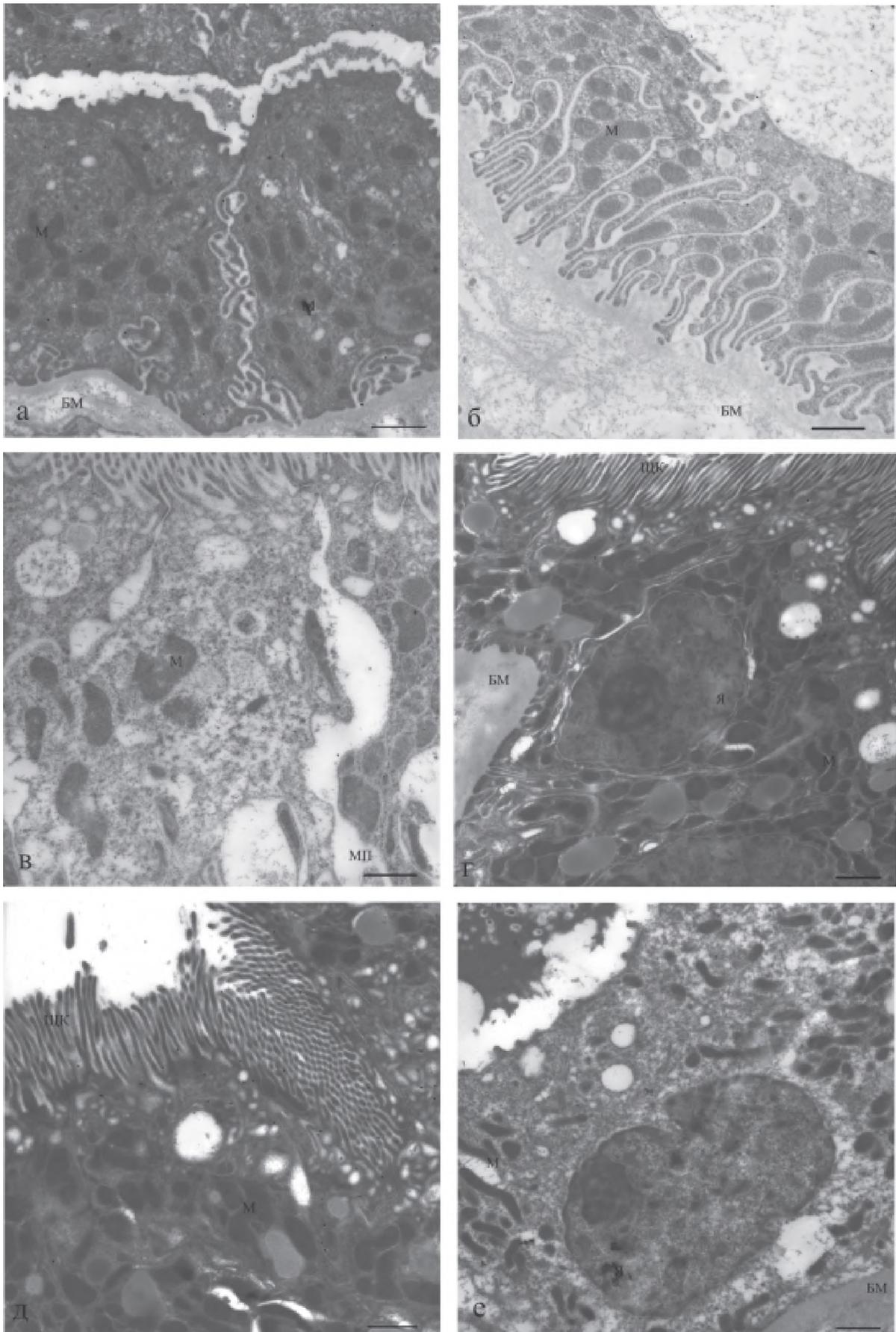


Рис. 2. Локализация рецепторов вазопрессина V1a (а, в), V2 (б,г) и аквапорина 1 (д, е) методом иммуноэлектронной микроскопии в клетках канальцев почки человека: собирательных трубок (а, е), проксимальных канальцев (в, г, д), дистальных канальцев (б). БМ – базальная мембрана; М – митохондрии; МП – межклеточное пространство; ЩК – щеточная кайма; Я – ядро; метка – электронно-плотные гранулы. Масштабная линейка – 1 мкм.

кализацию V2-рецепторов в клетках собирательных трубок (рис. 2, а) с преобладающим распределением в цитоплазме, хотя метка отмечалась на базолатеральной и, в меньшей степени, на апикальной мембране эпителиоцитов (см. рис. 2, а). Иммуноположительный ответ на V2-рецепторы выявлен и в клетках проксимальных канальцев, но в отличие от собирательных трубок метка найдена на базолатеральных и апикальных мембранах, в инвагинациях апикальной мембраны и в межклеточном пространстве (рис. 2, в). В некоторых случаях метка к V2-рецепторам была найдена в клетках дистальных канальцев. Метка к V1a-рецепторам обнаружена в дистальных отделах нефрона и в клетках проксимальных отделов (рис. 2, б, г). V1a-рецепторы были локализованы в основном на апикальных и базолатеральных мембранах клеток (см. рис. 2, б, г). Метка к специфическому каналу для воды – аквапорину 1 (AQP1) – обнаружена только на апикальных мембранах клеток проксимальных канальцев (рис. 2, д).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Одно из важнейших функциональных назначений почек состоит в поддержании в строгих границах нормальных значений физико-химических параметров жидкостей внутренней среды. К ним относятся онкотическое и осмотическое давление крови, концентрация физиологически важных ионов. Данные клинико-биохимического и клинико-физиологического обследования детей с гломерулонефритом, которые явились объектом исследования, не отличались от показателей у здоровых детей (таблица). В сыворотке крови концентрация белка, мочевины, креатинина, ионов находилась в пределах нормальных значений [11]. Расчет клиренса креатинина как меры скорости клубочковой фильтрации и оценка осмотического разведения и концентрирования мочи по данным пробы С.С. Зимницкого свидетельствовали о сохранности функций основных структур почки.

В исследованиях, проведенных методами иммуногистохимии и иммуноэлектронной микроскопии, получены сопоставимые результаты и показано, что V1a-рецепторы локализованы в клубочке, стенке сосудов, в клетках проксимальных и дистальных отделов нефрона, собирательных трубок и интерстиция коркового вещества почки. Подобное распределение V1a не было выявлено аналогичными методами в исследованиях на интактных образцах биопсийного материала, полученного из почек человека, удаленных вследствие опухолевого процесса [6]. Локализация V1a-рецепторов в клетках собирательных трубок коры и мозгово-

го вещества почки человека была описана ранее лишь с использованием молекулярно-генетических методов [9, 10]. Известно, что V1a-рецепторы, локализованы главным образом в клубочке, сосудах [6, 12] и собирательных трубках почек млекопитающих животных [1, 4, 6–8]. Экспрессия V1a-рецепторов в клетках проксимальных извитых и прямых канальцев, а также в клетках толстых восходящих петель Генле была на очень низком уровне по сравнению с клубочками и собирательными трубками, функциональное значение экспрессии рецепторов в этих отделах нефрона неясно [13]. Установлено, что при хроническом метаболическом ацидозе у крыс повышается экспрессия mRNA V1a-рецепторов в собирательных трубках, что позволяло предположить их роль в регуляции кислотно-основного равновесия [4].

Обнаруженная в нашей работе преимущественная локализация V2-рецепторов в клетках собирательных трубок почек у больных с гломерулонефритом хорошо коррелирует с данными изучения почек здорового человека молекулярно-генетическими методами [9, 10]. Цитоплазматическое распределение метки к V2-рецепторам подтверждается исследованиями внутриклеточной локализации рецепторов вазопрессина в почке животных [14, 15], однако, ранее не было установлено для человека. Выявленная нами локализация V2-рецепторов в клетках дистального сегмента нефрона ранее была установлена только молекулярно-генетическими методами [9, 10]. Иммуноположительный ответ на V2-рецепторы, обнаруженный в клетках проксимальных канальцев, может быть объяснен неспецифичностью иммунной реакции или захватом профильтровавшегося в клубочках вазопрессина и его рецепторов клетками проксимальных отделов нефрона.

В регуляции осмотического концентрирования мочи почкой ведущую роль играет аргинин-вазопрессин и стимулируемые им рецепторы [16]. Функциональное значение различных типов рецепторов вазопрессина (V1a, V1b и V2) неодинаково в пределах одного органа, а иногда – одного типа тканей или клеток. В частности, увеличение осмотической проницаемости зависит от стимуляции вазопрессинном V2-рецепторов, которая запускает каскад реакций. Они включают активацию аденилатциклазы, образование внутриклеточного цАМФ, стимуляцию протеинкиназы А и встраивание в люминальную мембрану клеток собирательных трубок водных каналов (аквапорин 2) [17]. Одно из установленных значений V1a-рецепторов состоит в модуляции эффекта V2-рецепторов [18]. В частности, стимуляция этих рецепторов в клетках

начальной части дистального сегмента нефрона снижает ответ на активацию V2-рецепторов [19].

Результаты проведенного исследования согласуются с данными литературы о функциональной роли рецепторов вазопрессина в регуляции транспорта натрия и воды [4, 20–22]. Выявленное нами распределение рецепторов вазопрессина в почке детей с гломерулонефритом качественно не отличается от экспрессии V1a- и V2-рецепторов у млекопитающих животных по данным экспериментальных исследований [1, 2, 5, 15, 20, 23].

Таким образом, полученные результаты можно рассматривать как свидетельство сходства распределения рецепторов вазопрессина в почке у обследованных детей и млекопитающих животных. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что у здоровых детей, начиная со 2-го года жизни [24], а также при ряде форм патологии [25], в том числе при начальных стадиях гломерулонефрита, эффективно осуществляется функция почек, связанная с осмотическим концентрированием мочи. В то же время описаны наследственные заболевания, при которых почка становится резистентной к вазопрессину, в результате развивается несахарный диабет [26]. Следовательно, можно предполагать, что полученные данные отражают картину распределения рецепторов вазопрессина в почке у здорового человека и сохранение этой картины у обследованных детей, поскольку не найдено серьезных дефектов осморегулирующей функции на этой стадии заболевания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании методами иммуногисто- и иммуноцитохимии впервые показана четкая локализация V1a- и V2-рецепторов в структурах почки человека. V1a-рецепторы выявлены в клубочке, стенке сосудов, интерстиции, клетках дистальных сегментов нефрона и в частности, в толстом восходящем отделе петли Генле; V2-рецепторы обнаружены в клетках дистальных сегментов нефрона и собирательных трубок. Результаты демонстрируют достаточную эффективность осморегулирующей функции почек у обследованных детей. Это возможно только при адекватно работающих всех компонентах системы осморегулирующего рефлекса, секреции вазопрессина и нормальной реакции на него всех структур почки, включая V-рецепторы. Сказанное позволяет заключить, что выявленная нами локализация V1a- и V2-рецепторов в клетках различных отделов канальцев почек детей с гломерулонефритом может свидетельствовать о сохранении у них функционирующих рецепторов, опосредующих

участие вазопрессина в осмотическом концентрировании мочи.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ammar A, Roseau S, Butlen D. Pharmacological characterization of V1a vasopressin receptors in the rat cortical collecting duct. *Am J Physiol* 1992; 262 (4 Pt 2): F546–F553
2. Nonoguchi H, Owada A, Kobayashi N et al. Immunohistochemical localization of V2 vasopressin receptor along the nephron and functional role of luminal V2 receptor in terminal inner medullary collecting ducts. *J Clin Invest* 1995; 96 (4): 1768–1778
3. Zhuo JL. Renomedullary interstitial cells: a target for endocrine and paracrine actions of vasoactive peptides in the renal medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27 (7): 465–473
4. Tashima Y, Kohda Y, Nonoguchi H et al. Intranephron localization and regulation of the V1a vasopressin receptor during chronic metabolic acidosis and dehydration in rats. *Pflugers Arch* 2001; 442 (5): 652–661
5. Sarmiento JM, Ehrenfeld P, Acazco CC et al. Differential distribution of the vasopressin V receptor along the rat nephron during renal ontogeny and maturation. *Kidney Int* 2005; 68 (2): 487–496
6. Arpin-Bott MP, Kaissling B, Waltisperger E et al. Autoradiographic localization of oxytocin and V1a vasopressin binding sites in the kidney of developing and adult rabbit, mouse and merione and of adult human. *Exp Nephrol* 2002; 10 (3): 196–208
7. Gonzalez CB, Figueroa CD, Reyes CE et al. Immunolocalization of V1 vasopressin receptors in the rat kidney using anti-receptor antibodies. *Kidney Int* 1997; 52 (5): 1206–1215
8. Burnatowska-Hledin MA, Spielman WS. Vasopressin V1 receptors on the principal cells of the rabbit cortical collecting tubule. Stimulation of cytosolic free calcium and inositol phosphate production via coupling to a pertussis toxin substrate. *J Clin Invest* 1989; 83 (1): 84–89
9. Carmosino M, Brooks HL, Cai Q et al. Axial heterogeneity of vasopressin-receptor subtypes along the human and mouse collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 292 (1): F351–F360
10. Mutig K, Paliege A, Kahl T et al. Vasopressin V2 receptor expression along rat, mouse, and human renal epithelia with focus on TAL. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293 (4): F1166–F1177
11. Сыромятников ДБ. *Биохимические нормы в педиатрии*. Сотис, СПб., 1996, 94
12. Ostrowski NL, Young 3d WS, Knepper MA, Lolait SJ. Expression of vasopressin V1a and V2 receptor messenger ribonucleic acid in the liver and kidney of embryonic, developing, and adult rats. *Endocrinology* 1993; 133 (4): 1849–1859
13. Terada Y, Tomita K, Nonoguchi H, Yang T, Marumo F. Different localization and regulation of two types of vasopressin receptor messenger RNA in microdissected rat nephron segments using reverse transcription polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1993; 92 (5): 2339–2345
14. Robben JH, Knoers NVAM, Deen PMT. Regulation of the vasopressin V2 receptor by vasopressin in polarized renal collecting duct cells. *Mol Biol Cell* 2004; 15 (12): 5693–5699
15. Fenton RA, Brund L, Nielsen S, Praetorius J. Cellular and subcellular distribution of the type-2 vasopressin receptor in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293 (3): F748–F760
16. Knepper M, Hoffert J, Packer R, Fenton R. Urine concentration and dilution. In: Brenner BM, ed. *Brenner and Rector's. The Kidney*. 9nd ed. WB Saunders, Philadelphia, 2008; 308–329
17. Morel F. Sites of hormone action in the mammalian nephron. *Am J Physiol* 1981; 240 (3): F159–F164
18. Trinder D, Phillips PA, Stephenson JM et al. Vasopressin V1 and V2 receptors in diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1994; 266: E217–E223

19. Goncharevskaya OA, Shakhmatova EI, Natochin YV. Modulation of the effect of arginine-vasopressin on water and ion transport in the newt early distal tubule and frog urinary bladder by V1-antagonists. *Eur J Physiol* 1995; 430: 1004-1011
20. Birnbaumer M, Antaramian A, Themmen AP, Gilbert S. Desensitization of the human V2 vasopressin receptor. Homologous effects in the absence of heterologous desensitization. *J Biol Chem* 1992; 267 (17): 11783-11788
21. Bankir L, Fernandes S, Bardoux P et al. Vasopressin-V2 receptor stimulation reduces sodium excretion in healthy humans. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (7):1920-1928
22. Cowley AW Jr. Control of the renal medullary circulation by vasopressin V1a and V2 receptors in the rat. *Exp Physiol* 2000; 85: 223S-231S
23. Masilamani S, Knepper MA, Burg MB. Urine concentration and dilution. In Brenner BM, ed.: *The kidney, 6th ed.* Philadelphia, WB Saunders, 2000; 595-635
24. Наточин ЮВ Клиническая физиология почек у детей. В: Папаян АВ, Савенкова НД, ред. *Клиническая нефрология детского возраста.* Левша, СПб., 2008; 19-56
25. Кузнецова АА, Наточин ЮВ. Исследование развития функций почек и их регуляции у детей на фоне патологического процесса. *Журн эвол биохим и физиол* 1995; 41 (3): 277-284
26. Тареева ИЕ, Игнатова МС. Канальцевые дисфункции. В: Тареева ИЕ, ред. *Нефрология: руководство для врачей.* Медицина, М., 2000; 320-328

Поступила в редакцию 11.11.2009 г.  
Принята в печать 23.11.2009 г.